

UNIVERSITE BLIDA - 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

THÈSE DE DOCTORAT LMD

Filière : Biotechnologie

Spécialité: Plante Médicinale et Aromatique

**VALORISATION D'EXTRAITS DE *Zizyphus lotus* L.
DE POPULATION DES RÉGIONS DE MEDEA, EL OUED ET
TAMANRASSET**

Par

TADJINE Nacéra

Devant le jury :

H. EL HADI	Professeur	U. Blida 1	Président
M. ABOUSEOUD	Professeur	U.Y.F Médéa	Examineur
A. DEBIB	MCA	C.U.M.A Tipaza	Examinatrice
A. AISSAT	MCA	U. Blida 1	Directeur de thèse
S.MESSGO-MOUMENE	MCA	U. Blida 1	Co-directrice de thèse

Avril, 2020- 2021

Résumé

Zizyphus. lotus L. ou «Sedra», espèce de la famille des Rhamnacées, se trouve dans des zones arides, semi-aride et saharien. Cet arbre fruitier, peut être utilisé comme source de substances naturelles (huiles végétales, polyphénols, vitamines, etc...), utilisée par la population algérien, cas Tamanrasset, El Oued et Médéa. L'espèce *Z. lotus* L. est très utilisé en médecine traditionnel pour ses propriétés thérapeutiques, elle est cependant inexplorée sur les plans phytochimique et biochimique en relation avec le métabolisme secondaire des polyphénols et des saponines. Dans le but de contribuer à la bonne connaissance de la plante en algérie, afin de valoriser cette espèce menacée, une enquête ethnobotanique a été menée, 150 informateurs y compris des guérisseurs traditionnels des habitants et des villageois compétents sont interviewés. Une caractérisation physicochimique et phytochimique de l'espèce, identifiant ses principales biomolécules (composés phénoliques et saponine), avec une étude de ses activités biologiques sont abordées.

Les analyses quantitatives des composés phénoliques issus de différents organes de *Zizyphus lotus* L. révèlent la présence de quantités moyennement importante. Sur le plan qualitatif, la composition polyphénolique de feuille et de graine de *Z.lotus* L. de trois régions déterminer par la technique chromatographique liquide à haute performance ont permis de détecter et identifier quatre composés majoritaire: Berbérine (10,7%), Robinine (8,1%) ; Rutine (20,3%) ; Indole-3-carboxylique (27,4%) dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Z. lotus* L. de Tamanrasset, El Oued et Médéa, Six composés majoritaires, acide ascorbique (25,7%);acidegallique(8,1%),Indolecarboxylique(7,8%);Kaempferol(10,2%) ; Kaempferol-3-O-rutinoside (10,4% et 25,9%) respectivement dans les graines de Médéa, Tamanrasset et El Oued.

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits aqueux et organiques des feuilles et des graines de plantes de trois régions, montre que tous les extraits testés présentent des capacités antioxydants relative. Tous les extraits présentant une teneur importante en polyphénols possède une forte capacité antioxydante, où on observe une corrélation positive ($r=0,552 \pm 0.19$ mg.ml⁻¹). Quant à l'activité antifongique, l'extrait foliaire d'acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique ont présenté une forte inhibition sur la croissance mycélienne des deux souches de *Fusarium aveaceanum*, *F. culmorum* testées. L'étude du pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique présente une activité intéressante vis-à-vis de *Kleibsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aerugenosa* avec un taux d'inhibition ($30 \pm 0,2$; $25 \pm 0,1$; $22 \pm 0,1$; $18 \pm 0,1$) respectivement et un CMB/CMI < 4.

Ce pendant l'extraits aqueux de *Z. lotus* L. présente une efficacité importante aux doses testées contre les insectes des denrées stockées étudiés soit le *Tribolium castaneum* *Herbest*. L'activité antidiabétique sur des lapins à montrer que l'extrait aqueux de *Z. lotus* L. a exercé une activité anti-hyperglycémie notable similaire à celle de la metformine, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de

Z. lotus L. de la région de Tamanrasset à montrer son effet anti -inflammatoire vis-à-vis des souris malades, donc nous pouvons dire que l'extrait méthanolique de

Z. lotus L. de Tamanrasset et d'El Oued exerce une action anti-inflammatoire comparable à celle du produit de référence.

Mots clés : *Zizyphus lotus* L., Etude ethnobotanique, composés phénoliques, activités biologiques, activité antioxydante, activité antifongique.

Summary

Zizyphus lotus L. or "Sedra", a specie of the *Rhamnaceae* family, is found in arid, semi-arid and saharian areas. This fruit tree can be used as a source of natural substance like vegetal oils, polyphenols, vitamins, etc...). In order to contribute to the good knowledge of the plant in Algeria, to enhance this threatened species, an ethnobotanic survey has been conducted; 150 informants, including traditional healers of the inhabitants and competent villagers, are interviewed. A morphological and biochemical characterisation of the species with a study of its biological activities is discussed

The phenolic composition of the leaves and seeds of *Z.lotus* L. of three region determined by CLPH highlights the presence four major compound: (berberine 10,7%; robinine 8,1%; rutin 20,3%, indole-carboxylic 27,45%) in the methanolic extract of the leaves of *Z.lotus* L. from Tamanrasset, El Oued and Medea. Six major compounds (ascorbic acid 25,7%; gallic acid 8,1%; indol 3 carboxylic(99%) 7,8%; Kaempferol 10,2%; kaempferol3-Orutinosid 10,4 and 25,9%), in the seeds from Medea, Tamanrasset and El Oued.

The assessment of the antioxidant power of the aqueous and organic extracts of leaves and seeds of plant from three regions using two different technique: the trapping of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrozyl radical (DPPH), and the reduction of the ferric ion (FRAP), shows that all the extracts tested have relative antioxidant capacity all extracts with a significant polyphenol content have a high antioxidant capacity, where there is a positive correlation ($r= 0,552$ for DPPH).

The various extracts (aqueous, methanol, ethyl acetate and chloroform) tested on eleven strains using the agar diffusion technique and the liquid macrodilution method, show that EMeOH has interesting antibacterial activity with *Klebseilla pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* with an inhibition rate(%): $30\pm 0,2$; $25\pm 0,1$; $22\pm 0,1$; $18\pm 0,1$.

In addition, the best inhibitory activity is bactericidal (CMB/CMI <4) is obtained with the EMeOH of the leaves of Medea *Zizyphus .lotus* L. Some apolaire raw extract, such as ethyl acetate extracts, an also subjected to a very interesting antifungal effect with an inhibition rate (%): $(96, 3 \pm 0, 24(a))$; $(77, 5 \pm 0, 3(a))$; $(87, 5 \pm 0,3(a))$ *Alternaria sp*, *Fusarium avenaceum* and *Fusarium culmorum*. However the powder and the various aqueous extracts have significant efficacy at the doses tested against insects in the stored foods studies *Tribulium castaneum herbest*.

In vivo studies were conducted to determine anti-diabetic and anti-inflammatory activity rabbit and swiss mice. showed that the aqueous extracts of *Z.lotus* L. had a significant anti-hyperglycaemic activity similar to that of metformin,

for all the extracts tested the anti-inflammatory activity of EMeOH of *Z.lotus* L. of the Tamanrasset and El Oued regions in addition,

Keywords: *Zizyphus lotus* L., ethnobotanic,, Polyphenolic extracts, antioxidant activity, antifungal activity.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je remercie Allah, le bon Dieu, qui m'a donné la motivation, le défi, la santé et le courage pour terminer cette thèse.

Je tiens également à présenter mes sincères remerciements à :

Dr. AISSAT. A qui a accepté de m'encadrer et qui m'a fait bénéficier de son savoir et de ses conseils éclairés afin de perfectionner ce travail.

Dr. MESSGO-MOUMENE. S, J'ai été très sensible à sa disponibilité et à la totale confiance qu'elle m'a accordée. Sa grande expérience, ses inestimables conseils et son soutien ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail. Je la remercie pour la précision scientifique qu'elle me transmettait durant toutes ses années.

Mes remerciements s'adressent également :

A notre Président de jury, Monsieur HADI. H Professeur à l'Université Saad Dahleb Blida1. Nous vous remercions vivement d'avoir accepté de juger ce travail. Nous sommes particulièrement honoré de vous avoir vu assurer la Présidence de ce Jury de Thèse.

A notre Jury de Thèse :

Madame DEBIB. A Docteur au centre universitaire Morsli Abdallah de Tipasa. Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait par votre participation dans notre jury de soutenance. Nous vous remercions d'avoir accepté d'évaluer notre travail et nous tenons à vous assurer de notre grande estime.

Monsieur ABOUSEOUD. M Professeur à l'Université Yahia farés de Médéa. Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait d'être l'examineur de ce travail. Nous sommes très honoré d'avoir bénéficié de vos remarques et corrections et tenons à vous exprimer notre profonde gratitude.
Madame TASSIST. A Docteur à l'Université Yahia farés de Médéa, pour son aide, pour sa disponibilité et son encouragement durant toute la période de la réalisation de cette thèse qu'elle soit assurée de notre respectueuse considération et notre profonde gratitude.

Monsieur DEGHACHIA. H Docteur à l'Université Saad Dahleb Blida1, pour son aide concernant la réalisation de la partie statistique de notre travail, pour sa modestie et ses qualités humaines.

Je tiens a remercié également, Madame MERABTI, ainsi que tout le personnel de laboratoire de CRD Saidal (El Harrach).

Mes remerciement les plus sincères pour toute l'équipe du laboratoire de valorisation des plantes médicinales et Aromatiques, pour leur aide qui m'a permis de mener à bien ce travail particulièrement Mme BENFEKIH -ALLAL.L Professeur à l'Université Saâd Dahleb Blida1, qui a beaucoup apporter à ce travail.

Cette thèse doit beaucoup à de nombreuses personnes, qui nous ont encouragé et nous ont soutenus durant ces années. Je voudrais leur adresser ces quelques mots pour les remercie.

Et puis, je n'oublie pas de remercier mes collègues et amies de l'université de Blida1, d'Alger (USTHB) pour leurs encouragements.

Pour terminer, je remercie ma famille qui m'a toujours soutenue.

Merci Maman pour tes sacrifices et toutes les valeurs essentielles que tu m'as enseignée et qui me servent au quotidien.

Ma Sœur Nachida merci de m'avoir soutenue et supportée au cours de ces années. Merci pour tout ce que tu m'as apportée.

Soundous, merci de votre gentillesse et votre compréhension.

.

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : Degré Celsius
Fig. : Figure
g : gramme
mg : milligramme
Kg : kilogramme
L: litre
mL : millilitre
µL : microlitre
m : mètre
mm : millimètre
cm : centimètre
µm : micromètre
min : minute
mM : millimolaire
M : molaire
NaOH : Hydroxyde de sodium
N : Normale
V : volume
MeOH : Methanol
CHCl₃ : Chloroforme
Aq : Aqueux
AcOH : Acetate d'éthyle
ESOX : Extraction par Soxhlet
Z.lotus L. : Zizyphus lotus L.
EMeOH : Extrait Methanolique
EAq : Extrait aqueux
ECHCl₃ : Extrait chloroformique
EAcOH : Extrait acétate d'éthyle
AA : acide ascorbique
AlCl₃ : Chlorure d'aluminium
ATCC : American Type Culture Collection

BHA : butylhydroxyanisole
BHIB : Bouillon cœur cervelle
CE50 (CI50) : Concentration inhibitrice à 50%
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CMB : Concentration Minimale Bactéricide
DMSO : Diméthyle sulfoxyde
DO : densité optique
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG : équivalent d'acide gallique
EC : équivalent de catéchine
EQ : équivalent de quercétine
FeCl₃ : Chlorure de fer
FRAP: Capacité réductrice ferriques d'antioxydants (Ferric ion reducing /antioxidant power).
MS : Matière sèche
MH: Muller Hinton
*OH: radical hydroxyl
ROO* : radical peroxyde
ROOH : peroxydes organiques
UFC : Unité Format Colonie
UV : Ultraviolet

TABLE DES MATIERES

RESUME	
ABSTRACT	
RESUME EN ARABE	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION.....	1

CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur la plante étudiée : <i>Zizyphus lotus</i> L.....	4
1.1. La famille des Rhamnacées	4
11.1. Description Botanique	4
1.1.2 Classification botanique des Rhamnacées.....	5
1.2. <i>Zizyphus lotus</i> L.....	5
1.2.1. Etymologie.....	5
1.2.2. Position systématique.....	5
1.2.3. Description botanique	6
1.2.4. Répartition géographique et habitat	7
1.2.5. Ecologie.....	8
1.2.6. Propriétés et utilisation de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	9
1.2.7. Les investigations phytochimique sur le genre <i>Zizyphus</i>	11
II. Généralités sur les métabolites secondaires.....	12
1. Composés phénoliques	14
1.1. Classification.....	15
1.2. Polyphénols simple.....	16
1.3. Polyphénols complexes.....	26
1.4. Biosynthèses des composés phénoliques.....	30
1.5. Activités biologiques des polyphénols	32
1.6. Etude de la toxicité.....	39

1.7. Activité anti-inflammatoire	40
1.8. Activité antidiabétique	41
1.9. Méthodes d'extraction des molécules bioactives	43
1.10. Rétrospective des travaux réalisés en Algérie	45
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	
2.1. Matériel	47
2.1.1. Matériel biologique	47
2.1.1.1. Matériel végétal	47
2.1.1.2. Matériel animal	49
2.1.1.3. Souches microbiennes	49
2.1.2. Matériel non biologique	50
2.2. Méthodologie	50
2.2.1. Enquête ethnobotanique	50
2.2.2. Fréquence Relative de la Citation (FRC)	51
2.2.3. Criblage phytochimique	51
2.2.4. Etude analytique	55
2.2.5. Extractions	57
2.2.6. Analyse colorimétriques par spectrophotométrie	58
2.2.7. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)	60
2.2.8. Tests biologiques de Zizyphus lotus L.	61
2.2.8.1. Evaluation des activités antioxydante	61
2.2.8.2. Potentiel antimicrobien des plantes	64
2.2.8.3. Potentiel insecticides des plantes	69
2.9.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	70
2.9.2. Evaluation de l'activité antidiabétique	72
10. Etude statistique	77
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	
3.1. Données sociodémographiques des informateurs	79
3.2. Rendement en extraits bruts	81
3.3. Résultats du criblage phytochimique	83
3.3.1. Détermination de la teneur en composés phénolique	85
3.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes	88
3.3.3. Détermination des tanins catéchiques	89

3.3.4. Détermination des saponines.....	90
3.4. Chromatographie liquide à haute performance	90
:3.4.1. Voies de biosynthèses possibles des composés identifiés par HPLC	91
3.5.1 Activité Antioxydante	100
3.6. Activité antimicrobienne	112
3.7. Potentiel insecticide de différents extraits bruts de Zizyphus lotus L.	121
3.8.1. Toxicité aiguë.....	122
3.8.2. Activité anti-inflammatoire.....	122
3.8.3. Activité antidiabétique.....	127
CONCLUSION	136

REFERENCES

ANNEXES

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 1.1	Aspect général, de Z lotus L.....	7
Figure 1.2	Répartition géographique de Z lotus L en Algérie.	8
Figure 1.3	Voies du métabolisme secondaire	14
Figure 1.4	Structure du noyau phénolique.	15
Figure 1.5	Structures chimiques des isomères de l'acide hydroxybenzoïque	17
Figure 1.6	Structure chimique de l'acide para-hydroxycinnamique	18
Figure 1.7	Structure chimique de quelques dérivés d'acide p- hydroxycinnamique	19
Figure 1.8	Structure chimique des principales coumarines.....	20
Figure 1.9	Structure chimique de base des flavonoïdes.....	20
Figure 1.10	Structures chimiques de quelques flavones et flavonols.....	21
Figure 1.11	Structures chimiques de quelques flavanones et flavanonols	22
Figure 1.12	Structures chimiques de quelques flavan-3 et flavan- 3,4diols.....	23
Figure 1.13	Cation Flavylium (C ₁₅ H ₁₁ O ⁺) formant le squelette de base des anthocyanidines.....	24
Figure 1.14	Structures chimiques de certaines anthocyanidines.....	25
Figure 1.15	Structures chimiques de certaines chalcones et aurones.....	25
Figure 1.16	Structures chimiques d'isoflavonoïdes	26
Figure 1.17	Structure chimique d'un polymère de lignines	27
Figure 1.18	Structure chimique d'un stilbène.....	28
Figure 1.19	Biosynthèse des métabolites secondaires.....	31
Figure 1.20	Grandes lignes de biosynthèse de quelques classes des flavonoïdes.....	33
Figure 1.21	Critères structuraux essentiels pour avoir une bonne activité anti radicalaire des flavonoïdes.....	34
Figure 1.22	Streptozotocine.....	43
Figure 2.1	Localisation géographique de la zone d'étude	47
Figure 2.2	Vue générale des touffes de Z.lotus L. de population des régions de Médéa, El oued et Tamanrasset.....	48
Figure 2.3	Extraits de Zizyphus. Lotus L	61
Figure 2.4	Extraits injecté sur la chaîne HPLC	61

Figure 2.5	Structure du DPPH et sa réduction par l'antioxydant RH	62
Figure 2.6	Injection de la carragenine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche	71
Figure 2.7	Administration des extraits par voie orale.....	72
Figure 2.8	Administration des extraits par voie orale.....	76
Figure 3.1	Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques...85	
Figure 3.2	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.....88	
Figure 3.3	Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés.....90	
Figure 3.4	Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des feuilles de Z. lotus L. de Tamanrasset.....	91
Figure 3.5	Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des feuilles de Z. lotus L. d'El Oued.....	92
Figure 3.6	Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des feuilles de Z. lotus L. de Médéa.....	93
Figure 3.7	Chromatogramme obtenu à 280 et 254 nm d'EMeOH des graines de Z. lotus L. de Tamanrasset.....	94
Figure 3.8	Chromatogramme obtenu à 280 et 254 nm d'EMeOH des graine de Z. lotus L. d' El Oued	94
Figure 3.9	Chromatogramme obtenu à 280 et 254 nm d'EMeOH des graines de Z. lotus L. de Médéa.....	95
Figure3.10	Schéma récapitulatif de la voie de biosynthèse des composés phénoliques identifiés dans la partie aérienne de Z.lotus L. par HPLC.....	98
Figure 3.11	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	101
Figure3.12	Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits feuilles de Tamanrasset.....	102
Figure3.13	Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits de feuilles d'El Oued.....	102
Figure3.14	Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits de feuilles de Médéa.....	102
Figure 3.15	Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de Z. lotus L. d' El Oued.....	104
Figure 3.16	Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de Z. lotus L. de Tamanrasset.....	104

Figure 3.17	Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de <i>Z. lotus</i> L. de Médéa.....	104
Figure3.18	Pourcentages de réduction du radical libre DPPH d'extraits bruts de graines d'El Oued.....	106
Figure3.19	Pourcentages de réduction du radical libre DPPH d'extraits bruts de graines de Médéa.....	106
Figure3.20	Pourcentages de réduction du radical libre DPPH d'extraits bruts de graines de Tamanrasset.....	106
Figure 3.21	Pouvoir réducteur des ions Ferriques d'extraits bruts de graines de <i>Z.lotus</i> L. de Tamanrasset.....	107
Figure 3.22	Pouvoir réducteur des ions Ferriques d'extraits bruts de graines de <i>Z.lotus</i> L. de Médé.....	107
Figure 3.23	Pouvoir réducteur des ions Ferriques d'extraits bruts de graines de <i>Z.lotus</i> L. d'El Oued.....	107
Figure 3.24	Les IC50 des extraits de <i>Zizyphus lotus</i> et de l'acide ascorbique.....	109
Figure3.25	Effet antibactérien de L'extrait méthanolique de feuilles de <i>Z.lotus</i> L.de Médéa sur <i>E.coli</i>	112
Figure3.26.	Effet antibactérien de L'extrait méthanolique de feuilles de <i>Z.lotus</i> L.de Médéa sur <i>S.aureus</i>	112.
Figure3.27	Effet antibactérien de L'extrait méthanolique de feuilles de <i>Z.lotus</i> L.de Tamanrasset sur <i>B.subtilis</i>	112
Figure 3.28	Effet antifongique de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>Z. lotus</i> L. de Tamanrasset sur <i>Candida albicans</i>	113
Figure3.29	Pourcentage d'inhibition del'œdèmepar l'extrait de <i>Z. lotus</i> L.....	127
Figure 3.30	Activité antihyperglycémiant des extraits aqueux des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	129
Figure 3.31	Effet de l'extrait de feuilles de <i>Z. lotus</i> L sur la glycémie à jeun chez les lapins rendues diabétiques par la STZ.	133

Tableau 1.1	Usages traditionnels de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	11
Tableau 1.2	Quelques phytoconstituants isolés du genre <i>Zizyphus</i>	12
Tableau1.3	Principales classes des composés phénoliques.....	16
Tableau1.4	Les principaux composés phénoliques.....	37
Tableau I.5	La glycémie à jeun et 2 h après charge glucosée.....	42
Tableau 1.6	Travaux antérieurs sur <i>Zizyphus lotus</i> L. en Algérie.....	45
Tableau 2.1	Coordonnées géographiques du site de récolte de <i>Z.lotus</i> L....	48
Tableau 3.1	Données sociodémographiques des informateurs.....	79
Tableau 3.2	La teneur en eau et de matière sèche des feuilles et des graines de <i>Z lotus</i> L.....	80
Tableau 3.3	Teneur en cendre et matière organique des feuilles et des graines de <i>Z. lotus</i> L.....	83
Tableau 3.4	Aspect, couleur et rendement des extraits de feuilles et graines de <i>Z. lotus</i> L. par différents solvants.....	82
Tableau 3.5	Caractérisation des groupes chimiques sur la poudre de feuilles et de graines de <i>Z.lotus</i> L.	83
Tableau 3.6	Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins des extraits bruts de <i>Z. lotus</i> L.	86
Tableau3.7	Identification des principaux composés phénoliques de l'extrait méthanolique de feuille de <i>Z. lotus</i> L. par HPLC.....	93
Tableau3.8	Identification des principaux composés phénoliques de l'extrait méthanolique des graines de <i>Z.lotus</i> L. par HPLC.....	96.
Tableau 3.9	Valeurs des CI50 et CE50 des extraits de feuilles et graines de <i>Z lotus</i>	105
Tableau 3.10	Coefficient de corrélation linéaire entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits bruts.....	111
Tableau 3.11	Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de <i>Z. lotus</i> L.....	114
Tableau 3.12	Activité antimicrobienne des extraits de graines de <i>Z.lotus</i> L. obtenue par la méthode de diffusions.....	116
Tableau 3.13	Valeurs des CMI et CMB des extraits aqueux et organiques de feuilles de <i>Z. lotus</i> L.....	117

Tableau 3.14	Valeurs des CMI et CMB des extraits bruts de graines de <i>Z. lotus</i>	118
Tableau 3.15	Activité antifongique des différents extraits de feuilles de <i>Z. lotus</i> L.....	120
Tableau 3.16	Evolution du changement de l'épaisseur des pattes des souris traitées par les extraits de feuilles et des graines de <i>Z. lotus</i> L.	123
Tableau 3.17	Evaluation de l'effet anti-inflammatoire des extraits de <i>Z. lotus</i>	126
Tableau 3.18	Réduction de la glycémie par les extraits aqueux des feuilles de <i>Z. lotus</i> L.....	128
Tableau 3.19	Effet de l'extrait de feuilles de <i>Z. lotus</i> L. sur la glycémie à jeun chez les lapins rendues diabétiques par la STZ.....	130
Tableau 3.20	Effet de l'extrait aqueux de <i>Z. lotus</i> L. sur le poids corporel des lapins rendus diabétiques par la STZ.....	132
Tableau 3.21	Effets de l'extrait de <i>Z. lotus</i> L. sur des paramètres Biochimiques des lapins diabétiques induits par le STZ.....	133

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : Degré Celsius
Fig. : Figure
g : gramme
mg : milligramme
Kg : kilogramme
L: litre
mL : millilitre
µL : microlitre
m : mètre
mm : millimètre
cm : centimètre
µm : micromètre
min : minute
mM : millimolaire
M : molaire
NaOH : Hydroxyde de sodium
N : Normale
V : volume
MeOH : Methanol
CHCl₃ : Chloroforme
Aq : Aqueux
AcOH : Acetate d'éthyle
ESOX : Extraction par Soxhlet
Z.lotus L. : Zizyphus lotus L.
EMeOH : Extrait Methanolique
EAq : Extrait aqueux
ECHCl₃ : Extrait chloroformique
EAcOH : Extrait acétate d'éthyle
AA : acide ascorbique
AlCl₃ : Chlorure d'aluminium
ATCC : American Type Culture Collection

BHA : butylhydroxyanisole

BHIB : Bouillon cœur cervelle

CE50 (CI50) : Concentration inhibitrice à 50%

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DO : densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAG : équivalent d'acide gallique

EC : équivalent de catéchine

EQ : équivalent de quercétine

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP: Capacité réductrice ferriques d'antioxydants (Ferric ion reducing /antioxidant power).

MS : Matière sèche

MH: Muller Hinton

*OH: radical hydroxyl

ROO* : radical peroxyde

ROOH : peroxydes organiques

UFC : Unité Format Colonie

UV : Ultraviolet

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis très longtemps, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. La phytothérapie est l'art de se soigner par les plantes [2], c'est une médecine très ancienne. Actuellement, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales. Cette forme de médecine ne s'oppose pas aux autres thérapies, elle augmente l'efficacité d'un traitement ou atténue ses effets secondaires [1].

L'Algérie, par sa situation géographique entre la méditerranée et l'Afrique subsaharienne, possède un patrimoine naturel, caractérisé par une grande diversité végétale. Ces ressources végétales sont réparties dans les côtes, les montagnes, les steppes et le Sahara, avec plus de 3000 espèces végétales appartenant à plusieurs familles botaniques, et dont certaines sont endémiques [3 et 4].

Les plantes produisent un grand nombre de composés, et beaucoup de métabolites secondaires qui ont un rôle défensif pour les plantes. Ces derniers ont plusieurs intérêts dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Ils sont aussi utilisés comme herbicides, insecticides ... Parmi ces métabolites, les alcaloïdes, les composés phénoliques, les terpènes, les saponines et les acides gras se trouvent dans toutes les parties de la plante mais leur distribution s'établit en fonction du rôle qu'ils jouent dans la plante.

Actuellement, les composés phénoliques sont très utilisés dans le traitement de certaines maladies et dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternative aux produits chimiques de synthèse.

Le genre *Zizyphus* fait partie de la famille des Rhamnacées, il comporte environ 100 espèces [5]. En Algérie, ce genre est représenté par 3 espèces : *Z. jujuba*, *Z. mauritiana*, et *Z. lotus*. Les espèces de ce genre sont très utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les troubles du tube digestif, le foie, les affections respiratoires, et les piqûres des vipères.

Des études biochimiques sur le genre *Zizyphus* ont montré leur richesse en vitamines A, E, hétérosides, terpènes et en alcaloïdes cyclopeptides. Ces composés sont utilisés pour leurs effets anti-inflammatoire, diurétique, pectoral, et aussi leurs propriétés hypoglycémiantes

Au regard de l'importance de l'utilisation des espèces du genre *Zizyphus* en médecine traditionnelle et afin de valoriser les plantes aromatiques et médicinales des zones aride, semi-aride et du Sahara algérien, nous nous sommes intéressés à l'étude biochimique et biologique des métabolites secondaires de *Zizyphus lotus* L. (jujubier), ainsi que l'évaluation des activités insecticide, anti-inflammatoire et antidiabétique sur des souris et des lapins de race mixte.

Notre travail présente un double objectif :

- Le premier objectif est biochimique, il vise à identifier les principales biomolécules (les saponines et les composés phénoliques) de la partie aérienne de *Zizyphus lotus* de trois régions du pays, par des techniques spectrophotométriques chromatographiques et de déterminer leurs propriétés biologiques : activité antioxydante, activité antimicrobienne et insecticide.
- Le second objectif est thérapeutique, il s'intéresse à l'étude *in vivo* sur des souris et des lapins de race mixte, afin de comprendre leur pouvoir thérapeutique et d'évaluer leur activité anti-inflammatoire et antidiabétique.

Cette étude s'articule autour de trois chapitres:

Le premier chapitre regroupe des données bibliographiques sur la plante étudiée : systématique, description botanique, utilisations thérapeutiques, et sur les principales classes de métabolites secondaires, et leurs activités biologiques .

Le deuxième chapitre, illustre les différentes méthodes utilisées dans l'expérimentation (Enquête ethnobotanique, échantillonnage, extraction, séparation des métabolites par chromatographies liquide à haute performance (HPLC), activités biologiques (antioxydante , antimicrobienne et insecticide), ainsi qu'une étude d'évaluation des activités anti-inflammatoire et antidiabétique).

Le troisième chapitre, se consacre à la présentation des résultats de l'étude *in vitro* et *in vivo* de la plante étudiée des trois régions et à leurs interprétations et discussions

SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur la plante étudiée : *Zizyphus lotus* L.

1.1. La famille des Rhamnacées

1.1.1. Description Botanique

La famille des Rhamnacées inclut plus de 900 espèces répartis dans 54 genres, dont les principaux sont *Phylica* (150 espèces), *Rhamnus* (100 espèces), *Zizyphus* (100 espèces) et *Ceanothus* (55 espèces) [5]. Cette famille est divisée en 11 tribus répartis en sous-familles les Ziziphoides, les Rhamnoides et les Ampeloziziphoides [6].

Les Rhamnacées sont presque toutes arbustives, quelquefois épineuses (*Rhamnus*, *Paliurus*) ou lianescentes (*Berchemia*). Les feuilles, alternes ou sub opposées, stipulées, sauf chez les *Phylica*, sont simples. Les *Paliurus* du sud de l'Europe et de l'Asie sont des arbrisseaux épineux du fait de la transformation des stipules. Chez *Z.spina-christi*, les deux épines d'une même feuille sont dissemblables, l'une est droite et l'autre courbe. Beaucoup de *Zizyphus* des pays chauds, montrent aussi des stipules épineuses dimorphes. Les fruits sont très variés ce sont généralement des drupes ou des capsules à déhiscence ventrale. Lorsque ces derniers sont indéhiscents, ils montrent souvent des adaptations à la dispersion par le vent, comme l'aile du fruit de *Paliurus*. Les graines n'ont pas ou guère d'albumen et renferment un grand embryon droit [6, 7].

Les fleurs généralement de petites tailles sont visitées par des mouches, des abeilles des guêpes et des coléoptères, elles peuvent être allogames. Les graines de genre a fruits charnus comme *Rhamnus*, sont généralement disséminées par les oiseaux et/ou les mammifères.

1.1.2 Classification botanique des Rhamnacées [7]

Règne	Plantae
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Eudicotylédones	<i>Noyau des Eudicotylédones, Rosidées, Fabidées</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Rhamnaceae</i>

1.2. *Zizyphus lotus* L.

1.2.1. Etymologie :

Le mot « *Zizyphus* » dérive du nom grec «Ziziphon» [8], alors que les Berbère utilisent l'appellation «Zizoufou Zuzaifo» [9]. Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfum ou Zizafun» [10,11], et communément appelé en Algérie « Sedra, azuggwar » [12]. C'est le Sedra des Arabes, le Tazoura des Berbères [13 et 14].

Le jujubier, de l'arabe Zizouf [15,16]. Le nom latin du jujubier est *Zizyphus* : désignant l'arbre et son fruit. *lotus*: désigne des plantes de la famille des légumineuses [17].

1.2.2. Position systématique

Selon *Jacamon M* [18], le jujubier est classé comme suit :

Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Rhamnales</i>
Famille	<i>Rhamnaceae</i>
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus L.</i>

a) Synonymes botanique [15] :

Les synonymes de cette espèce décrits dans la littérature sont :

Zizyphus lotus Lam.,

Zizyphus lotus Aitch.

Zizyphus rotundifolia,

Zizyphus lotus Blanco,

Zizyphus lotoidea (St. Lag.)

Rhamnus lotus L.

b) Nom vernaculaires [19]

Nom arabe : Zizouf, زيزفون / sedra, سدر /sidr, سدر /sidr barri البري لسدر

Nom anglais : African jujube, Lotus tree, lotus jujube.

Nom français: Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, Jujubier des Lotophages

Nom allemand : Wilde Jujube.

1.2.3. Description botanique de la plante

Zizyphus lotus L. Desf. (Figure 1.1) est un arbuste fruitier très ramifiée. Cet arbre pousse jusqu'à 1,5 m de hauteur, se développe sous forme de touffes buissonnantes. Chaque touffe comprend plusieurs rejets [20, 21]. Les rameaux sont recourbés vers le bas, flexueux, blanc grisâtre à épines droites ou recourbées, poussant en zigzag [22]. Les feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées, ovales à marges entières, faiblement rigides de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long. Les fleurs sont jaunes, groupées en

inflorescence cymeuses. Le fruit est une drupe sphérique dont le noyau osseux biloculaire, sont soudé en une seule masse [23], et il contient 2 graines [24].petits et ronds recouverts d'une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre [25]. La plante fleurit au mois de mai et donne des fruits au mois d'Août [26, 27 et 28]. Cet arbrisseau a une croissance très lente et commence à porter des fruits vers l'âge de 4 ans. Ils peuvent continuer à paraître vers 20 à 25 ans [29].Le Jujubier résiste bien à la sécheresse [15].



Figure 1.1 : Aspect général, de *Zizyphus lotus* L.
(photos Original)

1.2.4. Répartition géographique

Zizyphus.lotus L. est une espèce steppique. Elle présente une vaste répartition géographique, depuis le sud de l'Europe (Espagne, Portugal, Sicile, Grèce) jusqu'aux steppes d'Asie, à travers l'Afrique du nord, (Tunisie, Maroc et l'Algérie) [30,31]. Cette espèce est d'origine méditerranéenne [32 et 33].

En Afrique du Nord, *Zizyphus lotus* est très répandue sur les hauts plateaux, les pâturages rocaillieux et les terreaux des plateaux des basses montagnes [34, 35 et 36].

Zizyphus.lotus L., résiste à la sécheresse. Elle est présente sous les bioclimats arides et semi arides à variante chaude, tempéré et fraîche, généralement, dans les étages du Thermo-méditerranéen et Mésio-Méditerranéen [36].

Cette espèce supporte des niveaux de salinités modérément élevés. Elle est abondante dans des sols, à texture fine, assez bien drainées. Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux [37]

En Algérie, *Zizyphus lotus* L. (Figure 1.2) est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-Constantinois [4], sur les Dayas, les dépressions et les zones plus ou moins humides. Il est présent au Sahara central, la sous-espèce saharae pousse dans les oueds rocailleux et s'accroche jusqu'aux falaises [16]. IL constitue un moyen de lutte naturel contre l'érosion et la désertification [21].

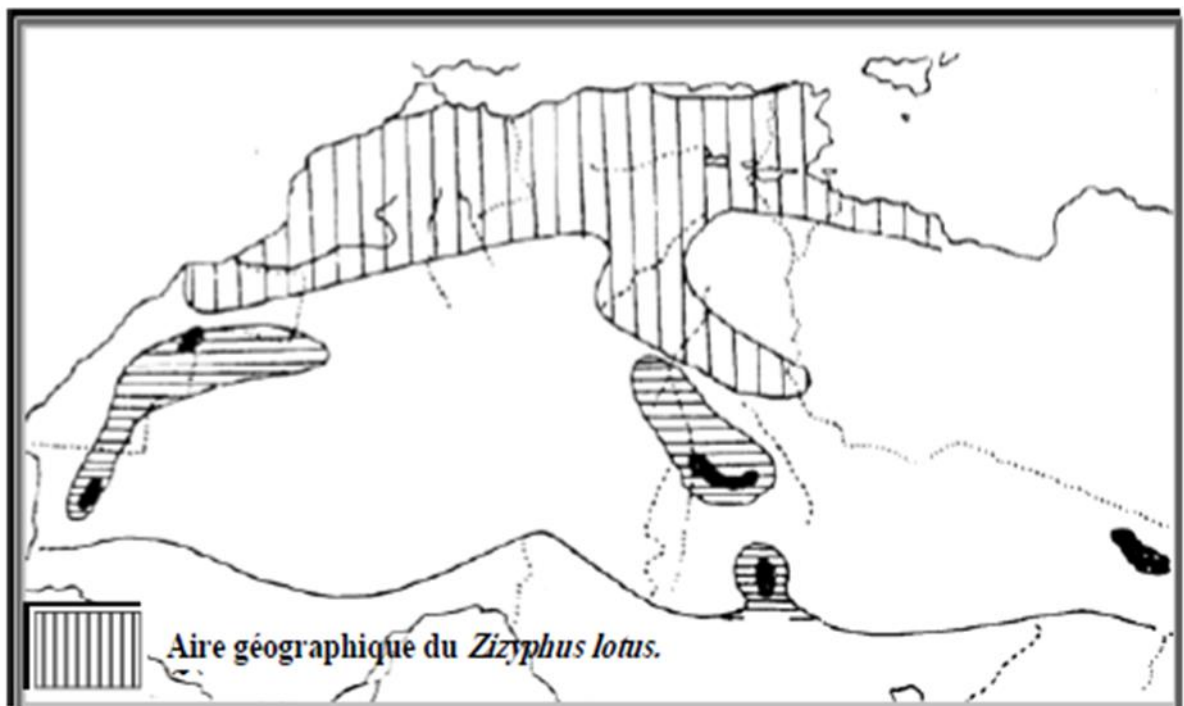


Figure 1.2 : Répartition géographique de *Zizyphus lotus* L en Algérie [4].

1.2.5. Ecologie

Le genre *Zizyphus* est connu par sa tolérance à la sécheresse et sa grande résistance à la chaleur [38, 39]. Il peut être rencontré dans des zones désertiques

avec des précipitations très faibles [40]. [41] ont signalé que 42 % des explants peuvent se développer dans les plaines alluviales, 23 % dans les montagnes, 22 % dans les vallées et 13 % dans les collines.

En effet, cette espèce est capable de se développer sur tout type de sol et elle est indifférente à la salinité modérée. En plus, elle peut supporter une large gamme de température. Indifférente au sol, *Zizyphus* peut se développer sur des altitudes pouvant atteindre les 1550 m [42].

Ils jouent un rôle très important dans la conservation des sols grâce à leurs systèmes racinaires profonds et vigoureux qui permettent une stabilisation des substrats et protègent ceux-ci contre l'érosion [43].

1.2.6. Propriétés et utilisation

Les plantes sont bien connues par leur utilisation comme matière première pour le traitement de nombreuses maladies [44].

- Utilisations alimentaires :

Les jujubes se consomment de différentes manières. Ils sont consommés comme aliment frais, conservés, secs, ou utilisés en confiserie et pâtisserie, et leur jus peut être utilisé pour la préparation de boissons rafraîchissantes [45].

En Inde, les fruits mûrs sont utilisés pour la préparation des produits secs semblables à ceux de la datte sèche. Ils sont consommés en hiver comme dessert [46]. Le miel issu du butinage de ses fleurs est un miel de haute qualité nutritive agréable et médicinale [47]. Le fruit de *Zizyphus lotus* L. est aussi utilisé pour la confection du pain appelé Oufers chez les Touaregs. En Chine, ce fruit est très utilisé pour la fabrication du vin, consommé glacé ou avec du thé [24].

- Utilisations médicinales

Les espèces du genre "*Zizyphus*" sont employées largement en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies telles que : les troubles

digestifs, la faiblesse, les problèmes du foie, l'obésité, les infections urinaires, le diabète, les infections de la peau, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie [48 et 49].

Des études ont démontré, la présence de six alcaloïdes cyclopéptidiques et quatre saponines dans les racines de cette espèce ce qui lui a donné une activité antibactérienne [34]. Les racines sont utilisées pour traiter les maladies pulmonaires (considérées comme bronchodilatateur), le rhumatisme, l'arthrite, ainsi qu'elles sont considérées comme fébrifuges et cicatrisantes. [50, 24]. Les feuilles ont des effets hypoglycémiant, ainsi qu'une activité antiseptique et désinfectante [51,36].

L'infusion des fleurs est utilisée comme un fébrifuge et un désinfectant pour les yeux [52]. Un effet immunodépresseur a été observé chez les cellules T humaine sous l'action de l'extrait des polyphénols [53].

Les fruits du jujubier ont divers effets à savoir: anti-âge et anti-tumoraux [54, 24], et des effets sur le système cardiaque en augmentant la capacité d'oxygénation des sujets et empêcher l'arythmie cardiaque [24], des effets anti-diarrhéiques et anti-ulcérogéniques [55 et 56], des effets antibactériens [57] et antifongiques suite à la présence des alcaloïdes cyclopéptidiques [58, 45] et des effets antidiabétiques[59, 60].

Par ailleurs, la cendre de bois, additionnée de vinaigre, constitue un traitement local des morsures de serpent. Au Sahara occidental, les fruits ont gardé encore la réputation d'être antivarioliques et actifs contre la rougeole [61]. Beaucoup de chercheurs ont montré diverses activités biologiques et/ou pharmacologiques de de l'huile essentielle de *Zizyphus lotus*, comme agent antimicrobien, antifongique, antioxydant, [62] Tableau 1.1

- Autres utilisations :

Les rameaux secs et épineux du jujubier sont utilisé pour former des clôtures défensives [55]. Les feuilles sont employées largement comme une réserve fourragère d'appoint pour les chameaux et les chèvres [63]. C'est la seule espèce

ligneuse spontanée qu'on rencontre aux limites Nord du désert. En Afrique, le bois du jujubier est utilisé pour la sculpture et la menuiserie [51].

Tableau 1.1. Usages traditionnels de Zizyphus lotus L

Parties utilisées	Mode d'administration	Usages	Références
Racines	Orale	Hypoglycémiant. Trouble du tube digestif et le foie Antiulcères Antidiabétique	[45, 19, 64 et 65]
Feuilles	Orale	anti-inflammatoire et Analgésique antimicrobiens	[66 et 67]
	Externe	Contre les piqûres des vipères au Sahara. Cicatrisant	[16 et 68]
Fruits	Orale	traitement de la gorge et les affections respiratoires	[19 et 66]
Grains	Orale	substances sédatives	[69]

1.2.7. Les investigations phytochimique sur le genre Zizyphus

Des études phytochimiques effectuées sur certain genre de Zizyphus montrent la présence des différents alcaloïdes cyclopeptides, des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les terpènes, stérols et les acides gras [55] Tableau 1.2.

Tableau 1.2. Phytoconstituants isolés du genre *Zizyphus*.

Métabolite secondaire	Composés	Espèce	Ref
Flavonoïdes	Quercétine 3-O-rutinoside	<i>Zizyphus jujuba</i> L.	[70, 61]
	Quercétine 3-O-β-D-xylosyl-(1→2)-α-L rhamnoside	<i>Zizyphus spina christi</i> L.	
	3',5'-di-C-β-D-Glucosylphloretine	<i>Wild</i>	
	Quercétine 3-O-β-D-xylosyl-(1→2)-α-L-rhamnoside-4'-O-α-L-rhamnoside		
	5,7,3',4'-tetramethoxycatechine	<i>Zizyphus jujuba</i> Mill. var.	[52,71]
	Pinoembrine	<i>spinosa</i>	
Alcaloïdes	Jubanine-C	<i>Zizyphus jujuba</i>	[72]
	zizyphine-A		
	Mauritine J	<i>Zizyphus mauritiana</i>	[73]
	Amphibine E		
	sanjomine-B	<i>Zizyphus vulgaris</i>	[42]
	sanjomine-F		
Terpènes	Betuline	<i>Zizyphus jujuba</i>	[62]
	acidebetulinique		
	Ester méthylique d'acide alphitolique	<i>Zizyphus jujuba</i> Mill.var.	[62]
	Acide epiceanothique	<i>spinosa</i>	
	Acide ceanothique		
Acide gras	Acide alpha-linolénique	<i>Zizyphus mistol</i>	[74]

II. Généralités sur les métabolites secondaires des plantes

Les plantes sont dotées d'un métabolisme secondaire qui dérive du métabolisme primaire et permet la production de substances phytochimiques appelée métabolites secondaires [75] (Figure1.3). Ces derniers assurent diverses fonctions « non indispensables » pour la plante contrairement aux métabolites

primaires (sucres, protéines, lipides et acides nucléiques) participant aux fonctions cellulaires essentielles (photosynthèse, reproduction...).

La distribution taxonomique de ces métabolites est restreinte à certains taxons, dont la contribution au fonctionnement cellulaire et au développement de la plante serait insignifiante.

La plus part des métabolites secondaires sont impliqués dans les interactions établies entre la plante et son environnement [76], et contribuent à la survie de l'organisme dans son écosystème en exerçant une fonction de défense vis-à-vis des microorganismes pathogènes et/ou des prédateurs, en créant une barrière protectrice contre les rayons ultra- violets, en attirant les agents pollinisateurs et permettant la dissémination du pollen et des graines ou encore en agissant comme substances allélopathiques vis-à-vis d'autres plantes[11,77]. .

Depuis quelques années, on s'intéresse aux métabolites secondaires dans divers domaines d'applications en tant qu'antibiotiques, herbicides, insecticides, médicaments et autres composés.

En fonction de leurs origines biosynthétiques (Figure1.3), les métabolites secondaires des plantes se subdivisent en trois grandes catégories :

- les composés phénoliques et leurs dérivés,
- les terpènes / terpénoïdes
- les composés azotés ou alcaloïdes.

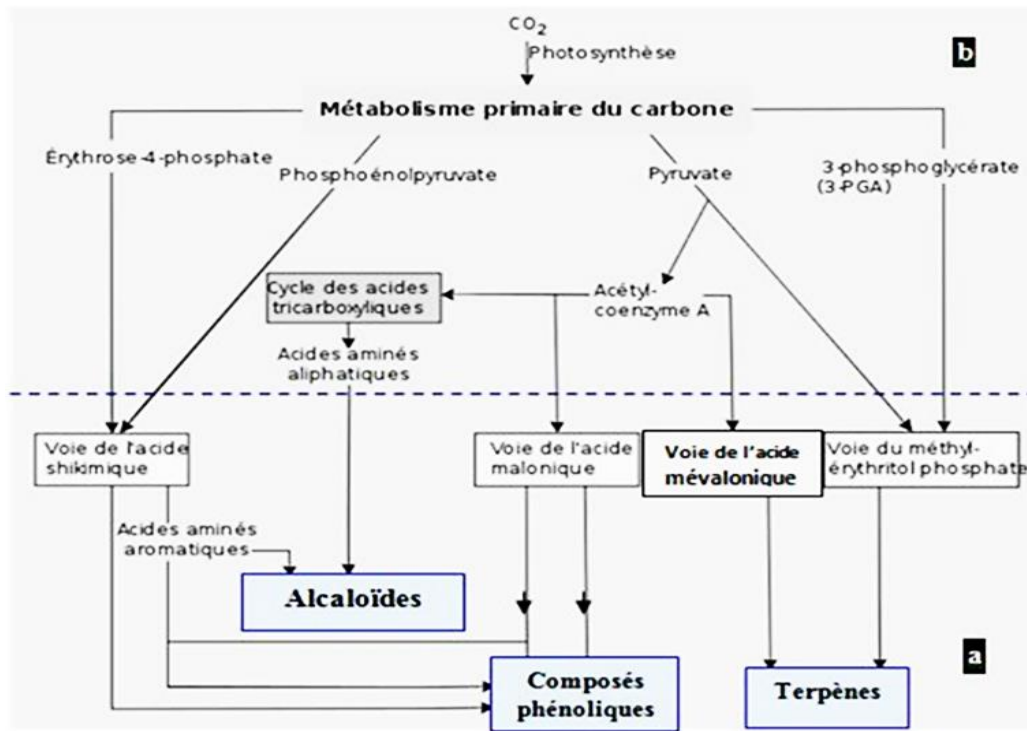


Figure 1.3. Voies du métabolisme secondaire (a) dérivant du métabolisme primaire (b) [75]

II.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols, sont des substances spécifiques du règne végétal et appartiennent à leur métabolisme secondaire [78]. Ils se trouvent dans les différents organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux fruits [79].

Les polyphénols regroupent un grand nombre de molécules, avec plus de 10 000 molécules identifiées [80] dans leur structure, ils sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle (OH) libre ou engagé avec une autre fonction (ester, éther ou hétéroside) (Figure 1.4) [68,81], ces métabolites n'exercent pas de fonction directe dans l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction [82, 83].

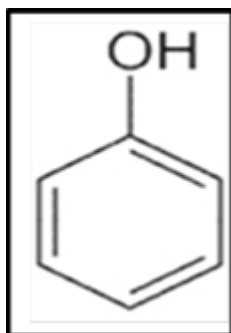


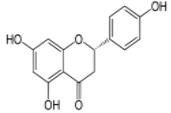
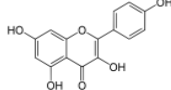
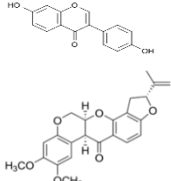
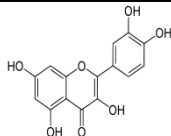
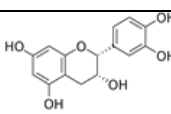
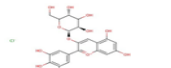
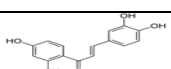
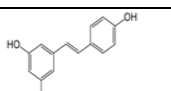
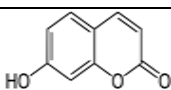
Figure 1.4. Structure du noyau phénolique [84]

1.1. Classification

La classification des polyphénols est basée sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On distingue deux sortes, les polyphénols simples et les polyphénols complexes [85,86].

Les principales classes de composés phénoliques rencontrées chez les végétaux sont résumées dans le tableau ci-dessous (Tableau1.3). Nous ne décrivons dans ces généralités que les familles les plus rencontrées et celles qui ont fait l'objet d'une investigation dans cette étude.

Tableau1.3 : Principales classes des composés phénoliques [87, 88 et 89].

	Classes	Squelette carboné	Exemple	Formule	Origine	
F l a v o n o ï d e s	Flavanones	$C_6-C_3-C_6$	Naringénine Eriodictyol		Fruits du genre Citrus	
	Flavones	$C_6-C_3-C_6$	Kaempférol		Fraise, Persil, Céleri.	
	Isoflavonoïdes	$C_6-C_3-C_6$	Daidzéine Roténoïde		Graine de soja, Thym, Camomille	
	Flavonols	$C_6-C_3-C_6$	Quercétine Kaempférol		Oignon, Poireau, Brocolis, Thé, pomme, chou frisé,	
	F l a v o l s	Monomères	$(C_6-C_3-C_6)_n$	Procyanidol		Raisins, Kaki
		Polymères (Tanins)	Condensés	$C_6-C_3-C_6$	Constituée sous unitécatechine ou épicatechine	
			Hydrolysables		constitué d'acide gallique ou ellagique	
		Anthocyanine	$C_6-C_3-C_6$	Délphinidol		Raisin Cabernet
	Chalcones		Butéine		Tomate	
Non flavonoïdes	Acide phénoliques	C_6-C_1	Acide gallique		Artichaut	
	Stilbénes	$C_6-C_2-C_6$	Trans-resvératol Hydrangénol		Raisin Pin	
	Lignanes	$(C_6-C_3)_2$	Entérodiol, Matairésinol		Bactéries intestinales	
	Coumarins	C_6-C_3	Ombelliférone		Carottes, coriandes	

1.2. Polyphénols simples

1.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques aromatiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux classes ; les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) et de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3) [90].

1.2.1.1. Acide hydroxybenzoïque et dérivés

L'acide hydroxybenzoïque dérive de l'acide benzoïque, il existe sous la forme de trois isomères ortho, méta et para-hydroxybenzoïque en fonction de la position du groupement hydroxyle (Figure1.5).

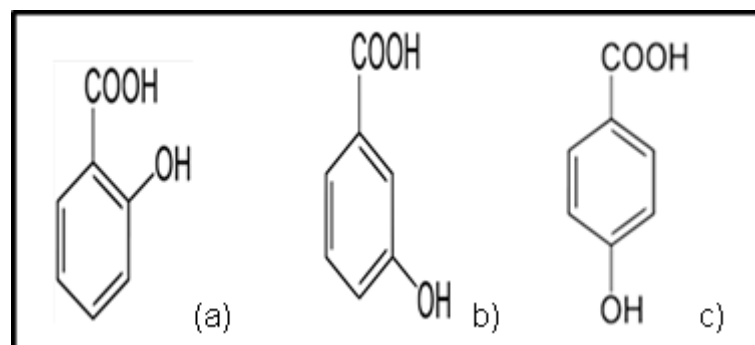


Figure1.5:Structures chimiques des isomères de l'acide hydroxybenzoïque [91].

- a): acide 2-hydroxybenzoïque (o-hydroxybenzoïque ou acide salicylique),
- b) : acide 3-hydroxy-benzoïque (m-hydroxybenzoïque).
- c): acide 4 - hydroxybenzoïque (p hydroxybenzoïque ou PHB).

Il existe dans la nature un nombre important de dérivés d'acide hydroxybenzoïque avec des groupements hydroxy (OH) ou méthoxy (O-CH₃) supplémentaires, tels que:

- Acidesdihydroxybenzoïques(acidegentisique et acide protocatéchique),
- Acides trihydroxybenzoïques (acide gallique)
- Acides méthoxylés (acide vanillique) et diméthoxylé (acide syringique).

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides [90, 92], ils sont abondants dans certains aliments (fraises, oignons et fruits rouges) et épices [93].

1.2.1.2. Acide hydroxycinnamique et dérivés

L'acide hydroxycinnamique appelé aussi acide coumarique dérive de l'acide cinnamique, il est présent dans la nature sous forme de trois isomères (ortho, méta et para-coumarique) en fonction de la position du groupement hydroxyle sur le cycle benzénique. L'acide para-coumarique (Figure.1.6) est le plus abondant dans la nature par rapport aux autres isomères et représente l'élément clé dans la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes.

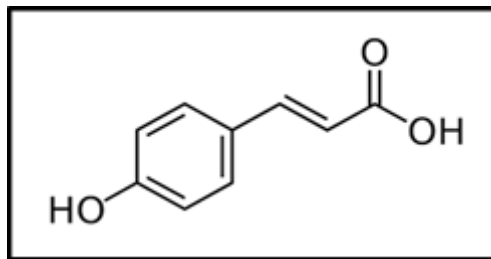


Figure 1.6. Structure chimique de l'acide para-hydroxycinnamique.

Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique ont une distribution très large, ils sont rarement libres et souvent estérifiés [92], ils peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres ou des polyols [90]. Quelques dérivés de l'acide para-hydroxycinnamique sont représentés dans la figure 1.7.

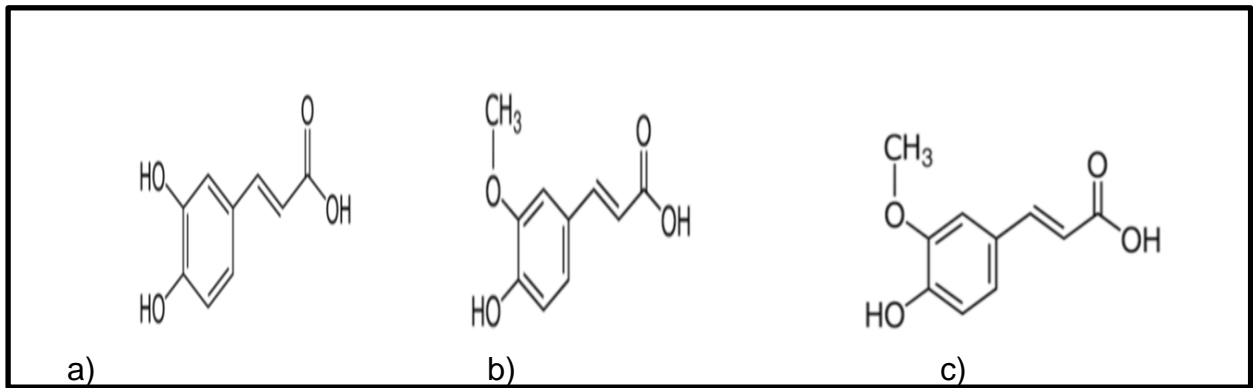


Figure 1.7. Structure chimique de quelques dérivés d'acide p-hydroxycinnamique .
 a) :acide caféique (acide 3,4- dihydroxy- cinnamique) ; (b): acide férulique (acide 4-hydroxy-3-méthoxycinnamique); (c): acide sinapique (sinapinique ou acide 3,5-diméthoxy-4- hydroxycinnamique).

L'acide férulique est un élément clé dans la synthèse de la lignine qui imprègne les parois de certains tissus végétaux. L'acide caféique, principal dérivé de l'acide hydroxycinnamique, est présent dans de nombreux végétaux, en particulier dans les fruits. Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxycinnamiques de la majorité des fruits. Il est souvent sous forme d'ester de l'acide quinique avec lequel il forme l'acide chlorogénique [93].

1.2.2. Coumarines

Les coumarines, substances naturelles aromatiques, sont issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique (acide coumarique), leur structure de base est en C6-C3 [94]. Elles sont présentes chez les Angiospermes Dicotylédones avec plus de 800 composés listés. Les coumarines se trouvent soit à l'état libre ou bien sous forme glycosylée. La glycosylation est une forme de stockage qui permet d'éviter les effets toxiques des coumarines [95, 96, 97 et 98]. Les principales structures de coumarines sont données dans la figure suivante (Figure.1.8).

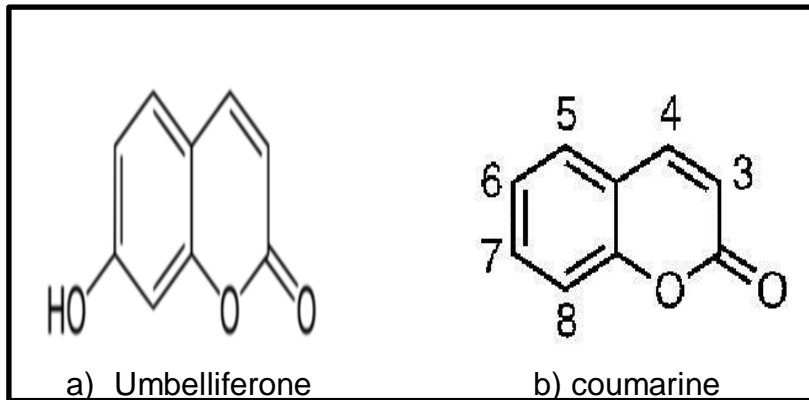


Figure 1.8. Structure chimique des principales coumarines [76, 96].

(a): Ombelliférone, (b): Coumarine (ou 1,2-benzopyrone).

1.2.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Plus de 4000 flavonoïdes sont caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux [99].

Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes [100].

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est basée principalement sur un squelette de 15 atomes de carbone arrangés en une configuration C6-C3-C6 (Figure 1.9). Ils sont constitués de deux noyaux aromatiques, deux cycles en C6 (noyaux A et B) et sont reliés entre eux par une chaîne en C3 formant ainsi un hétérocycle oxygéné central C [101, 91 et 102].

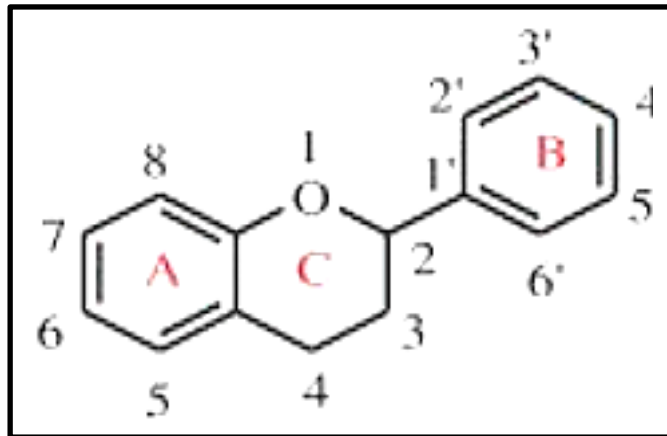


Figure 1.9. Structure chimique de base des flavonoïdes [103].

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, réparties :

Flavonoïdes au sens strict qui regroupent sept classes : les flavones, flavonols, flavanols ou dihydroflavonols, flavanones, aurones, chalcones et dihydrochalcones.

Flavonoïdes au sens large qui renferment trois classes, les flavan-3-ols appelées aussi flavanols ou catéchines, les flavan-3,4-diols dites aussi flavanediols ou leucoanthocyanidines et les anthocyanidines ou anthocyanidols.

Les principales d'entre elles sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols et les anthocyanidines. Les isoflavonoïdes ($C_6-C_3-C_6$), les biflavonoïdes ($(C_6-C_3-C_6)_2$) et les tanins condensés ($C_6-C_3-C_6$) n se rapprochent structurellement des flavonoïdes car ils présentent un noyau en C_{15} commun.

La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en position 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides [104].

1.2.3.1. Flavones et flavonols

Les aglycones flavoniques (flavones et flavonols) sont les plus abondants des flavonoïdes. Le cycle A est généralement substitué par deux hydroxyles

phénoliques en C5 et C7 et ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés, l'un d'entre eux peut s'engager dans une liaison hétérosidique. Le cycle B est substitué en C4', il peut aussi être 3',4'-di-substitué ou moins fréquemment 3',4',5' tri-substitué ; ces substituants peuvent être des hydroxyles (OH) ou méthoxyles (OCH₃). Les autres positions (C2' et C6') ne sont que rarement substituées.

Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle (OH) en position C3. Ils peuvent exister soit sous forme d'hétérosides ou sous forme d'aglycones. Les sucres impliqués sont des aldoses. Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la myricétine. Les flavones les plus abondantes sont la lutéoline et l'apigénine (Figure 1.10) [105, 106 et 107].

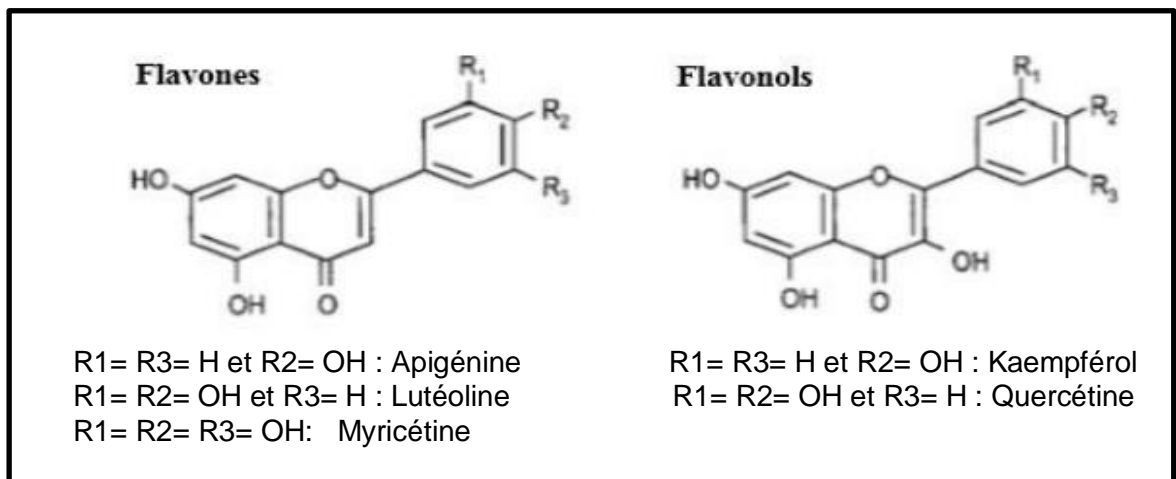


Figure 1.10. Structures chimiques de quelques flavones et flavonols [103].

1.2.3.2. Flavanones et flavanonols

Ces composés sont caractérisés par la présence d'un centre de chiralité en C2 et par l'absence de la double liaison entre C₂ et C₃ [84]. Les dihydroflavonols (flavanonols) diffèrent des flavanones par l'hydroxylation en position C₃ (Figure.1.11) [99].

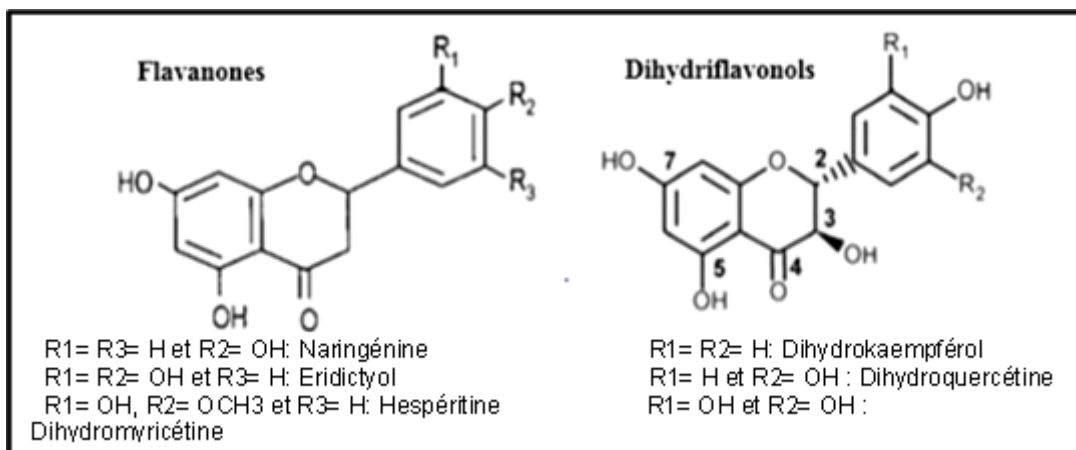


Figure 1.11. Structures chimiques de quelques flavanones et flavanonols [108, 109].

1.2.3.3. Flavan-3-ols et flavan-3,4-diols

Les flavan-3-ols (flavanols ou catéchines) et flavan-3,4-diols (flavanediols ou leuco- anthocyanidines) se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C4 et par la présence d'un groupe hydroxyle (OH) en C3 (Figure.1.12).

Les flavan-3-ols sont très complexes, ils vont de simples monomères de cathéchine et de son isomère l'épicaéthéchine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines. De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocaéthéchines [104].

Les flavan-3,4-diols se distinguent des catéchines par la présence d'un hydroxyle (OH) en C4. Ils possèdent trois atomes de carbones asymétriques, ils peuvent exister sous forme de huit stéréo-isomères. Les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des polymères flavoniques, les proanthocyanidols ou tanins condensés [68].

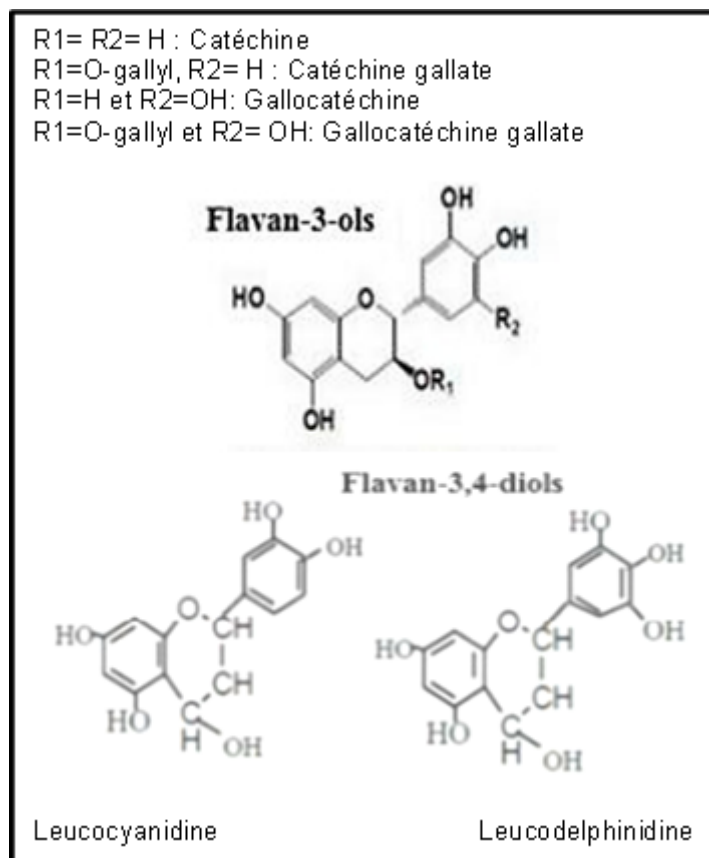


Figure 1.12. Structures chimiques de quelques flavan-3et flavan- 3,4diols [104].

1.2.3.4. Anthocyanidines

Les anthocyanes sont des dérivés du cation flavylum (Figure 1.13), qui est un ion oxonium, dans lequel l'atome d'oxygène est tétravalent et chargé positivement [110]. Ce sont des pigments vacuolaires qui se trouvent principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouge en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin [111].

Les anthocyanidines se distinguent entre eux par l'arrangement des substitutions sur le cycle B, quand le nombre de substitution augmente dans ces aglycones, la coloration devient un bleu intense, alors que la méthylation des groupes hydroxyles conduit à une coloration rouge.

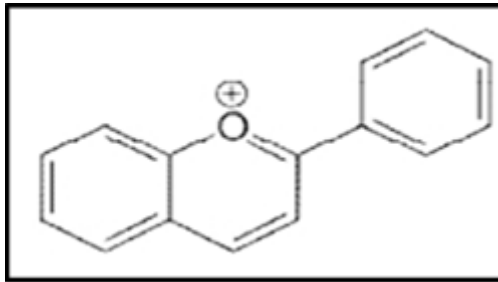


Figure 1.13. Cation Flavylium (C₁₅H₁₁O⁺) formant le squelette de base des anthocyanidines

Les composés les plus courants sont la cyanidine, la pélagonidine et la malvidine (Figure.1.14) [112, 113].

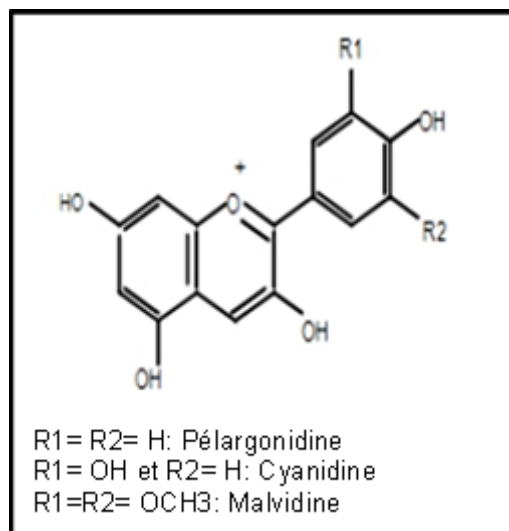


Figure1.14. Structures chimiques de certaines anthocyanidines [114, 104].

1.2.3.5. Chalcones et aurones

Les chalcones sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tri-carbonée, cétonique et insaturée, le cycle A est le plus souvent substitué de la même manière que les autres flavonoïdes alors que le cycle B est généralement non substitué. Ces composés se distinguent des autres types de

flavonoïdes par l'ouverture du noyau pyranique central. Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumaranone (Figure.1.15) [68].

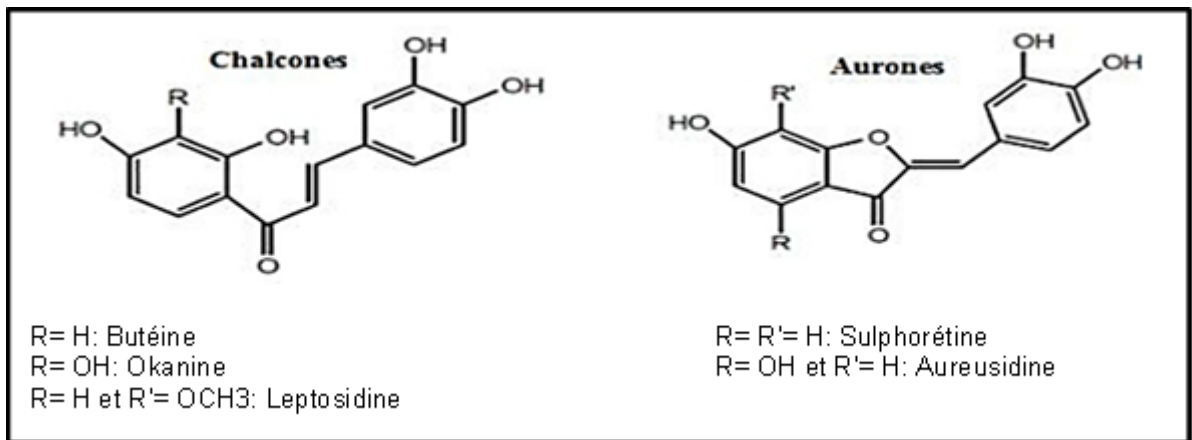


Figure.1.15. Structures chimiques de certaines chalcones et aurones [68, 115].

1.2.4. Isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes sont considérées comme des dérivés de flavones, elles sont caractérisées par la présence d'un cycle B fixé en position C3 plutôt que C2 (Figure 1.16). Ces composés sont très répandus chez les légumineuses [116].

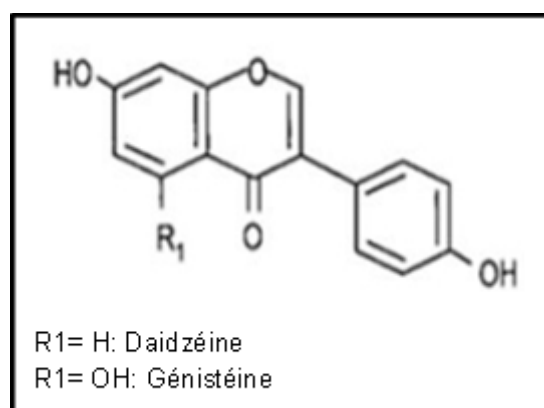


Figure 1.16. Structures chimiques d'isoflavonoïdes [117].

1.3. Polyphénols complexes

1.3.1. Tanins

Les tanins représentent une famille très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles [118]. Le terme tanin regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines [119], d'où leurs capacité de tanner le cuir. Sur le plan structural, ils sont subdivisés en deux groupes, les tanins hydrolysables et les tanins condensés [120].

1.3.1.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés en particulier l'acide ellagique [121]. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) [110].

1.3.1.2. Tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 [105, 122].

1.3.2. Lignines

Les lignines sont des polymères qui résultent de la polymérisation tridimensionnelle de trois molécules phénoliques de base qui sont les alcools p-coumarylique, coniférylique et sinapylique ; ces alcools sont oxydés en radicaux libres par la peroxydase. Les radicaux libres réagissent spontanément et au hasard pour former les lignines (Figure1.17) [96, 91].

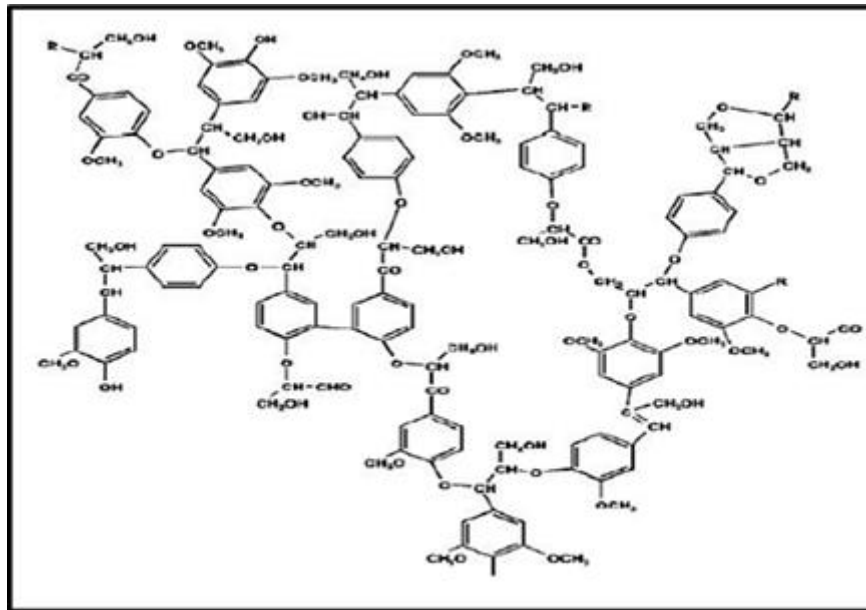


Figure 1.17. Structure chimique d'un polymère de lignines [96, 91].

1.3.3. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison (C6-C2-C6). La plupart de ces composés dérivent de l'unité de base trans-résvératrol (Figure 1.18). Ils sont isolés de la plante sous forme hydroxylés, méthylés, estérifiés ou glycosylés. Ces molécules sont fortement associées à la résistance de plantes contre diverses maladies ou stress environnementaux [123, 124].

Les stilbènes sont peu abondant dans les aliments [124,125]. Leurs source principale sont les raisins, le soja et les arachides [126].

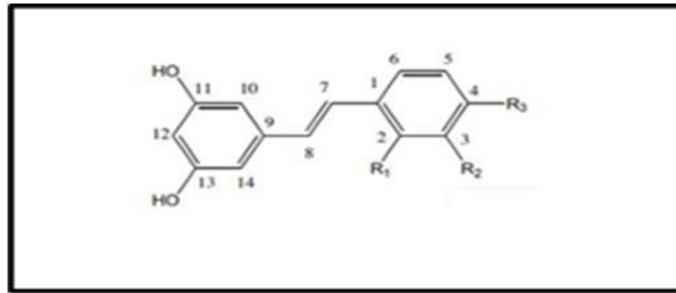


Figure1.18 Structure chimique d'un stilbène [127].

1.3.4. Alcaloïde

Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, doué de propriétés pharmacologiques marquées [15].

Les alcaloïdes sont essentiellement présents chez les Angiospermes, et plus particulièrement les dicotylédones. Certains alcaloïdes sont présents dans plusieurs genres appartenant à des familles très différentes (caféine), ou bien sont restreints à une seule espèce (morphine) [68].

Les alcaloïdes se rencontrent dans toutes les parties de la plante, mais peuvent prédominer dans les feuilles, les graines, l'écorce [128]. Ils se conservent généralement bien dans les plantes séchées et sont responsables de la toxicité de certaines drogues. Ils sont aussi utilisés comme apéritifs [129], antalgiques, antitussifs et laxatifs [90].

1.3.5. Saponines

Ce sont des molécules de forme hétérosidique. Ils se divisent en saponosides à génine triterpenique et stéroïdique. Les saponosides (saponines) doivent leur nom au fait que comme le savon, elles produisent de la mousse en contact avec l'eau [68].

Les saponines stéroïdiques ont une structure chimique similaire à celle de nombreuses hormones humaines (cortisol et œstrogène) et confèrent aux plantes qui les contiennent une activité hormonale, comme la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*).

1.3.6. Terpènes et stéroïdes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté et d'un intérêt chimique considérable. Ils sont des hydrocarbures naturels, de structures soit cyclique ou chaîne ouverte. [77, 96] montrent que leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène (5 atome de carbone) provenant de la voie de l'acide mévalonique.

Les terpénoïdes ou isoprénoïdes constituent un grand groupe de métabolites dérivés de l'isoprène C5 (2-méthyl-1,3-butadiène) formé par conjugaison «tête-bêche». Les terpénoïdes remplissent des fonctions biologiques variées chez les plantes, des rôles essentiels en tant que composants de la chaîne de transport d'électrons, pigments (caroténoïdes et chlorophylles), éléments de structure et de fonction membranaires (phytostérols), hormones (c.-à-d. Gibbérellines, strigolactones, brassinostéroïdes, acide abscissique, cytokinines isoprénoïdes), glycosylation des protéines (dolichols), à la défense (antimicrobien/anti-insecte) et aux attractifs (signaux volatils) [130, 131 et 132].

1.4. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols des végétaux sont élaborés par deux grandes voies, la voie du shikimate et la voie polyacétate, qui consiste en une condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse permet la formation d'une grande diversité de molécules qui caractérisent une espèce de plante, un organe ou un tissu particulier [95, 90].

Par ailleurs, les différents facteurs externes et internes (lumière, rayonnement UV, température, hormones, agents pathogènes ou autres) sont fortement impliqués dans la régulation spatio-temporelle de l'expression du métabolisme phénolique [133], se traduisant par des différences qualitatives et/ou quantitatives

considérables entre les espèces, les sous-espèces, les variétés, les organes et les tissus, et selon les stades physiologiques.

1.4.1. Voies de biosynthèse

1.4.1.1. Voie de l'acide shikimique

La biosynthèse de dérivés du phénylpropane se fait par l'intermédiaire de l'acide shikimique qui représente la principale forme d'accumulation des phénols dans la plante. Cette voie de biosynthèse fait intervenir une série de réactions et représente la voie de biosynthèse des acides aminés aromatiques (Figure1.19).

1.4.1.2. Voie des polyacétates

La biosynthèse des composés phénoliques par cette voie, débute par la polymérisation d'unités acétates activées sous forme de malonyl-CoA suivie par des cyclisations ensuite l'aromatisation du noyau phénolique. Cette voie concerne surtout la synthèse des quinones [76].

1.4.2. Biosynthèse des flavonoïdes

Le cas des flavonoïdes présente cependant une originalité car ils ont une origine mixte, dérivant à la fois du p-coumaroyl CoA (voie du shikimate) et de l'enchaînement de trois maillons acétate apportés sous forme de malonyl-CoA (voie des polyacétates), qui se condensent en une seule étape pour former une chalcone ;celle-ci représente le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes (Figure1.20).

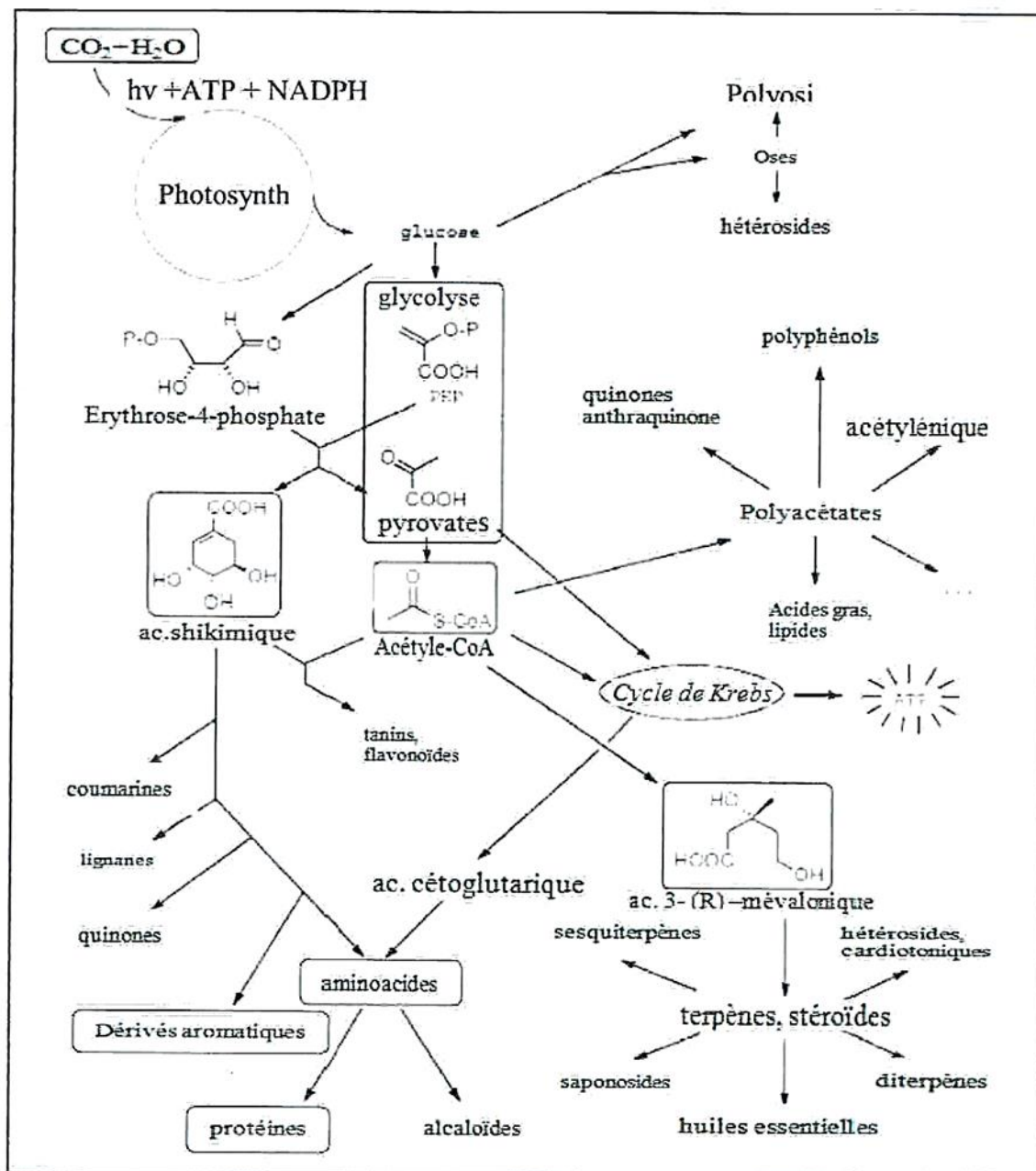


Figure 1.19. Biosynthèse des métabolites secondaires [134, 135 et 136].

1.5. Activités biologiques des polyphénols.

La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone, sur cette dernière qu'agit la flavone synthase ou la 2S-flavanone-3-hydroxylase pour donner les flavones.

Le dihydroflavonol en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise respectivement en flavonol ou en flavan-3,4-diols et

leucoanthocyanidol. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidols [96, 91 et 137].

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques. Ces composés présentent des propriétés thérapeutiques telles que : effets antioxydants [138, 139] et antimicrobiens [140].

1.5.1. Activité antioxydante

L'intérêt porté aux antioxydants naturels notamment de nature phénolique ne cesse de croître, ces métabolites secondaires sont quotidiennement consommés par l'organisme vivant par l'alimentation [141]. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans le processus de régulation du stress oxydant.

De nombreuses propriétés sont invoquées pour expliquer l'action des flavonoïdes et il a été montré qu'ils agiraient *in vitro* sur la réduction de l'acide déhydroascorbique via le glutathion à l'encontre duquel ils se comporteraient comme des donneurs d'électron.

Ils agissent comme antioxydants grâce à leur capacité à se complexer avec des métaux de transition comme le fer, empêchant ainsi la réaction de Fenton qui aboutit à la formation du radical hydroxyle, et comme inhibiteurs de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène [99].

Les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont exprimées en termes de potentiel anti radicalaire car ils possèdent une structure chimique aromatique permettant une bonne stabilisation des radicaux libres comme les radicaux superoxyde, hydroxyle, peroxyde et alkoxyde [142].

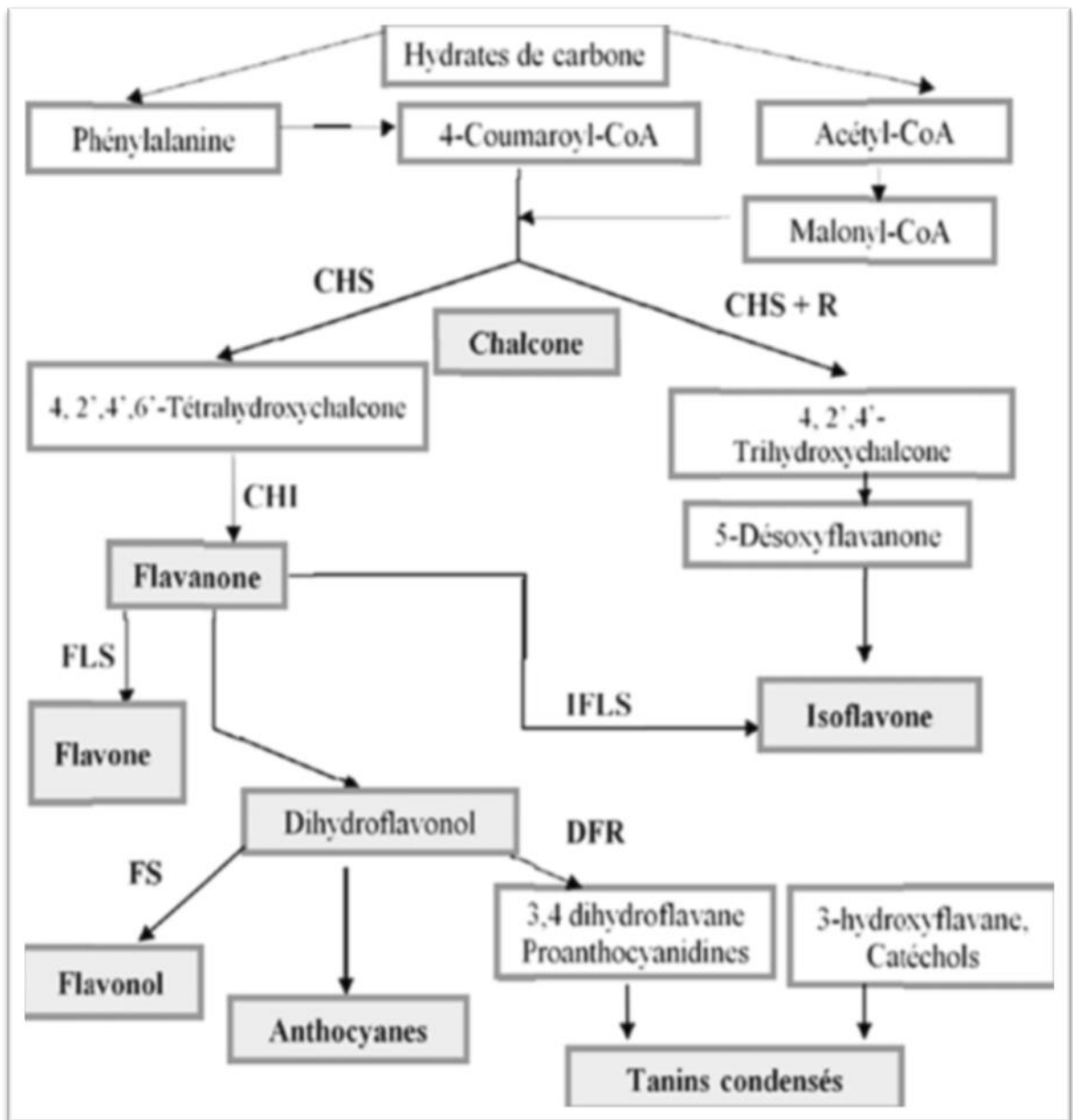


Figure 1.20. Grandes lignes de biosynthèse de quelques classes des flavonoïdes [91].

CHS : Chalcone synthase, R : Réductase, CHI : Chalcone isomérase, FLS : Flavone synthase, IFLS : Isoflavone synthase, FS : Flavonol synthase, DFR : Dihydroflavonol réductase.

Ce potentiel est basé en particulier sur le phénomène de résonance électronique stabilisant exercé par les noyaux aromatiques, cette activité nécessite (Figure.1.21): la structure ortho- dihydroxyphénolique du cycle B, la double liaison C2-C3 de l'hétérocycle C, conjuguée avec la fonction 4-oxo qui est responsable de la délocalisation des électrons, en améliorant ainsi la capacité antiradicalaire et les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 [143], comme par exemple : la quercétine et la myricétine [144].

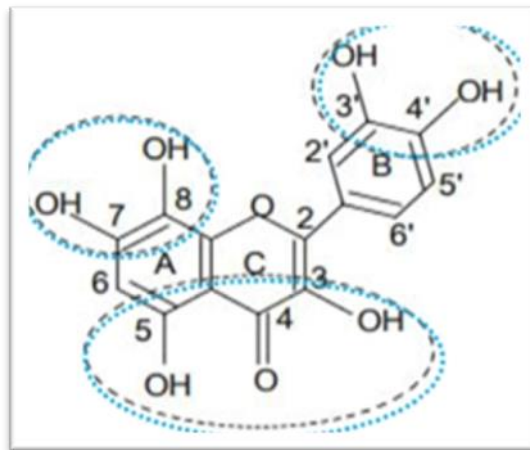


Figure 1.21. Critères structuraux essentiels pour avoir une bonne activité anti radicalaire des flavonoïdes [145].

Les flavan-3-ols sont des antioxydants très puissants. La capacité antioxydante des dimères de type B liés en 4-6 semble supérieure à celle des dimère de type A liés en 4-8 [146]. En effet l'électrochimie permet d'obtenir les potentiels d'oxydation des différentes combinaisons flavonoïdes / métal en jeu, il est possible de classer les flavonoïdes selon leur capacité à chélater un cation et par la suite, selon leur activité antioxydante [147].

1.5.2. Activité antimicrobienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéases et carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines (protéines d'adhésion) microbiennes, les protéines de transport ainsi que les protéines de la paroi cellulaire [121].

De nombreuses études ont démontré par ailleurs que cette activité est due à la capacité des flavonoïdes à inhiber la synthèse de certaines enzymes, protéines membranaires et l'expression de l'ADN des microorganismes [148].

1.5.2.1. Activité antibactérienne

La valorisation de molécules naturelles bioactives de diverses plantes riches en métabolites secondaires (les acides phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les terpènes, et les saponines) qui pourraient constituer une source potentielle de nouveaux agents antimicrobiens. Ces substances jouent un rôle important dans la résistance contre divers pathogènes microbiens (Tableau 1.4).

Le mécanisme d'action des métabolites secondaires varie d'une molécule à une autre. Certains acides phénoliques agissent en endommageant la membrane cytoplasmique des bactéries provoquant ainsi une perte de l'intégrité de la membrane et conduisant à une fuite des constituants intracellulaires [149].

Les catéchines sont capables de franchir la paroi de la cellule en perturbant la bicouche lipidique, comme ils peuvent provoquer une fusion membranaire, un processus qui entraîne une fuite de matériaux intramembranaire et une agrégation [150].

L'activité antibactérienne des flavonoïdes pourrait être attribuée soit à l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, la synthèse des parois cellulaires ou le métabolisme énergétique, soit à l'endommagement de la membrane cytoplasmique, réduire la fluidité membranaire [151, 152]. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes [153], car leur propriétés oxydo-réduction jouent un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes [154].

Les caractéristiques physico-chimiques des composés phénoliques soit la solubilité dans l'eau ou/et la lipophilie peuvent influencer cet effet antibactérien.

L'hydrophobicité des polyphénols tels que les flavonols est aussi un critère de toxicité, qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires et exercer leurs actions à l'intérieur de la cellule [152].

1.5.2.2. Activité antifongique

La majorité des polyphénols ont une activité antifongique puissante. Les travaux réalisés par Ortuno A et al [155], ont démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxy-flavones extraites de *Citrus parasidi* et *Citrus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. En effet, la naringinine et l'hespéridine extraites de ces deux espèces de *Citrus* servent à protéger ces dernières contre les attaques de *Penicillium digitatum*.

Une autre étude réalisée par Batawila K et al [156], a démontré aussi que les flavonoïdes extraites de *Conyza aegyptiaca* L., ont une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trychophyton mentagrophyte* et *Candida zeylanoides* avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant entre 0,25 et 4 mg.mL⁻¹. Une étude phytochimique a montré que ces extraits sont riches en tanins et en flavonoïdes qui seraient à l'origine de leur activité.

Certains composés terpéniques possèdent également une activité anticandidosique et agiraient en affectant l'intégrité de la membrane provoquant ainsi l'arrêt du cycle cellulaire [157, 158] et/ou en inhibant la synthèse de la chitine des levures [159, 160 et 50].

1.5.2.3. Activité antivirale

Les polyphénols sont très répandus dans le règne végétal. Ce groupe contient une gamme très importante de substances d'un point de vue structurel. Plusieurs milliers d'entre elles sont décrites. Il est impliqué dans une large gamme d'activités

physiologiques et écologiques fournissant une résistance aux infections fongiques, bactériennes et virales [161, 162, 163 et 164].

Des activités antivirales notamment contre le virus de l'immunodéficience Humaine (HIV) sont soulignées [165,166 et167]. En effet l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine sont des inhibiteurs de la fusion et de l'intégration du VIH-1 à la cellule hôte. L'europeine peut aussi interférer avec la synthèse ses acides aminés nécessaires pour l'activité virale prévenant ainsi la diffusion, le développement et l'attaque de la membrane cellulaire [167].

Selon *Siddhuraju P* [268], en l'absence de vaccin contre le SIDA, les microbicides topiques susceptibles de bloquer la transmission du virus pourrait s'avérer très utiles. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée du HIV-1 qui peuvent être isolés par adsorption sur de l'amidon de maïs. L'étude de ce complexe montre qu'il ploque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires, l'extrait de grenade pourrait donc être utilisé par la production d'un microbicide efficace [268].

Tableau1.4.Les principaux composés phénoliques.

Les principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Composés phénoliques	Microorganismes	Exemples
Flavane-3-ol Flavonole	Bactéries Virus Champignons	<i>Vibrio cholerae, Bacillus cereus, Escherichia coli, Streptococcus mutans, Campylobacter jejuni, Clostridium perfringens, Helicobacter pylori, Staphylococcus aureus, Lactobacillus acidophilus,</i> <i>Adénovirus, Enterovirus, Flu Virus.</i> <i>Candida albicans, Microsporium gypseum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum .</i>
Tanins condensés	Bactéries Virus	<i>E. coli, S.aureus, Streptococcus mutans.</i> <i>Virus de l'influenza A, type-1 herpès simplex virus (HSV).</i>
Tanins hydrolysables	Bactéries Virus Champignons	Différentes souches de : <i>Salmonella, Staphylococcus, Helicobacter, Bacillus, Clostridium, Campylobacter, Listeria, E.coli.</i> <i>Le Virus Epstein-Barr, les Virus Herpes HSV-1 et HSV-2, Candida parapsilosis.</i>
Acides phénoliques	Bactéries	<i>S.aureus, Listeria monocytogenes, E.coli, Pseudomonas aeruginosa</i>
Néolignane	Bactéries	<i>Differentes souches de Mycobacterium tuberculosis</i>
Coumarines	Bactéries	<i>E.coli, S.aureus Vibrio anguillarum, Edwardsiella tarda</i>
Anthocyanines (Malvidin, Petunidin, Cyanidin)	Bactéries	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

1.5.2.4. Activité insecticide

Des études récentes sur les interactions plantes-insectes ont révélé que certains métabolites secondaires des végétaux peuvent interférer sur la croissance, le développement et le comportement des larves [168].

Parmi ces produits, plusieurs composés phénoliques sont connus par leur toxicité vis-à-vis des insectes phytophages [80] et par leur activité insecticide [87,169]. Ils réduisent les dégâts causés par les insectes grâce à des effets antiparasitaires [170,171 et 172],. une large gamme d'insectes appartenant à différents ordres, semble être très sensible y compris les pucerons [173], les lépidoptères [174], les orthoptères [175] et les diptères [176]. La toxicité des polyphénols est corrélée positivement avec le pouvoir attractif des composés [177].

1.6. Etude de la toxicité

On qualifie de toxique, toute substance capable de perturber, immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable, le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant entraîner sa mort [178, 179 et 172]. L'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose testée [179].

La toxicité des plantes médicinales peut être due aux composés actifs (terpènes, alcaloïdes, saponines, etc...) qu'elles renferment ou à leurs interactions avec d'autres produits (plantes ou médicaments) par effet accumulatif ou synergique [180].

Selon Lapointe G [181], il existe plusieurs types d'études qui permettent d'évaluer les effets d'un toxique :

- Etudes épidémiologiques comparant plusieurs groupes d'individus
- Etudes expérimentales in vivo utilisant des animaux (lapins, souris, rats)
- Etudes expérimentales in vitro : biochimiques, hématologiques ou cellulaires.

1.6.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est définie comme l'ensemble des effets néfastes sur l'organisme. Elle est provoquée par une exposition de courte durée à une seule dose ou à plusieurs doses [182 et 45]. L'étude de la toxicité aiguë permet de déterminer la dose létale 50 % (DL50) [183].

1.6.2. Toxicité subaiguë

Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et éventuellement après apparition, se révéler irréversibles [184, 179 et 185].

1.6.3. Toxicité chronique

C'est l'exposition à de très faibles concentrations à des substances dont les effets cumulatifs finissent par provoquer des troubles beaucoup plus insidieux [186].

❖ Effet sur le foie

Le foie est un organe très complexe. Il est impliqué dans le métabolisme des xénobiotiques, le stockage des nutriments et la détoxification de l'organisme par l'épuration des déchets [187].

❖ Effet sur le rein

Le rein assure le maintien de l'équilibre hydrique, de l'osmolarité et de l'équilibre acido-basique des liquides dans l'organisme. Il élimine les déchets du métabolisme et les substances étrangères à l'organisme [37].

1.7. Activité anti-inflammatoire

1.7.1. Inflammation

L'inflammation est une réaction de défense immunitaire (immunité Innée) et d'adaptation de l'organisme à une stimulation cellulaire excessive ou anormale due à une agression tissulaire d'origine diverse. Cette dernière peut être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse. L'inflammation est diagnostiquée depuis près de vingt siècles, grâce aux signes cardinaux : tuméfaction, rougeur, chaleur, douleur [188, 189].

❖ Types d'inflammations

On distingue classiquement deux types d'inflammation en fonction de la durée de la réaction :

✓ Inflammation aiguë

C'est la réponse immédiate à un agent agresseur qui selon le type et la sévérité de la lésion tissulaire se développe en quelques minutes ou plusieurs heures et persiste en général quelques heures à quelques jours. Elle se caractérise par une phase vasculo-exsudative, une phase cellulaire et une phase de réparation [179, 190].

✓ Inflammation chronique

Elle se manifeste pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois et se caractérise principalement par la persistance de la lésion tissulaire et la présence d'un infiltrat inflammatoire chronique [190].

1.7.2. Anti-inflammatoire :

On distingue deux types d'anti-inflammatoires :

- 1) Anti-inflammatoire stéroïdiens : corticoïdes synthétiques ou naturels (sécrétés par la cortico-surrénale) [191 et 192].
- 2) Anti-inflammatoire non stéroïdiens : l'ibuprofène et le diclofénac qui inhibent la synthèse des prostaglandines.

Cependant, leur utilisation thérapeutique à long terme est souvent associée à des effets secondaires tels que des ulcères gastro-intestinaux et une insuffisance rénale [193, 194 et 195].

Les plantes médicinales possédant un effet anti-inflammatoire peuvent être une alternative aux anti-inflammatoires de synthèse en raison de leur moindre toxicité [196 et 197]. Les composés phénoliques sont dotés de propriétés anti-inflammatoires.

En effet les flavonoïdes et les saponines sont capables d'inhiber la synthèse de certains médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines, l'histamine et les prostaglandines [198,199 et 188].

1.8. Activité antidiabétique

1.8.1. Le Diabète

Le diabète est un excès de glucose, c'est à dire de sucre dans le sang. Le sucre étant le principal « carburant » de l'organisme. Il peut provenir soit de l'alimentation, soit du foie qui peut le fabriquer et le stocker à partir d'autres éléments [200]. Le mot diabète sans épithète, désigne, le plus souvent, le diabète sucré.

Selon les critères de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), il y a diabète quand la glycémie à jeun est supérieure ou égale à au moins deux reprises à 7mmol/l ou 1,26g/l (www.doctissimo.fr).

1.8.2. Le signe du diabète

Le syndrome cardinal diabétique comprenant une polyuro-polydipsie, une asthénie, un amaigrissement, une polyphagie, n'apparaît que pour des glycémies nettement supérieures à 3g /l, responsable d'une forte glycosurie provoquant une polyurie osmotique entraînant à son tour une polydipsie [200].

Cependant, le plus souvent, l'hyperglycémie modérée est asymptomatique. Mais cette hyperglycémie n'est pas toujours symptomatique et un diabète peut se révéler par ses complications métaboliques, dégénératives et infectieuses [200].

-Signes biologiques

L'hyperglycémie est l'augmentation du glucose sanguin à des concentrations supérieures à 0,7g/l de sang. Cette hyperglycémie peut être importante et atteindre 2 à 6g/l ou plus. On considère la glycémie à jeun et 2 h après charge glucosée ce qui permet de distinguer entre le diabète sucré et la diminution de la tolérance au glucose comme le montre le tableau suivant : [201].

Tableau I.5 : La glycémie à jeun et 2 h après charge glucosée

	Glycémie	
	G/l	mmol/l
Diabète sucré		
- A jeun	≥ 1,26	≥7
-2 h après administration de glucose	≥ 2	≥11
Diminution de la tolérance au glucose		
-A jeun	< 1,4	< 8
- 2 h après administration de glucose	Entre 1,4 et 2	Entre 8 et 11

➤ Diabète induit chimiquement

– Diabète induit par la streptozotocine :

Le diabète sucré peut être induit chez l'animal par différentes techniques dont l'injection de la STZ qui est largement utilisée [202 et 203]. La STZ est un glucosamine nitrosé (figure1.14) [204, 205 et 206], qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans [204,207].

Généralement, les rongeurs sont largement utilisés dans la recherche scientifique en raison de leur facilité de manipulation ainsi que le degré d'homologie qu'ils partagent avec les êtres humains.

Selon la voie d'administration, la dose ajoutée de la STZ est variable, l'animal et surtout la pathologie voulue [208]. A titre d'exemple, dans les essais préliminaires, il est primordial de garder la vitalité de l'animal où on injecte de faibles doses de STZ (dose inférieure ou égale à 60mg/ kg) [101].

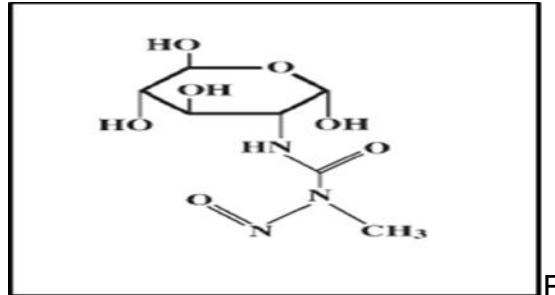


Figure1.22. Streptozotocine

1.9. Méthodes d'extraction des molécules bioactives

C'est la séparation sélective des parties actives des tissus végétaux des composants inactifs ou inertes à l'aide des solvants]. Plusieurs techniques sont utilisées pour extraire les composés bioactives.

1.9.1. Extraction par soxhlet

L'extraction par soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première [209].

1.9.2. Extraction par hydro-distillation

Elle consiste à distiller un composé par entraînement à la vapeur selon un phénomène physique particulier, la création d'un azéotrope (mélange de deux liquides qui bout à température fixe et ne se distille pas en bouillant). La vapeur d'eau chargée en molécules organiques est condensée puis récupérée [210].

1.9.3. Extraction par macération

Elle consiste à mettre une plante ou une partie de plante soluble à froid. C'est la mise en contact de la substance avec un solvant pendant un temps variable

(plusieurs heures, voire même plusieurs jours) à une température ambiante pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser [211].

1.9.4. Extraction par infusion

C'est un procédé simple et rapide qui permet une bonne extraction des principes actifs, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et le bien tromper pour dissoudre les principes actifs. Elle convient pour l'extraction des parties fragiles des plantes (feuilles, fleurs, graines, écorces et racines) [212].

1.9.5. Extraction par décoction

Elle est utilisée pour l'extraction de matières végétales compactes: bois, écorces et racines. Elle consiste à chauffer la plante fraîche ou séchée avec de l'eau pendant 10 à 30min, jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante et les constituants se dissolvent [213].

1.9.6. L'extraction accélérée par solvants

C'est une technique qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50-200 °C) et des pressions (100-150 bar). Cette dernière est maintenue assez élevée pour garder le solvant à l'état liquide qui reste toujours en dessous de ses conditions critiques [214].

1.9.7. Extraction au dioxyde de carbone (CO₂) supercritique

Elle est basée sur l'utilisation comme solvant (CO₂) dans son état supercritique (ni liquide ni gazeux). Le CO₂ en phase supercritique est d'un pouvoir extractant remarquable, car il est inerte chimiquement et non toxique. En plus, la récupération de l'extrait est facile par simple détente du gaz puisque le CO₂ est à l'état supercritique [214].

1.9.8. Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrason (20-100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. Elle est réalisée grâce à un appareil appelé sonicateur qui permet de transformer l'énergie électrique en vibration mécanique longitudinale le long d'une sonde, cette dernière permet de détruire les cellules biologiques en suspension [215].

1.10. Rétrospective des travaux importants réalisés sur *Zizyphus lotus* L.en Algérie.

Tableau 1.6_: Travaux antérieurs sur *Zizyphus lotus* L. en Algérie.

Régions

Régions étudiées	Partie de la plante étudiée	Méthode+ solvant d'extraction	Effets dépistés ou découverts.	Références
Ouargla	- Feuilles -Fruits -Racines	-Décoction -Macération -Eau	-Anti- inflammatoire, -Diurétique, -Pectoral, Sédatif.	Did, O <i>et al.</i> , 2003.
Tlemcen	-Racines	-Décoction -Eau	-Régulateur du diabète	Allali, H <i>et al.</i> 2008
Djelfa	-Pulpe de fruits -Tiges	-Eau	-dysfonctionnement du système immunitaire lié à l'inflammation et au diabète.	Benammar, C <i>et al.</i> , 2010
Souk Ahras	- Feuilles	-Decoction -Eau	-Hypoglycémiant, -Anti-infectieux (infections urinaires).	Bouzabata, A., 2013
M'sila	-Poudre de feuille	-Infusion, -Décoction -Eau	Anti-inflammatoire, (blessure et Eczéma).	Boudjelal, A <i>et al.</i> , 2013

D'après le tableau 1.6, tous les travaux effectués en Algérie sur *Zizyphus lotus* se sont intéressés sur des régions géographiques différentes, de notre région d'étude. Nos échantillons ont été récoltés dans trois régions du pays : Médéa, El Oued et Tamanrasset.

La majorité de ces travaux ont ciblé les fruits, les feuilles et les racines. Les propriétés antidiabétique et anti-inflammatoire sont les effets majoritairement dépistés. L'originalité de notre travail réside dans l'étude de l'activité antibactérienne, antifongique, anti candidose et insecticide des différents extraits (aqueux et organique) de la graine de *Zizyphus lotus* L. L'évaluation in vivo de l'activité anti-inflammatoire et hypoglycémiant a été aussi réalisée.

Par ailleurs, nous nous sommes aussi intéressés à l'identification des composants bioactifs de *Z. lotus* L. Pour cet aspect, aucune information n'est disponible dans les travaux réalisés sur le plan régional.

MATERIEL & METHODES

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Les feuilles et les graines de *Zizyphus lotus* L. sont récoltées la matinée, dans la région de Médéa, d'El Oued et Tamanrasset (Figure 2.1) (Tableau 2.1) au cours de la période allant de Juin à Septembre 2018. Le matériel végétal est identifié selon les clés de détermination de [4]. Cette identification est confirmée au niveau du Département de Botanique de l'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques-El Harrach (Alger). Les différentes parties de la plante sont rincés, séchés séparément à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Ensuite, ils sont broyés à l'aide d'un mixeur, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène à partir de laquelle l'extraction est réalisée dans un Soxhlet et par macération.



Figure 2.1. Localisation géographique de la zone d'étude

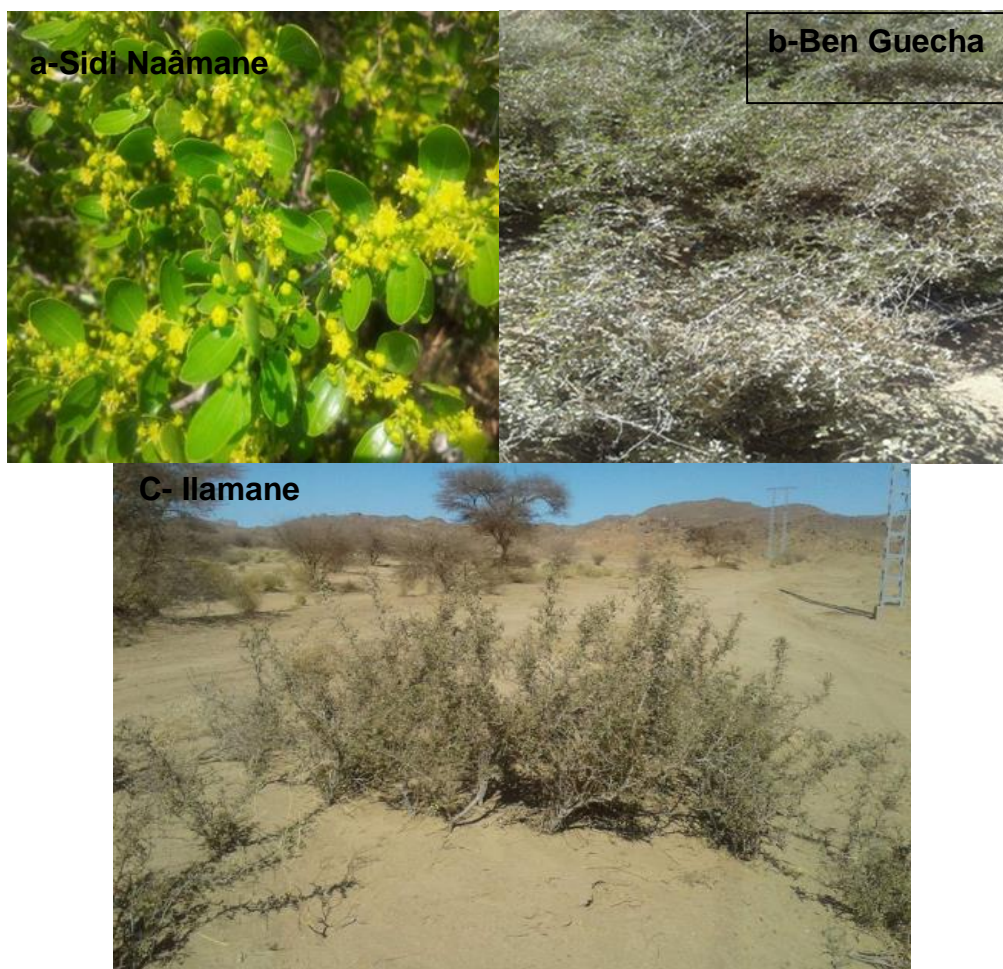


Figure 2.2 : Vue générale des touffes de *Zizyphus lotus* L. de population des régions de (Médéa, El oued et Tamanrasset) photos original.

Tableau 2.1 : Coordonnées géographiques du site de récolte de *Zizyphus lotus* L.

Région d'étude	Altitude	Latitude	Longitude
Médéa (Sidi Naâmane)	635m	36,21	3,12
El Oued (Ben Guecha)	27m	34,21	7,62
Tamanrasset(Ilamane)	1920m	23,20	5,46

1.1.2. Matériel animal

Les animaux utilisés lors des tests pharmaco-toxicologiques proviennent de l'animalerie du complexe ANTIBIOTICAL du C.R.D (Saïdal d'El-Harrach) et de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger (Annexe de Kouba).

Pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire cutanée, Quarante souris ont été utilisées. Ces souris Albinos sont de race NMRI (Naval Medical Research Institute), ayant un poids moyen de $25\pm 0,25$ à $28\pm 0,5$ g.

Toutes les souris sont maintenues sous un cycle lumière / obscurité de 12/12 h, à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et à une humidité de $50\pm 15\%$ constantes. Les femelles sont nullipares et séparées des mâles dans des cages différentes. Leur alimentation standard est réalisée, par des granulés fournis par l'ONAB. Ils reçoivent de l'eau de robinet

Pour l'étude de l'activité antidiabétique par gavage, vingt lapins ont été utilisés. Ces lapins sont de population locale, ayant un poids moyen de $2,34\pm 0,75$ à $3,3\pm 0,072$ kg.

1.1.3. Souches microbiennes

L'activité antimicrobienne est évaluée sur huit microorganismes différents. La plupart sont rencontrés dans diverses pathologies chez l'Homme :

-Les bactéries Gram positif : Staphylococcus aureus ATCC 6538, Bacillus subtilis ATCC 9372.

-Les bactéries Gram négatif : Klebsiella pneumoniae ATCC 4352, Escherichia coli ATCC25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

-Les champignons : Candida albicans ATCC 10231, Candida Krusei, Fusarium. Avenaceum, Fusarium Culmorum, Alternaria.sp, Aspergillus.niger

Ces souches sont obtenues auprès du laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche et de Développement de SAIDAL (Alger) du complexe Antibiotical SAIDAL de Médéa et de l'Institut Pasteur.

Les champignons choisis sont des agents de pourriture fréquente des denrées alimentaires et des fruits et peuvent être toxiques pour l'Homme et les animaux. Les quatre espèces pures et identifiées appartiennent à la collection de la mycothèque du Laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de l'Université de Blida 1.

1.1.4. Elevage de masse des Coléoptères des stocks (*Tribolium castaneum*)

Les insectes utilisés lors de cette étude proviennent des élevages de masse réalisés dans une étuve où les conditions de vie sont favorables (absence de la lumière, $T^{\circ}C=30 \pm 1^{\circ}C$ et une humidité relative de $(70\pm 5\%)$). Les grains de blé proviennent du marché local.

1.2. Matériel non biologique

L'ensemble des équipements, des verreries et des produits utilisés au cours de cette étude est mentionné en Annexe 1.

2. Méthodologie

2.1 Enquête ethnobotanique

Un sondage est effectué dans le but de recueillir des informations sur le recours à la phytothérapie et plus précisément à l'utilisation traditionnelle de cette plante. Au total, 150 personnes sont interviewées entre Avril et Octobre 2018 à travers des enquêtes ethnobotaniques dans différentes localités, villages et douars, riveraines de la forêt de Médéa, El Oued et Tamanrasset.

Lors des entretiens, des questionnaires semi-structurés (Annexe1), sont utilisés pour la documentation des données. Chaque questionnaire était composé de deux parties. La première partie concernait des informations démographiques telles que le sexe, l'âge, l'éducation, la source d'information, l'expérience des participants tandis que la deuxième partie comportait des questions informatives sur le nom local de la plante, l'identification, le mode de préparation (décoction, macération, infusion,...), la partie végétale utilisée (tiges, racines, feuilles, Fruits, graines, partie aérienne,...), le mode d'administration, disponibilité de plante, recette à base de plante et utilisation de la dose. Les noms de la plante sont enregistrés par l'arabe algérien lorsqu'ils sont mentionnés.

Analyse des données

2.2. Fréquence Relative de la Citation (FRC)

L'importance locale de chaque espèce végétale est calculée en fonction de la fréquence relative de la citation [96 et 216]. La FRC est calculée comme suit : le nombre d'informateurs, qui ont mentionné l'utilisation de l'espèce (Fc), divisé par le nombre total d'informateurs (N).

$$RFC = Fc / N$$

2.3. Criblage phytochimique

La poudre des graines et de feuilles de *Z.lotus* L. de différentes régions sont examinés pour leur composition chimique qualitative, en utilisant des méthodes standard [217, 148] pour l'identification des groupes suivants: les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les saponosides...etc.

2.3.1. Mise en évidence des flavonoïdes

Pour caractériser les flavonoïdes, 0,5 g de la matière végétale est placé dans 10 ml d'eau distillée pendant 10 min, après agitation l'extrait est filtré et mis dans un tube, puis, 5 ml d'une solution d'ammoniac diluée sont ajoutés, ensuite, 1 ml d'acide sulfurique est additionné, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes.

Réaction à la cyanidine : nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5 %, et ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool iso amylique.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavonones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones.

- Leucoanthocyanes : nous avons effectué la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffé au bain-marie pendant 15 mn.

En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

2.3.2. Mise en évidence des tanins

Afin de caractériser les tanins, 1,5 g de matériel végétal sec en poudre, sont placés dans 10 ml de méthanol 90 % avec agitation pendant 15 min, l'extrait est filtré et mis dans un tube. L'ajout de FeCl_3 1% permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

Tanins galliques : réaction de Stiasny

A 30 ml d'infusé à 5 %, nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de 40% et 5 ml d' HCl concentré), puis nous avons chauffé au bain-marie à 90 °C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Nous avons ensuite ajouté 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl_3 à 1 %. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins galliques. Filtrer et saturer 10 ml du filtrat d'acétate de sodium. Ajouter quelques gouttes de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

2.3.3. Mise en évidence des alcaloïdes

Nous avons introduit 10 g de poudre végétale séchée dans un erlenmeyer de 250 ml, puis nous avons ajouté 50 ml de H_2SO_4 à 10 %. Après agitation, nous avons laissé macérer 24 heures à la température du laboratoire puis filtré sur papier filtre. Ensuite, nous avons complété le filtrat à 50 ml avec de l'eau distillée.

Caractérisation

Nous avons introduit dans deux tubes à essai 1 ml de filtrat et ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff dans le second.

Les résultats ont été classés comme suit :

Précipité très abondant : + + +

Précipité abondant : + +

Précipité moyen : +

Absent : —

2.3.4. Dérivés anthracéniques

Anthraquinones libres

A 1 g de poudre, nous avons ajouté 10 ml de chloroforme et chauffé pendant 3 mn au bain-marie bouillant. Nous avons ensuite filtré à chaud et complété à 10 ml. A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu, nous avons ajouté 1 ml de NH₄OH dilué et agité. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

- Anthraquinones combinées
- Les O-hétérosides

A partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, nous avons préparé un hydrolysât auquel il a été ajouté 10 ml d'eau, 1 ml d' HCl concentré puis maintenu le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 mn. 5 ml de l'hydrolysât sont agités avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique, nous avons ajouté 1 ml de NH₄OH dilué. ; la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins foncée.

La réaction peut être plus poussée par addition à 5 ml de l'hydrolysât 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 %, puis agitation avec 5 ml de chloroforme. A la phase chloroformique, nous avons ajouté 1 ml de NH₄OH dilué et agité. En présence de

produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

- Les C-hétérosides :

Nous avons repris la phase chloroformique qui a été conservée par 10 ml d'eau, puis ajouté 1 ml de FeCl₃ à 10 %. Après ébullition au bain-marie pendant 30 mn, nous avons agité avec 5 ml de chloroforme et ajouté à la phase chloroformique 1ml de NH₄OH dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines C-hétérosides.

2.3.5. Mise en évidence Stérols et triterpènes

L'extrait à tester a été obtenu à partir de 1 g de poudre et 20 ml d'éther laissé en macération pendant 24 heures, puis filtrés et complétés à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec 10 ml de l'extrait, nous avons dissout le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Nous avons ensuite partagé dans deux tubes à essai. L'un servant de témoin, nous avons mis dans le fond du second tube à essai à l'aide d'une pipette 1 à 2 ml de H₂SO₄ concentré. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, le surnageant devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

2.3.6. Mise en évidence des Saponines

Le principe consiste à déterminer l'indice de mousse persistante pendant une période de 15min d'une décoction aqueuse de 1%. Après refroidissement et filtration, on a réajusté le volume à 100 ml.

Nous avons porté à ébullition 100ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250ml et y ajouté 1g de poudre puis maintenir une ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, nous avons ajusté le filtrat à 100ml.

- **Caractérisation**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons reparti successivement 1, 2,10 ml du décocté à 1 % préparé et ajusté le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, chaque tube a été agité dans

le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Après avoir laissé au repos pendant 15 minutes, nous avons mesuré la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse :

Si elle est proche de 1cm dans le Xème tube, on calcule l'indice de mousse par la formule suivante :

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{\text{Numéro du tube}}$$

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 [254].

2.3.7. Mise en évidence des composés réducteurs

Nous avons introduit 5 ml d'un décocté aqueux à 10 % dans un bécher de 100 ml et évaporé à sec au bain-marie. Au résidu, a été ajouté 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B, mélange extemporané). L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

2.3.8. Mise en évidence des Mucilages

Nous avons introduit 1 ml d'un décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par agitation, indique la présence de mucilages.

2.3.9. Mise en évidence des Coumarines

5 ml d'extrait éthéré obtenu après une macération de 24 heures sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est partagée entre 2 tubes à essai. La présence de coumarines est révélée après ajout dans l'un des tubes 0,5 ml de NH₄OH à 25 % et observation de la fluorescence sous une lampe UV à 366nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

2.4. Etude analytique

- Dosage de l'eau (Méthode gravimétrique)

Principe : Il consiste à déterminer la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve à la température de $103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 24 heures.

Mode opératoire : Pour cela nous avons introduit 5 prises d'essai (1 à 2 g) respectivement dans 5 verres de montre préalablement tarés (T1 à T5). Les masses des prises d'essai plus les tares ont été notées P1 à P5. Après 24 heures de séjour à l'étuve à la température de $103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, nous les avons pesés de nouveau et noté P'1 à P'5. Les prises d'essai ont été placées à l'étuve jusqu'à masse constante [214 et 217]. La masse d'eau contenue dans la poudre de chaque verre de montre notée M est donnée par la formule :

$$M = P - P'$$

La masse de la prise d'essai est :

$$MPE = P - T$$

Le pourcentage d'eau contenue dans la poudre est :

$$Eau\% = [(masse\ eau)/MPE] \times 100$$

M = La masse d'eau contenue dans la poudre

MPE : Masse de la prise d'essai.

Nous avons déterminé la moyenne des pourcentages d'eau des 5 verres de montre dans les mêmes conditions.

- Détermination de la teneur en cendres (Cendres totales)

Principe : il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenues dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.

Mode opératoire : nous avons pesé une prise d'essai de la poudre (M) dans un creuset en silice préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6 heures puis refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai a été déterminée et notée M'.

La masse des cendres totales (mCt) contenue dans le creuset est donnée par la

Formule :

$$mCt = M - M'$$

La masse de la prise d'essai (PE) est donnée par la formule :

$$M_{PE} = M - T$$

Le pourcentage des cendres totales (% Ct) est donné par la formule :

$$\%Ct = [m_{Ct} / M_{PE}] \times 100$$

mCt = masse des cendres totale
M' = prise d'essai après incinération
M = prise d'essai de la poudre

Nous avons réalisé 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

2.5. Préparation des extraits

2.5.1. Extraction liquide-solide (Soxhlet)

Le protocole d'extraction suivi est la méthode normalisée du Soxhlet décrite par la méthode standard [218]. Les feuilles et les graines, séparément sont broyées et réduits en poudre. Vingt grammes de poudre obtenue sont soumis à une extraction pendant quatre heures dans un extracteur de type Soxhlet, en utilisant

comme solvant d'extraction le méthanol /eau distillé (70 /30, v/v ml) distillant entre 40 et 60 °C. Après évaporation du solvant, sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40–60 °C, l'extrait obtenue est conservée à une température de –4 °C afin de l'utiliser ultérieurement.

2.5.2. Extraction par macération

L'extraction se fait selon la méthode décrite par [219]. Les feuilles et les graines de Jujubier sont séchées à température ambiante à l'abri de la lumière, ensuite réduite en poudre. La poudre est macérée séparément dans trois solvants de polarité croissante, chloroforme, acétate d'éthyle, méthanol et dans l'eau distillé pendant 7jours, filtrée et concentrée par évaporation rotative, lyophilisation. Les extraits bruts obtenus sont conservés à -4°C.

2.5.3. Rendement d'extraction

Le rendement (R) de la plante en extraits secs est le rapport entre la masse de l'extrait sec (ME) et la masse de la poudre végétale (MV) de la prise d'essai [220 et 221]. Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante:

$$R = [M_E / M_V] \times 100$$

ME= masse de l'extrait sec

MV = masse de la poudre végétale

2.6. Analyse colorimétriques par spectrophotométrie

2.6.1. Détermination de la teneur en composés phénolique

Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits sont déterminées selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par [222]. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures [3].

Un volume de 200µl de chaque extrait brut (1mg/ml), est ajouté à 1ml du réactif Folin-Ciocalteu (10 fois dilués), puis 0.8 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃ à 7.5%) sont ajoutés, afin de favoriser un milieu alcalin pour démarrer la réaction d'oxydoréduction. Le mélange est laissé à température ambiante, à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance est lue à 765 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (WPA Lightwave II).

La quantification des polyphénols totaux est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations (0.487, 0.975, 1.95, 3.9, 7.81, 15.625, 31.25 mg/g) dans les mêmes conditions que les extraits et les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 1 gramme d'extrait (mg EAG /g de matière sèche), utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique : $Y=0,0104x + 0,0204$; $R^2= 0,998$.

2.6.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différents extraits est effectuée selon la méthode décrite par [213 et 223] avec le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe dans le visible.

Une quantité de 100 µl de chaque extrait brut (10mg/ml) est mélangé avec 100µl de trichlorure d'aluminium dilué à 20% dans le méthanol, additionné de 50 µl d'acide acétique. Le volume obtenu est ajusté avec du méthanol jusqu'à 5ml. L'absorbance est mesurée à 415 nm après 40 minutes contre le blanc. Une gamme étalon à base de Quercétine est également préparée dans les mêmes conditions expérimentales.

Les teneurs en flavonoïdes totaux dans chaque extrait sont calculées en se référant à l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon la quercétine à différentes concentrations (50, 100, 150,200, 250, 300, 350, 400 µg/ml) et dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage : $Y=0.001x+0.056$ $R^2=0,9550$. $R^2= 0,9550$

Elles sont exprimées en milligrammes d'équivalents de Quercetine par gramme d'extrait (mg EQ / g de l'extrait).

2.6.3. Détermination de la teneur en tanins condensés

L'évaluation quantitative des tanins condensés dans nos extraits est réalisée selon la méthode citée par [224].

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm [225].

50µl de chaque des extraits (1 mg/ml), est mélangé avec 1,5 ml de la vanilline 4%, suivis de 750 µl de l'acide chlorhydrique HCl concentré sont ajoutés. Après que la solution est bien mélangée et laissé pendant 20 min dans l'obscurité à une température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 500 nm.

Les teneurs en tanins catéchiques sont calculées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec la catéchine à des concentrations de (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000 mg/g) :

$$Y=0,0006123x-0,002053 ; \quad R^2= 0,9722$$

2.7. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

2.7.1. Identification des composés phénoliques

- Programme

Les composés phénoliques (solutés) sont analysés à une longueur l'onde égale à 280 nm /254nm. Les solvants d'élution choisis (phase mobile) correspondent à 3 % (dans l'eau ultra pure) avec 0.1% d'acide acétique (A) et 100 % de méthanol (B). Les échantillons ont été extraits selon le gradient commençant par 20 % en B pendant 10min comme condition initiale. Puis on augmente la concentration de cet éluant (B) de 60 % pendant 28 min, à 80 % en B pendant 7 min et à 95 % en B pendant 3 min. En fin d'élution, le taux de méthanol est

maintenu à 95 % pendant 1 min pour stabiliser la colonne. Les standards ont été injectés d'abord et ensuite les échantillons, avec un débit d'élution de 0,8ml / min.

Un rinçage de la colonne avec le méthanol entre deux injections successives est effectué. Le HPLC fonctionne selon un principe bien déterminé. En effet, les solutés à séparer, ainsi mise dans le solvant, sont induits dans la phase mobile. Elles interagissent avec les absorbants dans la colonne chromatographique. Poussé par une pompe, la phase mobile parcourt le système chromatographique. Les solutés en solution se répartissent suivant leurs affinités entre la phase mobile et la phase stationnaire (absorbant). Ils sont détectés sous forme des pics grâce à un détecteur associé à une détection UV.

Ces pics sont identifiés selon les standards de la rutine, de l'acide chlorogénique et de l'apigénine. Ces standards phénoliques ont été obtenus chez Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne).

Les quantités des composés phénoliques ont été évaluées à partir des zones de pointe. En sachant que la surface des pics est proportionnelle à la quantité injectée de l'analyte correspondant on a alors :

$$A = k_m * C$$

Avec :

A= aire du pic,

C= concentration du composé injectée,

Km = coefficient de réponse du détecteur, Les concentrations sont exprimées en mg par g d'extraits pour les feuilles et les graines.

- Méthode

La composition en polyphénols (rutine, berbérine, chaempférol, quercétine) est déterminée par la méthode HPLC (photos 17). Les extraits sont à travers des filtres à membrane dont la taille des pores est de 0,45 µm (Vivascience AG, Hanovre, Allemagne). La solution filtrée est injectée dans un appareil HPLC DIONEX (P680_ASI 8100_Agilent) équipé d'un détecteur UV et d'une colonne Agilent Eclipse XDB - C18 (150 x 46 mm, 5 µm). L'extraction se réalise en double et les analyses se déroulent en triple.



Figure 2.3: Extraits de *Z. lotus* L



Figure 2.4: Extraits injecté sur la chaîne

2.8. Tests biologique

➤ Activités in vitro

2.8.1. Evaluation des activités antioxydante

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des extraits aqueux et organiques de *Z. lotus* L., nous avons utilisé le test au DPPH (2,2 –diphényl-1- picrylhydrazyle), et une technique d'analyse de la capacité antioxydante réductrice de l'ion ferrique Fe^{3+} en ion ferreux Fe^{2+} .

✚ Test au DPPH

L'effet antiradicalaire de différents extraits de *Z. lotus* L. vis-à-vis du radical DPPH° est basé sur la méthode décrit par [226].

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil). Ce dernier de couleur violette se réduit en 2.2 diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune en acceptant un atome d'hydrogène (figure 2.5).

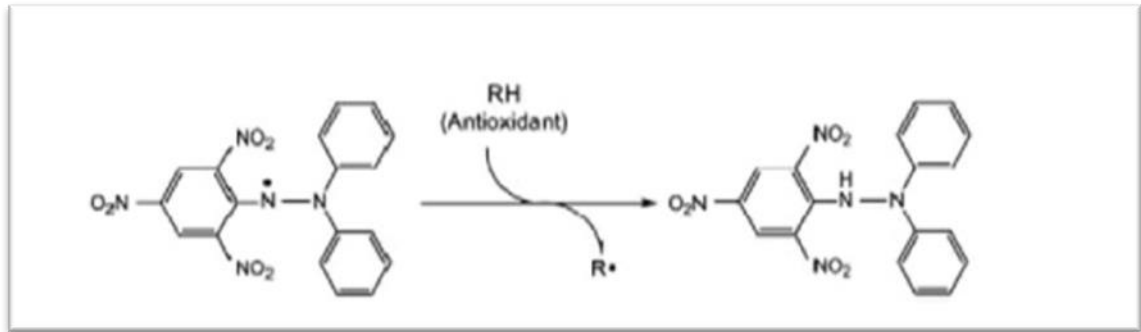


Figure 2.5. Structure du DPPH et sa réduction par l'antioxydant RH [80].

Dans des tubes, 2.5 ml de différentes concentrations de chaque extrait sont introduit et 0.5 ml de solution méthanolique de DPPH (0.2 mM DPPH, dissous dans le méthanol) fraîchement préparée sont ajoutés. Le mélange est agité au vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes.

Après l'agitation au vortex, la lecture du changement de couleur est effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517nm.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC50, ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'antioxydant qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH.

Les valeurs d'IC50 moyennes sont calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage de réduction (PR) du radical DPPH, qui est calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{Control négatif}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{Control négatif}}} \right] \times 100$$

Où :

I % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;
Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon ;
Abs Control négatif : Absorbance du control négatif (solution de DPPH seulement).

Le contrôle négatif est composé de la solution de DPPH dans le méthanol seul, et le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT, avec des concentrations de 0.48 à 1000 µg/ml. En outre, les valeurs IC50 ont été déterminées à l'aide du logiciel SPSS statistics.

Test au pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode ferric reducing antioxidant power (FRAP) est basée sur la capacité des produits testés à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux Fe^{2+} [208]. La formation du Fe^{2+} peut être évaluée en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel à 700nm, par conséquent plus la coloration est intense plus l'échantillon analysé est considéré comme un bon réducteur [227].

Le pouvoir réducteur du Fe^{3+} par les différents extraits est évalué selon la méthode décrite par [205] comme suit :

On prépare une solution mère en dissolvant 1mg de chaque extrait dans 1ml de méthanol. A partir de cette solution, on réalise une série de dilutions de 0.6 ; 0.4; 0.2 ; 0.1 ; 0.05 et 0.01 mg/ml.

Dans des tubes stériles, on introduit 1ml de chaque concentration des différents extraits, auquel on ajoute 2.5 ml d'une solution tampon de phosphate (0.2 mol/l, pH=6.6) et 2.5 ml d'une solution de Ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le mélange est vigoureusement agité par vortex puis incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Après incubation, on ajoute 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% pour stopper la réaction, les tubes sont ensuite centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. A 2.5 ml du surnageant sont ajoutés 2.5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 à 0.1%. La lecture de la densité optique se fait à 700 nm.

Les solutions d'acide ascorbique sont préparées dans les mêmes conditions que les échantillons. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions mais en remplaçant l'extrait par du méthanol. Chaque essai est réalisé trois fois. L'absorbance augmente avec l'augmentation du pouvoir réducteur des extraits.

Les valeurs moyennes des EC50 correspondant aux concentrations efficaces donnant une absorbance de 0.5 de pouvoir réducteur du Fer, elles sont calculées par régressions linéaires des trois répétitions de chaque extrait [228].

2.8.2. Potentiel antimicrobien des plantes

➤ Microorganismes et les extraits testés

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude sont des souches références : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus subtilis* ATCCC qui sont des bactéries à Gram positif et *Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumonia* ATCC qui sont des bactéries à Gram négatif et deux levures : *Candida albicans* ATTC et *Candida krusei* ATCC.

Vingt-quatre extraits bruts de *Zizyphus lotus* L. préparé ont été testés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé:

- huit extraits : (EAq, EMeOH, EAc, ECHCl3) de feuilles et des graines de *Zizyphus lotus* L. de Médéa

- huit extraits (EAq, EMeOH, EAc, ECHCl3) de feuilles et des graines de *Zizyphus lotus* L. de la région d'El oued.

- huit extraits (EAq, EMeOH, EAc, ECHCl3) de feuilles et des graines de *Zizyphus lotus* L. de la population de région de Tamanrasset.

La détermination de la CMI et CMB est effectuée pour Vingt-quatre extraits bruts (Aqueux et organiques).

a) Evaluation de l'activité antibactérienne et anticandidosique des extraits

Deux méthodes différentes sont utilisées pour l'évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne: La méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé (aromatogramme) et la méthode de la micro-dilution en milieu liquide.

❖ Technique de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques)

1) Préparation de la suspension bactérienne

Les bactéries sontensemencées sur une gélose nutritive à partir du stock de bactéries congelées. Après avoir vérifié l'aspect macroscopique des colonies et l'aspect microscopique après coloration de Gram, deux petites colonies (ou une grande colonie) sont prélevées, à l'aide d'une anse stérile et dispersées dans 10 ml de l'eau stérile pour préparer les suspensions de chacune des souches.

La densité de la suspension est ajustée à 0,5 Mc Ferland à l'aide d'un refractomètre, puis une dilution supplémentaire au 1/10 est effectuée pour les bactéries à Gram négatif (*E coli*, *P aeruginosa* et *K pneumonia*).

2) Préparation des boîtes de Pétri

Le milieu Muller Hinton gélosé en surfusion a été coulé en boîtes de Pétri (20 ml par boîte), et laissé refroidir préalablement à tout ensemencement. L'ensemencement des boîtes est effectué selon la méthode d'inondation, 2-3 ml de l'inoculum sont versés et dispersés sur toute la surface du milieu gélosé Muller Hinton, ensuite la suspension a été aspirée à l'aide d'une pipette en plastique stérile, les boîtes sont séchées sous une hotte à flux laminaire stérile pendant 15 minutes. Puis des disques de 8 mm imprégnés par les différents extraits à tester sont déposés délicatement à l'aide d'une pince stérile sur la gélose (3 disques de 6mm par boîte). Des disques imprégnés de gentamicine (50 µg/disque) d'autres avec du DMSO (50 µl /disque) servant respectivement de témoin positif et négatif, ont été aussi déposés sur la surface de la gélose ensemencée [229].

L'imprégnation des disques a été faite, au préalable, à l'aide de micropipette, 50 µl de la solution (10 µg/µl) est déposée à la surface du disque (soit 500 µg de l'extrait brut). Tous les produits purs sont testés avec 500µg/disque [230].

Après 30 minutes de pré-diffusion des solutions, les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. .

L'activité antibactérienne est exprimée par la mesure de diamètre (en millimètres) de la zone translucide autour des disques, correspondante à la zone d'inhibition de croissance bactérienne [231].

D'après *Kumar, M et al* [231], Les résultats sont classés suivant la sensibilité des souches vis-à-vis des substances testées comme suit :

- Diamètre < 10mm : souche non sensible ou résistante
- Diamètre de 10 à 15 mm : souche moyennement sensible
- Diamètre de 15 à 19 mm : souche très sensible
- Diamètre \geq 20 mm: souche extrêmement sensible

❖ Détermination des paramètres antimicrobiens (CMI, CMB) par micro-méthode de dilution en milieu liquide.

1) Préparation des extraits

Une série de dilution de chaque extrait à tester est préparée à des concentrations allant de 1000 $\mu\text{g/ml}$ à 15,6 $\mu\text{g/ml}$ (1000, 500, 250, 125, 62,25, 31,25 et 15,6 $\mu\text{g/ml}$). Pour cela, 250 μg de chaque extrait ont été dissous d'abord dans 500 μl DMSO auxquels nous avons ajouté 4,5 ml de Muller Hinton, afin d'obtenir une concentration maximale de DMSO à 5% dans les puits. A partir de cette solution mère, la 2ème concentration à tester a été préparée par dilution au 1/2 et ainsi de suite jusqu'à arriver à 15,6 $\mu\text{g/ml}$.

2) Préparation de l'inoculum

A partir des colonies bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC) isolées sur gélose nutritive, Un premier repiquage en prenant 2-5 colonies dans 10 ml de MH est réalisé à 37° C pendant 18h dans l'étuve. Ensuite 0,3 ml de la suspension bactérienne sont prélevés et dispersé dans 10 ml de MH, puis remis en culture pendant 3-5 h sous agitation à 37°C. La culture est arrêtée lorsqu'une concentration bactérienne de 5×10^7 CFU/ml environ est atteinte. Ceci est vérifiée par la mesure de la densité optique $OD = [0,08-0,13]$

à la longueur d'onde 625 nm [231]. Une dilution au 1/10 dans du milieu Muller Hinton est effectuée pour obtenir la concentration bactérienne de 5×10^6 CFU/ml qui sera utilisée dans les microplaques.

3) Préparation des microplaques

100 μ l de chaque dilution des différents extraits à tester sont répartis en triplicata à l'aide d'une micropipette de 100 μ l dans les cupules des microplaques de 96 puits (Sarstedt, Allemagne), puis 100 μ l de la suspension bactérienne à 5×10^6 CFU/ml est ajoutée dans chaque puits (une souche bactérienne par plaque). Chaque puits contient un volume final de 200 μ l. (Concentration des extraits sont diluées au $\frac{1}{2}$).

Dans chaque plaque 96 puits nous avons préparé en triplicata, comme témoin négatif, une gamme de DMSO aux concentrations correspondantes à celles utilisées pour préparer les solutions à tester et comme témoin positif d'inhibition de croissance des puits contenant une série de dilutions de gentamicine (25, 12,5, 5, 2,5 μ g/ml).

4) Incubation et lecture des plaques

Les plaques sont incubées pendant 18h à 37°C.

➤ Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI correspond à la concentration minimale d'extraits pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible après 18h d'incubation (absence de trouble ou de dépôt bactérien au fond des puits [232]).

➤ Concentration minimale bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) désigne la plus petite concentration d'une substance qui laisse au maximum 0,01% ou 0,1% de bactéries survivantes, c'est-à dire une bactérie pour 1 000 ou 10 000 de l'inoculum initial, après 24 heures d'incubation à 37 °C [9].

On prépare des dilutions allant 10^{-1} à 10^{-4} de l'inoculum de départ. Ces dilutions sontensemencées en stries sur des boites de Pétri contenant du milieu

Muller-Hinton solide. Ces boîtes nommées 'A' sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

Après la lecture des CMI, les tubes dans lesquels il n'y a pas eu de croissance visible de bactérie servent à ensemencer en stries, des boîtes contenant de la gélose Muller-Hinton. Cette série de boîtes de Pétri est nommée 'B' est incubée à 37°C pendant 24 heures.

La CMB est ensuite déterminée en comparant la croissance bactérienne des boîtes A et B. Le premier tube expérimental dont le nombre de germes présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10⁻⁴ (0,01% de croissance) Correspondra à la CMB [233].

➤ Calcul du rapport CMB/CMI

Le rapport CMB/CMI permet de préciser la modalité d'action de la substance testée [178]. Selon Mishra A.K. et Dubey N.K [234], l'extrait est bactéricide si le rapport CMB/CMI ≤4. Il est dit bactériostatique quand le rapport CMB/CMI >4.

b) Evaluation de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité des différents extraits vis à vis des champignons est réalisée par la méthode de contact directe sur milieu gélosé « PDA » pour déterminer les taux d'inhibition [12].

1ml de chaque extrait préparé est placé séparément dans des boîtes Pétri de 90 mm de diamètre, en ajoutant 15 ml du milieu Pomme de terre –dextrose-agar (PDA) stérile en surfusion. Les boîtes de Pétri sont agitées manuellement pour homogénéisation. La préparation de toutes les boîtes est effectuée dans les conditions aseptiques. Après solidification du milieu les disques mycéliens de 5 mm de diamètre sont repiqués séparément à l'aide d'une emporte pièce, par le dépôt du disque mycélien au centre de la boîte. Les boîtes sont toutes scellées avec du parafilm avant l'incubation. En effet, cinq répétitions sont considérées pour chaque isolat et chaque extrait. Le milieu PDA sans extrait a servi de témoin pour chaque isolat [234]. L'incubation des boîtes est réalisée durant 7 jours à une température de 25°C [235].

La croissance mycélienne des isolats testés et ceux des témoins positifs est déterminés par la mesure de deux diamètres perpendiculaires des colonies formées, passant par le centre du disque mycélien déposé. Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne sont calculés pour chaque extrait de plante préparée, pour chaque concentration retenue et chaque isolat fongique testé, selon la formule décrite par [235] :

$$I (\%) = [(DT-Dt) / DT] \times 100$$

Où,

- I : est le % d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque isolat fongique testé,
- DT : croissance mycélienne (mm) de chaque isolat fongique témoin testé,
- Dt : croissance mycélienne (mm) de chaque isolat fongique développé sur milieu en présence de chacun des extraits préparés à base de la plante à différentes concentrations.

2.8.3 Potentiel insecticides des plantes

❖ Toxicité par contact des grains par les extraits bruts des feuilles

A partir de la solution mère de chaque extrait testé à une concentration de 10mg/ml, cinq dilutions sont préparée par dissolution dans l'eau distillée. 1ml de chaque dilution est ajoutés séparément à 10g de substrat soit des graines de blé pour les *Tribolium castaneum* contenu dans des boites de Pétri. Le mélange est agité manuellement pendant quelques minutes de manière à ce que tous les grains soient uniformément enrobés. Un lot de 10 insectes adultes est introduit dans chacune des boites. Dans les boites témoins, les grains sont traités uniquement à l'eau distillée. Pour chaque dose ainsi que les témoins cinq

répétitions sont effectuées. Le comptage des insectes morts est réalisé toutes les 24 heures pendant une période de 7 jours.

➤ Activités In Vivo

2.9.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Nous avons évalué l'activité anti-inflammatoires des extraits Aqueux de trois régions par la méthode qui consiste à provoquer une inflammation de la patte des souris avec de la carragénine.

• Induction de l'œdème plantaire

Le principe du test consiste à provoquer un gonflement aigu de la patte d'une souris réalisé par l'injection d'une substance inflammatoire sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche. Celle-ci provoque une réaction qui peut être réduite par des substances anti-inflammatoires [236].

Cette réaction se traduit par un œdème d'installation rapide et persistant. La mesure est effectuée en comparant, à différents moments, le volume/épaisseur (mm) de la patte des souris des lots traités avec celle du lot témoin [236].

L'étude de l'activité anti-inflammatoire est évaluée par la méthode décrite par [237] :

a) Préparation de la solution de carragénine

On dissout 1 g de carragénine dans 100 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir une solution à 1%.

b) Préparation des souris

Les quarante souris Swiss albinos sont réparties en huit lots (de 1 à 8) différents (6 souris par lot). Les souris sont mises à jeun 18 h avant la réalisation du test tout en ayant un accès libre à l'eau.



Figure 2.6. Injection de la carragenine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche.

c) préparation des extraits

On dissout les différents extraits à tester dans une solution d'eau physiologique stérile pour obtenir les concentrations de 200mg/Kg.

• Mode opératoire

Avant l'injection de la carragénine les souris reçoivent par voie orale les différents extraits aux concentrations suivantes :

- Lot 1: utilisé comme témoin négatif reçoit de l'eau physiologique stérile,
- Lot 2: reçoit le produit de référence Diclofénac à la dose de 50 mg/Kg,
- Lots 3: reçoit l'EMeOHF/M à la doses de 200mg/Kg
- Lots 4: reçoit l'EMeOHF/O à la dose de 200mg/Kg
- Lots 5: reçoit l'EMeOHF/T à la dose de 200mg/Kg
- Lots 6: reçoit l'EMeOHG/M à la dose de 200mg/Kg
- Lots 7: reçoit l'EMeOHG/O à la dose de 200mg/Kg.
- Lots 8: reçoivent l'EMeOHG/ T à la dose de 200mg/Kg



Figure 2.7. Administration des extraits par voie orale.

Trente minutes après l'administration des différentes substances, l'inflammation est induite par l'injection de 0,1 ml de la solution de carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de chaque souris. L'épaisseur des pattes est mesurée avec un pied à coulisse avant et après l'induction de l'inflammation à 0, 1, 2, 3 et 4h.

d) Expression des résultats

L'activité anti-inflammatoire est exprimée par le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%) des pattes des souris traitées par rapport au groupe témoin négatif selon la formule de [238] :

$$I\% = 1 - \frac{\text{Différence de l'épaisseur de la patte des souris traitées}}{\text{différence de l'épaisseur de la patte des souris témoin}} \times 100$$

2.9.2. Evaluation de l'activité antidiabétique

- Test sur la glycémie normale

Matériel de travail (voir Annexe 2)

- Mode opératoire :

Les lapins ont été mis à jeûne pendant 18 heures ; ensuite leurs glycémies de base ont été déterminées. Elle est calculée sur une moyenne de 14 lapins soumis à un jeûne non hydrique avant de déterminer leur glycémie normale. Nous avons repris trois fois cette expérience avec des intervalles de 72H.

Prélèvement de sang

Il a été effectué par ponction dans la veine marginale de l'oreille, afin d'obtenir une goutte de sang suffisante pour la détermination de la glycémie.

Dosage de la glycémie

Le Système "One touch " : (instrument, test sensors et contrôles) Cet appareil a été conçu pour les patients diabétiques et des professionnels de la santé pour mesurer le taux de glucose sur sang total. Le système One touch est spécifique au glucose et se réfère au glucose sur sang total.

a) Hyperglycémie Temporaire :

Pour l'hyperglycémie temporaire, nous avons utilisé des lapins qui ont été réparties par lot dont :

Trois lots d'essais, un lot témoin et un lot de référence.

- Répartition des animaux en lots

Les lapins ont été répartis en cinq lots dont trois lots de 3 lapins et deux lots de 2 lapins. Les animaux sont soumis à un jeun préalable de 18 heures avant l'expérimentation.

Lot 1: recevant 8mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de Zizyphus lotus L. de Médéa.

Lot 2: recevant 8mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de Zizyphus lotus L. d'El Oued.

Lot 3: recevant 8mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de Zizyphus lotus L. de Tamanrasset

Lot témoin: recevant 1ml/kg d'eau distillée.

Lot de référence: recevant 22,1mg/kg de Metformine 500mg.

Le procédé consiste généralement à administrer (par voie orale ou intraveineuse) une quantité déterminée de glucose. Dans notre étude nous avons utilisé le glucose pur par voie orale chez les lapins.

➤ Hyperglycémie provoquée par voie orale : (H.P.V.O)

Elle se fait par voie orale avec une seringue munie d'une sonde œsophagienne. 1g de glucose/kg de poids d'animal, en solution à 50% P/V dans l'eau distillée.

- Administration de l'eau distillée, de l'extrait et du produit de référence (Metformine)

Cette administration a été faite après un jeun de 18heures. Par voie orale, 30 minutes avant d'administrer la surcharge de glucose, pour faire coïncider le moment d'activité maximum hyperglycémiant de la surcharge de glucose avec celui d'activité maximum hypoglycémiant de l'extrait ou du produit de référence.

- Technique de l'administration par voie orale

Nous avons immobilisé l'animal, la tête surélevée, la bouche ouverte. Ainsi la bouche bien ouverte, une seringue chargée du produit, munie de la sonde gastro-œsophagienne est introduite jusqu'à l'estomac, puis nous avons envoyé le produit en poussant le piston de la seringue par le pouce vers l'avant à l'image d'une injection. Ainsi après l'administration des extraits nous avons procédé à des séries de dosage de glycémie chez ces lapins à des intervalles de 30mn, jusqu'à 3 heures. C'est à dire : 30mn, 60mn, 90mn, 120mn, 150mn et 180mn après l'administration des extraits.

- Evaluation de la glycémie

Elle se fait avec un Glucomètre de type One touch. La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active d'une bandelette. La lecture de la glycémie se fait automatiquement 1 minute après. Le résultat est exprimé en mmol/l de sang. Après une première détermination de la glycémie initiale, nous

avons déterminé à intervalle de temps régulier les variations de la glycémie aux temps :

T30 : glycémie 30mn après administration des extraits, d'eau distillée et de la Metformine

T60 : Surcharge de glucose (50%).

T90 : glycémie 30mn après la surcharge de glucose.

T120 : glycémie 1H après la surcharge de glucose.

T180 : glycémie 2H après la surcharge de glucose.

b) Hyperglycémie permanente ou diabète expérimental

La méthode la plus commune est de provoquer, au moyen de médicaments une destruction des cellules β pancréatiques. Les substances les plus employées comme diabétogènes sont la streptozotocine et l'alloxane[239 et 240].

➤ Diabète Streptozotocinique :

a) Induction du diabète streptozotocinique chez les lapins :

- Protocole :

Pour provoquer l'hyperglycémie avec la streptozotocine chez 11 lapins, elles ont été mises à jeun de 18heures, puis leur glycémie de base a été déterminée. Après nous leur avons administré par voie intra péritonéale de la streptozotocine à la dose de 50mg/kg.

Cette dose a été administrée 3 fois, à des intervalles de 48heures. Une semaine plus tard après la dernière administration, nous avons déterminé leur glycémie afin de sélectionner les lapins diabétiques. Nous avons sélectionné les lapins ayant une hyperglycémie (les animaux ayant des taux plasmatiques de glucose supérieurs à 126 mg / dl sont inclus dans l'étude).



Figure 2.8. Administration des extraits par voie orale.

Ces lapins ont été réparties en lot de trois lapins dont :

- un lot, traité avec l'extrait aqueux des feuilles de *Z. lotus* L. de Médéa à la posologie de 4mg/kg;
- un lot, traité avec l'extrait aqueux des feuilles de *Z. lotus* L. d'El Oued à la posologie (4mg/kg)
- un lot, traité avec l'extrait aqueux des feuilles de *Z. lotus* L. de Tamanrasset à la posologie (4mg/kg)
- un lot, traité avec le produit de référence (Metformine 300mg), par voie orale ;
- enfin un lot témoins auquel nous avons administré de l'eau distillée. Ainsi la glycémie a été déterminée à T1, T2 et T3 après traitement (c'est-à-dire à des intervalles de temps).

b) Évolution du poids corporel

Afin de déterminer l'influence de nos extraits sur le poids corporel et la croissance des lapins, nous avons suivi l'évolution du poids corporel, des lapins témoins et traitées, périodiquement tout au long de l'expérimentation.

Le poids corporel est mesuré à l'aide d'une balance en gramme (g) et les variations du poids corporel des lapins par rapport au 1er jour sont exprimées en pourcentage (%) et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Variation du poids corporel (\%)} = (PJ - PJ0) \times 100 / PJ0$$

PJ0 : poids corporel au 1er jour ;

PJ : poids corporel au jour J.

Détermination des paramètres biochimiques (Créatinine (mg/l) Triglycéride (g/l), ASAT (UI/l), ALAT (UI/l)).

2.10. Etude statistique

Résultats expérimentaux sont exprimés par une moyenne \pm DS (Ecart-type de trois mesures), les coefficients de corrélation de Pearson est déterminé à l'aide de Logiciel SPSS. Les différences entre les groupes sont réalisées grâce un logiciel statistique SPSS Statistics version 20.0 en utilisant l'analyse de la variance (ANOVA) suivie par un test post-hoc. Les différences sont considérés comme significatives pour un risque d'erreur de 5% soit ($p < 0,05$).

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Données sociodémographiques des informateurs

La présente étude a mobilisé 150 informateurs, y compris des guérisseurs traditionnels, des herboristes et des villageois compétents représentés par 100 femmes (66,66%) et 50 hommes (33,33%) sont interviewés. Leur âge moyen était de 54 ans avec un minimum de 20 ans et un maximum de 90 ans. La majorité des personnes interrogées appartient à la zone rurale (92%) et 42% sont analphabètes. En ce qui concerne l'origine de leurs connaissances, la majorité d'entre eux (80%) sont initiés à la pratique de la médecine traditionnelle dans la famille, cependant les autres sont initiés par ailleurs (tableau 3.1).Annexe 1.

Tableau 3.1 : Données sociodémographiques des informateurs.

Caractéristiques	Nombre d'informateurs	Fréquence (%)
Tranches d'âge		
<30	5	3,33
]30-50]	60	40
]50-70]	75	50
]70-90]	10	6,66
Total	150	100
Sexe		
Masculin	50	33,33
Féminin	100	66,66
Total	150	100
Scolarisation		
Analphabète	63	42
Primaire	65	43,33
Secondaire	20	13,33
Université	2	1,33
Total	150	100
Source de l'information		
Héritage familial exclusif	120	80
Révélation divine	12	8
Initiation traditionnelle	10	6,66
Autres	8	5,33
Total	150	100

3.2. Résultats de l'étude analytique

3.2.1. Teneur en eau

Afin de déterminer la teneur en eau de la partie aérienne de *Zizyphus lotus* L., nous avons utilisé la méthode [241], dont le but est d'exprimer les résultats des constituants biochimiques par rapport à la matière sèche.

Tableau 3.2 : La teneur en eau et de matière sèche des feuilles et des graines de *Zizyphus lotus* L.

Régions		Teneur en eau pour (%)	Teneur en matière sèche (%)
Feuilles	Médéa	8,56± 0,12	91,44±0,13
	El Oued	6,47± 0,17	93,53±0,15
	Tamanrasset	1,75± 0,23	98,25±0,11
Graines	Médéa	3,59±0,15	96,41±0,12
	El Oued	2,4±0,17	97,6±0,16
	Tamanrasset	2,76±0,12	97,24±0,10

L'analyse de nos échantillons (Tableau 3.2), a montré une faible teneur en eau dans les graines et les feuilles de *Z.lotus* L. étudiés. Elle est de l'ordre de 3,59± 0,15% ; 8,56±0,12% signifiant ainsi que 96,41±0,12% et 91,44±0,13%, pour les graines et les feuilles de Médéa respectivement, représentent le taux de la matière sèches de nos échantillons. Par contre les teneurs en eau dans les graines et les feuilles de la région de Tamanrasset et d'El Oued sont beaucoup plus faibles avec des pourcentages qui avoisinent les 6,5%.

Comparativement aux valeurs trouvées chez d'autres espèces du même genre en l'occurrence, *Zizyphus mauritiana* [242], *Zizyphus spina christi* [191] et *Zizyphus jujuba* [243], dont la teneur en eau est comprise entre 46 à 85%, alors que les valeurs que nous avons obtenue sont comprises entre: (1,75- 8,56) selon le site de prélèvements. Elles sont à comparés avec les valeurs, de [217] avec le fruit de *Zizyphus.lotus* (8,96±0,73%) ;[244] avec un taux de 12 ,27% et de 8,9% [245] dans la pulpe de *Zizyphus.lotus* .

3.2.2 Teneur en matière organique et cendre.

Dans le Tableau 3.3 sont rapportés les teneurs en matières organiques et cendre. La teneur en cendre du *Zizyphus lotus* L. a été déterminée après incinération, la cendre grisâtre obtenue représente les diverses substances minérales.

Tableau 3.3 : Teneur en cendre et matière organique des feuilles et des graines du *Zizyphus lotus* L.

	Régions	Teneur en matière organique/ (%)	Teneur en cendre (%)
Feuilles	Médéa	96,45±0,13	3,51± 0,10
	El Oued	97,35±0,15	2,65± 0,13
	Tamanrasset	99,22±0,11	0,78± 0,15
Graines	Médéa	97,66±0,12	2,34±0 ,10
	El Oued	98,68±0,16	1,32±0,12
	Tamanrasset	98,57±0,10	1,43±0,10

Ces résultats sont à comparés avec ceux de [246], de fruit de *Z. lotus* (0,82% de matière sèche), [217] une valeur de (3,5%), [245] une teneur de 3,44%, [244] une valeur de 3,28% de pulpe de *Z.lotus*.

3.2. 3. Rendement en extraits bruts

➤ Extraits :

Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement par rapport au poids du matériel végétal sec de départ. Ces éléments sont présentés dans le Tableau 3.4.

Tableau 3.4 : Aspect, couleur et rendement des extraits de feuilles et graines de *Ziziphus lotus* L. par différents solvants.

Extrait des plantes		Couleur	Aspects	Rendements (%)
Tamanrassa	EFAQ	marron –noir	Poudre	4,2±0,345
	EFMeOH	vert foncé	Pâte-Pâte	5,7±0,532
	EFAc	vert foncé	Liquide	3,5±0,624
	EFCHCl ₃	marron-vert	Pâte	3,0±0,542
	HF _{soxhlet}	vert foncé	Liquide	10±0,653
El oued	EFAQ	marron	Poudre	4,4±0,456
	EFMeOH	vert	Pâte	5,4±1,054
	EFAc	vert	liquide	3,4±0,653
	EFCHCl ₃	vert- noir	Pâte	2,6±0,745
	HF _{soxhlet}	vert foncé	liquide	12±0,876
Médéa	EFAQ	marron	Poudre	3,7±0,452
	EFMeOH	vert	liquide-Pâteux	3,5±0,752
	EFAc	vert	liquide	1,10±0,256
	EFCHCl ₃	vert foncé	Pâte	1,75±0,128
	HF _{soxhlet}	vert foncé	liquide	10±0,960
Tamanrassa	EGAQ	marron clair	Poudre	10±1,340
	EGMeOH	marron clair	Pâte	6,8±0,520
	EGAc	vert-marron	liquide-Pâteux	1,9±0,656
	EGCHCl ₃	marron clair	Poudre	11,2±0,438
	HG _{soxhlet}	marron	liquide	10±0,600
El oued	EGAQ	marron	Poudre	9±0, 254
	EGMeOH	marron	Pâte	11,1±0,653
	EGAc	vert foncé	liquide pâteux	1,8±0,421
	EGCHCl ₃	marron clair	liquide (crémeux)	1,1±0,245
	HG _{soxhlet}	marron	liquide	9±0,321
Médéa	EGAQ	marron noir	Poudre	10,9±0,234
	EGMeOH	marron	Poudre	7,6±0,654
	EGAc	vert	liquide(Pâteux)	1,2±0,650
	HGCHCl ₃	vert foncé	liquide (crémeux)	1±0,254
	EG _{soxhlet}	marron clair	liquide	10±0,176

EFAQ : Extrait de feuille aqueux ; EFMeOH : Extrait de feuille méthanolique
 EFAc : Extrait de feuilleacétated'éthyle ; EFCHCl₃ : Extrait de feuille chloroformique
 EGAQ : Extrait de feuille aqueux ; EGMeOH : Extrait de feuille méthanolique
 EGAc :Extrait de feuille acétate d'éthyle; EGCHCl₃:Extrait de feuille chloroformique HF soxhlet : L'huile végétale ; HGsoxhlet : L'huile des graines

Le solvant polaire, le pH, la température et le temps d'extraction sont des facteurs devant être contrôlés pour une meilleure récupération possible de composé phénolique [247, 227 et 248].

L'efficacité de l'extraction dépend de la nature chimique des composés phytochimiques, de la méthode d'extraction utilisée, de la taille des particules de l'échantillon et du solvant utilisé [249].

3.3. Criblage phytochimique

Nous avons réalisé les tests phytochimiques sur la matière végétale sèche. Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité et la coloration, proportionnellement à la quantité de la substance recherchée (requis). Les études phytochimiques effectuées sur les feuilles et les graines de *Z. lotus* L. ont donné les résultats, reportés dans le Tableau 3.5.

Tableau 3.5 : Caractérisation des groupes chimiques sur la poudre de feuilles et de graines de *Zizyphus lotus* L.

Constituants	Feuilles			Graines		
	Médéa	El Oued	Tamanrasset	Médéa	El Oued	Tamanrasset
Flavonoïdes	+++	+++	+++	++	++	++
Alcaloïdes	++	+++	+++	+	++	++
Tanins	+	++	++	++	++	++
Tritéropène-stérols	+	++	++	+	+	+
Leucoanthocyanes	-	-	-	-	-	-
Oses holosides	-	-	-	++	++	++
Saponine: Mousse	+++	+++	+++	-	++	-

(-) Absent ;(+) présent ; (++) présent avec une concentration modérée;(+++) présent avec une forte concentration

Sur l'ensemble de nos réactions en tubes, celles des alcaloïdes et des flavonoïdes ont été les plus franches avec une prédominance des flavones, flavonones. Par contre, les coumarines et les leucoanthocyanes ont été absents dans l'échantillon analysé.

Nous avons remarqué la présence des tanins dans les feuilles et les graines, de même que celle des catéchines dans les graines de Médéa mais absents dans les feuilles.

Nous constatons que :

Les flavonoïdes existent dans les deux parties de la plante. Ils sont en quantités plus importantes dans les feuilles par rapport aux graines et cela pour toutes les régions étudiées. La réaction de cyanidine confirme la présence de flavonones, flavanonols et flavonoïdes libres dans les feuilles.

Dans les deux parties de la plante, les tanins catéchiques sont présents avec des quantités plus importantes dans les deux régions Tamanrasset et El Oued par rapport à Médéa. Leur présence est confirmée par la réaction de Stiasny. Les alcaloïdes sont présents dans les deux parties de la plante et cela quelle que soit la région.

Dans les trois régions (Médéa, El Oued et Tamanrasset), nous avons remarqué que les alcaloïdes sont plus importants dans les feuilles par comparaison aux graines.

Les triterpènes sont plus importants que le stérol dans les feuilles et dans les graines pour tous les extraits testés.

Les indices de mousses indiquent que l'intensité des saponosides est plus importante dans les feuilles comparativement aux graines dans les trois régions. Un cas exceptionnel est noté dans la région d'El Oued où nous constatons la présence des saponosides dans les graines.

Les travaux de [188 et 243] viennent confirmer nos résultats à savoir que *Zizyphus lotus* contient des molécules biologiquement actives telles que les flavonoïdes, tanins, les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes et les saponosides.

De façon générale, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux de [188 et 15] et aussi ceux de [58] sur la même espèce *Zizyphus lotus* L. de provenance de Tunisie et Maroc.

3.3.1. Détermination de la teneur en composés phénolique

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits est réalisée selon la méthode spectrophotométrie utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

L'analyse quantitative des phénols de l'extrait aqueux et organique de *Z. lotus* est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une gamme de solutions standard d'acide gallique établie séparément. La quantité des phénols totaux dans les extraits est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par 1 gramme d'extrait (mg EAG/g). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 3.1

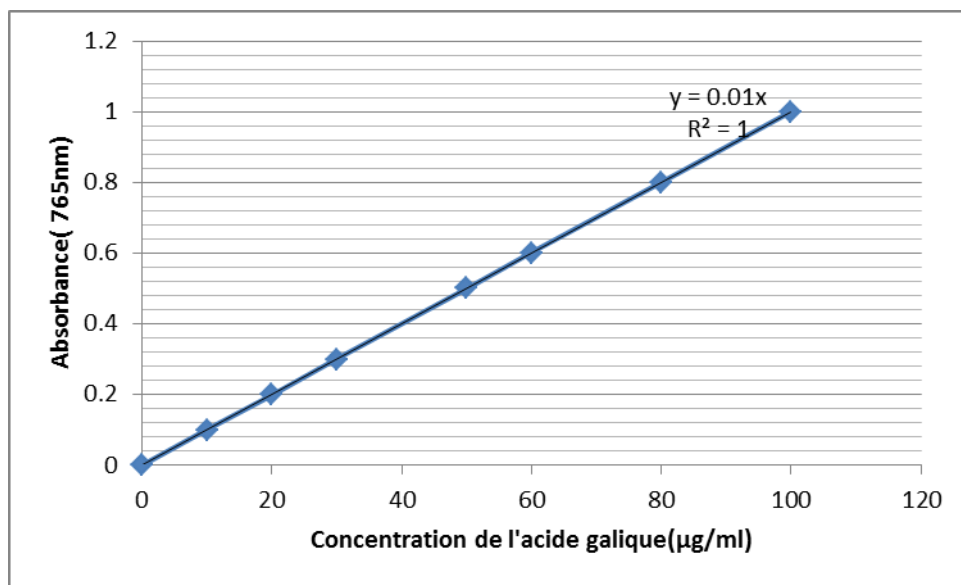


Figure 3.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques

Tableau 3.6: Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins de différents extraits bruts de *Zizyphus lotus* L.

Régions	Extraits bruts	Polyphénols totaux ^(a) mgEAG/g	Flavonoïdes ^(b) mgEQ/g	Tanins condensés ^(c) mgEC/g
	Feuilles			
Tamanrass	HE _{Sox}	87±0.06	34.3±0.1	1.133±0.02
	Aq	15.7±0.2	12.37±0.22	1.523±0.2
	MeOH	91.5± 0,2	37.7±0.03	1.156±0.02
	EtAcOH	72.9±0.01	18.5±0.04	nd
	CHCl ₃	64,34 ± 0,02	17.02±0	1.001±0.01
El Oued	HE _{SOX}	98±0.04	39.6±0.01	2.012±0.04
	Aq	22±0.04	16.32±0.4	3.005±0.02
	MeOH	145±0.023	46.02±0.01	2.16±0.034
	EtAcOH	67±0.04	21.5±0.2	nd
	CHCl ₃	45±0.04	18±0.6	nd
Médéa	HE _{SOX}	56±0.04	29.4±0.04	
	Aq	15.7±0.025	7±0.37mg	2.672±0.02
	MeOH	55± 0,2	34.7±0.03	1.076±0.02
	EtAcOH	43,9 ± 0,01	33±0,01	nd
	CHCl ₃	40,34 ± 0,0201	28.5±0.04	nd
Graines				
Tamanrasset	HESOX	35±0.02	26.02±0.02	nd
	Aq	12±0.01	14±0.02	3.234±0.04
	MeOH	58±0.2	27.65±0.1	1.43±0.02
	EtAcOH	40.6±0.04	24.3±0.02	nd
	CHCl ₃	37.09±0.02	22.7±0.034	nd
El Oued	HESOX	32.3±0.3	27.8±0.02	
	Aq	10.56±0.44	14.2±0.23	1.653±0.03
	MeOH	51.6±0.06	28.2±0.02	1.597±0.03
	EtAcOH	46±0.08	25.6±0.04	nd
	CHCl ₃	33.6±0.01	24.09±0.02	nd
Médéa	HESOX	34±0.2	22.7±0.03	
	Aq	10.34±0.04	10.3±0.02	1.840±0.01
	MeOH	35.02±0.02	24.3±0.02	1.29±0.02
	EtAcOH	32.3±0.02	21.2±0.02	nd
	CHCl ₃	27.2±0.02	19.02±0.04	nd

HESOX : Huile végétale ; Aq : Extrait aqueux ; MeOH : Extrait méthanolique ; EtAcOH : Extrait acétate d'éthyle ; CHCl₃ : Extrait chloroformique.

De nombreuses études ont rapporté une corrélation positive entre les composés phénoliques dans les plantes et leurs activités antioxydantes, ce qui montre l'importance des composés phénoliques comme antioxydants [53]. Notre étude montre que les extraits méthanolique de feuilles de *Z. lotus* L. d'El Oued, Tamanrasset et Médéa ont des teneurs phénolique les plus élevée avec respectivement : 145 ± 0.023 ; $91.5 \pm 0,2$; $55 \pm 0,2$ mg d'équivalents d'acide gallique/g d'extrait végétal. L'extrait acétate d'éthyle et l'extrait chloroformique ont donnés les valeurs respective de : 72.9 ± 0.01 ; 67 ± 0.04 ; $43,9 \pm 0,01$ et $64,34 \pm 0,02$; 45 ± 0.04 ; $40,34 \pm 0,0201$ mg de GAE / g extrait. Alors que l'extrait aqueux possède la plus faible quantité avec les valeurs respectives suivantes : 22 ± 0.04 ; 15.7 ± 0.2 ; 15.7 ± 0.025 mg de GAE / g d'extrait. La teneur en polyphénols totaux était inférieure à 4 fois dans l'extrait aqueux par rapport aux autres extraits (Tableau 3.6).

Par contre l'extrait au méthanol de graines de *Zizyphus lotus* de la région de Tamanrasset à révéler une teneur importante en polyphénol totaux avec une valeur de 58 ± 0.2 mg EAG/g que celle observée à Médéa.

Ces résultats expriment ainsi la bonne capacité des solvants notamment le méthanol à extraire les composés phénoliques.

Les composés phénoliques ont suscité l'intérêt des chercheurs car ils présentent des activités antioxydantes, et peuvent protéger le corps humain contre les radicaux libres, et ont un certain rôle dans la prévention de certaines maladies, y compris le cancer, les maladies cardiovasculaires et des troubles neurodégénératifs [250]. Pour utiliser ces sources significatives d'antioxydants naturels, une caractérisation plus poussée de la composition phénolique est également nécessaire [251]. Pour cela, nous avons réalisé par la suite une analyse plus approfondie de l'extrait ayant les plus fortes concentrations en polyphénols totaux et en flavonoïdes (l'extrait méthanolique).

3.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et l'étalon était la Rutine, en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage (figure 3.2), en remplaçant la Rutine par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée.

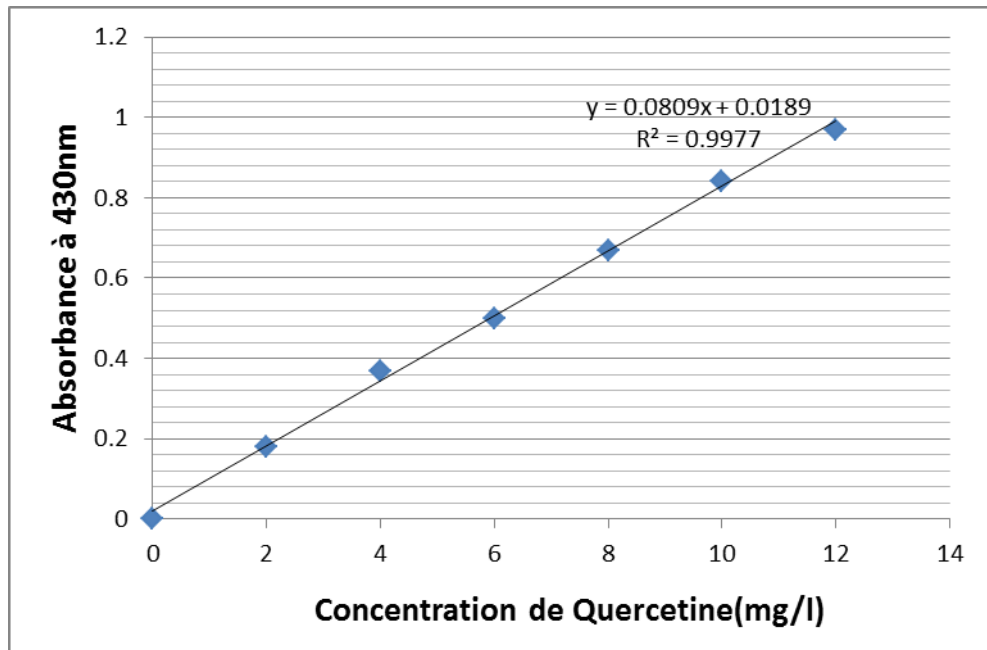


Figure 3.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de la Rutine par 1 gramme de l'extrait (mg EQ / g de l'extrait). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau précédent (Tableau 3.6).

Il est bien connu que les flavonoïdes montrent une activité antioxydante, de même que leurs effets sur la nutrition et la santé humaine sont considérables. Les mécanismes d'action des flavonoïdes sont déterminés par processus de balayage ou de chélation [252].

Les résultats indiquent que les extraits de méthanol, d'acétate d'éthyle de feuilles de Zizyphus lotus d'El Oued, Tamanrasset et Médéa possèdent une grande quantité de flavonoïdes avec 46.02 ± 0.01 ; 37.7 ± 0.03 et 34.7 ± 0.03 /g

d'extrait respectivement, comparativement à l'acétate d'éthyle et l'extrait chloroformique qui sont présentés moindre quantité avec $33\pm 0,01$; 24.3 ± 0.02 ; 24.09 ± 0.02 et 28.5 ± 0.04 ; 18 ± 0.6 ; 17.02 ± 0.02 mg de QE/g d'extrait végétal pour Médéa, El oued et Tamanrasset respectivement. Cependant l'extrait aqueux présente des quantités de 16.32 ± 0.4 ; 12.37 ± 0.22 et 7 ± 0.37 mg de QE/g d'extrait végétal pour El oued ; Tamanrasset et Médéa, respectivement.

Par contre celle de graines n'est que de 28.2 ± 0.02 mg EQ/g d'extrait ; 27.65 ± 0.1 mgEQ /g d'extrait ; 24.3 ± 0.02 mgER/d'extrait pour l'extrait MeOH d' El Oued, Tamanrasset et Médéa respectivement.

Ces résultats diffèrent considérablement de ceux obtenus auparavant sur l'extrait MeOH de feuilles de cette espèce.

3.3.3. Détermination des tanins catéchiques

Le dosage des tanins est réalisé selon la méthode spectrophotométrie de vanilline et l'étalon était la catéchine. La teneur des tanins est exprimée en milligramme d'équivalent de la catéchine par 1 milligramme d'extrait (mg EC/mg de l'extrait).

Les taux des tanins de l'extrait aqueux de *Z.lotus* L. sont obtenus à partir de la courbe d'étalonnage figure 3.3, en remplaçant la catéchine par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.6.

La teneur en tanins est plus marquée dans les graines de l'extrait aqueux de *Zizyphus lotus* L. avec une valeur de 3.234 ± 0.04 mg EC /g. Les feuilles enregistrant une valeur de 3.005 ± 0.02 mg EC/g d'extrait.

Ces résultats montrent, l'extrait aqueux a donné la teneur la plus élevée de 3.234 ± 0.04 ; 1.653 ± 0.03 ; 1.840 ± 0.01 ; 3.005 ± 0.02 ; 2.672 ± 0.02 1.523 ± 0.2 mg EC par g d'extrait en tanins condensés. Nos résultats concordent bien avec ceux trouvés par de nombreux chercheurs [243]. En effet ces chercheurs ont trouvé que l'eau enregistre les teneurs les plus élevées en tanins condensés, tandis que le méthanol extrait faiblement les tanins quel que soit le mode d'extraction, mais le problème est que l'eau à hautes températures, extraient aussi des substances

indésirables comme les protéines, les lipides et les colorants non phénoliques qui causent des interférences lors de dosage des tanins. Aussi, les teneurs en tanins condensés peuvent être variables en raison de plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tanins à des plusieurs voie de dégradation (l'oxydation, la lumière...), le stade de maturité, les conditions culturales, climatiques, pédologiques ou le stress de prédation [253]. Des études récentes ont montrés l'effet vasoconstricteur des tanins.

On peut alors conclure que l'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires.

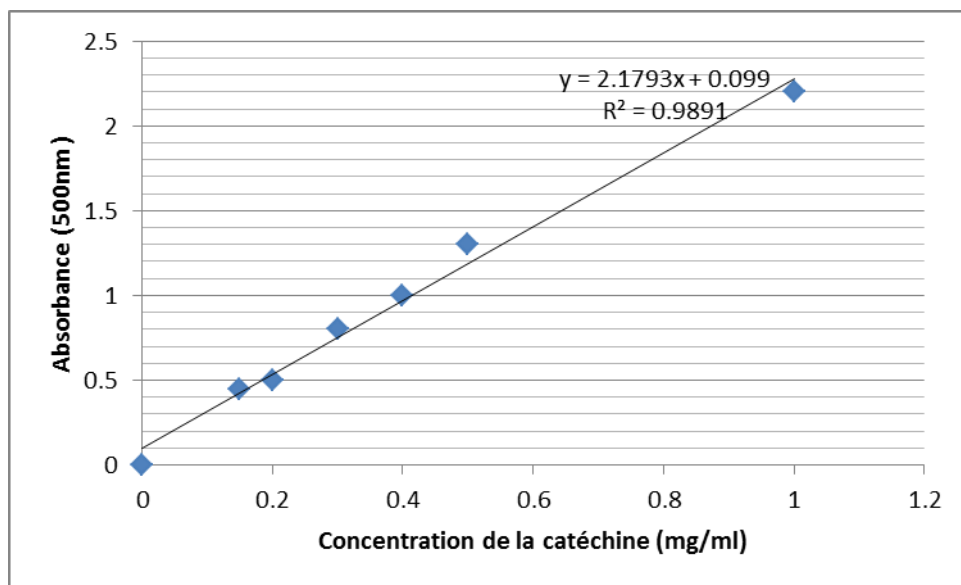


Figure 3.3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés

3.3.4. Détermination des saponines

La hauteur de la mousse obtenue est supérieure à 1 cm dans l'ensemble des tubes contenant le décocté aqueux des feuilles de *Z. lotus* L. de Médéa, El Oued et Tamanrasset, signifiant ainsi que l'indice de mousse est supérieur à 100. Concernant le décocté aqueux des graines, des trois régions, une mousse de 1 cm a été observée dans l'un des tubes avec un indice de mousse de 80. Selon Dohou, N et al [254], présence des saponines dans une plante n'est confirmée qu'avec un indice supérieur à 100

3.4. Chromatographie liquide à haute performance :

L'étude qualitative des composés phénolique de *Z.lotus* L. de Tamanrasset, El Oued et Médéa par HPLC a permis une bonne séparation des substances phénoliques (ou autre) et une identification précise de ces biomolécules.

Les extraits organiques des différentes parties de la plante étudiés ainsi que les témoins ont été analysés par HPLC dans les mêmes conditions expérimentales. Les acides phénoliques et les flavonoïdes ont été identifiés par comparaison de leurs temps de rétention avec celui des témoins.

3.4.1. Identification des acides phénoliques et les flavonoïdes :

L'analyse des extraits méthanolique de *Z.lotus* L. de différents parties de la plante étudiée par HPLC à différente longueurs d'onde en mode gradient d'élution a permis de déceler et identifier les acides phénoliques ainsi que les flavonoïdes.

Les chromatogrammes obtenus montrent la présence de nombreux pics dans chaque extrait brut analysé (fig3.4, fig3.5, fig3.6, fig3.7, fig3.8, fig3.9). La comparaison des temps de rétention enregistrés dans les chromatogrammes des extraits organiques des graines et des feuilles de *Z.lotus* L. de nos trois régions d'étude avec ceux des standards injectés en même temps et dans les même conditions, a permis d'identifier les composés suivants (Tableau. 3.7 et 3.8).

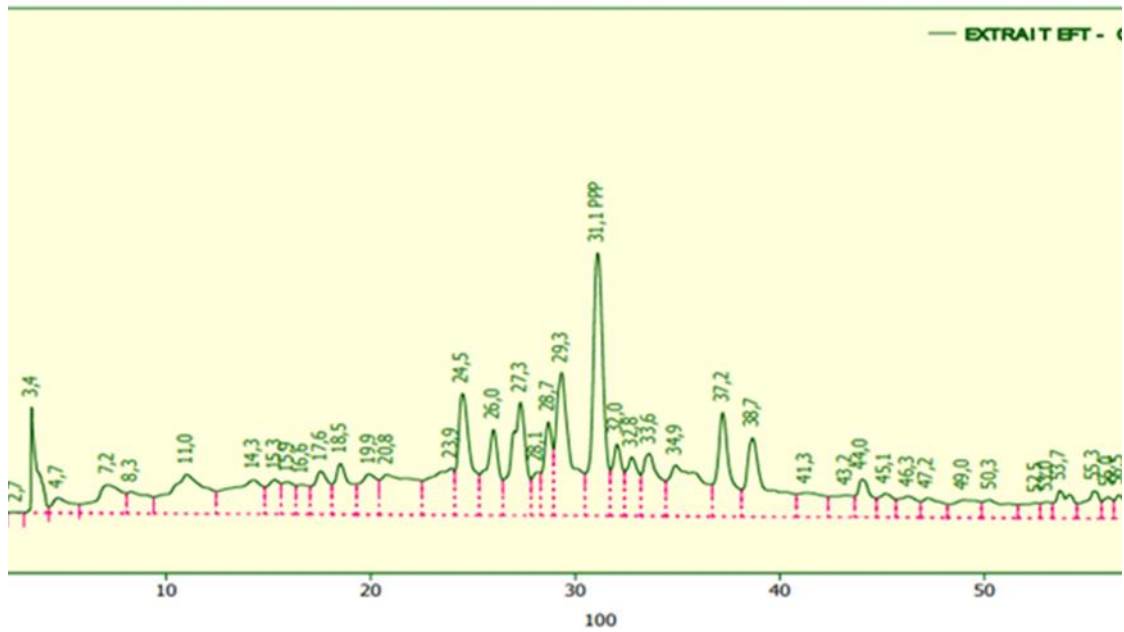


Figure 3.4: Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des feuilles de *Zizyphus lotus* L. de Tamanrasset

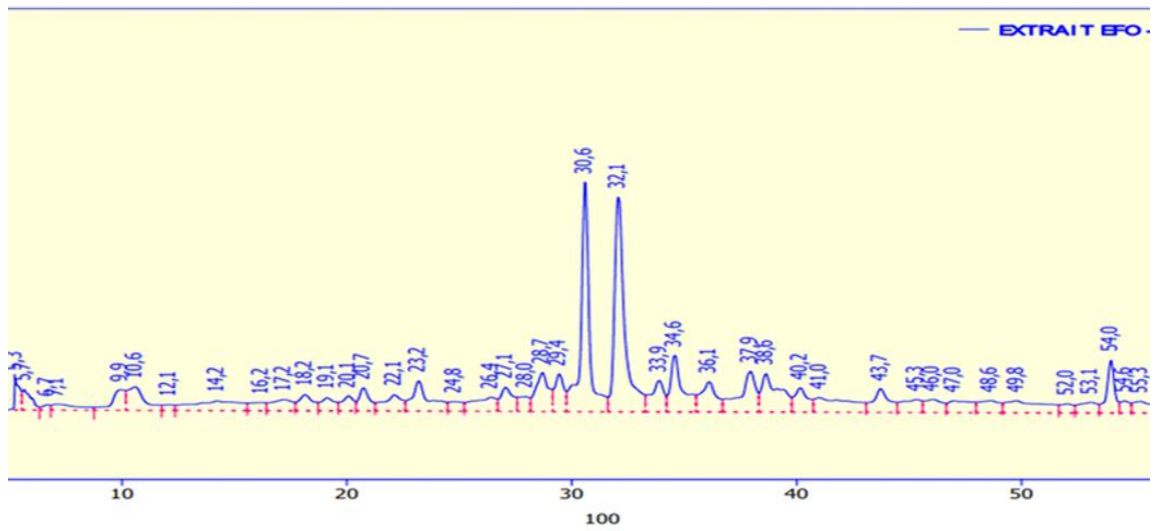


Figure 3.5: Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des feuilles de *Zizyphus lotus* L. d'El Oued

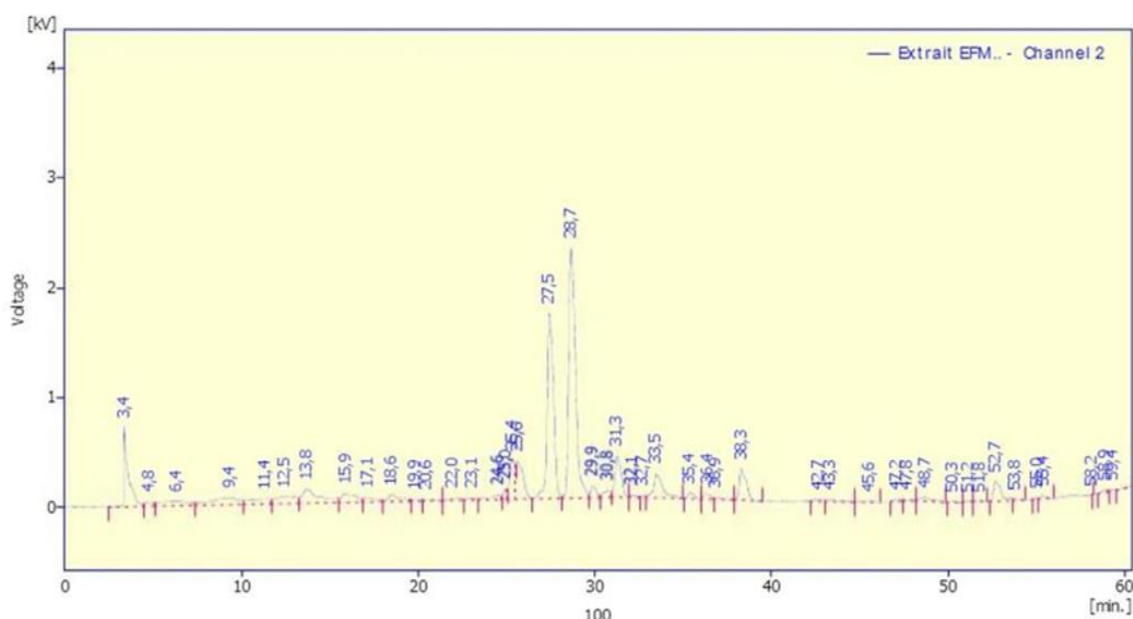


Figure 3.6: Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des feuilles de *Zizyphus lotus* L. de Médéa

Tableau 3.7: l'identification des principaux composés phénoliques de l'extrait méthanolique de feuille de *Zizyphus lotus* L. par HPLC.

Pics	Nom du composant	Temps de Réention (min)	Pourcentage %		
			Tamanra sset	EI Oued	Médéa
1	Acide ascorbique	3,427	4,1	0	5,4
2	Acide gallique	7,98	2,2	0,9	1,7
3	Résorcinol	10,937	4,1	2,1	0
4	Acide 2,5 hydrox benzoïque	16,537	1,2	1,0	2,7
5	Acide catéchétique	17,5	1,9	1,2	2,1
6	Acide isovanilique	20,9	4,7	1,3	4,1
7	Acide ferulique	26,9	3,2	1,7	4,6
8	Acide3hydroxy-4-metoxycinnamique	27,3	4,7	1,5	18,9
9	Indol-3 carboxylique (99%)	28,7	2,3	3,7	27,4
10	Berbérine	29,3	10,7	10	0
11	Rutine	30,5	2,3	20,3	0,2
12	Robinine	31,1	8,1	10,5	4,8
13	Acide p.amnisique	32,5	2,1	0	0,1
14	Myricetine	34,9	5	3,6	0
15	Acide trans cinnamique	35	4,7	/	/
16	Acidetrans2,4 dimetoxycinnamique	37,2	3,8	3,4	0
17	Quercetine	38,7	5,3	3,6	3,3
18	Kaempferol	44,037	1,8	2,5	2,2

Nous notons la présence de sept acide phénoliques et leur dérivés (acide 3-hydroxy-4-methoxy-cinnamique, acide trans 2,4 dimethoxy- cinnamique, acide gallique, acide ferulique, Indol-3 carboxylique (99%), Acide 2,5 hydrox benzoïque, acide isovanilique), quatre flavonols (Rutine, Robinine, Quercetine, Kaempferol), un flavan-3ols (catéchine), et un alcaloïde (Berbérine) au niveau des échantillons foliaires.

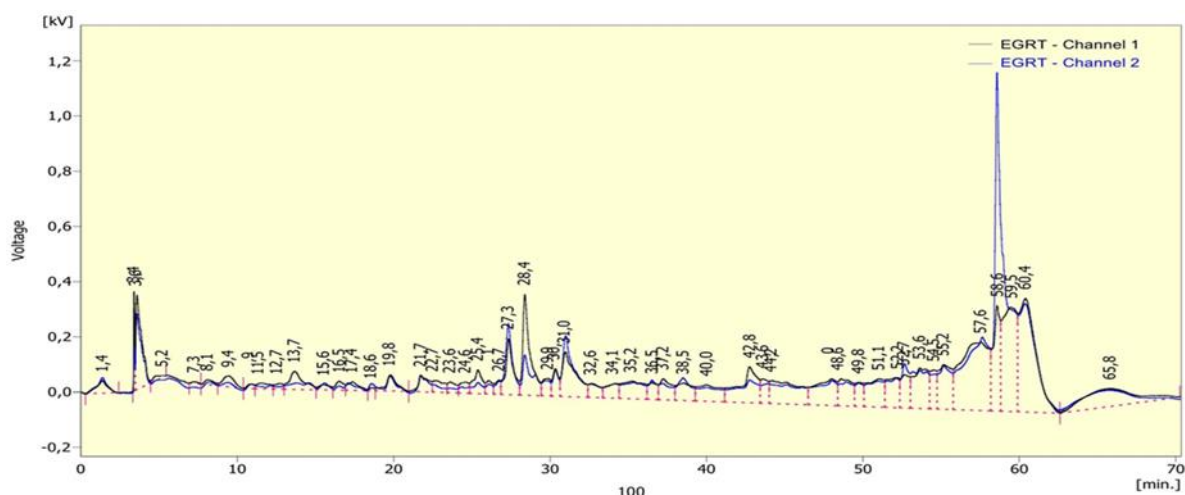


Figure 3.7 : Chromatogramme obtenu à 280 et 254 nm d'EMeOH des graines de *Zizyphus lotus* L. de Tamarasset

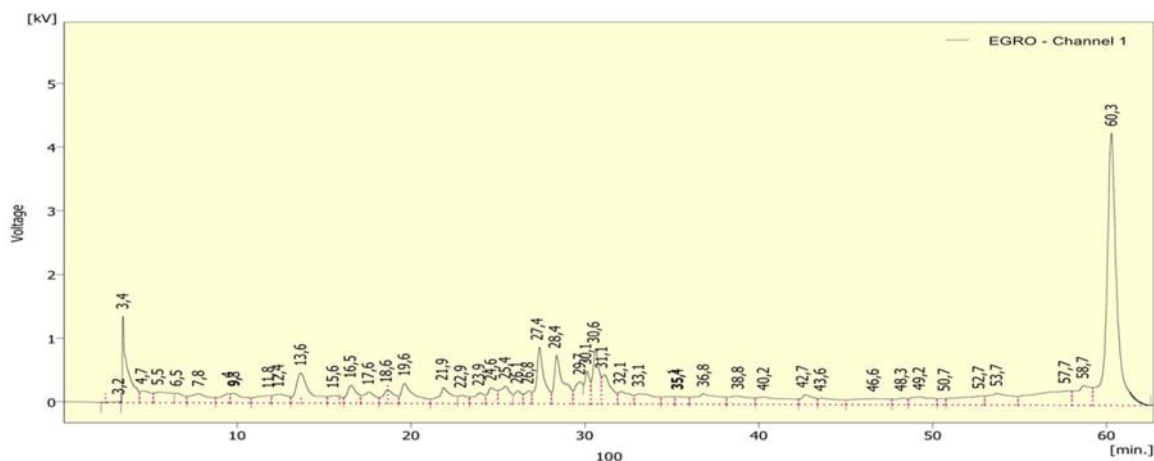


Figure 3.8 : Chromatogramme obtenu à 280nm d'EMeOH des graines de *Zizyphus lotus* L. d'El Oued.

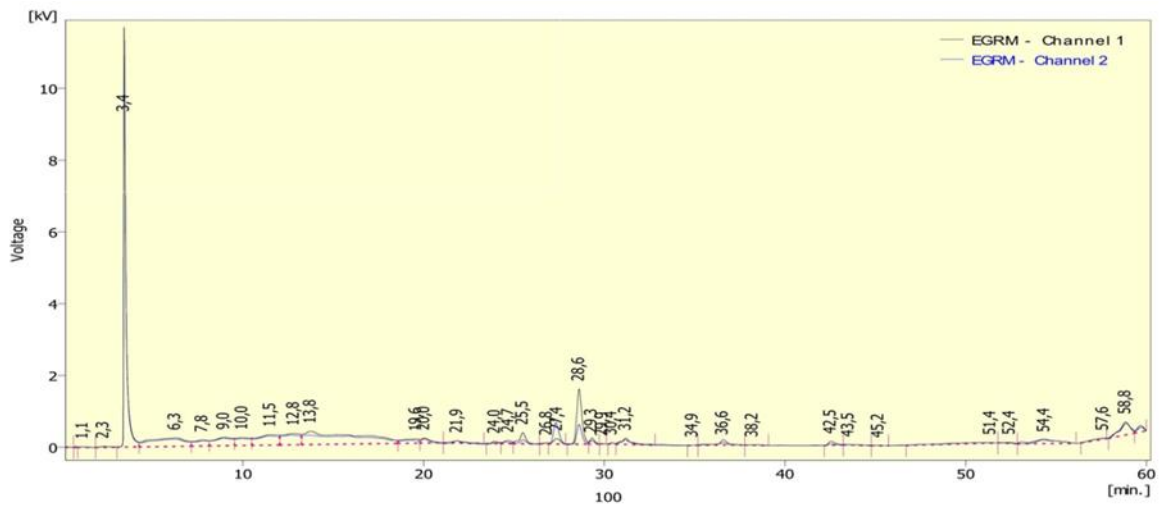


Figure 3.9 : Chromatogramme obtenu à 280 et 254 nm d'EMeOH des graines de *Zizyphus lotus* L. de Médea

Quant à la graine, quatre acide phénolique et dérivés (acide ascorbique, acide gallique, acide 3 hydroxy-4-métoxy-cinnamique, Indol-3 carboxylique (99%), deux flavonols (Robinine, Kaempferol), deux flavan-3ols (Apegenine, Catéchine) et un alcaloïde (Berbérine) sont identifiés dans ces extraits méthanolique de *Zizyphus lotus* L. de Tamanrasset, El Oued et Médéa.

Tableau3.8: Identification des principaux composés phénoliques de l'extrait méthanolique des graines de *Zizyphus.lotus* L. par HPLC.

Pics	Composés	Temps de Rétention (min)	Pourcentage %		
			Tamanrasset	El Oued	Médéa
1	Acide ascorbique	3,427	2,9	4,6	25,7
2	Acide gallique	6,3	0,1	1,7	8,1
3	Résorcinol	10	0	0	2,9
4	Acide2,5 hydroxy benzoïque	16,54	0	0	0
5	Acide catéchétique	17,5	0,5	1,2	0
6	Acide isovanilique	20,9	0	0	1,3
7	Catéchine	21,9	0,9	1,8	0,8
8	Acide syringique	22,7	0,7	0,6	0
9	Acide trans cinnamique	25,4	0	0	1,8
10	Acide ferulique	26,7	0,4	4,2	0
11	Acide3hydroxy-4-metoxy-cinnamique	27,3	2,3	4,2	1
12	Indol-3 carboxylique (99%)	28,4	4	4,4	7,8
13	Berbérine	29,9	0,7	1,6	0,4
14	Rutine	30,3	0,9	3,4	0
15	Robinine	31,1	3,3	2,6	1,3
16	Euleropenine	32,6	0,8	1,3	0
17	Myricetine	34,1	1	0	0
18	Apenin	35,2	2,1	0	0
19	Quercetine	36,8	0	1,9	0,8
20	Acidtran2,4dihydroxycinnamique	37,9	1,3	0	0
21	Apegenin	42,8	2,3	0,8	0,7
22	Kaempferol	57,5	10,2	3,9	3,4
23	Kaempferol-3-O-rutinoside	60	10,4	25,9	0

D'après les résultats obtenus, la partie foliaire de *Zizyphus lotus* L. des trois régions étudiés, présente une dominance de six acides phénoliques et dérivés de l'acide hydroxy cinnamique (C_6-C_3) et deux dérivés seulement de l'acide benzoïque (C_6-C_1). De plus, en comparant nos résultats obtenus avec ceux d'autres études, nous constatant que notre étude confirme la présence de l'acide cinnamique et ses dérivés, dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Zizyphus lotus* L.

Le nombre de composés détectés et identifiés diffère d'une région à une autre et d'un organe à un autre, nous remarquons que la feuille est l'organe le plus riche, en composés phénoliques car elle est le site principal, de synthèse de ses

composés ; ou nous avons identifié les acides phénoliques et aglycones flavonoïdes.

En outre, dix-huit nouveaux métabolites sont mis en évidence pour la première fois dans les feuilles de *Zizyphus lotus* L. à Ilanane (région de Tamanrasset). Ces métabolites appartiennent à différentes classes de composés phénoliques. Nous avons révélé des acides phénoliques et des dérivés de type phénylpropanoïdes dont le squelette est en C₆-C₃; des dérivés de l'acide hydroxycinnamique en

C₆-C₁ des flavonoïdes représentés par cinq flavonols, un flavan-3-ol et un alcaloïde. L'acide trans-cinnamique présent dans tous les échantillons analysés, est le précurseur de synthèse de la plupart des autres substances phénoliques.

Concernant les aglycones flavonoïques, on note leur présence chez les deux organes aériens ; nous avons identifié six flavonols : (quercétine, kaempferol, myricétine, rutine, robinine, catéchine), trois flavones (apégénine, apénine et euléro-pénine) dans la feuille et la graine de Tamanrasset, et un alcaloïde.

3.4.2. Voies de biosynthèses possibles des composés identifiés par HPLC :

Les résultats obtenus par HPLC montrent que la plante de *Zizyphus lotus* L. de Tamanrasset est qualitativement riche en composés phénoliques à savoir les : aglycones flavonoïques (quercétine, kaempferol, robinine, rutine, catéchine), phénylpropanoïdes (acide trans-cinnamique, acide 3-hydroxy-4-méthoxy-cinnamique, Indol-3-carboxylique(99%), acide-p-aminique, acide trans-2,4-diméthoxy-cinnamique, acide ferulique), dérivés d'acide benzoïque (acide 2,5-hydroxy-benzoïque, résorcinol, acide isovanillique) , deux flavones (apégénine apénine), de même nous avons identifié un alcaloïde la berbérine de la même région.

Les teneurs en rutine trouvées dans les feuilles de *Z. lotus* L. de la région de Tamanrasset et Médéa, restent relativement faibles par rapport à celles trouvées dans la région d'El Oued 20,7%. D'autres composés phénoliques majoritaires comme l'Indol-3-carboxylique (99%), Acide 3-hydroxy-4-méthoxy-cinnamique ont été isolés à partir de l'extrait des feuilles de *Z. lotus* L. de Médéa avec un pourcentage de 27,4% et 18,9% respectivement.

D'autre part, le chromatogramme Figure.3.4 ; 3.5 a montré que les feuilles de *Z. lotus* L. de l'écotype de Tamanrasset et d'El oued étaient essentiellement riches en berbérine a des taux respectif de 10,5% ; 10% et la robinine a des taux respectif de 10,5% et 8,1%.

Zadernowski R et al [255] pensent que ces différences qualitatives peuvent être soit d'origine externe (géographique et environnementale, condition expérimentale) soit d'origine interne (degré de maturité et différence d'origine génétique).

Les résultats obtenus montrent que *Z. lotus* L. est riche en composés phénoliques, essentiellement la rutine, Kaempferol-3-O-rutinoside localisée dans les feuilles, ce qui peut accorder à la plante un rôle thérapeutique et médicinal important [72].

L'extrait méthanolique des feuilles, graines de *Z. lotus* L. d'El Oued s'est révélé très riche en saponines. De plus on note la présence abondante de flavonoïdes. Ces derniers sont la rutine (quercétine-3-O- β -rutinoside), Robinine, Berberine, Kaempferol-3-O-rutinoside un des produits majoritaires de cet extrait, et plusieurs flavonoïdes minoritaires ayant le kaempférol comme l'aglycone.

Le profil HPLC de Médéa Figure 3.6 ; 3.9 montre également cinq nouveaux composants majoritaires, dont l'acide ascorbique, l'acide gallique et trois composés phénoliques majoritaires. Ces derniers sont l'indole3-carboxylic 99% et l'Acide 3 hydroxy-4-metoxy-cinnamique, Acide ferrulique.

Les taux des deux régions Tamanrasset, El Oued sont similaires, les composants majoritaires, la berbérine, la robinine et le kaempferol-3-O-rutinoside avec respectivement : 10,7%, 8,1% et 10,9%, accompagnés des composés phénoliques, ces derniers sont l'indole 3-carboxylic un des produits majoritaire avec un pourcentage de 28,7%.

Plusieurs flavonoïdes minoritaires contenant le myricetine, quercetine, sont observés sur le profil à 280 et 250nm. Les flavonoïdes sont connus pour être des agents antioxydants, inhibiteurs d'enzymes, protecteurs vasculaire et hépatique.

Les dérivés de l'acide benzoïque comme l'acide vanillique et les dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide p-anisique, férulique ont une bonne activité antioxydante [256].

Le resvératrol est un bon antioxydant contre l'oxydation des LDLs [257]. Les flavonoïdes (quercétine, myricétine,...etc.), sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes.

Des études chez l'homme ont permis de montrer que les flavonoïdes, permettent de réduire le taux de cholestérol (LDL) [126]. L'analyse qualitative ou/et l'identification des composés phénoliques de la partie aérienne, de

Zizyphus lotus L. des écotypes de Tamanrasset, El Oued et Médéa (Algérie) sont étudiés pour la première fois.

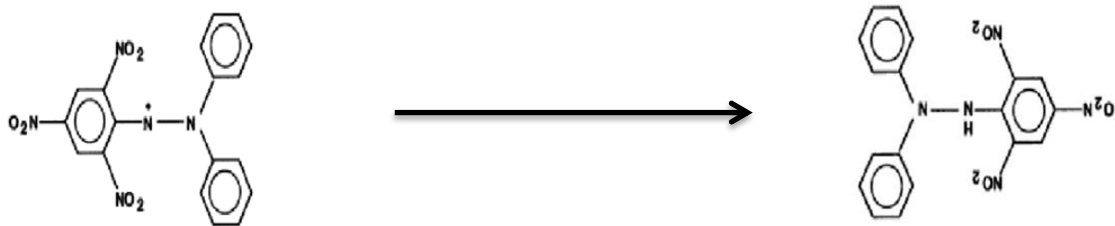
3.5. Etude de l'activité Antioxydante

La capacité antioxydante des extraits de plante est largement dépendante de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests in vitro. L'évaluation de l'activité est donc nécessairement réalisée par au moins deux méthodes différentes [247].

3.5.1. Piégeage du radical libre DPPH

2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre organique stable avec une bande d'absorption de 517 nm. Il perd cette absorption lorsqu'il accepte un électron ou une espèce de radicaux libres, ce qui entraîne une décoloration visuellement perceptible du violet au jaune (figure 3.9).

Les résultats de l'activité antioxydante des différents extraits aqueux et organiques de *Z. lotus* L. étudiée par le test de DPPH sont exprimés par le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits et sont représentés graphiquement (I % en fonction de la concentration) et portés par rapport à ceux obtenus pour le BHT, l'acide ascorbique est pris comme antioxydants de référence.



Diphenylpicrylhydrazyl+ Antioxydant-OH \longrightarrow Diphenylpicrylhydrazine+ Antioxydant-O
 (Couleur violet) (Couleur jaune)

Figure 3.11. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Pour l'évaluation de cette activité, on a préparé une gamme de dilutions allant de 0,312 à 1 mg/ml pour l'acide ascorbique, BHT et les différents extraits organiques et aqueux, de la partie aérienne de *Z. lotus* L.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe d'allure exponentielle, ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel.

➤ Pourcentage d'inhibition :

Les profils d'activités anti-radicalaires des différents extraits (aqueux, méthanolique, acétate d'éthyle et chloroformique) de différentes parties de la plante des 3 régions sont représentés dans les figures 3.12, 3.13, 3.14, 3.18, 3.19, 3.20.

Les figures présentés ci-après montrent les profils correspondant à la variation du pourcentage d'inhibition (PI%) en fonction des concentrations des différents extraits (aqueux, organiques) obtenus. A partir de ces profils, on détermine les valeurs d'une concentration inhibitrice (antioxydant) nécessaire pour diminuer de 50% le taux des radicaux libres [258].

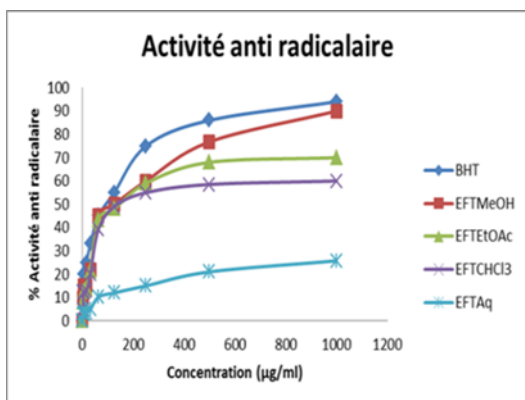


Figure 3.12 .Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits de feuilles de Tamanrasset

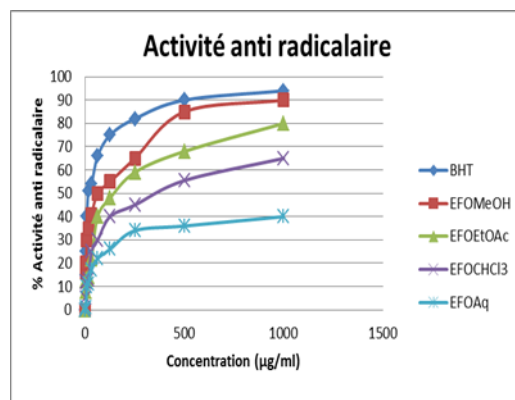


Figure 3.13. Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits de feuilles d'El Oued.

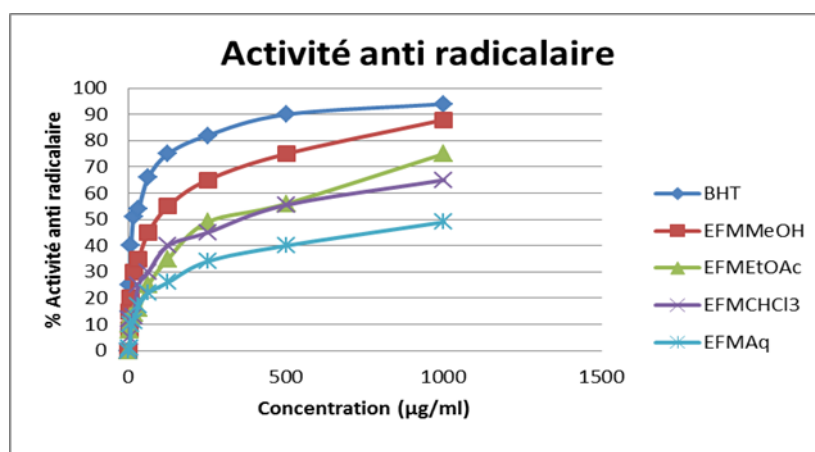


Figure 3.14. Pourcentages de réduction du radical Libre DPPH des extraits de feuilles de Médéa

L'extrait (MeOH, EtAcOH, CHCl₃) de feuilles et de graines des trois régions (Tamanrasset, El Oued et Médéa) ont montré des pouvoirs de piégeage du radical DPPH presque similaires, tandis que l'extrait aqueux de la partie aérienne de Médéa, El Oued et Tamanrasset a une activité moindre. De façon générale, tous les extraits organiques de feuilles de *Z. lotus* L. des différentes régions ont atteint 50% d'activité, sauf l'extrait aqueux.

La figure si dessus, montre que les différents extraits organiques de feuilles ont tous des activités similaires, et atteignent 50% d'activité à des concentrations inférieures à 1mg/ml.

➤ Calcul des CI50 :

La capacité antioxydante de nos différents extraits (aqueux, organiques) a été déterminée à partir des CI₅₀. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. CI₅₀ et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels [215].

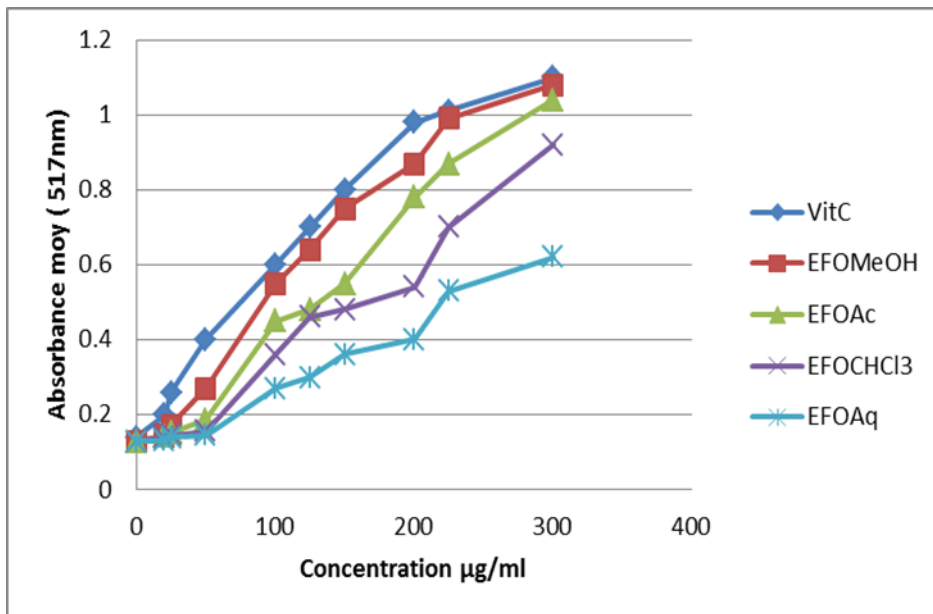


Figure 3.15. Pouvoir réducteur des extraits des feuilles de *Z. lotus* L. d'El Oued.

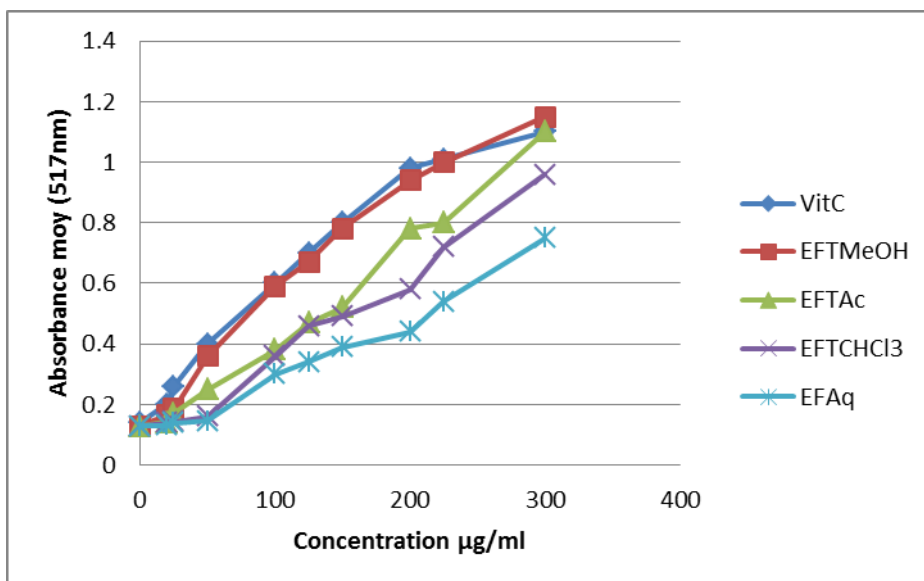


Figure 3.16. Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de *Z. lotus* L. de Tamanrasset.

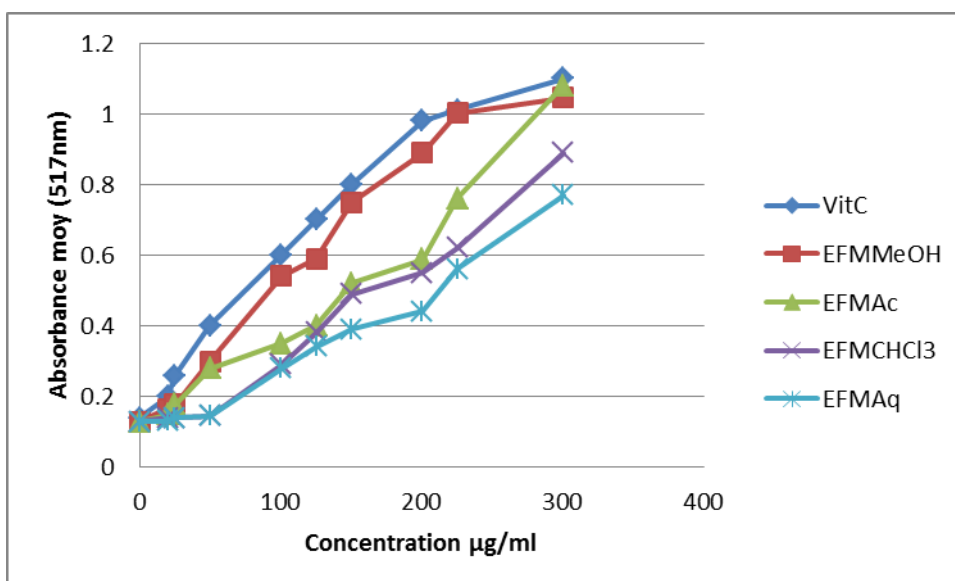


Figure 3.17. Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de *Z. lotus* L. de Médéa.

Nous avons calculé les CI50 pour chaque extrait à partir de l'équation logarithmique de la courbe tracée, les valeurs sont représentées dans le tableau 3.9.

Tableau 3.9: Valeurs des CI50 et CE50 exprimés (mg/ml) de différents extraits (aqueux, organiques) de feuilles et graines de *Zizyphus lotus* L..

régions	Extraits	CI ₅₀ DPPH	CE ₅₀ FRAP
Tamanrasset	EFMeOH	0.084	0.10
	EFAcOH	0.095	0.150
	EFCHCl ₃	0.165	0.175
	EFAq	0	0
	EGMeOH	0.105	0.100
	EGAcOH	0.220	0.190
	EGCHCl ₃	0.425	0.250
	EGAq	0	0
El oued	EFMeOH	0.087	0.110
	EFAcOH	0.135	0.150
	EFCHCl ₃	0.352	0.200
	EFAq	0	0
	EGMeOH	0.089	0.095
	EGAcOH	0.185	0.185
	EGCHCl ₃	0.260	0.220
	EGAq	0	0
Médéa	EFMeOH	0.105	0.12
	EFAcOH	0.220	0.190
	EFCHCl ₃	0.425	0.195
	EFAq	0	0
	EGMeOH	0.150	0.120
	EGAcOH	0.390	0.190
	EGCHCl ₃	0.450	0.250
	EGAq	0	0
BHT		0.075	
AA			0.095

BHT : hydroxytoluènebutylé

AA : acide ascorbique

CI₅₀ : concentration inhibitrice nécessaire pour diminuer 50% de taux de radicaux libres.

CE₅₀ : concentration effective à laquelle l'absorbance égale à 0.50

EFMeOH : Extrait feuille méthanolique

EFAq : Extrait feuille aqueux

EFCHCl₃ : Extrait feuille chloroformique

EFAcExtrait feuille acétate d'éthyle

EGMeOH : Extrait graine méthanolique

EGAq : Extrait graine aqueux

EGCHCl₃ : Extrait graine chloroformique

EFAc: Extrait graine acétate d'éthyle

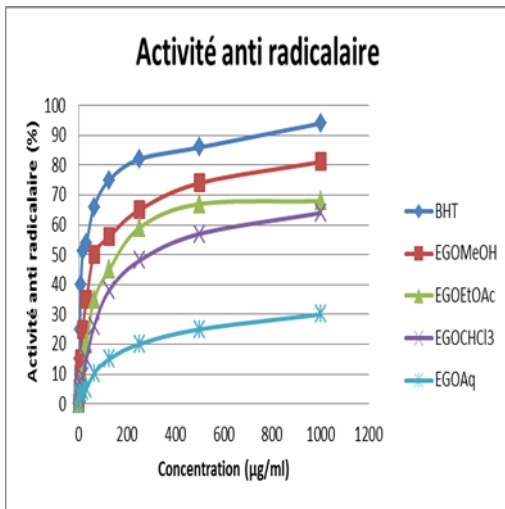


Figure 3.18. Pourcentages de réduction du radical libre DPPH d'extraits bruts de graines d'El Oued

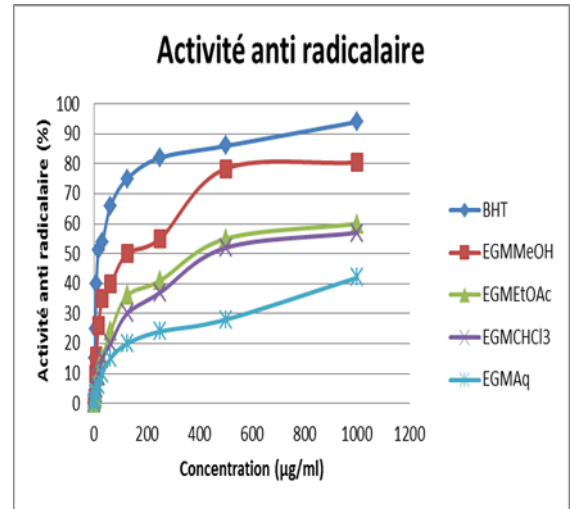


Figure 3.19. Pourcentages de réduction du radical libre DPPH d'extraits bruts de graines de Médéa

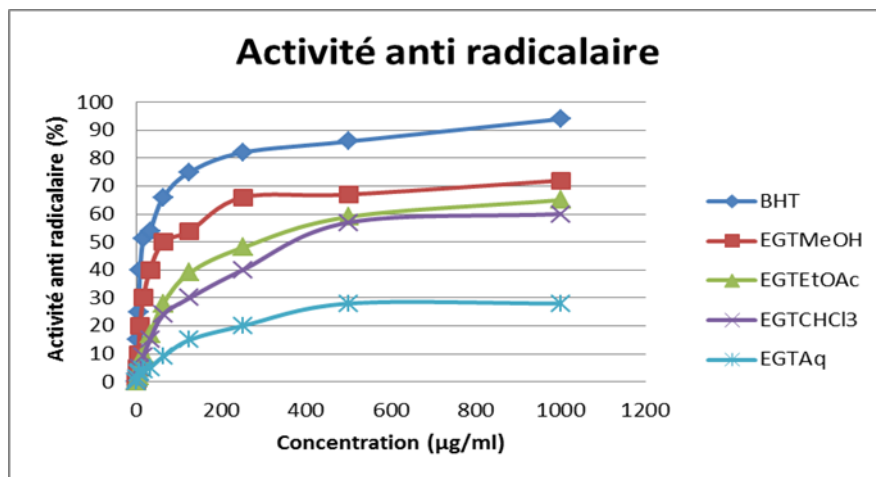


Figure 3.20. Pourcentages de réduction du radical libre DPPH d'extraits bruts de graines de Tamanrasset

5.2. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) :

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs [259].

Pour tous les extraits, des dilutions en cascade allant de 1 à 0.0312 mg/ml, sont préparées, le pouvoir réducteur est mesurés à 700 nm [260].

D'après nos résultats, pour tous les extraits testés une augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées.

Les différents extraits organiques (méthanolique, acétate d'éthyle et chloroformiques) de feuilles et graines de *Z. lotus* L. des trois régions présentent des activités antioxydantes nettement inférieures que celle de la référence (acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0.6 mg.

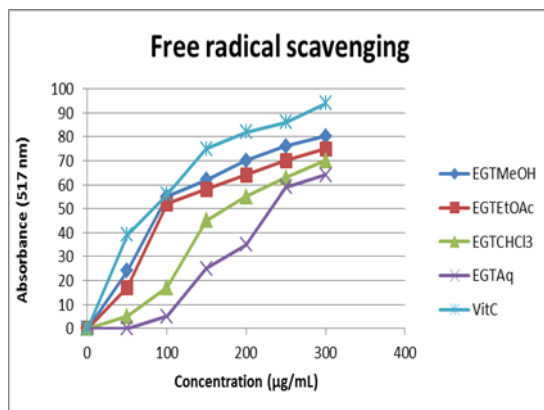


Figure 3.21. Pouvoir réducteur des ions Ferriques d'extraits bruts de graines de *Z.lotus* L. de Tamanrasset.

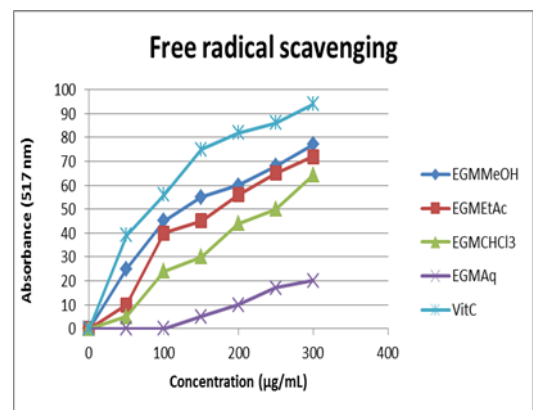


Figure 3.21. Pouvoir réducteur des ions Ferriques d'extraits bruts de graines de *Z.lotus* L. de Médéa

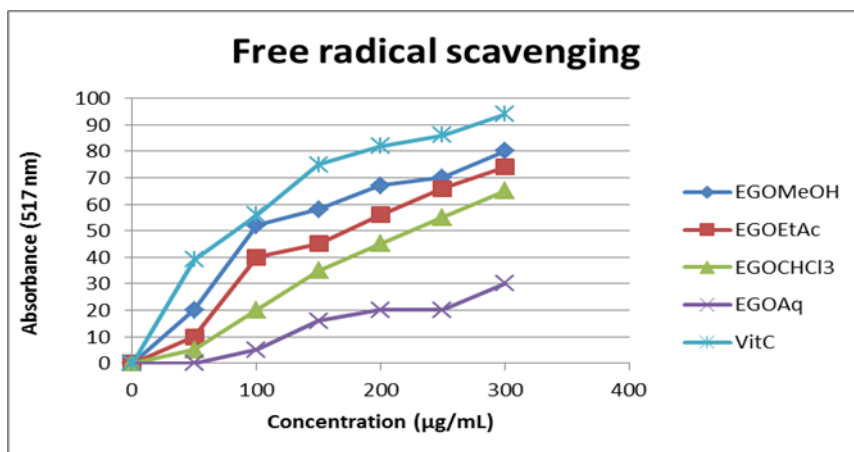


Figure 3.23. Pouvoir réducteur des ions ferriques d'extraits bruts de graines de *Zizyphus lotus* L. d'El Oued

L'extraits méthanolique est généralement le plus actifs, suivi par l'extraits apolaire (acétate d'éthyle, chloroforme,) de *Z. lotus* des trois régions.

L'extrait de feuilles est les plus actifs comparativement aux extraits de graines de chaque région.

D'après l'histogramme, nous remarquons en premier lieu que tous nos extraits ont des activités moins importantes que la substance de référence (BHT, l'acide ascorbique), les extraits méthanoliques de feuilles sont généralement les plus actifs par rapport aux autres extraits de feuilles et graines.

Nos extraits bruts peuvent classer selon l'ordre décroissant d'activité antioxydante : BHT > EFMeT > EFOMe > EFMMe > EFTAc > EFOAc > EFMAc > EFTCl > EFOCl > EFMCl . Les extraits de graines peuvent être classés par ordre décroissant du pouvoir anti-radicalaire, comme suit : BHT > EGOMe > EGTMe > EGMMe > EGTAc > EGMAc > EGOCi > EGTCl > EGMCl. D'après les résultats, le classement des extraits selon la méthode du piégeage du radical DPPH est confirmé par le classement obtenu par la méthode de réduction du fer.

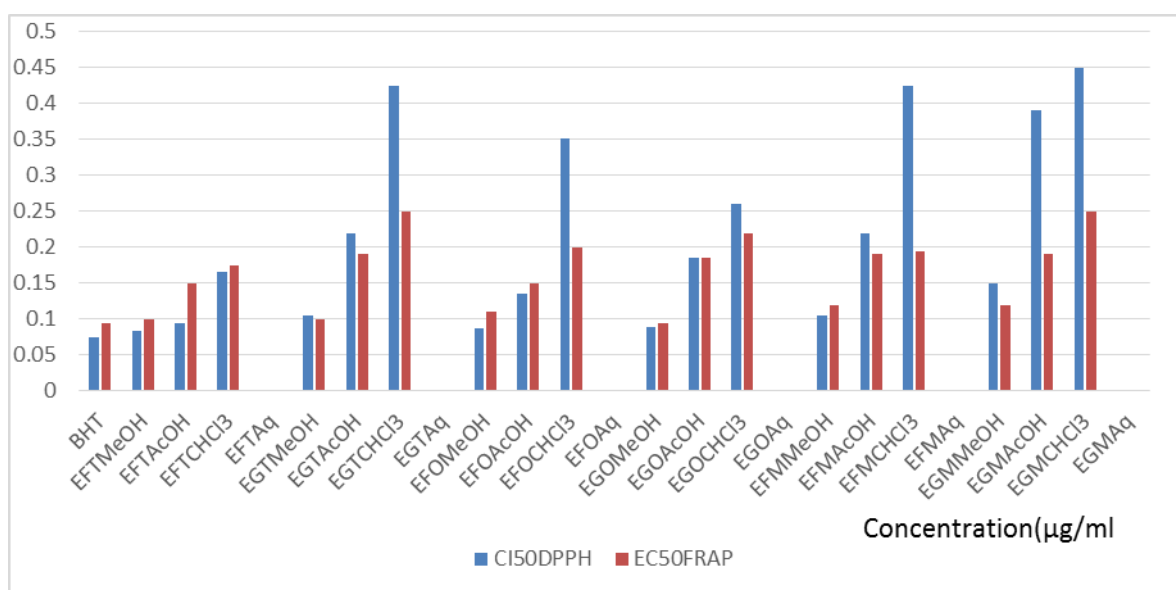


Figure 3.24. Les IC50 des différents extraits de *Zizyphus lotus* L. et de l'acide ascorbique.

Les extraits méthanoliques sont plus actifs que les extraits aqueux et apolaires. Les composés phénoliques et flavonoïdes, sont des meilleurs donneurs d'électron ou d'hydrogène [261]. chélateurs des ions métalliques [262 et 263]. Plusieurs études ont montré que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques et flavonoïdes sont responsables de leurs pouvoirs antioxydants [264, 265], [et aussi les sites d'hydroxylation des différents noyaux affectent la potentialité antioxydante [266]. Pour les flavonoïdes, les formes aglycones sont plus actives que les formes glycosylées [261].

Les activités d'extraits acétate d'éthyle sont généralement proches de celles d'extraits méthanoliques.

Le test « de piégeage du radical libre » de l'extrait méthanolique de feuilles de *Zizyphus lotus* L. a été évalué à 90%, suivi de l'extrait obtenu à l'acétate d'éthyle (70%). Cette valeur est proche de l'activité de l'antioxydant synthétique BHT (94,0%) à la même concentration (Figure 3.24). L'IC50 (concentration qui donne 50% d'inhibition d'activité antiradicalaire) la plus faible a été obtenue pour les

extraits méthanoliques de Tamanrasset, El Oued et Médéa avec un ($IC_{50}=0,084\text{mg/ml}$; $IC_{50}= 0,087\text{mg/ml}$; $IC_{50}=0,105\text{mg/ml}$) respectivement.

L'effet antioxydant pour l'extrait méthanolique est non négligeable puisque l' IC_{50} obtenu pour la molécule de référence (BHT: $0,075\text{ mg/ml}$; Acide ascorbique : $0,095\text{ mg/ml}$). Nous pouvons dire que l'extrait méthanolique de *Z. lotus* L. présente le meilleur effet antioxydant, suivi par l'extrait acétate d'éthyle, puis celui obtenu avec l'acide chloroformique. L'extrait aqueux possède l'effet antioxydant le plus faible.

Le pouvoir réducteur des différents extraits aqueux, MeOH, EtOAc et $CHCl_3$ de *Z. lotus* L. est reporté sur les figure 3.21 ; 3.22 ; 3.23. Les résultats de la réduction des ions Fe^{3+} à Fe^{2+} ont montré une valeur de l'absorbance des extraits MeOH, EtOAc, $CHCl_3$ et aqueux pour une concentration de 1mg/ml qui est de 0.9, 0.83, 0.63 et 0.57 respectivement. Les absorbances enregistrées pour les deux extraits méthanolique et acétate d'éthyle sont les plus élevées et sont proches de celles de l'antioxydant de référence (l'acide ascorbique= 0.095) à la même concentration (1mg/ml) (Figure 3.24). Le pouvoir réducteur des différents extraits de la plante est dépendant de la dose. A la concentration de $250\mu\text{g/ml}$ ($<1000\mu\text{g/ml}$), le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Z. lotus* L. est largement supérieur à l'extrait aqueux, mais nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique (Figure 3.24). On ne peut donc obtenir un effet similaire à la molécule de référence qu'à partir de $1000\mu\text{g/ml}$. Il faut signaler que tous nos résultats sont en parfaite corrélation ; l'extrait le plus antioxydant, est le plus riche en polyphénol, en flavonoïdes et en tanin. L'analyse de ce dernier par (HPLC) montre bien la présence de molécules connues pour leurs effets antioxydants. Nos résultats sont en conformité avec la bibliographie. En effet, Dans de nombreux articles, il a été expliqué que la capacité antioxydante peut être influencée par les polyphénols totaux et en anthocyanes, [267] aussi l'activité anti-oxydante d'un large éventail d'extraits de plantes est attribuée à la présence de flavonoïdes [107]. La capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique des extraits étaient bien corrélés à leur teneur totale en polyphénols et en vitamines C [250]. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par [140], qui ont évalué l'activité anti radicalaire vis-à-vis du radical DPPH des extraits méthanoliques de cinq variétés de *Zizyphus jujuba*, où l'effet anti radicalaire obtenu est entre 17,8 à 69,1% pour une concentration de 0,5

mg/ml. La valeur d'EC50 de la vitamine C est similaire à celle rapportée auparavant (EC50=0,07µg/µg DPPH) selon [268].

5.3. Coefficient entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des différents extraits bruts

Dans cette étude, la corrélation entre les contenus en composés phénolique des différents extraits aqueux et organiques et leurs activités antioxydantes est étudiée. Les coefficients de corrélations linéaires entre les composés phénoliques (phénolique totaux, flavonoïdes et les tanins condensés) et les activités antioxydantes par la méthode DPPH, FRAP sont représentés dans le tableau ci-après.

Tableau 3.10: Coefficient de corrélation linéaire entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante des différents extraits bruts.

	TPT	TFT	TTC	Cl ₅₀	EC ₅₀
TPT	1	0,19	0,94	0,65	0,81
TFT		1	0,5	0,87	0,42
TTC			1	0,87	0,57
Cl ₅₀ DPPH				1	0,09
EC ₅₀					1

TPT : Teneur en polyphénols totaux

TTC: Teneur en tanins condensés

TFT : Teneur en flavonoïdes totaux

Cl₅₀ : Concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% de taux de radicaux libre.

EC₅₀ : Concentration effective à laquelle l'absorbance est égale à 50%.

Le coefficient de corrélation obtenu entre les phénoliques totaux et les teneurs en tanins et en flavonoïdes varient entre 0,19 et 0,94. Une bonne corrélation est obtenue entre les composés phénoliques totaux et les tanins totaux (r= 0,94), la corrélation est très faible entre les polyphénols totaux et les flavonoïdes avec (r= 0,19)

La teneur en polyphénols totaux, contribue à l'activité antioxydante des extraits. Ces antioxydants montrent des coefficients élevés par rapport aux autres composés et la valeur de r se situe entre 0,65 et 0,81 respectivement pour le test DPPH et le test FRAP. Cependant une corrélation négative est obtenue entre le

pouvoir antioxydant (test FRAP) et la composition en flavonoïdes totaux des différents extraits bruts. Par contre une forte corrélation est obtenue entre le pouvoir antioxydant et la composition en flavonoïdes totaux et en tanins avec ($r = 0,87$ et $0,57$) respectivement. Ceci s'explique par la présence des molécules antioxydantes actives qui appartiennent aux polyphénols totaux. [269, 270 et 271] montrent que l'activité anti radicalaire des extraits de plantes est influencée par la teneur en composés phénoliques totaux.

3.6. Activité antimicrobienne des différents extraits aqueux et organiques :

3. 6.1. Méthode de diffusion sur l'agar (aromatogramme)

L'activité antibactérienne et antifongique des différents extraits (aqueux et organiques) obtenue à partir de feuilles et de graines de *Zizyphus lotus* L. était évaluée par la méthode de diffusion sur agar (méthode des disques) vis-à-vis de onze souches microbiennes. Ce pouvoir est estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour du disque contenant les différents extraits à tester. Les résultats obtenus sont rapportés dans les tableaux 3.9 et 3.10. Ces résultats présentent les zones d'inhibition en tenant compte du diamètre du disque (6mm). Les résultats obtenus ont montré que le pouvoir antimicrobien dépend de la nature de l'extrait aqueux ou organique, l'organe végétal : feuille ou graine et la souche testée. Dans l'ensemble, toutes les souches sont sensibles vis à vis des différents extraits (aqueux et organiques) utilisés, à l'exception d'*Aspergillus niger* .

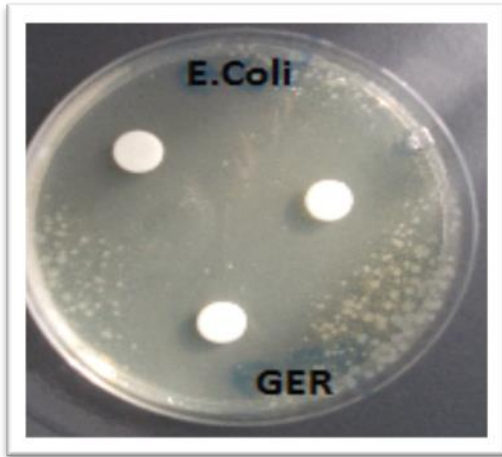


Figure3.25. Effet antibactérien de L'extrait méthanolique de feuilles de *Z.lotus* L.de Médéa sur *E.coli*

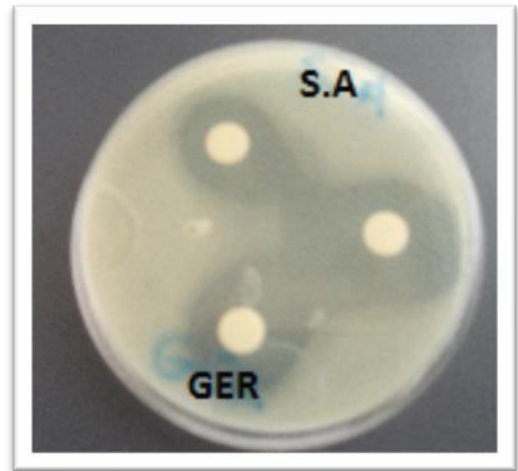


Figure3.26. Effet antibactérien de L'extrait méthanolique de feuilles de *Z.lotus* L.de Médéa sur *S.aureus*.

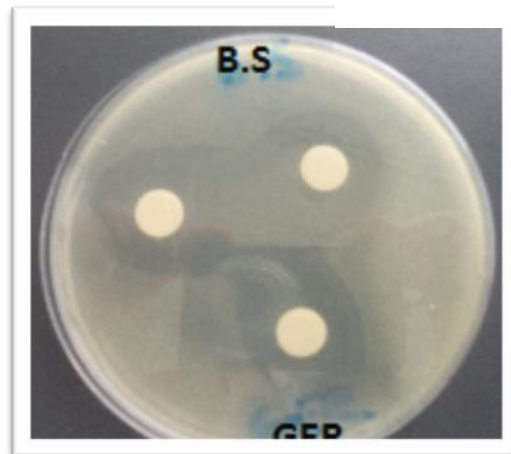


Figure 3.27. Effet antibactérien de l'extrait méthanolique de feuilles de *Z. lotus* L. de Tamanrasset sur *B.subtilis*

Ces résultats montrent que le pouvoir antimicrobien dépend de la nature du produit (huile végétale ou extrait), de la nature des solvants utilisés pour l'extraction (aqueux ou organique, polaire ou apolaire), l'organe végétal (feuille, graine) et la souche testée.

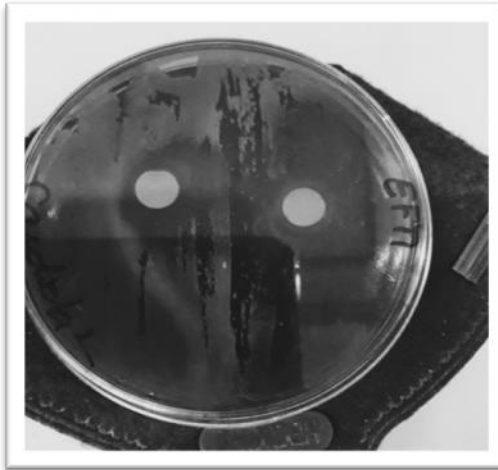


Figure 3.28. Effet antifongique de l'extrait méthanolique de feuilles de *Z. lotus* L. de Tamarassat sur *Candida albicans*.

Tableau 3.11: Résultats de l'activité antimicrobienne des différents extraits (aqueux et organiques) de feuilles de *Zizyphus. lotus* L.

	Extraits 1mg/ disque	Zones inhibition (mm)							
		BacteriesGram(+)		Bacteries Gram (-)			Levures		DMSO
		<i>S.a</i>	<i>B.s</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.p</i>	<i>P.a</i>	<i>C.alb</i>	<i>C.krusei</i>	
Tamanrasset	H	20±0,2	14±0,1	12±0,1	15±0,2	10±0,1	14±0,02	12±0,2	–
	Eaq	10±0,1	12±0,0	12±0,1	12±0,1	9±0,2	22±0,01	20±0,1	–
	EM	22±0,1	17±0,0	12±0,2	15±0,1	12±0,2	24±0,04	24±0,04	–
	EAc	15±0,1	16±0	13±0,1	14±0,2	10±0,1	20±0,05	18±0,01	–
	ECl	10±0,2	9±0,1	10±0,1	11±0,1	9±0,02	12±0,02	nd	–
Eloued	H	15±0,1	14±0,2	18±0,1	16±0,1	14±0,02	12±0,02	12±0,3	–
	Eaq	12±0,2	9±0,2	15±0,2	14±0,2	10±0,01	25±0,01	20±0,02	–
	EM	14±0,1	14±0,1	20±0,1	18±0,3	16±0,2	24±0,01	30±0,1	–
	EAc	12±0,2	12±0,2	17±0,1	14±0,1	13±0,23	18±0,04	17±0,02	–
	ECl	10±0,1	9±0,1	11±0,2	10±0,1	10±0,12	9±0,02	<10±0,2	–
Mécéa	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	–
	Eaq	12±0,1	9±0,02	10±0,1	12±0,3	10±0,07	20±0,03	20±0,04	–
	EMe	25±0,1	14±0,1	22±0,1	30±0,2	18±0,1	24±0,01	17±0,01	–
	EAc	22±0,1	13±0,2	12±0,3	14±0,2	10,5±0	15±0,01	16±0,2	–
	ECl	28±0,2	16±0,2	18±0,1	17,3	12±0,02	28±0,01	18±0,1	–
TC 15µg/disque		17	/	15,2	/	16,8	/	/	/

Le diamètre du papier filtre utilisé est de 6mm ;

nd : Non déterminé

Eaq : Extrait aqueux.

EAc Extrait acétate d'éthyle.

TC : Tétracycline.

H : l'huile végétale.

EMe : Extrait méthanolique.

ECl : Extrait chloroformique

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux et organiques de feuilles et de graines de *Z. lotus* L. a été évaluée précédemment (tableau 3.11 ; 3.12).

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits (aqueux, méthanolique, acétate d'éthyle et chloroformique) de feuilles de Tamanrasset, El Oued et Médéa ont une activité d'inhibition significative contre la croissance bactérienne avec un degré différent, lié au contenu d'extrait, ce qui confirme le spectre large de l'activité antimicrobienne de ces feuilles. L'extrait méthanolique de la région de Médéa (Sidi Naâmane) a donné des zones d'inhibition plus grandes contre *Klebsiella pneumonia*, *S.aureus* ; *E. Coli* ; *P.aeruginosa*, avec des taux d'inhibition respectifs de $30\pm 0,2$; $25\pm 0,1$; $22\pm 0,1$; $18\pm 0,1$.

Les deux levures *Candida albicans* et *Candida krusei* ont été révélées sensibles vis-à-vis l'EMeOH avec des valeurs respectives de $24\pm 0,01$; $30\pm 0,1$. Cette dernière est due à la différence de la structure de la paroi fongique. Selon le type de micro-organisme, les composés appropriés présentent des activités biologiques variées. Cette variation d'efficacité est observée même entre les composés appartenant à la même classe de métabolites secondaires (polyphénols, alcaloïdes, triterpènes,...etc), ce qui permet de développer une approche appelée Relation Structure-Activité (RSA).

Néanmoins, certains chercheurs ont signalé que l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à la composition chimique en élément le plus abondant, mais plutôt à l'effet combinée (synergie) de différents composés. [229 et 121] ont rapporté que les différentes classes de polyphénols principalement, les tanins et les flavonoïdes peuvent accroître la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction de la position et du nombre de groupements hydroxylés présents sur le composé phénolique [272].

D'après *Heinrich, M* et *Dohou, N* [273,254], l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité, car ces groupes peuvent interagir avec la membrane cellulaire bactérienne ou avec les enzymes et les effecteurs, ce qui entraîne une inhibition de la croissance bactérienne.

Tableau 3.12 : Activité antimicrobienne des différents extraits (aqueux, organique) de graines de *Z. lotus* L. obtenue par la méthode de diffusions sur un milieu solide.

	Extraits 1mg/ disque	Zones inhibition (mm)							
		BacteriesGram ⁽⁺⁾		Bacteries Gram ⁽⁻⁾			Levures		DMO
		<i>S.a</i>	<i>B.s</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.p</i>	<i>P.a</i>	<i>C.alb</i>	<i>C.krusei</i>	
Tamanrasset	H	14±0,2	12±0,3	11±0,2	12±0,2	11±0,1	12±0,02	11±0,04	–
	Eaq	8±0,3	9±0,2	12±0,1	12±0,1	10±0,2	20±0,01	17±0,01	–
	EM	16±0,2	12±0,2	12±0,2	14±0,1	12±0,2	18±0,04	22±0,2	–
	EAc	13±0,3	11±0,	10±0,4	13±0,2	12±0,1	17±0,05	15±0,02	–
	ECl	9±0,4	9±0,1	10±0,1	9±0,1	10±0,02	11±0,02	nd	–
El oued	H	12±0,1	12±0,2	16±0,2	13±0,1	13±0,01	14±0,1	11±0,4	–
	Eaq	9±0,1	9±0,2	12±0,1	12±0,2	9±0,04	18±0,02	17±0,03	–
	EM	12±0,2	11±0,1	18±0,3	15±0,3	14±0,02	20±0,03	17±0,2	–
	EAc	10±0,3	10±0,2	14±0,2	12±0,1	12±0,04	16±0,01	14±0,04	–
	ECl	9±0,2	9±0,1	10±0,1	9±0,1	9±0,24	8±0,025	<10±0,1	–
Médéa	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	–
	Eaq	8±0,1	8±0,02	9±0,1	9±0,2	8±0,02	13±0,03	14±0,03	–
	EMe	12±0,1	12±0,1	13±0,1	14±0,4	12±0,12	15±0,02	14±0,02	–
	EAc	11±0,1	10±0,2	11±0,3	12±0,1	9,5±0,4	13±0,04	13±0,14	–
	ECl	12±0,2	12±0,2	10±0,1	12,3	10±0,03	16±0,02	14±0,13	–
TC 15µg/disq ue	17	/	15,2	/	16,8	/	/	/	

Le diamètre du papier filtre utilisé est de 6mm.

nd : Non déterminé.

Eaq : Extrait aqueux.

EAc : Extrait acétate d'éthyle.

H : l'huile végétale.

EMe : Extrait méthanolique.

ECl : Extrait chloroformique.

6.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

Cette méthode a pour objectif de déterminer les valeurs des paramètres antimicrobiens de la concentration Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB), selon la méthode décrite par [274].

Dans ce travail, les valeurs de CMI (la concentration inhibitrice minimale) ont été calculées (tableau 3.10 ; 3.11). L'EMeOH par exemple agit sur les germes a une concentration de 62,5-125 µg/ml correspondant à une dilution de 1/4. L'action de l'EMeOH sur les bactéries à Gram positif et a Gram négatif peut être due aux flavonoïdes qui sont de bons inhibiteurs des sortases (enzymes trouvée dans la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif, qui catalysent l'ensemble des protéines de surface, par exemple adhésines et internalines) [257].

D'autre part, la capacité de *S. aureus* de provoquer une maladie est largement attribuable à sa capacité à sécréter des enzymes et des toxines. Des études récentes ont montré que les flavonoïdes inhibent la libération de facteurs de virulence de cette bactérie. [151] constatent que l'épigallocatechine empêche la sécrétion de la coagulase et α -toxine.

Certains auteurs ont décrit le mode d'action d'extraits de plantes en modifiant la morphologie du champignon testé [159], ont expliqué l'effet inhibiteur des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Candida albicans*, par des observations au microscope électronique à balayage et à transmission.

Les résultats ont montré une augmentation de la perméabilité suivie d'une rupture du plasma membranaire entraînant une fuite de contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure [275].

Tableau 3.13: Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) des différents extraits aqueux et organiques de feuilles de *Zizyphus lotus* L.

Souche	Extraits	Tamanrasset			El Oued			Médéa		
		CMI	CMB	CMB/CMI (µg/ml)	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
S.aureus	Eaq	1000	≥2	2	00	1	2	500	1	2
	EMe	62,5	125	2	125	0,5	4	62,5	125	2
	EAc	500	1	2	500	1	2	62,5	125	2
	ECl	1000	≥2	2	1000	≥2	2	62,5	1,25	2
B.subtilus	Eaq	125	0,5	2	1000	2	2	500	1	2
	EMe	62,5	1,25	2	125	0,5	4	62,5	1,25	2
	EAc	62,5	1,25	2	500	1	2	125	0,5	2
	ECl	1000	≥2	–	1000	≥2	–	62,5	1,25	2
E.coli	Eaq	500	1	2	500	1	2	1	2	2
	EMe	125	0,5	4	125	0,5	4	62,5	1,25	2
	EAc	125	0,5	4	500	1	2	500	1	2
	ECl	1000	≥2	–	1000	≥2	–	125	0,5	4
K.p	Eaq	500	1	2	500	1	2	500	1	2
	EMe	125	0,5	2	62,5	1,25	2	125	0,5	4
	EAc	500	1	2	500	1	2	500	1	2
	ECl	1000	≥2	–	1000	2	2	1	2	2
P.a	Eaq	1000	≥2	2	1000	≥2	2	1	2	2
	EMe	500	1	2	125	0,5	4	125	0,5	4
	EAc	1000	≥2	2	500	1	2	1	2	2
	ECl	1000	2	2	1000	2	2	500	1	2
C.albicans	Eaq	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2
	EMe	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2
	EAc	125	0,5	4	125	0,5	4	125	0,5	4
	ECl	1000	2	2	1000	2	2	62,5	1,25	2
C.krusei	Eaq	125	0,5	4	125	0,5	4	62,5	1,25	2
	EMe	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2	125	0,5	4
	EAc	125	0,5	4	125	0,5	4	125	0,5	4
	ECl	-	-	-	1000	2	2	125	0,5	4

nd : Non déterminé ; H : l'huile végétale ; Eaq : Extrait aqueux ; EMe : Extrait méthanolique ; EAc: Extrait acétate d'éthyle ; ECl: Extrait chloroformique ; S.a : *Staphylococcus aureus* ; B. subtilus : *Bacillus subtilus* ; E.coli : *Escherichia coli* ; K.p : *Klebseilla pneumonia* ; P.a : *Pseudomonas aerugenosa* ; C.albicans : *Candida albicans* ; C.krusei : *Candida krusei*.

Tableau 3.14 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) des différents extraits bruts (aqueux et organiques) de graines de *Zizyphus lotus* L.

Souches	Extraits	Tamanrasset			El Oued			Médéa		
		CMI	CMB	CMB/CMI (µg/ml)	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>S.aureus</i>	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	E _{aq}	1000	≥2	2	1000	2	2	1	2	2
	E _{Me}	125	250	2	250	0,5	2	250	0,5	2
	E _{Ac}	250	0,5	2	500	1	2	500	1	2
	E _{Cl}	1000	≥2	2	1000	≥2	2	250	0,5	2
<i>B.subtilis</i>	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	E _{aq}	1	2	2	1000	2	2	1	2	2
	E _{Me}	500	1	2	500	1	2	250	0,5	2
	E _{Ac}	500	1	2	500	1	2	500	1	2
	E _{Cl}	1000	≥2	–	1000	≥2	–	250	0,5	2
<i>E.coli</i>	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	E _{aq}	250	0,5	2	250	0,5	2	1	2	2
	E _{Me}	250	0,5	2	62,5	1,25	2	125	250	2
	E _{Ac}	500	0,5	1	125	250	2	500	1	2
	E _{Cl}	500	1	2	1000	≥2	–	500	1	2
<i>K.pneumonia</i>	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	E _{aq}	250	0,5	2	250	0,5	2	1	2	2
	E _{Me}	125	250	2	125	250	2	125	250	2
	E _{Ac}	250	0,5	2	250	0,5	2	250	0,5	2
	E _{Cl}	1000	≥2	2	1000	2	2	250	0,5	2
<i>C.albicans</i>	H	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	E _{aq}	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2	250	0,5	2
	E _{Me}	62,5	1,25	2	62,5	1,25	2	125	250	2
	E _{Ac}	125	0,5	4	125	0,5	4	250	0,5	2
	E _{Cl}	500	1	2	1000	2	2	62,5	1,25	2
<i>C.krusei</i>	HE	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	E _{aq}	62,5	1,25	2	125	250	2	125	250	2
	E _{Me}	62,5	1,25	2	125	250	2	125	250	2
	E _{Ac}	125	250	2	250	0,5	2	250	0,5	2
	E _{Cl}	-	-	-	1000	2	2	125	250	4

nd : Non déterminé ; H : l'huile végétale ; E_{aq} : Extrait aqueux
E_{Me} : Extrait méthanolique ; E_{Ac} : Extrait acétate d'éthyle ; E_{Cl} : Extrait chloroformique ;
S.a : *Staphylococcus aureus* ; *B. subtilis* : *Bacillus subtilis* ;
E.coli : *Escherichia coli* ; *K.p* : *Klebsiella pneumonia* ; *P.a* : *Pseudomonas aeruginosa* ;
C.alb : *Candida albicans* ; *C. krusei* : *Candida krusei*.

6.3. Evaluation de l'activité antifongique :

Les différents extraits organique et aqueux préparés à partir de feuilles de *Z. lotus* L. ont montré une activité antifongique contre les différents isolats fongiques testés (tableau 3.13). Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont montré un effet significatif, selon la nature des extraits testés, leurs concentrations et les espèces fongiques étudiées (voir Annexe).

Cependant, la plus grande inhibition de la croissance fongique a été mise en évidence par l'extrait d'acétate d'éthyle (45–96%) suivi de l'extrait de chloroforme (28–85%). (tableau 3.13).

Selon le test de Tukey, *F. aveaceanum* a été fortement inhibé par le méthanol ($97 \pm 0,1\%$) et par les extraits d'acétate d'éthyle ($96,3\% \pm 0,24$), aqueux ($92,9\% \pm 0,1$) et de chloroforme ($85,9\% \pm 0,05$). De même, les extraits aqueux et chloroformique ont montré une réduction de 90% de la croissance d'*Alternaria* sp, Tandis que les extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol ont présenté une inhibition de 86 à 87% respectivement.

Dans le cas de *F. culmorum*, l'extrait méthanolique a donné un taux d'inhibition de $85 \pm 1,33\%$ suivi de l'acétate d'éthyle ($77,5 \pm 0,3\%$), du chloroforme ($76 \pm 0,6\%$) et de l'extrait aqueux ($62,5 \pm 1\%$). Tandis que pour *A.niger*, les résultats sont respectivement acétate d'éthyle ($45,6 \pm 0,2\%$) suivi de l'extrait de chloroforme ($28,8 \pm 0,2\%$) et de méthanol ($6,42 \pm 0,3\%$) *Z.lotus* L. a présenté une activité antifongique marquée (tableau 3.13). L'inhibition de la croissance a semblé modérée pour tous les isolats fongiques à la CMI de 0,625 mg ml⁻¹, sauf pour *A. niger*. L'extrait d'acétate d'éthyle était le plus efficace contre tous les isolats testés (tableau 3.13). En se référant au taux d'inhibition enregistré par des extraits de *Z. lotus*, plusieurs études corroborent les résultats actuels [276] ont trouvé une inhibition de 48% de la croissance mycélienne d'*Alternaria alternatae* par un extrait chloroformique de *Lantana camara*.

Ces résultats coïncident avec ceux révélés par l'extrait d'acétate d'éthyle de notre plante mais semblaient plus intéressants que ceux présentés par les autres

extraits. Les différences de résultats de bio-efficacité peuvent être dues à la quantité et à la qualité des métabolites bioactifs contenus dans l'extrait.

De nombreux travaux de recherche ont rapporté l'effet conservateur des produits agricoles par les plantes comme *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam., *Anarcadium occidentale* L., *Azadiractha indica* A. Juss. et, *Ocimum americanum* L. [277]. A faible dose, ces plantes ne présenteraient pas de toxicité pour l'homme, puisqu'elles sont pour la plupart utilisées en médecine traditionnelle. Ce fait pourrait justifier l'engouement actuel des recherches sur les propriétés pesticides des extraits de plantes dans la protection des cultures et des denrées alimentaires [278].

Tableau 3.15: Activité antifongique des différents extraits de feuilles de *Z. lotus* L.

	Extraits	Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition			
			<i>F.avenaceum</i>	<i>F.culmorum</i>	<i>Alt sp</i>	<i>Asp.niger</i>
Medea	Aq	5	92.9 ± 0.1 ^(a)	62.5±0,1 ^(a)	90.3±0.1 ^(a)	0
		2,5	70± 0.23 ^(a)	50±0,13 ^(b)	86.5±0.6 ^(b)	0
		1,25	51± 0.08 ^(b)	37.4±0.3 ^(c)	77.5±0.3 ^(c)	0
		0,625	47± 0.1 ^(b)	30±0.3 ^(d)	40±0.33 ^(d)	0
	MeOH	5	97± 0.1 ^(a)	85±0.33 ^(a)	86±0.1 ^(a)	6.42±0.2 ^(a)
		2,5	76± 0.6 ^(b)	70±0.03 ^(b)	77.5 ^(b)	5.9±0.27 ^(a)
		1,25	72.2± 0.2 ^(c)	51±0.06 ^(c)	71 ^(b)	0
		0,625	61.1± 0.26 ^(d)	45±0.3 ^(d)	60±0.3 ^(c)	0
	EtAc	5	96.3±0.24 ^(a)	77.5±0.03 ^(a)	87.5±0.3 ^(a)	45.6±0.2 ^(a)
		2,5	88.7±0.15 ^(b)	67.6 ^(b)	85.6±0.2 ^(b)	43.5±0.3 ^(b)
		1,25	70.3±0.1 ^(c)	56±0.3 ^(c)	74.5±0.3 ^(c)	42±0.04 ^(c)
		0,625	58.5±0.3 ^(d)	42.5±0.3 ^(d)	58.6±0.2 ^(d)	39±0.06 ^(d)
	CHCl ₃	5	85.9±0.05 ^(a)	76±0.6 ^(a)	90.3±0.1 ^(a)	28.8±0.2 ^(a)
		2,5	85.1±0.06 ^(b)	71.2 ^(b)	77.5±0.3 ^(b)	23.47 ^(b)
		1,25	74.09±0.07 ^(c)	64±0.01 ^(c)	67.7±0.5 ^(c)	18±0.03 ^(c)
		0,625	66.4±0.26 ^(bc)	62.5 ^(c)	60±0.2 ^(d)	12±0.2 ^(d)
El Oued	Aq	5	90.8 ± 0.4 ^(a)	60.5±0,2 ^(a)	90±0.01 ^(a)	0
		2,5	69,3± 0.2 ^(a)	49±0,34 ^(b)	87.5±0.01 ^(b)	0
		1,25	50± 0.01 ^(b)	38±0.01 ^(c)	75±0.03 ^(c)	0
		0,625	46,2± 0.08 ^(b)	32±0.05 ^(d)	44±0.01 ^(d)	0
	MeOH	5	95± 0.07 ^(a)	83±0.16 ^(a)	85±0.01 ^(a)	4.46±0.01 ^(a)
		2,5	74± 0.8 ^(b)	74±0.02 ^(b)	75.5±0,01 ^(b)	5.3±0.15 ^(a)
		1,25	65.1± 0.1 ^(c)	50±0.06 ^(c)	70 ^(b)	0
		0,625	58.5± 0.25 ^(d)	42±0.01 ^(d)	61±0.01 ^(c)	0
	EtAc	5	96.3±0.24 ^(a)	77.5±0.03 ^(a)	87.5±0.3 ^(a)	45.6±0.2 ^(a)
		2,5	88.7±0.15 ^(b)	67.6 ^(b)	85.6±0.2 ^(b)	43.5±0.3 ^(b)
		1,25	70.3±0.1 ^(c)	56±0.3 ^(c)	74.5±0.3 ^(c)	42±0.04 ^(c)
		0,625	58.5±0.3 ^(d)	42.5±0.3 ^(d)	58.6±0.2 ^(d)	39±0.06 ^(d)
	CHCl ₃	5	85.9±0.05 ^(a)	76±0.6 ^(a)	90.3±0.1 ^(a)	28.8±0.2 ^(a)
		2,5	85.1±0.06 ^(b)	71.2 ^(b)	77.5±0.3 ^(b)	23.47 ^(b)
		1,25	74.09±0.07 ^(c)	64±0.01 ^(c)	67.7±0.5 ^(c)	18±0.03 ^(c)
		0,625	66.4±0.26 ^(bc)	62.5 ^(c)	60±0.2 ^(d)	12±0.2 ^(d)
Tamanrasset	Aq	5	93 ± 0.01 ^(a)	60±0,02 ^(a)	91±0.01 ^(a)	0
		2,5	89± 0.02 ^(a)	45±0,1 ^(b)	88±0.1 ^(b)	0
		1,25	60± 0.01 ^(b)	30.8±0.01 ^(c)	75±0.02 ^(c)	0
		0,625	45± 0.01 ^(b)	25±0.02 ^(d)	28±0.04 ^(d)	0
	MeOH	5	96,4± 0.01 ^(a)	89±0.01 ^(a)	85±0.1 ^(a)	15±0.02 ^(a)
		2,5	88± 0.02 ^(b)	78±0.01 ^(b)	72±0.02 ^(b)	8±0.01 ^(a)
		1,25	77.1± 0.01 ^(c)	65±0.02 ^(c)	61±0.03 ^(b)	0
		0,625	66± 0.02 ^(d)	54±0.3 ^{01d)}	54±0.01 ^(c)	0
	EtAc	5	89±0.02 ^(a)	80.5±0.7 ^(a)	54.8±0.02 ^(a)	89±0.02 ^(a)
		2,5	72± 0.02 ^(b)	78.5±0.02 ^(b)	47±0.01 ^(b)	72± 0,02 ^(b)
		1,25	60±0.06 ^(c)	68±0.04 ^(c)	40±0.01 ^(c)	60±0.06 ^(c)
		0,625	50.5±0.01 ^(d)	52.2±0.02 ^(d)	35±0.04 ^(d)	50.5±0.01 ^(d)
	CHCl ₃	5	86.9±0.02 ^(a)	77±0.01 ^(a)	89.4±0.01 ^(a)	27.9±0.01 ^(a)
		2,5	82.1±0.1 ^(b)	72±0.02 ^(b)	72.2±0.02 ^(b)	20.5±0.02 ^(b)
		1,25	71.09±0.04 ^(c)	60±0.1 ^(c)	65.3±0.01 ^(c)	15±0.04 ^(c)
		0,625	64±0.02 ^(bc)	52.7±0.02 ^(c)	56 ^(d)	10±0.01 ^(d)

3.7. Potentiel insecticide de différents extraits bruts de *Zizyphus lotus* L.

3.7.1. Essai de Toxicité par contact de la poudre et des extraits bruts de feuilles et des graines de *Z. lotus* L. vis à vis de *Tribulium castaneum*

Nous avons constatés, une très forte mortalité contre l'insecte *Tribulium castaneum* avec la poudre et les extraits aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* L. des trois régions étudiées. Par contre aucune mortalité n'est observé chez le *T. castaneum* avec les extraits aqueux des graines de *Z.lotus* L. de Médéa et Tamanrasset. Une faible mortalité est observée avec l'extrait aqueux des graines d'El Oued. Ceci peut être expliqué par la présence de certaines molécules telles que les saponines et les alcaloïdes, dans les feuilles de *Z.lotus* L. des trois régions étudiées. A travers cette étude, on note que les extraits des feuilles de *Z.lotus* des trois régions présentent une forte teneur en alcaloïdes et en saponines. Certaines substances chimiques contenues dans les feuilles présentent des effets insecticides intéressants [279]. Parmi ces produits, les alcaloïdes, les saponines, les terpènes, les stéroïdes et les quinones sont reconnue efficaces [279 et 198]. Les études de [280], [68], montrent que les saponines sont des hétérosides d'origine végétale.

3.8. In vivo

3.8.1. Toxicité aiguë

Aucun signe de toxicité aiguë ou de mortalité à la dose de 200 mg / kg p.c, après 15 jours d'observation n'a été observé. Les animaux traités n'ont montré aucun changement dans leur comportement. Ainsi, aucun changement pathologique indésirable n'a été enregistré.

3.8.2. Activité anti-inflammatoire

Le test anti-inflammatoire a été mené in vivo sur l'œdème de la patte postérieure gauche de souris induit par la carragénine. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux de Diclofénal et à ceux du témoin. L'œdème est évalué en fonction du volume de la patte de souris tout au long de l'expérience. La différence d'augmentation du volume de la patte dans le temps entre les groupes traités et le groupe témoin est toujours statistiquement très significative, selon le test ANOVA, avec $p < 0,001$. Ainsi l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* L. est capable de ralentir l'évolution de l'œdème. Les résultats sont présentés dans les tableaux 3.14 ; 3.15.

3.8.2.1. Œdème induit par la carragénine

L'injection de carragénine au niveau de la PPG de souris, ayant reçu uniquement de l'eau physiologique, entraîne un œdème juste après cette injection. Le volume de la patte de souris est de $0,365 \pm 0,03$; de $0,40 \pm 0,029$ et de $0,44 \pm 0,04$; $0,53 \pm 0,05$ mm respectivement à une, deux, trois et quatre heures (Tableau 3.16).

Ces valeurs correspondent à des augmentations respectives de $33,33 \pm 0,25$; de $45 \pm 1,35$ et de $63,63 \pm 0,03$ % (tableau 3.15). En présence de Diclofenac et de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* L., on enregistre des augmentations moins importantes du volume de la patte dont le maximum est mesuré après quatre heures (tableau 3.15). L'administration de Diclofénal, par voie orale, à la dose de 50 mg/kg réduit l'œdème à la carragénine de 43,71% après l'injection de l'agent inflammatoire. L'inhibition maximale est obtenue à partir de 3 heures, avec l'extrait de feuilles de Médéa (EMeOHF/M) et l'extrait des graines d'El Oued (EMeOHG/O), pour lesquels le pourcentage d'inhibition est de $92,4 \pm 0,6$; $90,5 \pm 0,023$ % respectivement (Figure 3.29).

Le prétraitement des souris par l'EFMeOH/M a considérablement réduit l'œdème à la carragénine de façon hautement significative ($p \leq 0,001$) après l'injection de l'agent inflammatoire, de façon dose-dépendante. À la dose de 200mg/kg, l'extrait de feuilles de *Zizyphus lotus* de Médéa a inhibé la formation

de l'œdème de $72,5 \pm 0,72$ % après 2 heure, avec une réduction du volume de l'œdème de $0,29 \pm 0,005$ ml ($p \leq 0,001$) (tableau 3.14). Bien que l'inhibition maximale soit obtenue à partir de 4 heure. Cette dernière à un pourcentage d'inhibition de $92,4 \pm 0,6$ avec une réduction du volume de $0,49 \pm 0,04$ ml.

D'autre part, le prétraitement des souris à l'EMeOHG/O à la dose de 200 mg/kg montre un pourcentage d'inhibition de $81,81 \pm 1,90$ % après 3heure, et l'œdème est considérablement réduit à $0,08 \pm 0,003$ ($p \leq 0,001$) (Figures 3,29). Ces résultats sont comparés avec le témoin et le Diclofénal.

Tableau 3.16 : Evolution du changement de l'épaisseur des pattes des souris traitées par les extraits de feuilles et des graines de Zizyphus lotus L.

Lots	Changement de l'épaisseur des pattes des souris (mm)				
	0 h	1h	2h	3h	4h(%d'inhibition)
Témoin	0,34±0,04	0,36±0,03	0,4±0,03	0,44±0,04	0,53 ± 0,05
Diclofénac (50mg/g)	0,31±0,04	0,27±0,02	0,22±0,03	0,16±0,03	0,11±0,03 (79,25)
EMeOHF/O	0.28±0.006	0.24±0.006	0.14±0.06	0.11±0.06	0.07±0.01 (86.8)
EMeOHF/T	0.29±0.02	0.3±0.03	0.15±0.03	0.14±0.03	0.07±0.01 (86.8)
EMeOHF/M	0.28±0.01	0.23±0.01	0.11±0.03	0.07±0.02	0.04±0.02 (92.4)
EMeOHG/O	0.27±0,04	0.26±0,02	0.16±0,2	0.08±0,01	0.05±0,03 (90.5)
EMeOHG/T	0.30±0,03	0.28±0,4	0.20±0,1	0.16±0,02	0.09±0,02 (83)
EMeOHG/M	0.28±0,01	0.25±0,2	0.22±0,02	0.18±0,03	0.14±0,01 (73.5)

Les valeurs sont exprimées en Moyenne \pm SEM; n=5/ groupe; significient à * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ en comparaison avec le groupe témoin en utilisant le test ANOVA

EMeOH/O : Extrait méthanolique d'El Oued

EMeOH/T : Extrait méthanolique de Tamanrasset

EMeOH/M : Extrait méthanolique de Médéa

L'inflammation aiguë est un processus réactionnel défensif du système immunitaire de l'organisme afin de le protéger contre une agression d'origine biologique, physique ou chimique, qui n'aboutit pas d'emblée à une mort cellulaire.

Elle est caractérisée par des signes, dont les plus importants sont les suivants : la rougeur et la chaleur qui sont dues à l'augmentation de la circulation sanguine et à la dilatation capillaire ; le gonflement est causé par une accumulation de liquide ; la douleur est due à la libération de substances chimiques qui stimulent les terminaisons nerveuses.

L'inflammation est subdivisée en trois phases : la phase initiale observée autour de la première heure fait intervenir la libération de l'histamine, de la sérotonine et de la bradykinine qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmaticque et l'œdème [281]. La deuxième phase qui fait appel aux kinines comme médiateurs qui augmentent la perméabilité vasculaire et la troisième phase dont le médiateur est supposé être la prostaglandine [88]. Cette dernière phase est sensible aux agents anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens [282 et 283].

Dans nos tests, Diclofénal (Dérivés d'acide acétique) anti-inflammatoire non stéroïdien est utilisée comme substance de référence. Elle est rapidement et complètement absorbée après l'administration orale [284]. Un effet peut être obtenu après une à deux heures de la prise du médicament. Le Diclofénal exerce un effet anti-inflammatoire essentiellement par l'inhibition de l'activité enzymatique [285]. Ainsi, elle permet de diminuer la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que : histamine, sérotonine, kinine et prostaglandine, produits lors de ce processus immunitaire et, par conséquent, constitue une stratégie thérapeutique intéressante pour le traitement de l'inflammation [286].

Dans la présente étude, le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait de feuille et de graines de Zizyphus lotus de Médéa, El Oued et Tamanrasset a été évalué in vivo sur la patte de souris en créant un œdème par la carragénine. C'est un modèle expérimental approprié pour évaluer l'effet anti-œdémateux des produits naturels [287].

Chez les animaux témoins, l'injection sous-plantaire de carragénine produit un œdème local qui augmente progressivement après l'injection de l'agent physiologique. Le volume de la patte de souris a été mesuré à zéro, une, deux, trois et quatre heures après injection de la carragénine.

Diclofenac on a dose de 50 mg/kg, réduit le volume de l'œdème de la patte de façon modéré de $45 \pm 0,68$; $63,63 \pm 1,08$ et $79,25 \pm 1,23$ % respectivement à deux , trois et quatre heures. À la dose de 200 mg/kg, l'EMeOHF/M et EMeOHG/O de Zizyphus lotus L. a inhibé de façon hautement significative le développement de l'œdème de la patte postérieure gauche de souris induit par la carragénine dès la deuxième heure de l'expérimentation, avec une réduction maximale de $92,4 \pm 0,72$ % à 4 heures pour l'EMeOHF/M et de $90,5 \pm 0,03$ % pour EMeOHG/O respectivement.

Cependant, l'effet anti-inflammatoire du Diclofénac (50 mg/kg par v.o.) reste plus faible que celui de l'EMeOHF/M et l'EMeOHG/O de Zizyphus lotus L. pendant l'expérimentation qui dure quatre heures. L'EMeOHF/M et EMeOHG/O a montré une forte activité anti-inflammatoire. Ces effets sont plus importants que ceux obtenus avec le Diclofénac (50 mg/kg par v.o.).

Les résultats obtenus à l'issue de tests anti-inflammatoires montrent que l'extrait méthanolique de Zizyphus lotus a un effet sur les trois phases de l'inflammation et réduit de façon significative l'œdème induit par la carragénine, avec une bonne relation de synergie entre les composés chimique de la plante dans la mesure où une meilleure inhibition est obtenue avec l'extrait de feuilles de Médéa et de graines d'El Oued. Le profil HPLC de ces extraits à montrer que les feuilles et les graines de Z lotus L. de Médéa et d'El oued contient plusieurs composants bioactifs en faible pourcentage, cela nous permis d'affirmé que ces composés agissent en synergie .

Les effets de l'extrait méthanolique de Zizyphus lotus se manifestent avec le même mécanisme anti-inflammatoire dû à Diclofénac, dès la deuxième heure de l'expérimentation.

On en conclut que l'extrait des feuilles et des graines de *Zizyphus lotus* contiendrait des composés antisérotoniques et antihistaminiques, et également des inhibiteurs des prostaglandines, comme Diclofénal utilisée comme substance de référence dans nos tests. Aussi, l'efficacité importante de l'extrait de *Zizyphus lotus* pourrait être liée au profil chimique de ces extraits, car ils sont riches en molécules biologiquement actives telles que les polyphénols, les flavonoïdes, la rutine, et l'acide trans cinnamique [288] l'acide oléique qui est un acide gras mono-insaturé essentiel pour l'alimentation humaine[73]. Ces molécules peuvent jouer un rôle déterminant pour cette activité biologique.

Tableau 3.17: Evaluation de l'effet anti-inflammatoire des extraits de *Zizyphus lotus* L.

Les lots (n=5 souris/lot)	Pattes postérieures des souris	Poids moyen $m \pm \sigma$ (g)	%AUG	% RED
Témoin	PPD	0,140 ± 0,002	19,6	/
	PPG	0,168 ± 0,004	43	
Référence	PPD	0,137 ± 0,002	11,0	43,71
	PPG	0,152 ± 0,002	57	
EMeOHF/O	PPD	0.143±0.0013	9.3	52.65
	PPG	0.163±0.001		
EMeOHF/T	PPD	0.148±0.002	18	8.36
	PPG	0.175±0.002		
EMeOHF/M	PPD	0.137±0.001	7.3	62.8
	PPG	0.147±0.004		
EMeOHG/O	PPD	0.152±0.002	7.29	63.34
	PPG	0.172±0.004		
EMeOHG/T	PPD	0.139±0.003	9.35	52.4
	PPG	0.152±0.004		
EMeOHG/M	PPD	0.137±0.002	7.04	64
	PPG	0.147±0.002		

EMeOH/M : Extrait méthanolique de Médéa
 EMeOH/O : Extrait méthanolique d'El Oued
 EMeOH/T : Extrait méthanolique de Tamanrasset

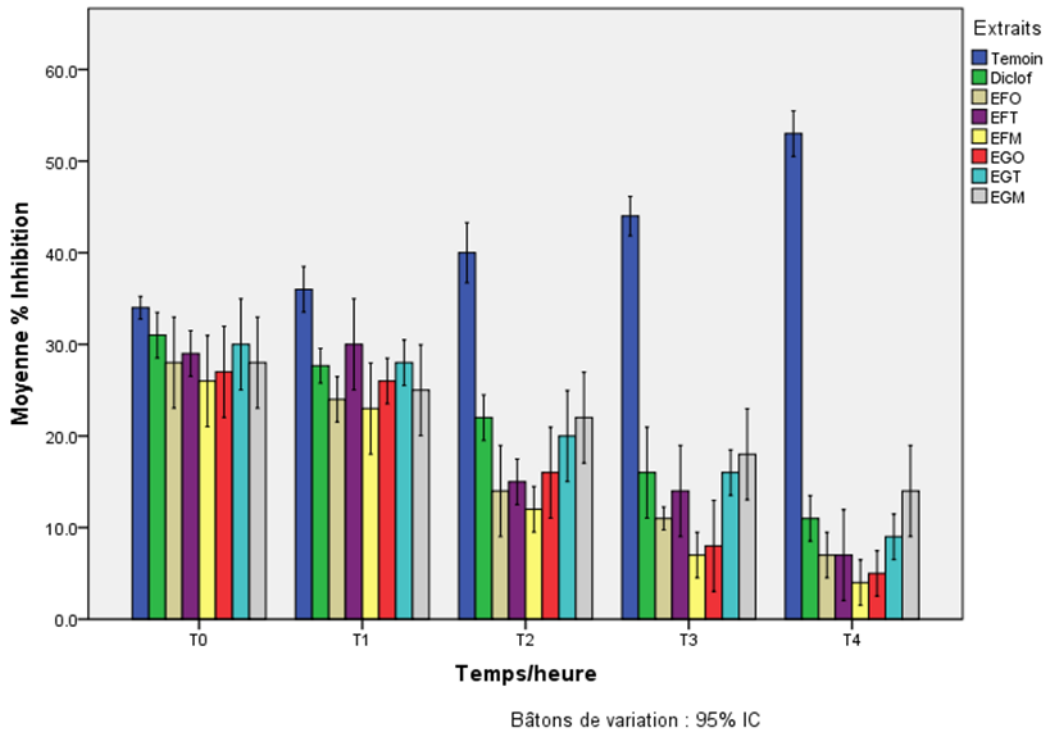


Figure3.29. Pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par la carragénine au niveau de la patte de souris prétraité par l'extrait de *Zizyphus lotus* L. (200mg/kg parv.o.).

3.8.3. Activité antidiabétique

3.8.3.1. Test sur la glycémie de base :

Dans les tableaux suivants sont reportés les résultats du test de la réduction de la glycémie. voir tableau 3.18, 3.19.

Tableau 3.18: Réduction de la glycémie par les extraits aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* L.

Lots		N=13	Glycémie mmol/l			
			T ₃₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Témoin		2	7,00	8,4	8,56	6,4
Metformine	22,1mg/kg	2	6,1	7,02	6,5	4,3
	%Reduction		16,39	16,43	24,65	32,81
EFM	8mg/kg	3	5,8	7,4	5,3	5,2
	%Reduction		17,14	11,9	38,08	19
EFO	8mg/kg	3	4	3,85	4,36	2,9
	%Reduction		42,85	54,6	49,41	54,68
EFT	8mg/kg	3	4,7	7,1	6,15	4,5
	%Reduction		32,85	15,47	28,15	29,68

EFT : Extrait aqueux de feuilles de Tamanrasset
 EFO Extrait aqueux de feuilles d'El oued
 EFM : Extrait aqueux de feuilles de Médéa

D'après nos résultats ; nous constatons que a la dose de 8mg/kg de l'extrait aqueux de *Zizyphus lotus* , d'El Oued, a montré une diminution de la glycémie de 42,85% à T30 et qui passe à 54,6% à T90. Cette diminution atteint 54,68% à T180 après une diminution de 49,41% à T120.

L'extrait aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* L. de Tamanrasset à la même dose (8mg/kg) n'a provoqué qu'une baisse de la glycémie avec 32,85% à T30. Cet extrait a réduit la glycémie de 15,47%, 28,15% et 29,68% respectivement à T90, à T120 et à T180

Par contre l'extrait aqueux des feuilles de Médéa a donné une réduction de 38,08% après deux heures. Le produit de référence Metformine à montrer une réduction de glycémie chez les lapins de 32,81% au temps T180 (figure 3.30).

D'une façon générale nous pouvons dire que nos différents extraits ont réduit la glycémie des lapins avec une plus grande activité pour l'extrait aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* d'El Oued.

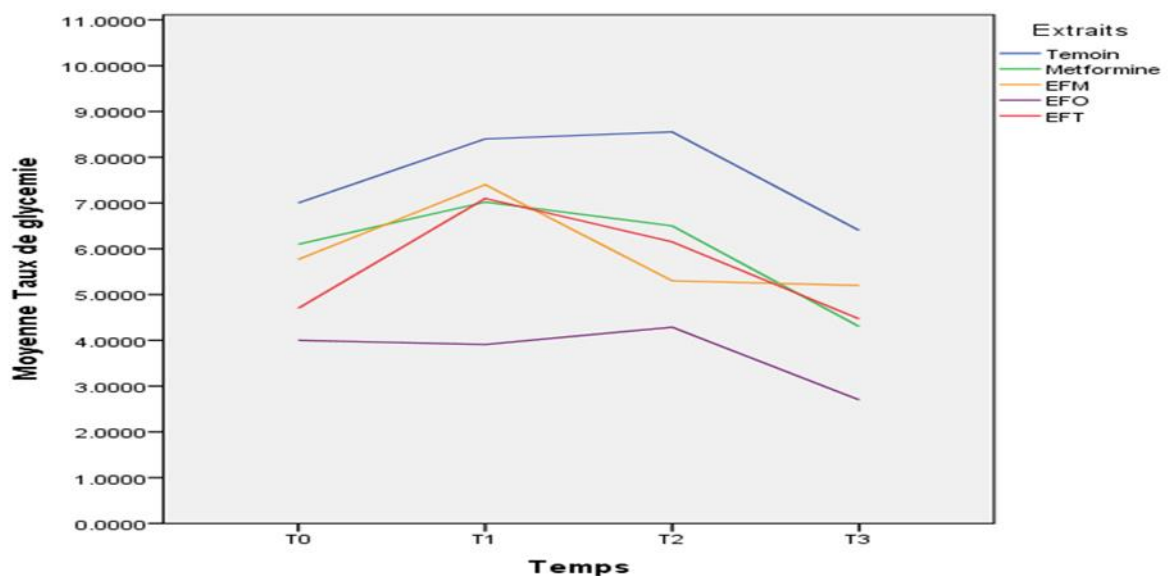


Figure 3.30. Activité antihyperglycémiant des extraits aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* L.

8.3.2. Effet anti-hyperglycémiant

Les effets de l'extrait aqueux et de la metformine utilisé comme témoin positif, sur la glycémie chez les lapins diabétiques sont présentés dans le tableau 3.18. Après une semaine, aucune différence statistique n'a été observée entre les concentrations de glucose sanguin des lapins diabétiques témoins et diabétiques traités avec l'extrait étudié ou avec la metformine ($P > 0,05$). Après deux semaines de traitement par l'extrait aqueux de *Zizyphus lotus* L., une diminution significative de la glycémie a été observée ($P < 0,05$). La valeur de la glycémie exposée était similaire à celle montrée par les lapins traitées à la metformine, mais toujours plus élevée que celle des animaux normaux. Après 30 jours, la glycémie des animaux

traités avec l'extrait testé a diminué pour atteindre celle des animaux normaux et des lapins traitées à la metformine. Ainsi, l'extrait aqueux de Zizyphus lotus L. a exercé une activité anti-hyperglycémique notable similaire à celle de la metformine.

Tableau 3.19 : Effet de l'extrait de feuilles de Zizyphus lotus L. sur la glycémie à jeun chez les lapins rendues diabétiques par la STZ

Groupes	Glycémie en mg/dl		
	T ₀	T ₁	T ₂
Normaux non Traités	97.83±4.40 ^a	101.67±5.43 ^a	99.8 ±1.47 ^a
Diabétiques non Traités	250.33±11.71 ^b	135.00±13.64 ^b	104.83 ±5.04 ^a
Diabétiques Traités par EFO (4mg/kg)	237.00±39.91 ^b	143.83±20.27 ^b	102.18 ±5.04 ^a
Diabétiques Traités par EFT (4mg/kg)	240.00±11.91 ^b	144.00±12.01 ^b	104.24 ±3.91 ^b
Diabétiques Traités par EFM (4mg/kg)	255.00±23.71 ^b	142.00±39.91 ^b	104.87 ±4.09 ^a
Diabétiques Traités par la metformine (300mg/kg)	253.17±29.47 ^b	143.83±20.27 ^b	104.67±4.08 ^a

Une même lettre est affectée aux valeurs de la même ligne qui ne présente pas une différence significative (P > 0,05).

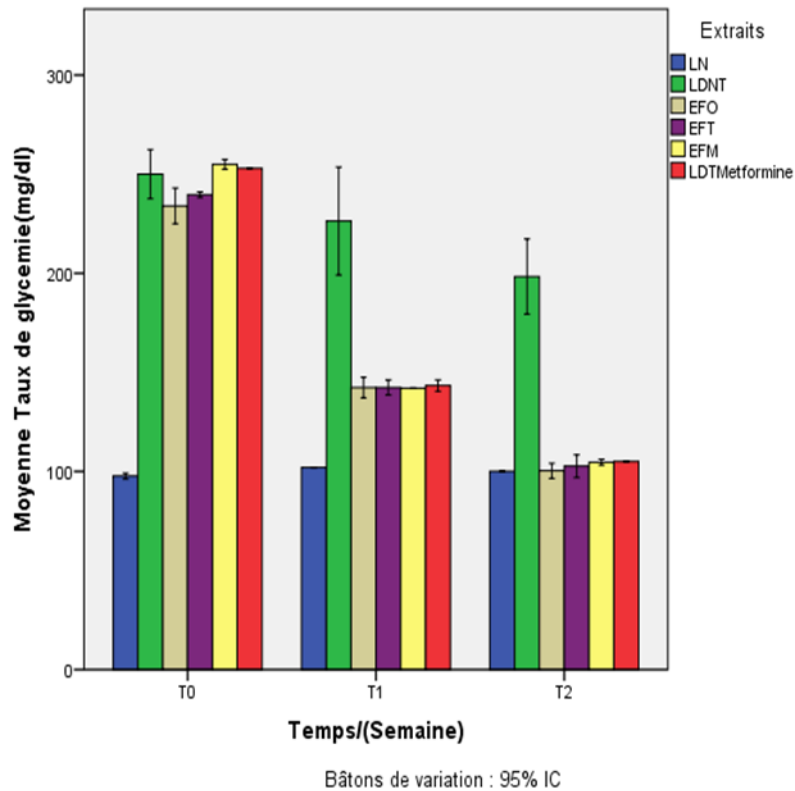


Figure 3.31. Effet de l'extrait de feuilles de *Zizyphus lotus* L sur la glycémie à jeun chez les lapins rendues diabétiques par la STZ.

3.8.3.3. Effet sur le poids corporel

Le poids corporel de tous les groupes d'animaux aux 7^{ème}, 14^{ème} et 30^{ème} jours du traitement est présenté dans le tableau 1.19. Au cours de la première et deuxième semaine, aucun changement n'a été observé parmi les groupes ($P > 0,05$). Au 30^{ème} jour, une diminution significative du poids corporel des animaux diabétiques non traités (de $3,272 \pm 1,67$ kg du jour 7 à $2,357 \pm 0,6$ kg au jour 30) a été observée par rapport aux animaux normaux ($P < 0,05$). En d'autres termes, les lapins témoins diabétiques ont subi une perte de poids significative (29,14%) pendant toute la période expérimentale par rapport à leur poids initial, alors que les lapins normaux prenaient du poids (9,96 %) et les lapins traités ont maintenu un poids stable par rapport à leur poids initial. Les groupes d'animaux diabétiques traités avec l'extrait aqueux (l'EAq) et ceux traités avec la metformine ont eu un changement de poids corporel comparable pendant la période expérimentale. En

effet, du 7ème au 30ème jour, les deux groupes d'animaux traités ont un poids corporel relativement constant. De plus, comme le montre le tableau 1.19, une comparaison du poids corporel de tous les groupes au 30ème jour montre une différence significative entre les animaux diabétiques non traités et les groupes traités avec l'extrait étudié et la metformine ($P < 0,05$).

Tableau 3.20: Effet de l'extrait aqueux de *Zizyphus lotus* L. sur le poids corporel des lapins rendus diabétiques par la STZ.

Groupes	Poids corporel (kg)		
Normaux non Traités	3,237 ± 1.35	3,33± 0.60	3,560 ± 0.60
Diabétiques non Traités	3,272 ± 1.67	3,19± 0.20	2,35 ± 0.60
Diabétiques Traités par EFO (4mg/kg)	3,280 ± 1.44	3,233 ± 1.22	3,25± 0.40
Diabétiques Traités par EFT (4mg/kg)	2,460 ± 1.35	2,412±0,56	2,454±0,38
Diabétiques Traités par EFM (4mg/kg)	2,510 ± 1.23	2,487±1,23	2,500±0,45
Diabétiques Traités par la metformine (300mg/kg)	3,243 ± 1.34	3,170± 0.30	3,20± 0.20

Une même lettre est affectée aux valeurs de la même ligne qui ne présente pas une différence significative ($P > 0,05$).

EFM : Extrait aqueux de feuilles de Médéa.

EFO : Extrait aqueux de feuilles d'El Oued.

EFT : Extrait aqueux de feuilles de Tamarassat

8.3.4. Effet sur les paramètres biochimiques

Les agents thérapeutiques utilisés dans l'induction et le traitement des maladies diabétiques devraient également influencer l'ASAT, l'ALAT, le cholestérol total, les triglycérides et l'acide urique [129]. Les effets de l'extrait aqueux de *Z. lotus* L. sur ces paramètres biochimiques ont été étudiés et les résultats sont présentés dans le tableau 3.20.

D'après les résultats obtenus, nous n'avons noté aucune différence statistique entre tous les groupes ($P > 0,05$) au niveau de taux des protéines totales, l'urée, le

cholestérol total et l'acide urique. Contrairement aux animaux témoins diabétiques, qui présentent les taux de créatinine les plus élevés (3,83 mg/l), les animaux traités avec l'extrait étudié et avec la metformine présentent des concentrations plus faibles (3,66 mg/l) statistiquement semblables aux taux de créatinine chez les animaux normaux.

Concernant les triglycérides, les lapins diabétiques non traitées présentent le taux le plus élevé (1,29g /l). De plus, le taux de triglycérides chez les animaux traités avec l'extrait aqueux de *Z. lotus* L. était de 0,70g /l, statistiquement similaire à celui du contrôle normal à 0,60g / l ($P > 0,05$). En comparaison, le niveau présenté par les animaux traités à la metformine a été supérieur à celui des témoins normaux ($P < 0,05$).

Concernant le taux d'ASAT, les résultats ont montré que le contrôle normal et les lapins diabétiques traités avec l'extrait testé sont proches (137,17 et 135,5UI/l, respectivement), tandis que les lapins traités à la metformine ont un niveau supérieur à ces 2 groupes. Le niveau d'ASAT des lapins témoins diabétiques est le plus élevé parmi les groupes avec une valeur de 389,67 UI /l.

De même, les niveaux d'ALAT du contrôle normal et les lapins diabétiques traités avec l'extrait testé présentent presque les mêmes niveaux (40,67 et 41,50 UI / l, respectivement), mais il n'y a pas de différence significative entre eux et les lapins traitées avec la metformine (50,67 UI / l) ($P > 0,05$). On constate que les animaux diabétiques présentent le taux d'ALAT le plus élevé.

Tableau 3.21. Effets de l'extrait de *Z. lotus* L. sur des paramètres biochimiques des lapins diabétiques induits par le STZ.

	N=18	Créatinine (mg/l)	Triglycéride (g/l)	ASAT (UI/l)	ALAT (UI/l)
LN	3	3,58±0,02	0,60±0,0	135±0,1	40,69±0,1
LDNT	3	3,80±0,01	1,29±0,01	389,68±0,2	83,01±0,2
LDTEFT	3	3,60±0,04	0,70±0,021	136±0,12	41,3±0,16
LDTEFO	3	3,59±0,02	0,66±0,012	135,13±0,4	40,5±0,23
LDTEFM	3	3,66±0,01	0,73±0,01	137,02±0,23	41,2±0,2
LDTMetformine	3	-	0,72±0,01	137,6±9,25	50,65±0,1

LN : Lapins Normaux

LDNT : Lapins diabétiques non traités

LDTEFT : Lapins diabétiques traités par l'extrait aqueux de feuilles de Tamanrasset

LDTEFO : Lapins diabétiques traités par l'extrait aqueux de feuilles d'El oued

LDTEFM : Lapins diabétiques traités par l'extrait aqueux de feuilles de Médéa

LDT Metformine : Lapins diabétiques traités par Metformine

Le diabète sucré est le résultat d'un déséquilibre dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, suivi d'une sécrétion d'insuline ou d'une action de l'insuline défectueuses ou des deux. Actuellement, sa gestion par extrait végétal est devenue une tendance, et plusieurs extraits végétaux sont dotés de propriétés hypoglycémiques considérables [289 et 290].

L'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *Z.lotus* L. confirme que son utilisation peut être saine et sans aucun effet indésirable.

La capacité de l'extrait aqueux à inhiber l' α -amylase et l' α -glucosidase a été testée. En fait, les deux enzymes ont été inhibées. Ce qui confirme que les composés responsables de l'activité antidiabétique de la feuille sont extractibles dans l'eau, ce qui soutient l'utilisation traditionnelle de cette plante dans le traitement du diabète. En fait, plusieurs métabolites secondaires, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, ont été quantifiés dans l'extrait méthanolique de *Z .lotus* L. Son activité antioxydante a également été évaluée.

L'effet inhibiteur sur l' α -glucosidase de certains de ces composés a été démontré par [291]. De plus, l'activité antioxydante des composés phénoliques de l'extrait est également liée à leur effet hypoglycémique. Ces composés agissent sur le diabète au niveau cellulaire en favorisant l'action de l'insuline [292]. De plus, parmi les composés abondants déjà identifiés dans cet extrait, il y avait la catéchine [293], qui démontrait moins la capacité d'inhiber l' α -amylase que l' α -glucosidase [294].

Dans la deuxième étape, l'induction du diabète de type 2 a été réalisée avec succès en utilisant la STZ ce qui contribue à la destruction partielle des cellules bêta des îlots de Langerhans [239]. Les lapins témoins diabétiques induites par STZ présentaient une hyperglycémie significative par rapport aux lapins normaux. L'hyperglycémie pourrait également favoriser une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène, entraînant une dégradation incontrôlée des tissus et présentant ainsi des complications diabétiques. Ainsi, la déficience en insuline peut s'accompagner d'une augmentation significative des triglycérides et du cholestérol total chez les lapins diabétiques.

D'autres auteurs à travers des travaux antérieurs dans d'autres conditions avec des extraits aqueux de plantes ont obtenu des résultats plus ou moins similaire que les nôtres. Les travaux de [287, 295] ont montré que le macérât aqueux des feuilles de *Zizyphus mauritiana* à la dose de 150 mg/kg chez les lapins a provoqué une inhibition de la glycémie de 56,02%; 35,46% et 38,49% respectivement à 30, 90 et 120 minutes après administration du glucose. Selon [73] le macérât aqueux des feuilles de *Zizyphus mauritiana* à la dose de 150 mg/kg a réduit la glycémie chez la souris de 18,96 % à T120.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les résultats de notre travail témoignent de l'importance de l'espèce *Z. lotus* L. pour l'usage dans la pharmacie, la phytothérapie et l'agroalimentaire. La plante étudiée est une source naturelle de composés antioxydants et antimicrobiens d'importance. L'analyse qualitative par la CLHP a montré la présence de l'acide trans -cinnamique, la Robinine -O-ribinoside-7 Rhamnose, la Rutine, le Kaempferol, l'acide gallique, l'acide ascorbique, la quercétine, l'Indol 3 caroxylic plus d'autres métabolites.

La concentration la plus élevée des composés phénoliques a été obtenue en utilisant des solvants de polarité croissante. L'extrait méthanolique a donné la plus grande valeur en composés phénoliques et en flavonoïdes, tandis que, l'extrait aqueux a donné la valeur la plus élevée en tanins condensés et cela pour les régions de Tamanrasset et El Oued.

Le contenu élevé des composés phénoliques et la corrélation linéaire significative entre les valeurs de la concentration des composés phénoliques et l'activité antioxydante ont indiqué que ces composés contribuent à l'activité antioxydante. L'évaluation du pouvoir antioxydant par les deux tests : la méthode DPPH et la méthode FRAP, montre que l'extrait méthanolique de la région de Tamanrasset d'El Oued est le plus actif.

Les résultats obtenus pour l'activité antimicrobienne montrent que les deux extraits méthanolique et acétate d'éthyle de *Z. lotus* L. de Médéa sont les plus actifs contre les souches *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'extrait méthanolique montre une activité plus ou moins importante vis-à-vis de deux levures *Candida albicans*, *Candida krusei*. , l'extrait acétate d'éthyle montre une activité très intéressante vis-à-vis *Alternaria sp*, *Fusarium avenaceum* et *Fusarium culmorum* avec un taux d'inhibition très important. Cette activité

pourrait être expliquée par la richesse de *Zizyphus .lotus* L., particulièrement l'extrait méthanolique en flavonoïdes.

Des études in vivo sur l'activité antidiabétique, anti-inflammatoire ont été réalisées pour mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactives de la plante. Les résultats de l'activité antidiabétique chez les lapins ont montré que l'extrait aqueux de *Z.lotus* L. a exercé une activité anti-hyperglycémie notable, similaire à celle de la metformine, pour tous les extraits testés.

Par ailleurs, les résultats de l'activité anti-inflammatoire de l'EMeOH de *Z.lotus* L. de la région de Tamanrasset ont montré son effet anti -inflammatoire vis-à-vis des souris malades, par conséquent, on peut considérer que l'EMeOH de *Z.lotus* L de Tamanrasset et d'El Oued exerce une action anti-inflammatoire comparable à celle du produit de référence. De plus, son effet est plus efficace à une concentration supérieure ou égale à 0,1g/ml.

Des études plus approfondies in vivo sur l'activité antidiabétique, anti-inflammatoire, antiproliférative et insecticide seraient nécessaires dans les années à venir pour mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactives de cette plante, leur dose thérapeutique ainsi que leur site d'action au niveau de la cellule. Cela permettrait de préparer des produits pharmaceutiques de grand intérêt thérapeutique.

REFERENCES bibliographiques

- 1 Catier O., et Roux, D., 2007. Botanique pharmacognosie phytothérapie. (Ed) Wolters Kluwer, Pays-Bas.
- 2 OMS. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Who /Edm /Trm /2002.1.
- 3 Abdel-Hameed E., 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. Food Chem. 114, 1271–1277.
- 4 Quezel P., Santa S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre national de la recherche, Paris ,565p.
- 5 Spicher R., Preface. In: Aeschiman, D., Lauber, K., Moser, D.M. & Theurillat, J-P., 2004. Flore alpine. Atlas dans 4500 plantes vasculaires des Alpes. 1: 7-8. Belin, Paris.
- 6 Stevens A., Lowe, J.S . et Young, B., 2014. «Anatomie pathologique », Atlas de Wheater, 4ème Edition De Boeck, Bruxelles, 295p.
- 7 Rsaissi N., El Kamili L., Bencharki B., Hillali L., Bouhache M., 2013. Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube 'Ziziphus Lotus (L.) Desf. International Journal of Scientific & Engineering Research, 4(9): 1521–1528.
- 8 Kirkbride J.H., Wiersema J.H., Turland N.J., 2006 - Proposal to conserve the name Ziziphus jujuba against Z. jujuba, Taxon, 55 (4), 1027-1052.
- 9 Kouadio N.J., Guessennd N.K, Kone, M.W., Moussa B., Koffi, Y.M., Gue D E, K.B., Yao, K., Bakayoko A., Tra Bi, H.F., Dosso, M., 2015. « Evaluation de l'activité des feuilles de Mallotus criblage phytochimique », International Journal of Biological and Chemical Sciences, Vol : 9 (3) 1252-1262.

- 10 Handique S.C., and Baruah J.B., 2002. Polyphenolic Compounds: an overview. *React Funct Polym*, 52: 163-188.
- 11 Ghedira K., Chemli, R., Caron, C., Nuzillard, J.-M., Zeches, M., Le Men-Olivier, L., 1995. Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 38, 767-772.
- 12 Espiard E., 2002. Introduction à la transformation industrielle des fruits. Tec & doc(Ed). 360p.
- 13 Chevalier Auguste., 2016. Les Jujubiers ou Zizyphus de l'Ancien monde et l'utilisation de leurs fruits. In: *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale*, 27^{ème} année, bulletin n°301-302, pp. 470-483.
- 14 Chevallier A., 2016. *Encyclopedia of Herbal Medicine: 550 Herbs and Remedies for Common Ailments. Les Jujubiers ou Zizyphus de l'Ancien monde et l'utilisation de leurs fruits* Penguin.
- 15 Catoire C., Zwang H. et Bouet C., 1999 .Les jujubiers ou le Zizyphus, fruits oubliés .Article du n°1.
- 16 Belouad A., 1998. *Plantes médicinales en Algérie*. Office des publications nationale ; Algérie : 273.
- 17 Couplan F., Styner E. 2000. *Guides des plantes sauvages comestibles et toxiques*. Edition de lachaux et niestlé. Paris, pp 378-379
- 18 Jacamon M., 1992. *Guide de dendrologie*. ENGREF (Ed). Nancy, 274 p.
- 19 Baba Aissa F., 1999. *Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb – Substance végétale*, Edition Librairie Moderne, Rouïba, 145p.
- 20 Azam-Ali S., Bonkougou E., Bowe C., Dekock C., Godara A., Williams J.T., 2006. *Ber and other jujubes* SO17 1BJ, UK. Centre for Underutilised Crops, 289 P.
- 21 Laamouri A., 2009 - *Contribution à l'étude des jujubiers en Tunisie : Identification, caractérisation, adaptation au déficit hydrique et multiplication*. Thèse de Doctorat, INAT, 272 p.
- 22 Claudine R., 2007. *Le nom de l'arbre : le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier*. Actes sud le Majan, 1er édition France, p. 45-62.

- 23 Ozenda P., 1977. Flore de Sahara. CNRS (Ed). Paris, 322p.
- 24 Ghost A., Lysias D.C., 2007. Jujube Fruit: a magic fruit berry for emotion controlling and more. Pure Herb and extract processing and formation.
- 25 Rsaissi N., Bouhache M., (2002). La lutte chimique contre le jujubier .Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed) Rabat. (94): 4p.
- 26 Gorai M., Maraghni M., Neffati M., 2010. Relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Ziziphus lotus* (L.) Lam. In southern Tunisia. *Plant Ecology and Diversity*. 3: 273–280.
- 27 Maraghni M., Neffati M., 2014. Differential responses to drought stress in leaves and roots of wild jujube, *Ziziphus lotus*. *Actaphysiologiae plantarum*. 36(4). p.945-953.
- 28 Hammi K., Jdey A., Abdelly C-H ., Majdoub H ., Riadh Ksouri ., 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chemistry*, 184: 80–89.
- 29 Bonnet J., 2001. Larousse des arbres - Dictionnaire des arbres et des arbustes . 512p.
- 30 Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., Vlietink A., 1999. Condensed tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematic and Ecology*, 27: 445-459.
- 31 Bauer S.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Thurck, M., 1966. « Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method», *American Journal of Pathology*, Vol; 45, 493-496
- .
- 32 Kotb H.T.F., 1985. Medicinal Plants in Libya, Part II.
- 33 Benchelah A.C., Bouziane H., Maka M., 2004. Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au cœur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili . *Phytothérapie*, 6: 191-197.
- 34 Ghedira K., 1995. Études des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb. et des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf., thèse d'État sciences pharmaceutiques, faculté de pharmacie, Monastir (Tunisie).

- 35 Ghedira K., 2013. *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae): jujubier sauvage. *Phytothérapie*, 11, 149-153.
- 36 Abdel-Zaher A.O., Salim S.Y., Assaf M.H., Abdel-Hady R.H., 2005. Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 3 (101), 129-138.
- 37 Sherwood L., «Physiologie humaine», 3ème Édition De Boeck, Bruxelles, (2015), 750p.
- 38 Paroda R.S. et Mal B., 1989. New plant sources for food and industry in India. In: Wickens GE, Haq N, Day P (Ed). *New crops for food and industry*. Chapman and Hall, London, p 135-149.
- 39 Su P., LiuScientia X., 2005. Photosynthetic characteristics of linze jujube in conditions of high temperature and irradiation .*Horticulturae*, 104 : 339–350.
- 40 Jawanda J.S., Bal J.S., 1978. The ber - highly paying and rich in food value. *Indian Horticulture*, 23(3): 19-21.
- 41 Kim J. K., Jung, V. T., Son, I. S. and Yun, E. S., 1989 - The cultivation status and characteristics of jujube grown on soils of the chief producing area of Yeongnam. *Research Reports of the Rural Development Administration, Soils and Fertilizers*, 31(1) : 29-36.
- 42 El Rhouat N., 2002. Les jujubiers au Maroc: état actuel, germination des graines, valeur pastoral du feuillage et relations hydriques cas de *Zizyphus vulgaris*, Mémoire de 3ème cycles, Ecole National Forestier d'Ingénieurs 178p.
- 43 Aymonin G.G., 1993. *Guide des arbres et des arbustes*. Sélection du Reader"s Digest (Ed). Paris, 351p.
- 44 Aboelsoud N H., 2010. Herbal médecine in ancien Egypt. *J Medicinal introduction to herbal medicines*, 203:127-137.
- 45 Chouaibi M.; Mahfoudhi, N.; Rezig, L.; Donsi, F.; Ferrari, G.; Hamdi, S., 2012. Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 1171-1177.
- 46 Pareek O.P., 2001. *Fruits for the Future 2: Ber*, International Centre for Underutilized Crop. Redwood Books, Wiltshire, p 42, 38, 15, 20, 34, 45, 52-58.

- 47 Ghazanfar S-A., 1994. Handbook of Arabian medicinal plants. Boca Raton: CRC Press.
- 48 Kirtikar Kr., Basu Bd., 1984. Indian medicinal plants. Dehradun: International Book Distributor, 588-597.
- 49 Han B.H. et Park M.H., 1986. In Folk medicine: The art and science p. 206. Washington: The American Chemical Society.
- 50 Hutchens A-R., 1973. Indian Herbalogy of North America. Shambhala (Ed). Boston.
- 51 Epraim K-D., Osunkwo U-A., Onyeyilli P., Ngulde A., 1998. Preliminary investigation of the possible antinociceptive activity of aqueous leaf extract of *Ziziphus spina-christi*. Indian journal pharmacol, 30: 271-272.
- 52 Sudhersan, C., Hussain, J., 2003. In vitro clonal propagation of a multipurpose tree, *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf. Turkish Journal of Botany, v.27, p.167-171.
- 53 Abdoul-Azize, S., Bendahmane M., Hichami A. 2013. Effects of *Zizyphus lotus* L. (Desf.) polyphenols on Jurkat cell signalling and proliferation, Int Immunopharmacol. 15(2): 364–371.
- 54 Perdue, Jr, R.E. and J.L. Hartwell, 1976. Plants and cancer. Proc. 16th Annual Meeting Soc. Econ. Bot. Cancer Treatment Rep., 60: 973-1215.
- 55 Adzu B., Amos S., Amizan MB. Gamaniel K., 2003. Evaluation of the antidiarrheal effects of *Zizyphus spina-christi* stems bark in rats. Acta Tropica, 7: 245-250.
- 56 Wahida B, Abderrahman B, Nabil C., (2007). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. J Ethnopharmacol 112: 228-231.
- 57 Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A. and Bora U., 2008. Indian medicinale herbs as sources of antioxidants. Food Res Int, 41: 1-15.
- 58 Renault JH, Ghedira K, Thepenier P, Lavand C, Zeches-Hanrot M, Le Men-Olivier L., 1997. Dammarane saponins from *Zizyphus lotus*. Phytochemistry. 44: 1321-1327. 10.1016/S0031-9422(96)00721-2.

- 59 Lahlou M, El Mahi M, Hamamouchi J., 2002. Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Ann Pharm Fr.* 60: 410-414.
- 60 LeCrou'eur G, Thepenier P, Richard B, Petermann C, Ghedira K, Z'eches-Hanrot M, 2002. Lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia*, 73: 63-68.
- 61 Abdul-Galil F. M El-Jissary M.A. 1991- Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus spina-christi*. *Phytochemistry*, 30 (4): 1348-1349.
- 62 Guo S., Tang Y.P., Duan J.A., Su S. et Ding W., 2010. Two new terpenoids from fruits of *Zizyphus jujube*. *Chinese Chemical letters*, 20 (2), 197-200.
- 63 Tripathi M., Pandey M.B., Jha R.N., Pandey V.B., Tripathi P.N. et Singh J.P., 2001. Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus jujuba*, *Fitoterapia*, 72 (5), 507-510.
- 64 Borgi W, Ghedira K, Chouchane N., 2006. Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia.* 78: 16-19.
- 65 Benammar C, Yessoufou Aha, Simonin Am, Belarb M, Allali H, Khan Na., 2010. *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC Complement Altern Med.* 10: 54–56.
- 66 Borgi W, Bouraoui A, Chouchane N., 2007. Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *J Ethnopharmacol.* 112: 228-231.
- 67 Borgi W, Recio MC, Ríos JL, 2008. Chouchane N: Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L) Lam. *South Afr J Bot.* 74: 320-324.
- 68 Bruneton J., 1999. *Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes médicinales.* Lavoisier (Ed), Paris. 3ème édition 1120 pages.
- 69 Adzu, B.; Haruna, A. K., 2007. Studies on the use of *Zizyphus spina-christi* against pain in rats and mice. *African Journal of Biotechnology.* (6):1317-1324.
- 70 Pawlowska, A. M.; Camangi, F.; Bader, A.; Braca, A., 2009. Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L. and *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd (Rhamnaceae) fruits. *Food Chemistry* 2009, 112, 858-862.

- 71 Han, B. H.; Park, M. H.; Han, Y. N., 1990. Cyclic peptide and peptide alkaloids from seeds of *Ziziphus vulgaris* Phytochemistry, 29, 3315-3319.
- 72 San B., Yildirim A.N., 2010. Phenolic, alpha-tocophérol, beta-carotène and fatty acid composition for four promising jujube (*Ziziphus jujuba miller*) selections. Journal of food composition and analysis, 23 (7), 706-710.
- 73 Ba SG., 2005., Etude de la phytochimie et al. Activités biologiques de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisée dans le traitement traditionnel du diabète et al. l'hypertension en Mauritanie. Thèse de pharmacie, Bamako, 120.
- 74 Haritakum R., Jansakul C. et Ruchirawat S., 2005. Zizyphus N, O, P, new antiplasmodial cyclopeptides alkaloids from *Zizyphus oenoplia* var. *brunoniana*.Tetrahedron, 61 :1175-1180.
- 75 Spicher R., Savolainen V., Figeat M. & Jeanmonod D., 2004. Systematic Botany of Flowering Plants. Science Publisher, Inc. Genève. 186p.
- 76 Richter G., 1993. Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Éd. Presse polytechnique et universitaire romande, 317-339.
- 77 Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P., 2002. Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336.
- 78 Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbel D., 1996. Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. In « Polyphénols 96 », Éd. INRA. 31-35.
- 79 Lincoln T., Zeiger E., 2006. Secondary metabolites and plant defense in: Plant Physiology. 4th Ed., Sinauer Associates, Chap. 13.
- 80 Martin S., Andriantsitohaina R., 2002. Cellular mechanism of vasculo-protection induces by polyphenols en the endothelium. Annales de cardiologie et d'angiologie. 51: 304-315.
- 81 Balasundram N., Sundram K. And Samman S., 2006. Phenolic compounds in plans and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry, 99:191-203.
- 82 Briskin, D.P., 2000. "Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health,"Plant Physiology, 124. 507-514. 2000.

- 83 Mazzei P., Vinale F., Woo S.L., Pascale A., Lorito M. and Piccolo A., 2016. Metabolomics by proton high-resolution magic-angle-spinning nuclear magnetic resonance of tomato plants treated with two secondary metabolites isolated from trichoderma. *J. Agric. Food Chem.*, 64: 3538-3545.
- 84 Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2007. Les polyphénols en agroalimentaire. *Revue suisse Agric.*, 39 (2), 94.
- 85 Clifford M.N., 1999. Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington. DC. CRC Press. Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.
- 86 D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Massella R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Annali- dell Istituto-Superiore di sanità.* 43 (4): 348-361.
- 87 Harborne B., 1989 – *Methods in plant biotechnology, plant phenolic.* Academic press, London, UK. Hansen S.C., Stolter C. and Jacob J., 2016a – Effect of plant secondary metabolites.
- 88 Crozier A., Jaganath I.B. and Clifford M.N., 2009. Dietary phenolic: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat.Pod.Rep*, 26: 1001-1043.
- 89 Fournier-Larente J., 2014. Modulation de l'expression des genes relies à la virulence et au stress chez *Porphyromonas gingivalis* par les polyphenols du thé vert. *Maitrise en Microbiologie.* univ .Laval, Canada, 14p.
- 90 Bruneton J., 2008. Acides phénols In : *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*, (Éd). Tec and Doc. Lavoisier. Paris. 198-260.
- 91 Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Alleman D.C., 2005. Les Composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 4-5P.
- 92 Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.R., Simonic M., Knez Z., 2005. Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89: 191-198.
- 93 Manach C., Scalbert A., Morand C., Remezy C., Jimenez L., 2004. Polyphenols : food sources and bioavailability. *Journal American of Clinical Nutrition*, 79, 5, 727-747.

- 94 National Committee for Clinical Laboratory Standards., 2001 – Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement. NCCLS document M100-S11. USA: Villanova, 21 (1).
- 95 Guignard J.L., 2000. Les composés aromatiques In : Biochimie végétale. Éd. Dunod, 161- 217.
- 96 Hendrich Andrzej B., 2006. Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 27 (1), 27–40.
- 97 Paume M., 2009. Sauvages et toxiques: Plantes des bois, des prés et des jardins. Éd. Edisud, Paris, 255 p.
- 98 Cheynier V., Comte G., Davies K. M., Lattanzio V., Martens S., 2013. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Phys. Biochem.*, 1- 20.
- 99 Bruneton J., 2009 - Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition. Lavoisier, Paris.
- 100 Mukohata Y., Nakabayashi S and Higashida M., 1977. Quercetin, an energy transfer inhibitor photophosphorylation. *FEBS Letters*, 85 (2): 215-218.
- 101 Xin, H., Zhou, F., Liu, T., Li, G., Liu, J., Gao, Z., 2012. Icariin Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetic Retinopathy in Vitro and in Vivo. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 866–878.
- 102 Yao J., Wang J Y. and Liu L., 2010. “Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS- induced ulcerative colitis.” *Arch Med Res.* 41: 288-294.
- 103 Crozier A., 2003. Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants Diet and Health*. Éd .Goldberg, 27-48.
- 104 Chira K., Such J., Saucier C., Teissède L., 2008. Les polyphénols du raisin. Éd. Springer. 6: 75-82.
- 105 Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., Vlietink A., 1999. Condensed tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematic and Ecology*, 27: 445-459.
- 106 Forkmann G., Martens S., 2001. Metabolic engineering and applications of flavonoids. *Current opinion in biotechnology*, 12:155-160.

- 107 Četković G.S., Čanadanović-Brunet J., Djilas S.M., Tumbas V.T., Markov S.L., Cetković D.D., 2007. Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*. 8(10), 1013-1027.
- 108 Slade D., Ferreira D., Marais J. P. J., 2005. Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids. *Phytochem.*, 66: 2177-2215.
- 109 Trabelsi N., d'Estaintot B. L., Sigaud G., Gallois B., Chaudière J., 2011. Kinetic and binding equilibrium studies of dihydroflavonol 4-reductase from *Vitis vinifera* and its unusually strong substrate inhibition. *J. Biophys. Chem.*, 2: 332-344.
- 110 Ribereau-Gayon P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris, 21-22: 173-201,232-242-255p.
- 111 Kosir I.J., Lapormik B., Andresek S., Wondra A., Vrhovsek U., Kidric J., 2004. Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography- mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*, 513: 277-282.
- 112 Ribeiro de Lima M.T., Waffo-Te'guo P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J.C., Mérillon J.M., 1999. Determination of stilbenes (trans-astringin, cis and trans- piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 2666- 2670.
- 113 Vitrac X., Bornet A., Vanderlinede R., 2005. Determination of stilbenes (Delta- viniferin, trans-astringin, trans-piceid, cis- and trans- resveratrol epsilon niferin) in Brazilian wines, *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53 (14): 5664-5669.
- 114 Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S., 2007. Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research*, 30: 7- 13.
- 115 Vermerris W., Nicholson R., 2006. Phenolic compound biochemistry. Springer (Dordrecht), 276p.

- 116 Mazur W.M., Duke J.A., Wähälä K., Rasku S., Adlercreutz H., 1998. Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in humans. *Nut. Biochem.*, 9:193-200.
- 117 Moon J. K., Shibamoto T., 2009. Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agr. Food Chem.*, 57: 1655 -1666.
- 118 Aguilera Carbo A., Augur C., Prado Barragan L.A., Favela Torres E., Aguilar C.N., 2008. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, (78): 189-199.
- 119 Paris M., Hurabeillen M., 1981. *Abrégé de matière médicale, pharmacognosie.* Éd. Masson, 210-215.
- 120 Linden et Lorient D., 1994. Pigments et arômes In : *Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole*, Éd. Masson, 338-340.
- 121 Cowan M.N., 1999. Plant products as antimicrobial agents *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 (4): 564- 582.
- 122 O'Connell J.E., Fox P.F., 2001. Signification and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11 (3): 103-120.
- 123 Bourgaud F., Gravot A., Milesi S. and Gontier E., 2001 – Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839-851
- 124 Collin S. Et Crouzet J., 2011. *Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers des procédés à l'agro-alimentaire*, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 339p.
- 125 Chong J., Poutaraud A. et Huguency P., 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*. 177: 143- 155.
- 126 Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N., 2006. Plant secondary metabolites. Occurrence, structure and role in human diet. *Phenols, polyphenols and tannins: An overview.* Ed., Blackwell publishing, 372p.

- 127 Cassidy A., Hanley B., Lamuela Raventos R.M., 2000. Isoflavones, Lignans and Stilbenes. Origins, Metabolism and Potential Importance to Human Health. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 80, 1044-1062.
- 128 Makkar H.P.S., Siddhuraju P., Becker K., 2007. Plant Secondary Metabolites, *Methods in Molecular Biology* 393; Ed: Humana Press; p: 67-111.
- 129 Chen X.-M., Tait A.R., Kitts D.D., 2017. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food chemistry* 218, 15-21.
- 130 Tholl D., 2015. "Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants," in *Biotechnology of Isoprenoids. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol. vol 148 148. Eds. Schrader J., Bohlmann J. (Cham: Springer;), 63–106.
- 131 Tarkowská D., Strnad M., (2018). Isoprenoid-derived plant signaling molecules: biosynthesis and biological importance. *Planta* 247, 1051–1066. 10.1007/s00425-018-2878-x.
- 132 Block A. K., Vaughan M. M., Schmelz E. A., Christensen S. A., 2019. Biosynthesis and function of terpenoid defense compounds in maize (*Zea mays*). *Planta* 249, 21–30.
- 133 Dixon R.A., Paiva N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7(7):1085p.
- 134 Verpoorte R. et Alfermann A.W., 2000. *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Ed. Kluwer Academic, Netherlands, 1-23p.
- 135 Wink M., 2010. *Biochemistry of plant Secondary Metabolism: Annual Plant Reviews* 40. Ed. Wiley-Blackwell, 1-23p.
- 136 Vercauteren J., 2011. *plant. Formules et illustrations du cours de pharmacognosie. 2ème cycle des études de pharmacie. Montpellier I,*
- 137 Anderson J W., Johnstone B M., Cook-Newell M E., 1995. Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. *N. Engl. J. Med* . 333 :276-282.

138 Dragovi Uzelac V., BursaKova D., Levaj B., Pedisi S., Mezak M., Tomljenovi A., 2009. Polyphenols and antioxidant capacity in fruits and vegetables common in the Croatian diet. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74 (3): 175-179

.

139 Gawron Gzella A., Dudek- Makuch M., Matlawska I., 2012. DPPH radical scavenging activity and phenolic compound content in different leaf extracts from selected blackberry species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 54 (2): 32-38.

140 Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M., Li H.B., 2014. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6: 6020-6047.

141 Shahidi, F., Janitha, P.K., Wanasundara P.D., 1992. «Phenolic antioxidants», *Critical reviews in food science & nutrition*, Vol 32(1): 67-103.

142 Nagai T., Inoue R., Suzuki N., Myoda T., Nagashima T., 2005. Antioxidative ability in a linoleic acid oxidation system and scavenging abilities against active oxygen species of enzymatic hydrolysates from pollen *Cistus ladaniferus*. *Int. J. Mol. Med.*, 15: 259-263.

143 Ami D., Davidovi -Ami D., Bešlo D., Trinajsti N., 2003. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *CroaticaChemica Acta*, 76 (1):55 – 61.

144 Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C., 2000. The effects of plants flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52 (4): 673 -751.

145 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.

146 Wang J.N., Chen Y.J., HanoY., Taro N., Tan R.X., 2000. Antioxidante activity of polyphenols from seeds of *vitis amurensis* in vitro. *Acta pharm. Sinic.*, 21: 633-636.

- 147 Van Acker S.A., Van Balen G.P., Van Den Berg D.J., Bast A., Van Der Vijgh W.J., 1998. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, 56 (1): 87-91.310
- 148 Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G., Wegrzym G., 2006. Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.*, 184(5): 271-278.
- 149 Taylor P.W., Hamilton-Miller J.M.T. and Stapleton P.D., 2005. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci. Technol.Bull*, 2: 71-81.
- 150 IKIGAI H., NAKAE T., HARA Y. and SHIMAMURA T., 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim.Biophys. Acta*, 1147: 132-136.
- 151 Cushnie T.P. and Lamb A.J., 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 38: 99-107.
- 152 Daglia M., 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin in Biotechnol*, 23: 174- 181.
- 153 Scalbert A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- 154 Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D.E., Boelens P.G., Norren K. and Leeuwen P., 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am, J.Clim Nutr*, 74:418-425.
- 155 Ortuno A., Baidez A., Gomez P., Arcas M.C., Porrás I., Garcia-Lidon A., Del Rio J.A., 2006. Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem.*, 98 (2): 351-358.
- 156 Batawila K., Kokon K., Akpagona K., Koumaglo K., Bouchet P., 2002. Fungicide activity of a threatened species from togo flora: *Conyza aegyptiaca* (L.) Ait. var. *lineariloba* (DC.) O. Hoffm. (Asteraceae) . *Acta Bot. Gal.*, 149 (1): 41-8.
- 157 Zore, G.B., Thakre, A.D., Jadhav, S. et Karuppayil, S.M., 2011. «Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle», *Phytomedicine*, Vol 18, n° 13, 1181-1190.

- 158 Huang, B., Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H., Wang, Y., 2011. Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem. Toxicol.* 19, 185–190.
- 159 Romagnoli C., Bruni R., Andreotti E., Rai M.K., Vincentini C.B., and Mares D., 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of *Capitula* from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma*, 255: 57-65.
- 160 Maoz, M. et Neeman, I., 2000. «Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*», *Journal of Ethnopharmacology*, Vol: 71(3), 479-482.
- 161 Harborne B., 1980. Plant polyphenolics. In: Bell E.A., Charlwood B.V. (Eds) *Secondary plant products*, Spiner, Heidelberg, 329-432p.
- 162 Selway J.W.T., 1986. Antiviral activity of flavones and flavans. In: Cody V, Middleton J E, Harborne JB Ed: *Plant Flavonoids in Biology and Medicine (I)*, Allan Riss: New York, 521-537p
- 163 Middleton J.E, Faden H, Drzewiecki G, Perrisoud D., 1986 – Correlation of antiviral and histamine release-inhibitory activity of several synthetic flavonoids. In: Cody V, Middleton J E, Harborne JB (Eds) *Plant Flavonoids in Biology and Medicine (I)*, Allan Riss: New York, pp 541-544.
- 164 Martins A., Ascensao L., Feio S., Quinta M. and Rauter A., 1992. Biocide activity of phenolic compound from *Artemisia* spp. *Bulletin de Liaison du groupe polyphenols*, 16: 284-287.
- 165 Lee-Huang S., Zhang D., Chang Y.T. and Huang P.L., 2003. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 307: 1029-1037.
- 166 Micol V., Caturla N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L. and Estepa A., 2005. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antivir Res.* 66, 129-136.
- 167 Lee-Huang S., Huang P.L., Zhang D., Lee J.W., Bao J. , Sun Y., Chang Y.T., Zhang J. and Huang P.L., 2007. Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropéine and hydroxytyrosol: Part II. Integrase inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 354: 879-884.

168 Neurath A.R. et al., 2004 – *Punica granatum* (Pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infect Dis*, 4(41) :1-12.

169 Akpo A.A., Chougourou D.C., Osse R.A., Dossou J., Akinro B., Akogbeto M., 2017. Etude de l'efficacité de l'huile de *Thevetia Neriifolia* pour le contrôle de *Anophèles Gambiae* S.L. résistant aux pyréthrinoides, *European Scientific Journal*, 13 (24) : 231-248.

169 Khambay B.P., Beddie D.G. and Simmonds M.S.J., 1999. A New Insecticidal Pyranocyclohexenedione from *Kunzea ericifolia*. *J Nat Prod*, 62 (10):1423.

170 Echeverri F. and Suarez G.E., 1989. Flavonoids from *Passiflora foetida* and deterrent activity. *Revisita Latinamericana Quimica*, 20: 6-7.

171 Simmonds M.J.S., Blany W.M., Dell Monache F. and Marini Bettolo G.B., 1990. Insect antifeedant activity associated with compounds isolated from species of *Lonchocarpus* and *Tephrosia*. *Journal of Chemical Ecology* 16: 365-380.

172 Villaroel V.L., Torres G.R. and Urzua M.A., 1991. Polyphenolic compounds in the resinous exudate of *Heliotropium stenophyllum*; structural determination and antifeedant and antioxidants effects. *Beletin de la Sociedad Chilena de Quimica*. 36: 169-174.

173 Dreyer D.L., Jones K.C., 1981. Feeding deterrence of flavonoids and related phenolics towards *Schizaphis graminum* and *Myzus persicae*: aphid feeding deterrents in wheat. *Phytochemistry*, 20: 2489-2493.

174 De Paula J.R., Viera I.J.C., Da Silva G.F., Rodriguez F.O., Fernandes J.B., Vieira P.C., Pinheiro A.L., Vilela E.F., 1997. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* Graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandilla*. *Phytochemistry*, 44: 1449-1454.

175 Owen Smith D.N., 1995. Condensed tannin in *Eragrostis chloromelas* leaves deters feeding by a generalist grasshopper. *African Journal of Range & Forage Science*, 12: 49-52.

176 Cappaso R., Evidente A., Tremblay., Sala A., Santoro C., Cristinzio G., Scognamiglio F., 1994. Direct and mediated effects on *Bactrocera oleae* (Gmelin) [Diptera: Tephritidae] of natural polyphenols and some related synthetic

compounds: structure-activity relationships. *Journal of Chemical Ecology*, 20: 1189-1199.

177 Regnault- Roger C et al., 2004. Disturbance of *Acanthoscelides Obtectus* behaviour by polyphenolic compounds identified in insecticidal (Labiata botanicats). *Journal of Stored Product Research*, 40: 395-408.

178 Derache R., 1986. «Toxicologie et sécurité des aliments », Edition Lavoisier, 594p.

179 Reichel, J., Benecke, N., Eckert, K.G., Erber, B., Golly, I.C., Kreppel, H., Liebel, B., Mukte, H., Szinicz, L. et Zilker, T., 2004. « Guide pratique de toxicologie ». Edition De boeck, 348 p.

180 Saad, B., Azaizeh, H., Abu-Hijleh, G. et Said, O., 2006. « Safety of traditional Arab herbal medicine. Evidence-Based Complement». *Alternative Medicine*, Vol: 3(4) , 433-439.

181 Lapointe, G., 2004. « Notions de Toxicologie. Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec », 2ème Edition revue et augmentée, Québec, 67 p.

182 Mamoci, E., Cavaski, I., Simeone, V., Mondelli, D., Al-Bitar, L. et Caboni, P., 2011. «Chemical composition and in vitro activity of plant extracts from *Ferula commmunis* and *Dittrichia viscosa* against postharvest Fungi», *Molecules*, Vol; (16) 2609-2625.

183 Wallace Hayes, A., (2008). « Principal and methods of toxicology». Edition Tayler & Francis, New York, 1134p.

184 Lechat, P., Calvo, F., De Crémoux, P., Giroud, J.P., Lagier, G., Lechat, P.H., Rouveix, B. et Weber L., 1990. « Pharmacologie médicale» Edition Masson, 717p.

185 Wepierre, J., 1981. « Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire », Edition Masson, Paris, 203p.

186 Ramade, F., 1979. « Ecotoxicologie», Edition Masson, Paris, 228p.

187 Mellah, A., (2010). «Application pratique de l'anatomie humaine : viscère, tronc», Tome I Edition Publibook Vol (1), 255 p.

- 188 Borgi W., Chouchane N., 2006. Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.). *Revue des Régions Arides* ,283-286.
- 189 Holdcroft, A. et Jaggar, S., 2005. «Core topics in pain», Cambridge University Press, 359p.
- 190 Stevens, A., Lowe, J.S . et Young, B., 2014. «Anatomie pathologique », Atlas de Wheater, 4ème Edition De Boeck, Bruxelles, 295p.
- 191 Anthony C., 2005. A review of *Zizyphus Spina-christi*. Technical (Ed) .3 p.
- 192 Basabose K., Bagalwa M., Cifundera K., 1997. “Anophelinocidal activity of volatile oil from *Tagetes minuta* L (Asteraceae)”, *Tropicultura*, 15 (1), 8-9.
- 192 Barnes, P.J., 1998. «Anti-inflammatory actions of Glucocorticoids : molecular mechanisms», *Clinical Science*, Vol 94, n°2, 557-572.
- 193 Ricciotti, E., Fitzgerald, G.A., 2011. «Prostaglandins and inflammation», *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology*, Vol : 31, n° 15, 986-1000.
- 194 Blandizzi, C., Tuccori, M., Colucci, R., Fornai, M., Antonioli, L., Ghisu, N., Del Tacca, M., 2009. «Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy», *Pharmacological Research*, Vol (59) 2; 90-100.
- 195 Gambaro, G., Perazella, M.A., 2003. «Adverse renal effects of anti-inflammatory agents: evaluation of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors», *Journal of Internal Medicine*, Vol 253, n°6, 643–652.
- 196 Khalil, N.M., Sperotto, J.S. et Manfron, M.P., 2006. «Antiinflammatory activity and acute toxicity of *viscosa*», *Fitoterapia*, Vol : 77, 478-480.
- 197 Ghasemian, M., Owlia, S. et Bagher Owlia, M., 2016. «Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines», *Advances in Pharmacological Sciences*, Vol : (1)11.

- 198 Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., Kohli, K., 2009. «Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review», *Inflammation & Allergy Drug Targets*, Vol 8 (3): 229-235.
- 199 Saibabu, V., Fatima, Z., Khan, L.A. et Hameed, S., 2015. «Therapeutic Potential of Dietary Phenolic Acids», *Advances in Pharmacological Sciences*, 1-10.
- 200 Grimaldi, A., 2011. L'éducation thérapeutique du patient diabétique , ou apprendre à gérer l'incertitude. doi:10.1016/S1957-2557(11)70332-7.
- 201 Touitou Elka., Biana Godin., Celeste Weiss., 2000. Enhanced delivery of drugs into and across the skin by ethosomal carriers. *Drug Development Research*. 50: 3-4.
- 202 Szkudelski, T., 2012. Streptozotocin – nicotinamide-induced diabetes in the rat. *Exp. Biol. Med.* 481–490. doi:10.1258/ebm.2012.011372.
- 203 Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50, 537–546. doi:10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x.
- 204 Ambriz-Pérez, D.L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, EP., BasilioHeredia, J., 2016. «Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review», *Cogent Food & Agriculture*, Vol 2, 1-14.
- 205 Pavlović, D.R., Lakušić, B., Došlov-Kokoruš, Z. Kovačević, N., 2009. Arbutin content and antioxidant activity of some Ericaceae species. *Pharmazie* 64, 656–659.
- 206 Pavlović, D.R., Branković, S., Kovačević, N., Kitić, D., Veljković, S., 2011. Comparative study of spasmolytic properties, antioxidant activity and phenolic content of arbutus from Montenegro and Greece. *Phyther. Res.* 25, 749–754. doi:10.1002/ptr.3460.
- 207 Robbins MJ., Sharp RA., Slonim AE., Burr IM., 1980. Protection against Streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase. *Diabetologia*. 18:55-58.
- 208 Chen, V., Ianuzzo David, C., 1982. Dosage effect of streptozotocin on rat tissue enzyme activities and glycogen concentration. *Introducf ion. Can. J. Physiol. Pharrnacol.* 60, 125 1-1236. 282Oyaizu M., (1986). Studies on products of

browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition*, 44:307-315.

281 Oroian M., Escriche I., (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*. 74: 10-36.

209 Subramanian R., Subbramaniyan P., Noorul Ameen J., Raj V., (2016). Double bypasses Soxhlet apparatus for extraction of piperine from *Piper nigrum*. *Arabian Journal of Chemistry*. 9: S537-S540.

210 Wolliner, A., Perrin, E., Chahboun, J., 2016. Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. , 19(6).

211 Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N. et Omar A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 117: 426-436.

212 Konkon N.G., Simaga D., Adjoungova A.L., N'Guessan K.E., Zirihi C.N., Koné B.D., (2006). Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 14: 73-80.

213 Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N., (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature and Technologie*. 09: 35-40.

214 Gourguillon L., Destandau E., Lobstein A., Lesellier E., 2016. Comparison of different ways to extract dicaffeoylquinic acids from a halophytic plant. *Chemical Research in Chemistry*. 19: 1133-1141.

215 Prommajak T., Surawang S., Rattanapanone N., (2014). Ultrasonic-assisted extraction of phenolic and antioxidative compounds from lizard tail (*Houttuynia cordata* Thunb.). *Songklanakarin J. Science Technology*. 36 (1): 65-72.

216 Houéhanou, D. T., Assogbadjo, A. E., Chadare, F. J., Zanvo, S., Sinsin, B. 2015. Approches méthodologiques synthétisées des études d'ethnobotaniques quantitatives en milieu tropical. *Annales des Sciences Agronomiques*, 19, 173-193.

- 217 Djemai Zoughlache S., Yahia M., Hambaba L., Abdeddaim M., Aberkan M C., Ayachi A., 2009. " Etude de l'activité biologique d' extraits du fruit du Zizyphus lotus L". TJMPNP, 2: 10-23.
- 218 AFNOR NF EN ISO 659.
- 219 Souleymane Abdoul-Azize., 2016. Potential Benefits of Jujube (Zizyphus Lotus L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. Hindawi Publishing Corporation Journal of Nutrition and Metabolism10: 2867470, 13 p
- 220 Bimakr, M., Abdul Rahman, R., Taip, F., Ganjloo, A., Salleh, Selamat, J.,Hamid, A. et Zaidu, I., 2011. «Comparaison of different extraction methods for theextraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint "Mentha spicata L.. Food and Bioproducts, Vol (89)1; 67-72.
- 221 Carrée, P., 1953. « Précis de technologie et de chimie industrielle », Edition Balliere, Paris, 475p.
- 222 Lister, E., Wilson, P., 2001. Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity. J Food Technol. 8, 131.
- 223 Akowauh G.A., Zhari I., Norgyati I., Sadikun A. and Khamsah S.M., 2004. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineu s and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food chemistry, 87: 559-566.
- 224 Julkunen- Tiitto, R., 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. J. Agric. Food Chem. 33, 213–217.
- 225 Schofield P., Mbugua D M., Pell A N., (2001). Analyses of condensed tannins: a review. Animal Food and Technology, 91:21-40.
- 226 Okusa P.N., Penge O., Devleeschouwer M., Duez P., 2007 – Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of Cordia gillettii de Wild (Boraginaceae). Journal of Ethnopharmacology, 112(3): 476-481.
- 227 Altiok, E., Baycin, D., Bayraktar, O., Ulku, S., 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (Olea europaea L.) by adsorption on silk fibroin. Sep. Purif. Technol., 62(2), 342-348.

- 228 Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C., Abdely, C., 2009. «Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents», *Food Chemical Toxicology*, Vol: 47: 2083- 2091.
- 229 Essawi T. And Srour M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol*, 70: 343-349.
- 230 Kumar, M., Agarwala, R., Deyb, K., Raib, V. et Johnsonc, B., 2009. «Antimicrobial Activity of Aqueous Extract of *Terminalia chebula* Retz. On Gram positive and Gram negative Microorganisms», *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, Vol: (1): 56-60.
- 231 Freney, J., Renaud, F., Hansen, W., Bollet., 2002. «Précis de bactériologieclinique », Edition ESKA, Paris, 565p.
- 232 Andrews, J.M., 2001. «Determination of minimum inhibitory concentrations», *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol 48, 5-16.
- 233 Caplan, A., Fett, N., Rosenbach, M., Werth, V.P., Micheletti, R.G., 2017. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: a comprehensive review: a review of glucocorticoid pharmacology and bone health. *Journal of the American Academy of Dermatology* 76, 1-9.
- 234 Mishra A.K. and Dubey N.K., 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. *Applied and Microbiology*, 60(4): 1101-1105.
- 235 Mohammedi Z. Et Atik F., 2012. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature and Technologie*, 6: 34-39.
- 236 Maruyama, N., ishibashi, H., hu, W., morofuji, S., Inouye, S., yamaguchi, H. et Abe, S., 2006. «Suppression of Carrageenan and Collagen II-Induced Inflammation in Mice by Geranium Oil» *Mediators of Inflammation*, Vol: 62537(3) 1-7.
- 237 Winter, C.A., Risley, E.Q., Nuss, G.W., 1962. «Carrageenan-induced edema in hindpaws of rat as an assay for anti-inflammatory drugs», *Progress Society Biological Medicine*, Vol (1)544-547.

- 238 Cheng, J., Ma, T., Liu, W., Wang, H., Jiang, J., Wei, Y., Tian, H., Zou, N., Zhu, Y., Shi, H., Cheng, X. et Wang, C., 2016. «In vivo evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of compound Muniziqi granule in experimental animal models», *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol 16, n° 20, 1-10.
- 239 Szkudelski, T., 2012. Streptozotocin – nicotinamide-induced diabetes in the rat . *Exp. Biol. Med.* 481–490. doi:10.1258/ebm.2012.011372.
- 240 Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50, 537–546. doi:10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x.
- 241 Audigie C., Figarella J ., Zonszaain F., 1978. Manipulation d'analyse biochimique .Doin (Ed). Paris, 274p.
- 242 Grosskinsky B et Gullick C. (2000). Exploring the potential of Indigenous Wild Food Plants in Southorn Sudan. USAID (Ed).Sudan. 111p.
- 243 Catoire C., Zwang H and Bouet C., 1994. Le jujubier ou le Zizyphus lotus. Fruits oubliés. Article n°1.
- 244 Abdeddaim, M.; Lombarkia O., Bacha, A.; Fahloul, D.; Abdeddaim, D.; Farhat, R.; Saadoudi, M.; Noui, Y.; Lekbir, A., 2014. Biochemical characterization and nutritional properties of Zizyphus lotus L.. fruits in aures region, northeastern of Algeria. *Food Sci Technology*, (15): 75-81.
- 245 Ghalem M., Merghache S., Belarb M., 2014. Study on the antioxidant activities of root extracts of Zizyphus lotus from the western region of Algeria. *Pharmacognosy Journal* , 6(4):32-42.
- 246 Murdock D-H. (2002).Encyclopaedia of food a guide healthy Nutrition. APA academic Press (Ed), San Diego.California.501 p.
- 247 Wang L., C. L. Weller., 2006. "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants." *Trends in Food Science & Technology* 17(6): 300-312.
- 248 Nasser, M., Housheh, S., Kourini, A., and Maala, N., 2014. «Chemical composition of essential oil from leaves and flowers of *Inula viscosa* (L.) Al-Qadmous region, Syria», *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol: 5(12) 5177-5182.

- 249 Stalikas D., (2007). Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. 30: 3268-3295.
- 250 Zhuang Y., Chen L., Sun L., Cao J., 2012. Bioactive characteristics and antioxidant activities of nine peppers. *J Funct Foods*. 4:331–338.
- 251 Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*. 47(10), 3954–3962.
- 252 Bicha, S.; Bentamene, A.; Benaissa, O.; Benayache, S.; Garcia, V.; Leon, F.; Brouard, I.; Bermejo, J.; Benayache, F., 2011. Flavonoid aglycones from *Centaurea maroccana*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 105.
- 253 Kim D.O., Chun O.K., Kim Y. J., Moon H.Y., et Lee C.Y., 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51(22): 6509-6515.
- 254 Dohou, N., Yamini, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N., 2003. « Screening Phytochimique » D'une Endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaea Lythroides*», *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux* , Vol : 142, 61-78.
- 255 Zadernowski R., Naczek M. et Nesterowicz J., 2005. Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 2118-2124.
- 256 Kochetova M V., E Semenovskaya E N., Larionov O G., Revina A A., 2007. Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques. *Russian Chemical Reviews*. 76(1):79 – 90
- 257 Wu J M., Hsieh T C., 2015. Resveratrol: a cardioprotective substance. *Ann. N.Y. Acad. Sci* .1215:16–21,
- 258 Fabri R.L., Nogueira M.S., Braga F.G., Coimbra E.S. and Scio E., 2009. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, 100: 428-433.

- 259 Li C., 2007. Studies on seasonal dynamics of phenolic compounds in poplar. Master degree thesis. Northeast Forestry University, Harbin, China.
- 260 Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., Robredo, S., Troszynska, A., Kosinska, A., Pegg, R., 2010. «Free radical scavenging capacity: antioxidant activity and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*) », *Food Chemistry*, Vol 121, 705-711.
- 261 Shahidi F., Naczek M., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food; *Journal of Chromatography A* 1054; Ed: ELSEVIER; p: 95-111.
- 262 Pratt D.E., Hudson B.J.F., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in Food Antioxidants; Ed: Elsevier Applied Science, London; p: 171–192.
- 263 Ladaniya M.; 2008; *Citrus Fruit: biology, technology and evaluation*; Ed 1: ACADEMIC PRESS, ELSEVIER; p: 157-165.
- 266 Uri N., 1961. Mechanism of antioxidation; Ed: Science Publishers, New York; p: 133-169.
- 264 Heijnen C.G.M., Haenen G.R.M.M., Vekemans J.A.J.M., Bast A., 2001. Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship; *Environ. Toxicol. Pharmacol* 10; p: 199-206.
- 265 Heim K. E., Tagliaferro A. R. and Bobilya D. J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572–584.
- 267 Pieri, F., Kirkiacharian, S., 1992. «Pharmacologie et Thérapeutique», 2eme Edition ellipse Marketing, Paris, p443.
- 268 Siddhuraju P., 2007. Antioxydant activity of polyphenolic compounds Extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat .*LWT*, 40: 982-990.
- 269 Sawadogo W.R., Meda A., Lamien C.E., Kiendrebeogo M., Guissou I.P. and Nacoulma O.G., 2006. Phenolic content and antioxidant activity of six acanthaceae from Burkina Faso. *J.Biol.Sci*, 6 (2); 249-252.

- 270 Damak N., Bouaziz M., Ayadi M., Sayadi S and Damak M ., 2008. Effect of the Maturation Process on the Phenolic Fractions, Fatty Acids, and Antioxidant Activity on the Chtoui Olive Fruit Cultivar. *J.Agric. Food Chem*, 56: 1560-1566.
- 271 Boulekbache-Makhlouf L., Medouni L., Medouni-Adrar S., Arkoub L. and Madani K., 2013 – Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *Industrial Crops and Products*, 49: 668-674.
- 272 Xue J., Davidson P.M., Zhong Q., 2013. Thymol nanoemulsified by whey peoteinemaltodextrin conjugates: the enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol. *J.Agric Food Chem*, 61: 12720.
- 273 Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., &Sticher, O. (1998). Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance. *Social Science & Medicine*, 47(11), 1859-1871.
- 274 Okuda T., (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66:2012-2031.
- 275 Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. and Wyllie S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170-175.
- 276 Mushatq S., Haider M.S., Ali A., Javed S., Khokhar I.and Mukhtar I., 2012. In vitro comparative screening of antibacterial and antifungal activities of some common weeds extracts. *Pak. J. Weed. []. Sci. Res.*, 18(1):15-25.
- 277 Javaid A., Afzal R., Shoaib A., 2020. Biological management of southern blight of chili by *Penicillium oxalicum* and leaves of *Eucalyptus citriodora*. *Int. J. Agric. Biol.*, 23: 93-102.
- 278 Fatope MO, Nuhu AM., Takeda Y., 1995. Cowpea weevil bioassay : a simple pre-screening for plant with grain protectant effects. *International Journal of Pest Management* 42(2):84-86.
- 279 Bouchelta A., Boughdad A., Blenzar A., 2005. Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoides extraits de *Capsicum frutescens* L., (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Hom : Aleyrodidae), *Biotechnology , Agronomy Society and Environment*, 9 :259-69.

- 280 Chaieb L., (2010) – Saponins as insecticides: A Review, *Tunisian Journal of Plant Protection*, 5: 39-50.
- 281 Vinegar R., Schreiber, W. et Hugo R., «Biphasic development of carrageenan edema in rats», *Journal of Pharmacology Experimental Therapy*, Vol 166, n°1, 1969, 95-103.
- 282 Taher, Y.A., Samud, A.M., El-Taher, F.E., ben-Hussin, G., Elmezogi, J.S., Al- Mehdawi, B.F. et Salem, H.A., 2015. «Experimental evaluation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of clove oil in mice», *Libyan Journal of Medicine*, Vol: 10 (10), 1-7.
- 283 Daisy P., Santosh K., Rajathi M., 2009. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Clitoria ternatea* Linn. in alloxan-induced diabetic rats. *African J. Microbiol. Res.* 3, 287–291.
- 284 Singh, S., Kaur, M., Singh, A. et Kumar, B., 2014. «Pharmacological evaluation of anti-inflammatory and anti-ulcer potential of heartwood of *Santalum Album* in rats», *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, Vol 1, n°4, 140- 153.
- 285 Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. and Wyllie S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170-175.
- 286 Francisco, V., Costa, G., Figueirinha, A., Marques, C., Pereira, P., Neves B.M., Lopes, M.C., García-Rodríguez, C., Cruza, M.T., Batista, M.T., 2013., «Antiinflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaves infusion via proteasome and nuclear factor-kB pathway inhibition: contribution of chlorogenic acid», *Journal of Ethnopharmacology*, Vol: 148, n° 1, 126-134.
- 287 Morikawa, K., Nonaka, M., Narahara, M., Torii, I., Kawaguchi, K., Yoshikawa, T., Kumazawa, Y., Morikawa, S., 2003. «Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats», *Life Sciences*, Vol 74, 709–721.
- 288 Yansambou H., 2002. Eude phytochimique et al. l'activité hypoglycémiante de *Ziziphus mauritaina* Lam. Rhamnaceae. Thèse de pharmacie, Bamako, 82.
- 289 Diniz, G., Coelho, P., Martins, V.S., Vieira, L., Novaes, R.D., Sarandy, M.M., Gonçalves, R.V., 2016. Applicability of Isolates and Fractions of Plant

Extracts in Murine Models in Type II Diabetes : A Systematic Review. hindawi Publ. Corp.

290 Helal, E.G.E., Abou-Aouf, N., Khattab, A.S.M., 2015. A Possible Hypoglycemic and Antioxidant Effect of Herbal Mixture Extraction in Diabetic Rats. Egypt. J. Hosp. Med. 58, 109–119.

291 Kumar S., Narwal S., Kumar V., Prakash V. Pharmacognosy reviews, 2011. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes 5(9): 19–29.

292 Kim, Y., Keogh, J.B., Clifton, P.M., 2016. Polyphenols and Glycemic Control. Nutrients 2471. Doi: 10.3390/ 8010017

293 Casdali, S., Carfoa, A., Floronentino, A., 2009. Inhibition of net nitrification activity in Mediterranean woodland: Possible role of chemicals produced by *Arbutus*. Plant and Soil 315(1):273-283.

294 Yilmazer-Musa, M., Griffith, A.M., Michels, A.J., Schneider, E., Frei, B., 2015. Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase Activity by Tea and Grape Seed Extracts and their Constituent Catechins. J. Agric. food chemistry 60, 8924–8929.

295 Abdul Qadir M., Shahzadi S.K., Bashir A., Munir A., Shahzad S., 2017. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. Int. J. Anal. Chem.:6p.

ANNEXES

Annexe 1

Questionnaire

<p>Date.....</p> <p>.....</p>
<p>Région.....</p> <p>.....</p>
<p>Commune.....</p> <p>.....</p>
<p>Auteur.....</p> <p>.....</p>
<p>Numéro de relevé.....</p>

Informateur

1. Identification

N° :.....
Prénom :.....
Sexe : Masculin <input type="checkbox"/> Féminin <input type="checkbox"/>
Age : <30 <input type="checkbox"/>] 30-50] <input type="checkbox"/>] 50-70] <input type="checkbox"/>] 70-90] <input type="checkbox"/>
Scolarisation : Non scolarisé <input type="checkbox"/> Primaire <input type="checkbox"/> Secondaire <input type="checkbox"/> universitaire <input type="checkbox"/>
Source de l'information : Héritage familial exclusif <input type="checkbox"/> Révélation divine <input type="checkbox"/>
Initiation traditionnelle <input type="checkbox"/> Autres <input type="checkbox"/>

2. Information sur les plantes médicinales

Connaissez- vous le jujubier (Sedr) ?

Oui Non

Si oui, comment l'utilisés ?

.....

la plante	la partie utilisée	Mode d'utilisation

Dose utilisée : **Pincée** **poignée** **Cuillerée**

• **Dose précise : Quantité en g / verre**

Quantité en g/ litre

Autres.....

Mode d'administration : **Oral** **Massage** **Rinçage**

Badigeonnage **Autres**

Annexe2

Composition des solutions et milieux de culture utilisés

Eau physiologique stérile (composition en g/l)

- Chlorure de sodium (NaCl).....9g.
- Eau distillée.....1000ml.
- PH= 7
- Stérilisation à 120°C pendant 20mn.

Composition de la gélose MH (Condapanadise,Spain) composition en g/l

- Extrait de viande.....3,0g
- Amidon.....1,5g
- Hydrolysa acide de caséine.....17,5g
- Agar.....18g
- PH= 7,4.

Bouillon Nutritif (Fluka, Biochemika) composition en g/l.

- Peptone.....10,0g
- Extrait de viande10,0g
- Chlorure de Sodium.....5,0g
- Eau distillée.....1000ml
- PH= 7,3.
- Stérilisation à 120°C pendant 20mn.

Tampon phosphate (PBS) composition en g/l.

- NaCl.....8g.
- KCl.....0,2g
- Na₂HPO₄.....1,44g.
- KH₂PO₄.....0,24g.
- PH= 7,5.

ANNEXE 3

MATERIEL NON BIOLOGIQUE

VERRERIES	APPAREILS	REACTIFS
Flacons	Balance analytique	NaCl
Ballon	Broyeur	NaOH (0.1M)
Entonnoir	Bain –Marie	MgSo ₄
Flacons teintés	Autoclave	Méthanol
Burette	Vortex	Acétate d'éthyle
Buchers	Etuve	Chloroforme
Erlen Meyer	Chauffe Ballon	H ₂ O ₂
Tubes à essai	Thermomètre	DMSO
Tubes à hémolyse	Spectrophotomètre (UV-visible)	Vitamine C
Pipette Pasteur	Agitateur	BHT
Pipette graduée	Rotavapeur sous vide	β-carotène
Boite de Pétri	Centrifugeuse	Tampon phosphate
Seringue	HPLC	DPPH
seringues à insuline	Lyophilisateur	éthanol,
	une balance	coton,
	un thermomètre électronique	
	un chronomètre	
	un glucomètre de type "ASCENSIA ELLITETM" avec ses bandelettes	

ANNEXE 4

ETUDE STATISTIQUES

Corrélations^a

		P.phenol	Tanin	Flavonoïdes	Saponine	IC50DPPH	IC50FRAP
P.phenol	Corrélation de Pearson	1.00	0.00	0.66	0.00	-0.99	-0.61
	Sig. (bilatérale)		1.00	0.54	1.00	0.08	0.58
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Tanin	Corrélation de Pearson	0.00	1.00	0.76	-1.000**	-0.12	0.79
	Sig. (bilatérale)	1.00		0.45	0.00	0.92	0.42
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Flavonoïdes	Corrélation de Pearson	0.66	0.76	1.00	-0.76	-0.74	0.19
	Sig. (bilatérale)	0.54	0.45		0.45	0.47	0.88
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Saponine	Corrélation de Pearson	0.00	-1.000**	-0.76	1.00	0.12	-0.79
	Sig. (bilatérale)	1.00	0.00	0.45		0.92	0.42
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
IC50DPPH	Corrélation de Pearson	-0.99	-0.12	-0.74	0.12	1.00	0.52
	Sig. (bilatérale)	0.08	0.92	0.47	0.92		0.65
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
IC50FRAP	Corrélation de Pearson	-0.61	0.79	0.19	-0.79	0.52	1.00
	Sig. (bilatérale)	0.58	0.42	0.88	0.42	0.65	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00

** . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

Corrélations ^a							
		P.phenol	Tanin	Flavonoïdes	Saponine	IC50DPPH	IC50FRAP
P.phenol	Corrélation de Pearson	1.00	0.94	0.19	0.65	0.65	0.81
	Sig. (bilatérale)		0.21	0.88	0.55	0.55	0.40
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Tanin	Corrélation de Pearson	0.94	1.00	0.50	0.87	0.87	0.57
	Sig. (bilatérale)	0.21		0.67	0.33	0.33	0.61
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Flavonoïdes	Corrélation de Pearson	0.19	0.50	1.00	0.87	0.87	-0.42
	Sig. (bilatérale)	0.88	0.67		0.33	0.33	0.72
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Saponine	Corrélation de Pearson	0.65	0.87	0.87	1.00	1.00**	0.09
	Sig. (bilatérale)	0.55	0.33	0.33		0.00	0.94
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
IC50DPPH	Corrélation de Pearson	0.65	0.87	0.87	1.00**	1.00	0.09
	Sig. (bilatérale)	0.55	0.33	0.33	0.00		0.94
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
IC50FRAP	Corrélation de Pearson	0.81	0.57	-0.42	0.09	0.09	1.00
	Sig. (bilatérale)	0.40	0.61	0.72	0.94	0.94	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00

** . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

		Corrélations ^a					
		P.phenol	Tanin	Flavonoïdes	Saponine	IC50DPPH	IC50FRAP
P.phenol	Corrélation de Pearson	1.00	-0.87	0.65	0.87	-0.57	-0.99
	Sig. (bilatérale)		0.33	0.55	0.33	0.61	0.09
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Tanin	Corrélation de Pearson	-0.87	1.00	-0.19	-1.000**	0.09	0.93
	Sig. (bilatérale)	0.33		0.88	0.00	0.94	0.24
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Flavonoïdes	Corrélation de Pearson	0.65	-0.19	1.00	0.19	-0.99	-0.54
	Sig. (bilatérale)	0.55	0.88		0.88	0.07	0.64
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Saponine	Corrélation de Pearson	0.87	-1.000**	0.19	1.00	-0.09	-0.93
	Sig. (bilatérale)	0.33	0.00	0.88		0.94	0.24
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
IC50DPPH	Corrélation de Pearson	-0.57	0.09	-0.99	-0.09	1.00	0.45
	Sig. (bilatérale)	0.61	0.94	0.07	0.94		0.70
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
IC50FRAP	Corrélation de Pearson	-0.99	0.93	-0.54	-0.93	0.45	1.00
	Sig. (bilatérale)	0.09	0.24	0.64	0.24	0.70	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00

** . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

Annexe 5

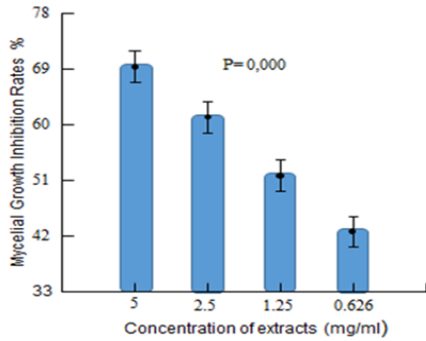


Figure 1a

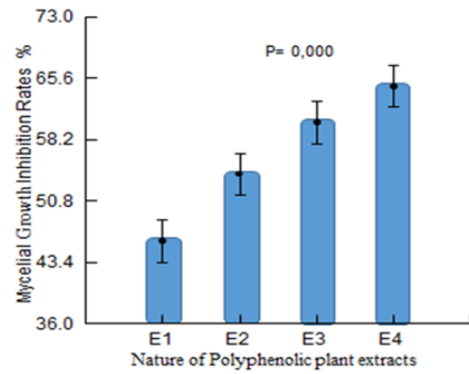


Figure 1b

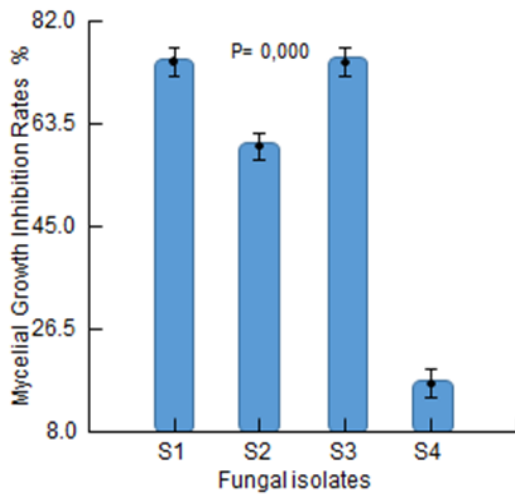


Figure 1c

Fungal isolates	
-S1 :	<i>Fusarium avenaceum</i>
-S2 :	<i>Fusarium culmorum</i>
-S3 :	<i>Alternaria</i> sp.
-S4 :	<i>Aspergillus niger</i>
Nature of Polyphenolic plant extracts	
-E1:	Aqueous or sterile distilled water
-E2:	Methanolic extract
-E3:	Chloroformic extract
-E4:	Ethyl acetate extract