

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI Laghouat

Faculté des sciences

Département de Biologie

جامعة عمار تليجي - الأغواط

كلية العلوم

قسم البيولوجيا



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème

***ETUDES PHYTOCHIMIQUES DU  
ZIZYPHUS LOTUS L***

Présenté par : Melle BEN ATMANI Wahiba

Devant le jury :

Melle BEN HACINE Djouhar

Mme HADJ AISSA Fatima. Z

Promotrice

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Mme NEBEG Halima

Présidente

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Melle ZAKHROUF Zohra

Examineur

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Année Universitaire 2019 - 2020.

Soutenu publiquement le : 20/09/2020

## Résumé

La comparaison de la composition en polyphénols des extraits de différentes parties de *Zizyphus lotus* récoltés de différentes régions et leurs activités antioxydantes fait l'objectif de ce travail. Le rendement des extraits méthanoliques sont plus importante que les extraits éthanoliques, contenant ainsi des proportions variables de flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et saponines. Les teneurs en phénols et flavonoïdes sont plus élevées dans les extraits éthanoliques ( $34,72 \pm 0,004$  mg EAG /g MS) et ( $26,66 \pm 0,07$  mg EAG/g MS) que méthanoliques ( $33,74 \pm 0,022$  mg EAG/g MS) et ( $11,94 \pm 0,01$  mg EAG/g MS) respectivement, avec une variation remarquable entre les différentes parties de la plante étudié et les régions de récolte. Le test de DPPH a montré des activités antioxydantes différentes entre les extraits éthanoliques et méthanoliques avec des  $IC_{50}$  ( $0,062$  à  $0,614$  mg/ml) et ( $0,683$  à  $1,760$  mg/ml) respectivement, une remarque qui a été aussi enregistrée dans le test de FRAP avec des  $IC_{50}$  ( $0,151$  à  $1,500$  mg/ml et  $0,200$  à  $3,500$  mg/ml) pour les deux extraits EtOH et MeOH respectivement.

**Mots-clés :** *Zizyphus lotus*, extrait éthanolique, extrait méthanolique, activité antioxydante, DPPH, FRAP.

## Abstract

The comparison of the polyphenol composition of extracts of different parts of *Zizyphus lotus* harvested from different regions and their antioxidant activities is the objective of this work. The yield of the methanolic extracts are greater than the ethanolic extract, thus containing variable proportions of flavonoids, alkaloids, tannins and saponins. The levels of phenols and flavonoids are higher in ethanolic extracts ( $34,72 \pm 0,004$  mg EAG / g MS) and ( $26,66 \pm 0,07$  mg EAG / g MS) than in methanolic extracts ( $33,74 \pm 0,022$  mg EAG / g MS) and ( $11,94 \pm 0,01$  mg EAG / g MS) respectively, with remarkable variation between the different parts of the plant studied and harvest regions. The DPPH test showed different antioxidant activities between the ethanolic and methanolic extract with  $IC_{50}$  ( $0,062$  and  $0,614$  mg / ml) ( $0,683$  and  $1,760$  mg / ml) respectively, a remark which was also recorded in the FRAP test with  $IC_{50}$  ( $0,151$ -  $1,500$  mg / ml and  $0,200$ -  $3,500$  mg / ml) for the two extracts EtOH and MeOH respectively.

**Keywords:** *Zizyphus lotus*, ethanolic extract, methanolic extract, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

## الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة مقارنة في تركيبة البوليفينول لأجزاء مختلفة من نبات السدر المحصول من مناطق مختلفة وأنشطتها المضادة للأكسدة كانت المرادوية الإنتاجية في مستخلصات الميثانول أكبر من مستخلصات الإيثانول، وبالتالي تحتوي على نسب متغيرة من مركبات الفلافونيدات والقلويات والتانينات والصابونين. نتائج التقدير الكمي للفينولات الكلية والفلافونيدات أعلى في المستخلصات الإيثانولية ( $34,72 \pm 0,004$  ملغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المسحوق الجاف) و ( $26,66 \pm 0,07$  ملغ مكافئ للكيرسيتين/غ من المسحوق الجاف) عنها في الميثانول ( $33,74 \pm 0,022$  ملغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المسحوق الجاف) و ( $11,94 \pm 0,01$  ملغ مكافئ للكيرسيتين/غ من المسحوق الجاف) على التوالي مع اختلاف ملحوظ بين الأجزاء المختلفة من النبات المدروس ومناطق الحصاد. أظهر اختبار أنشطة مختلفة مضادة للأكسدة (DPPH) بين المستخلصات الإيثانولية والميثانولية أن  $IC_{50}$  ( $0,062$  و  $0,614$  ملغ/مل) ( $0,683$  –  $1,760$  ملغ/مل) وهي ملاحظة تم تسجيلها أيضا في اختبار (FRAP) ( $0,151$  -  $1,500$  و  $0,200$  إلى  $3,500$  ملغ/مل) للمستخلصين على التوالي.

**الكلمات المفتاحية:** مستخلصات الميثانول، مستخلصات الإيثانول، نشاط مضاد للأكسدة، المرادوية الإنتاجية، DPPH, FRAP

# **Dédicace**

## **Je dédie ce travail**

### **À mes chers parents**

**A Mon Cher Père Bouzid :** Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitte jamais assez. Cher père je me rappelle toujours de tous les moments où tu m'as poussé à travailler et à réussir, j'avoue que si je suis devenue quelque chose actuellement c'est grâce à tes efforts à tes conseils et à ta surveillance. Merci et j'espère que vous trouvez dans ce travail l'expression de ma gratitude et mon respect.*

**A Ma Chère mère Salmi Mansoura :** Ma très chère mère : j'aimerai toujours te remercier pour tous ce que tu as fait jusqu'à notre jours-là pour assurer l'éducation et la formation de tous tes enfant .Je me rappelle vraiment de tous tes efforts avec moi dès mon jeune âge, chère mère j'avoue vraiment que tu été pour moi la lumière qui me guide mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite, c'est grâce à toi que je dois toute ma réussite. J'espère que mon travail sera le témoignage de ma gratitude et mon respect le plus profond.

### **À mes chers et adorables frères et sœurs :**

Amine, Fatima et son fils Aymen, Abdbast, Ilyass, et Yasmine.

### **À mon fiancé Fateh :**

Ton amour ne m'a procuré que confiance et stabilité. Tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes côtés, Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu. Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect.

*A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir : Djouhar ; Keltoum ; Soumia ; Sara ; Zineb ; Zahra.....*



**WAHIBA....**

**2020**

# ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Ma très chère et douce mère Freiha, mon très cher père Belgacem*

*(رحمه الله وأسكنه فسيح جنات) pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué ; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfant.*

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

*Pour mes chers frères :*

*Abdelkader et Tayeb et Mostafa*

*Pour ma chère sœur :*

*Adhiba et Houria*

*Et A mon binôme Wahiba*

*Et Pour mes chers amis :*

*Rachida, Soumia, Farida, Zahra, Zaineb, Bochra*

*A toute la promotion des 2ème années master Biochimie : 2019/2020.*



***DJOUHAR...***

# Remerciement

*Nos remerciements profonds et indescriptibles d'abord et avant tout à Dieu Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force, la santé et le courage de pouvoir accomplir cette humble œuvre.*

*Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de biologie de l'université Amar Telidji - Laghouat - sous la direction de M<sup>me</sup> Hadj Aissa Fatima.*

*Nous remercions tout particulièrement l'encadreur Mme Hadj Aissa Fatima. Pour son acceptation de nous encadrement, de la direction, de la confiance qu'elle nous a accordée et de son suivi régulier du développement et des conseils qu'elle nous a prodigués tout au long de ce travail.*

*Sans oublier tous nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de nos études universitaires. Vous et vous serez pour nous un exemple de rigueur et d'intégrité dans l'exercice de la profession.*

*Nous exprimons toute notre reconnaissance envers les membres du jury, qu'il nous soit ainsi permis de vous remercier très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail et d'avoir consacré une partie de votre temps précieux à l'examen de ce mémoire.*

*Nous n'oublions pas de remercier sincèrement le M, Tahri Djailali, nous ne saurions assez le remercier pour son soutien, ses conseils avisés et son aide précieuse, merci beaucoup.*

*Merci à tous ceux qui nous ont aidés de quelque manière que ce soit dans notre travail.*

*Nous souhaitons aussi saluer et remercier nos collègues étudiant(es), avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant ces cinq années.*

*Enfin, on remercie toute l'équipe administrative et enseignante du département de biologie de l'université Amar Telidji.*

*Merci à tous*

# Table de Matière

*Résumé*

*Dédicace*

*Remerciement*

*Liste de Tableaux*

*Liste de Figure*

*Liste des abréviations*

|                                                                      |          |
|----------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Introduction.....</b>                                             | <b>2</b> |
| <b>Chapitre I : Synthèse bibliographique.....</b>                    | <b>4</b> |
| 1. Description botanique du <i>Ziziphus lotus</i> L.....             | 5        |
| 1.1. Nomenclature du <i>Z. lotus</i> .....                           | 5        |
| 1.2 Classification botanique.....                                    | 6        |
| 1.3 Répartition géographique.....                                    | 6        |
| 1.4 Composition biochimique.....                                     | 7        |
| 1.5 Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Z. lotus</i> ..... | 8        |
| 1.5.1 Activités antioxydante et anti-inflammatoire.....              | 8        |
| 1.5.2 Activités antimicrobiennes.....                                | 9        |
| 1.5.3 Activités antiulcérogènes.....                                 | 9        |
| 1.6 Les plantes médicinales.....                                     | 9        |
| 1.6.1 Les principes actifs.....                                      | 9        |
| 1.6.2 L'usage traditionnel du <i>Z. lotus</i> .....                  | 10       |
| 2. Le stress oxydant.....                                            | 11       |
| 2.1. Stress oxydant et pathologies humaines.....                     | 11       |
| 2.1.1 Les Radicaux libres.....                                       | 12       |
| 2.1.2 Origine des radicaux libres.....                               | 12       |
| 2.1.3 Rôles biologiques des radicaux libres.....                     | 13       |
| 3.2 Les conséquence biologiques du stress oxydant.....               | 13       |
| 3. Les métabolites secondaires.....                                  | 14       |
| 3.1 Classification des métabolites secondaires.....                  | 14       |
| 3.2.a Structure chimique.....                                        | 14       |

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.b Biosynthèse des polyphénols.....                                          | 15        |
| 3.2.c Classification des polyphénols.....                                       | 15        |
| <b>Chapitre II : Matérielles et méthodes.....</b>                               | <b>18</b> |
| Objectif.....                                                                   | 19        |
| 1. Matériel végétal.....                                                        | 19        |
| 1.1 Choix de la plante .....                                                    | 19        |
| 1.2. Collecte du matériel végétal .....                                         | 19        |
| 1.3. Séchage du matériel végétal .....                                          | 20        |
| 2. La méthode d'extraction.....                                                 | 20        |
| 2.1 Préparation des extraits.....                                               | 20        |
| 2.2. Méthode d'extraction des polyphénols.....                                  | 20        |
| 2.2.a Macération.....                                                           | 20        |
| 2.2.b Dépigmentation.....                                                       | 20        |
| 2.3 Extraction liquide-liquide.....                                             | 20        |
| 3. Calcul le rendement des extraits.....                                        | 21        |
| 4. Tests phytochimiques.....                                                    | 21        |
| 4.1 Test des alcaloïdes.....                                                    | 21        |
| 4.2 Test des Saponines.....                                                     | 21        |
| 4.3 Test des phénols.....                                                       | 22        |
| 4.4 Test des tanins.....                                                        | 22        |
| 4.5 Test des flavonoïdes .....                                                  | 22        |
| 5. Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques.....                    | 22        |
| 5.1 Dosage des phénols totaux.....                                              | 22        |
| 5.2 Dosage des flavonoïdes.....                                                 | 23        |
| 6. L'études de l'Activités antioxydantes (in-vitro).....                        | 24        |
| 6.1 Evaluation de l'activité antioxydant par Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)..... | 24        |
| a. La préparation du DPPH.....                                                  | 25        |
| b. Préparation de l'extrait.....                                                | 25        |
| 6.2 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP.....           | 26        |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Chapitre III : Résultats et discussion</b> .....                                               | 28 |
| 1. Rendements des extraits bruts.....                                                             | 29 |
| 1.1 Comparaison des taux de R% entre les extraits MOH et EOH.....                                 | 30 |
| 1.2 Comparaison des taux de R% entre chaque région et extrait.....                                | 31 |
| 2. Criblage phytochimique.....                                                                    | 32 |
| 3. Teneur en phénols totaux et flavonoïdes dans les extraits obtenus.....                         | 35 |
| 3.1 Dosage des phénols totaux.....                                                                | 35 |
| 3.1.1 Comparaison entre les régions étudiées et les solvants d'extraction utilisés.....           | 36 |
| 3.2 Dosage des flavonoïdes.....                                                                   | 38 |
| 3.3 L'estimation relative de la quantité des flavonoïdes et phénols totaux dans les extraits..... | 41 |
| 3.4 Conclusion.....                                                                               | 43 |
| 4. Activité antioxydante.....                                                                     | 46 |
| 4.1 Evaluation de l'activité antioxydante par le diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH).....             | 46 |
| 4.1.1 Détermination des valeurs IC <sub>50</sub> .....                                            | 47 |
| 4.2 Pouvoir réducteur FRAP.....                                                                   | 51 |
| <b>Conclusion</b> .....                                                                           | 55 |
| <b>Références Bibliographiques</b> .....                                                          | 59 |
| <b>Annexe</b> .....                                                                               | 65 |

## Liste de tableau

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1 :</b> Classification botanique du <i>Z. Lotus</i> .....                                                                                                 | 6  |
| <b>Tableau 2:</b> Pourcentage des compositions primaires du <i>Z. lotus</i> .....                                                                                    | 7  |
| <b>Tableau 3:</b> Composition chimique de différents organes végétaux du <i>Z. lotus</i> .....                                                                       | 8  |
| <b>Tableau 4:</b> caractérisation des extraits étudiés.....                                                                                                          | 29 |
| <b>Tableau 5:</b> Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans les extraits MeOH de <i>Zizyphus Lotus L</i> ..... | 33 |
| <b>Tableau 6:</b> Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans les extraits EtOH de <i>Zizyphus Lotus L</i> ..... | 33 |
| <b>Tableau 7:</b> Les teneurs en phénols totaux dans extraits MeOH et EtOH des différentes parties de <i>Zizyphus Lotus L</i> .....                                  | 36 |
| <b>Tableau 8:</b> Les teneurs en flavonoïdes, des extraits purs MeOH et EtOH des différentes parties du plantes étudiées.....                                        | 39 |
| <b>Tableau 9:</b> L'estimation relative de la quantité des flavonoïdes et phénols totaux dans les extraits.....                                                      | 42 |
| <b>Tableau 10:</b> Les résultats des $IC_{50}$ de test DPPH pour les extraits MeOH.....                                                                              | 48 |
| <b>Tableau 11:</b> Les résultats des $IC_{50}$ de test DPPH pour les extraits EtOH.....                                                                              | 48 |
| <b>Tableau 12:</b> Les résultats des $IC_{50}$ de test FRAP pour tous les extraits.....                                                                              | 52 |

## Listes de figures

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1:</b> Photo des plantes du <i>Z.lotus</i> .....                                                                             | 5  |
| <b>Figure 2:</b> Schématisation de la balance entre les espèces réactives d'oxygène et les antioxydants.....                           | 11 |
| <b>Figure 3:</b> Origine des radicaux libres .....                                                                                     | 13 |
| <b>Figure 4:</b> Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols .....                                                         | 15 |
| <b>Figure 5:</b> Structure de base des flavonoïdes .....                                                                               | 16 |
| <b>Figure 6:</b> Structure des lignanes .....                                                                                          | 17 |
| <b>Figure 7:</b> Structure d'un stilbène .....                                                                                         | 17 |
| <b>Figure 8:</b> Le squelette de base des coumarines .....                                                                             | 18 |
| <b>Figure 9:</b> Carte géographique montre la région de récolte des deux plantes étudiées.....                                         | 19 |
| <b>Figure 10:</b> piégeage du radical libre DPPH*.....                                                                                 | 25 |
| <b>Figure 11:</b> Réduction du fer ferrique en fer ferreux par un antioxydant (AH).....                                                | 26 |
| <b>Figure 12:</b> Comparaison des R% entre les extraits MeOH et EtOH.....                                                              | 30 |
| <b>Figure 13:</b> Comparaison des R% entre les extraits MeOH.....                                                                      | 31 |
| <b>Figure 14:</b> Comparaison des R% entre les extraits EtOH.....                                                                      | 31 |
| <b>Figure 15:</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....                                                                            | 35 |
| <b>Figure 16:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....                                                                            | 38 |
| <b>Figure 17 ; 18 ;19 ;20 ;21 ;22 ;23 ;24:</b> La teneur des phénols totaux par rapport aux flavonoïdes des extraits MeOH et EtOH..... | 44 |
| <b>Figure 25:</b> Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.....                         | 47 |
| <b>Figure 26:</b> Comparaison des $IC_{50}$ entre les extraits MeOH et EtOH.....                                                       | 49 |
| <b>Figure 27 :</b> Evolution de la densité optique en fonction de concentration des extraits MeO..                                     | 51 |
| <b>Figure 28:</b> Evolution de la densité optique en fonction de concentration des extraits EtOH.                                      | 52 |
| <b>Figure 29:</b> Comparaison des $IC_{50}$ entre les extraits MeOH et EtOH.....                                                       | 53 |

## Listes des abréviations

**%** : *Pourcentage*

**°C** : *Degré Celsius*

**µl** : *Microlitre*

**µm** : *Micromètre*

**Abs**: *Absorbance*

**Ac** : *Acide*

**AlCl<sub>3</sub>** : *Chlorure d'aluminium*

**AQ** : *Extrait Aqueuse*

**DO** : *Donsité Optique*

**DPPH** : *Diphenylpicrylhydrazyl*

**ERO** : *Espèces Réactives d'Oxygène*

**EtOH** : *Extrait éthanolique*

**Fe** : *Feuilles*

**Fe<sup>+3</sup>** : *Fer Ferrique*

**FeCl<sub>3</sub>**: *Chlorure de fer*

**FRAP** : *Ferric Reducting Antioxidant Power*

**g** : *Gramme*

**GSS**: *Gultat Sidi Saad*

**HCl** : *Chlorure d'hydrogène*

**I%** : *Inhibition (Pourcentage)*

**IC<sub>50</sub>**: *Concentration Inhibitrice à 50%*

**LDL** : *low density lipoprotein*

**MeOH** : *Extrait Méthanolique*

**mg** : *Mlligramme*

**mg EAG/g MS**: *mg équivalent à l'cide gallique par un g de la matière sèche*

**mg/g** : *milligramme par gramme*

**mg/ml**: *Milligramme par millilètre*

**min** : *Minutes*

**ml** : *Milliliter*

**Na<sub>2</sub>Co<sub>3</sub>**: *Carbonate de sodium*

**NADPH** : *Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate*

**nm** : *Nanomètre*

**NO-synthase** : *Oxyde nitrique synthase*

**O<sub>2</sub>** : *Oxygène*

**OH** : *Groupement Hydroxyle*

**OTF** : *Oligomère Flavonoidique Totaux*

**P450** : *Cytochrome P450*

**PH** : *Potentiel hydrogène*

**PM** : *Pois Moléculaires*

**PP** : *Polyphénols*

**R%** : *Rendement,*

**R** : *Racine*

**RF-C** : *Réactif de Folin-Ciocalteu*

**RL** : *Radical Libre*

**SM** : *Métabolites Secondaires*

**T** : *Tige*

**Tad** : *Tadjmout*

**TCs** : *Tannins Condensés*

**THs** : *Tannins Hydrolysables*

**TPTZ** : *2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine*

**UV** : *Ultra-violet*

**Z. lotus** : *Zizuphus Lotus L*

# ***Introduction***

De tous temps, l'Homme a entretenu des relations étroites avec les plantes qui l'entouraient. Ces plantes ont été utilisées à des fins diverses. Au début l'Homme s'en servait pour se nourrir. Au fil des temps ses connaissances s'élargissant, il leur trouva d'autres utilités telles que matériaux aux usages multiples (poison de pêche ou chasse, lit, stimulant...) et comme médicaments, afin de soigner diverses maladies (**Moctar, et al., 2020**).

De nos jours, les vertus thérapeutiques des plantes présentent un regain d'intérêt grâce à l'amélioration des techniques extractives et aux progrès des méthodes d'analyses structurales pour la découverte de nouveaux principes actifs. On estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle obtenus par héli synthèse ou par modification d'un produit naturel.

Les plantes constituent une source immense de molécules chimiques complexes (métabolites secondaires), largement exploités dans les industries cosmétologiques, agroalimentaires et pharmaceutiques. Parmi ces métabolites, on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols. Ces derniers sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles : leur actions antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobienne (**Saffidine K. , 2015**).

***Ziziphus lotus* L** étant l'un des Plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle. En Outre, elle présente un grand intérêt sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal. Ses activités anti-inflammatoire, analgésique, antifongique et antidiabétique ont été largement soulignées (**Abu-Zarga et al.,1995 ; Abdel-Zaher et al.,2005 ; Suksamrarn et al.,2005**).

En raison de valoriser les potentialités, que culminent les extraits de cette plante, que nous avons menés ce travail, en vue de mettre en évidence leur composition chimique et leur pouvoir antioxydant. D'où nous avons cherché à évaluer l'activité antiradicalaires des extraits éthanoliques et méthanoliques de trois parties de *Ziziphus lotus*.

Ce mémoire est subdivisé en deux grandes parties principales :

Une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques sur les plantes médicinales, les métabolites secondaires et les activités biologiques.

La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur le matériel et méthodes de travail ; et la deuxième regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis par une discussion. Une conclusion générale résume l'ensemble des résultats issus de cette étude et présente les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir.

***Chapitre I :***

***Synthèse***

***bibliographique***

## 1. Description botanique du *Ziziphus lotus* L

Le *Ziziphus lotus* (jujubier) est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnacées. Communément appelé en Afrique du Nord "Sedra". Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres pouvant atteindre 2 m de haut.

Ses feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Chaque feuille porte à sa base deux stipules transformées en épine inégale et vulnérable. Les fleurs sont jaunes, pentamères et groupées en inflorescence cymeuses. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux appelé "Nbeg" (Figure 1) (Djemai Zoughlache, 2009).



Figure 1 : Photo des plantes de *Z. lotus*.

### 1.1. Nomenclature du *Z. lotus*

- **Nom accepté :** *Ziziphus lotus* Lam.
- **Taxons intraspécifiques :** *Z. lotus* ssp. *Lotus*, *Z. lotus* ssp. *Saharae*
- **Noms vernaculaires**

**Français :** Jujubier sauvage, Jujubier des Lotophages, Jujubier, Dindonnier.

**Arabe :** Sedra, Djerdjer, Azar, N'beg.

## 1.2 Classification botanique

La classification scientifique du *Ziziphus lotus* L selon de nombreux chercheurs, Il est classé comme indiqué dans le tableau suivant.

**Tableau 1 : Classification botanique de *Z. Lotus* (Amari & Gourissi, juin 2017 )**

| Règne    | Embranchement  | Sous<br>embranchement | Sous classe  | Ordre      | Famille    | Genre           | Espèce                             |
|----------|----------------|-----------------------|--------------|------------|------------|-----------------|------------------------------------|
| Végétale | Spermatophytes | Angiospermes          | Dicotylédone | Celastrale | Rhamnacées | <i>Ziziphus</i> | <i>Ziziphus<br/>lotus<br/>Lam.</i> |

## 1.3 Répartition géographique

### 1.3.1 Dans le monde

Les Rhamnacées sont présentes dans le monde entier, mais plus particulièrement dans la région tropicale et subtropicale. Elles sont très anciennes. Cette famille est constituée des arbres, arbustes, souvent épineux, et les feuilles possèdent des stipules, parfois épineuses, ces feuilles sont alternes ou plus rarement opposées ou palmées, a réseau tertiaire souvent grillage et en relief.

Distinguer les arbustes du *Z. lotus* des plantes voisines dans les images de télédétection de différentes régions est complexe pour les non-experts et pour les méthodes de classification automatique, car les plantes environnantes et le fond du sol diffèrent fortement (Emilio Guirado, et al., 2017).

Le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales de deux hémisphères. Alors, l'espèce ***Z. lotus*** est spontanée dans le sud d'Espagne et du Portugal, en Sicile, en Grèce, et aussi dans les steppes désertiques d'Afrique du nord (Hamdad, 2017).

### 1.3.2 En Algérie

Le *Z. lotus* est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-Constantinois. Il est très répandu dans les régions arides d'Algérie du sud, Ain Oussara et Maessad (wilaya de Djelfa) au climat aride et à Taghit de la wilaya de Bechar au climat saharien (**Hamdad, 2017**).

## 1.4 Composition biochimique

Les études phytochimiques menées sur le *Ziziphus lotus* montrent la présence des métabolites primaires et secondaires (**Hamza & Meziani, 2015**). Les tableaux 2 et 3 représentent les différentes compositions en métabolites primaires et secondaires.

### 1.4.1 Métabolites primaires

Tableau 2 : Pourcentage des compositions primaires du *Z. lotus* (Hamza & Meziani, 2015)

| Métabolites  | Protéines | Carbohydrates | Lipides | Sucres |
|--------------|-----------|---------------|---------|--------|
| Primaire     |           |               |         |        |
| Pourcentage% | 19.11%    | 40.87%        | 32.92%  | 20%    |

### 1.4.2 Métabolites secondaires

Le *Z. lotus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides. (Hamza & Meziani, 2015). Le fruit et la pulpe de *Z. lotus* contenaient des teneurs en vitamine A et en C supérieures à celles des autres parties de la plante et les feuilles étaient la source la plus riche en vitamine E et en acide linoléique, précurseur des acides gras. (**Mesrane, 2018**).

**Tableau 3 : Composition chimique de différents organes végétaux du *Z. lotus* (Hamza & Meziani, 2015)**

| Organe végétal     | Composition chimique                    |
|--------------------|-----------------------------------------|
| Feuilles           | Flavonoïdes, tanins et alcaloïdes.      |
|                    | Saponines de type dammarane :           |
|                    | -jujuboside B<br>-jujubogenin glycoside |
| Ecorces de racines | Flavonoïdes                             |
|                    | Tanins                                  |
|                    | Alcaloïde                               |
| Fruits             | Flavonoïdes, Tannins et Saponines.      |

## 1.5 Activités biologiques et thérapeutiques de *Z. lotus*

### 1.5.1 Activités antioxydante et anti-inflammatoire

Plusieurs études ont signalé que les extraits de *Z. lotus* possèdent des effets anti-inflammatoires et des propriétés antioxydantes. Dont elle est riche en nombreux composés antioxydants tels que les acides phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes et saponines. Ces composants ont été montrés pour prévenir le stress oxydatif et l'inflammation par réduction des espèces réactives de l'oxygène.

Nombreux in vitro les études ont montré la capacité des différentes parties de *Z. lotus* pour piéger les radicaux libres, par exemple, dans la peroxydation lipidique, entraînant des dommages cellulaires. De plus, chez les rats diabétiques, l'extrait aqueux de racines et feuilles fortement augmente le taux d'hémolyse et de glutathion réductase et diminue l'activité de la catalase.

L'activité anti-inflammatoire est dû aux des saponosides et des oligomères flavonoïques totaux (OTF) des racines. Les résultats des travaux précédents ont montré que les saponosides et les OTF des écorces de racine de *Ziziphus lotus* montrent une inhibition maximale de l'œdème de la patte (induit expérimentalement chez la souris). De plus même équipe a prouvé que l'autre extrait des racines (aqueux, chloroformique, acétate d'éthyle et méthanolique) et l'extrait des feuilles possèdent des activités anti-inflammatoire et analgésique (ADra & Manel, 2018).

### 1.5.2 Activités antimicrobiennes

Des études faites ont montré qu'un alcaloïde de cette espèce présente une activité antibactérienne significative. Mais beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que *Z. lotus*, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (ADra & Manel, 2018).

### 1.5.3 Activités antiulcérogènes

Les extraits aqueux des racines, des feuilles et des fruits de *Z. lotus* possèdent une activité anti-ulcérogénique grâce à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet gastroprotecteur. (Adra & Manel, 2018).

## 1.6 Les plantes médicinales

Les plantes médicinales ont fait l'objet de beaucoup d'études grâce aux principes actifs qui diffèrent d'une plante à une autre créant ainsi une biodiversité remarquable. Plus de cinq mille substances naturelles différentes ont été identifiées.

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits bioactives. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent des protéines, des lipides et des hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même mais encore des animaux qui s'en nourrissent.

De plus, les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est loin de faire l'unanimité. De nombreux métabolites secondaires sont des « antibiotiques » au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes (Amari & Gourissi, juin 2017 ).

### 1.6.1 Les principes actifs

Les plantes médicinales contiennent une infinité de principes actifs dont la nature et les propriétés sont mieux connues.

Les plantes médicinales sont parfois récoltées à l'état sauvage mais beaucoup d'entre elles sont cultivées à grande échelle (Digitale, Pavot, Chanvre, etc.) pour répondre à la consommation. Les méthodes de sélection ou de manipulation génétiques sont également utilisées pour augmenter leur teneur en principes actifs.

Certaines familles sont particulièrement riches en principes actifs (Papavéracées, Apocynacées, Liliacées, Rubiacées, Solanacées, Lamiacées). Certaines plantes sont inoffensives telles que le Tilleul, la Camomille, la Menthe, etc. D'autres, très nombreuses, sont toxiques et ne doivent être utilisées que sous forme pharmaceutique, telle que la Digitale, la Belladone, le Colchique, etc. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans les champs peut aboutir à des intoxications graves, voire mortelles (**Amari & Gourissi, juin 2017** ).

### 1.6.2 L'usage traditionnel du *Z. lotus*

Dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses est très connu.

Le miel du jujubier considéré comme étant l'un des miels les plus chers au monde, est très recherché pour ses qualités thérapeutiques notamment contre les maladies du foie, de l'estomac et le diabète et autres, mais il est surtout recherché pour ses propriétés aphrodisiaques, il est très répandu au Maroc, en Tunisie et au Yémen.

Ces feuilles, et l'écorce des racines possèdent une importante activité anti-ulcerogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effets gastro-protecteur, et ces fruits sont décrits comme adoucissant et entrent dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires (**Hamdad, 2017**).

Les racines sont utilisées contre les maladies vénériennes comme la syphilis et la blennorrhagie. Le décocté des racines est utilisé par les personnes diabétiques comme hypoglycémiant.

Les racines astringentes prises en décoction soignent la diarrhée et est utilisée dans le traitement des hémorroïdes. Les feuilles de *Z. lotus* sont utilisées contre les piqures des vipères au Sahara et les fruits sont préconisés dans le traitement de la gorge et les affections respiratoires (**Adra & Manel, 2018**) .

L'arbre Sedra est un arbre béni mentionné dans le Saint Coran en de nombreux endroits et dans l'Islam, les feuilles de sidr sont surtout utilisées dans le cadre de la roqya pour traiter le mauvais œil, la sorcellerie et le toucher par les djinns (démons). Les feuilles de sidr sont aussi utilisées pour nettoyer le corps d'un défunt musulman en le mélangeant avec de l'eau. Elles sont également entreposées dans les draps qui entourent le défunt (**Sunna, 2019**).

## 2. Le stress oxydant

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO) et leur destruction par des systèmes de défense antioxydants (Ammari & Laouar, 2019).

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatif (Berkal & Bouchama, 2016).

Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces réactives d'oxygènesont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions, on dit que la balance pro oxydant/anti-oxydants est en équilibre (figure 2) (Ammari & Laouar, 2019).

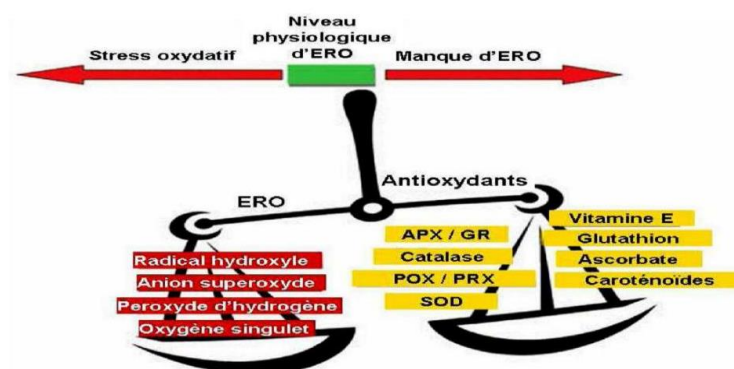


Figure 2 : Schématisation de la balance entre les espèces réactives d'oxygène et les antioxydants (Ammari & Laouar, 2019).

### 2.1 Stress oxydant et pathologies humaines

Les radicaux libres réagissent avec les tissus voisins causant des lésions oxydatives par extension de proche en proche, lésant les acides nucléiques, les lipides, les protéines et les hydrates de carbone. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement et la dégradation des cellules et des tissus.

La recherche de ces deux dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant : cancer, cataracte, sclérose latérale, syndrome de détresse pulmonaire aigu, oxydation des LDL, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré et inflammation. Il sera aussi l'un des facteurs potentialisant la genèse

de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires **(Benkaddour & Ben abd allah, 2019)**.

### 2.1.1 Les Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron, il peut arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en cédant un électron (agissant alors comme un réducteur) **(Berkal & Bouchama, 2016)**.

La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. Cette instabilité rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques **(Ammari & Laouar, 2019)**.

Parmi les radicaux formés chez les végétaux on distingue :

- Anion superoxyde ( $O_2^{\circ-}$ )
- Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )
- Radical hydroxyle ( $HO^{\cdot}$ ) **(Ammari & Laouar, 2019)**.

### 2.1.2 Origine des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de deux sources exogènes et endogènes :

- **Sources exogènes**

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (figure 3).

- **Sources endogènes**

Les enzymes pro-oxydantes, incluant la NADPH-oxydase, la NO-synthase ou la chaîne du cytochrome P450 peuvent générer des RLO, lors du transport des électrons dans la chaîne respiratoire des cellules aérobies, une réduction incomplète de l' $O_2$  peut apparaître pour 1 à 2% de l'oxygène moléculaire conduisant à la formation de RLO, surtout l'anion  $O_2^{\cdot-}$  **(Berkal & Bouchama, 2016)**.

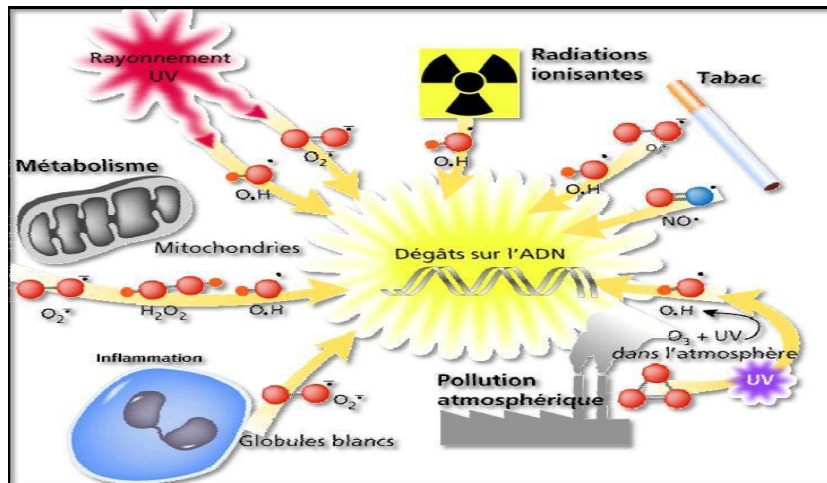


Figure 3 : Origine des radicaux libres.

### 2.1.3 Rôles biologiques des radicaux libres

Les radicaux libres jouent des rôles essentiels dans le bon déroulement de la réaction immunitaire par l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydesdismutases (SOD) et la NO Synthase qui aboutissent à l' $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^{\bullet}$  et autres radicaux libres. La présence de chlore donnera la naissance à l'acide hypochlorique  $HOCl$ , c'est l'oxydant microbicide le plus puissant dans la phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires.

Les radicaux libres peuvent aussi en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation (Benkaddour & Ben abd allah, 2019).

## 2.2 Les conséquence biologiques du stress oxydant

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier A, 2003).

### 3. Les métabolites secondaires

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques.

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Berkal & Bouchama, 2016**).

#### 3.1 Classification des métabolites secondaires

On peut classer les SM en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction.

Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental, car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé.

Une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (**Berkal & Bouchama, 2016**).

##### 3.2.a Structure chimique

Les polyphénols caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substituants qui les relient (**Berkal & Bouchama, 2016**).

### 3.2.b Biosynthèse des polyphénols

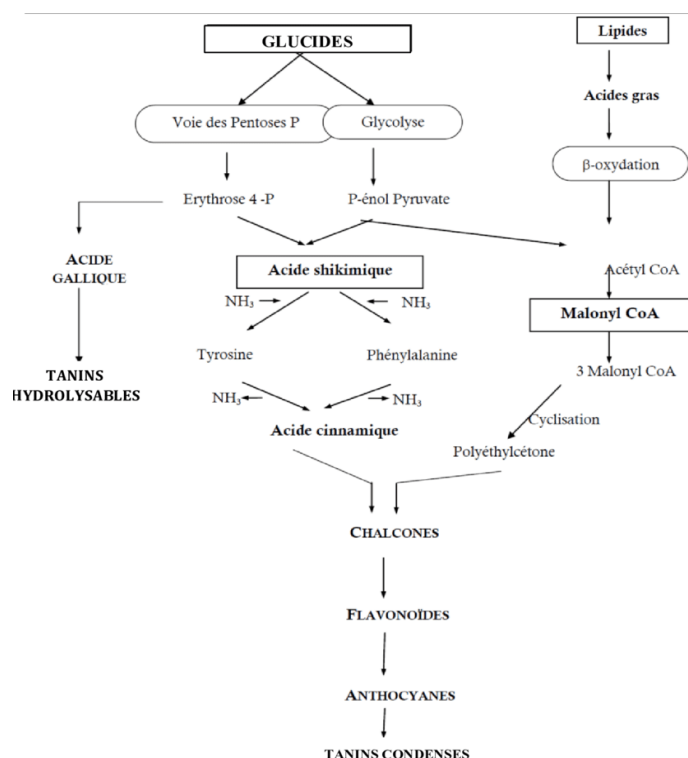


Figure 4 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Berkal & Bouchama, 2016).

### 3.2.c Classification des polyphénols

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins.

Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïques, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales.

Et présents chez toutes les céréales ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets probiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire.

Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques. Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer œsophagien chez les rats (Berkal & Bouchama, 2016).

- **Les flavonoïdes**

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols.

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits et jouent un rôle important dans la protection des plantes. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Berkal & Bouchama, 2016**).

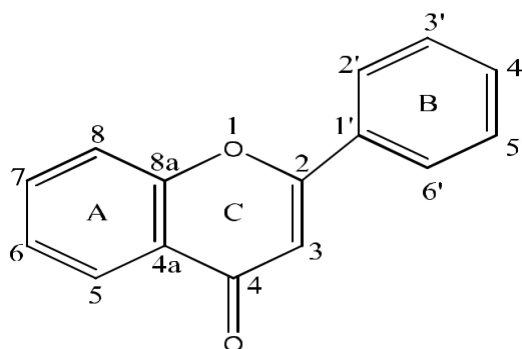


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes (Panche & Chandra, 2016).

- **Les lignanes**

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936. Ils sont les dimères des unités de phenylpropane (C6 C4).

Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique est large : plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles chez les gymnospermes, Ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, Ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits est les graines (figure 6) (**Berkal & Bouchama, 2016**).

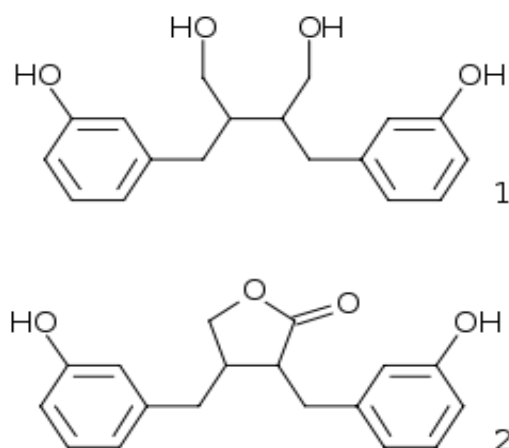


Figure 6 : Structure des lignanes (Berkal & Bouchama, 2016).

- **Les stilbènes**

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule. Les stilbènes sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (figure 7) (Berkal & Bouchama, 2016).

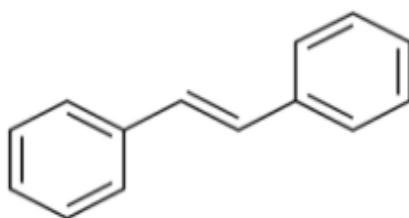


Figure 7 : Structure d'un stilbène (Yezza & Bouchama, 2014).

- **Les coumarines**

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuse*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines. Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Berkal & Bouchama, 2016).

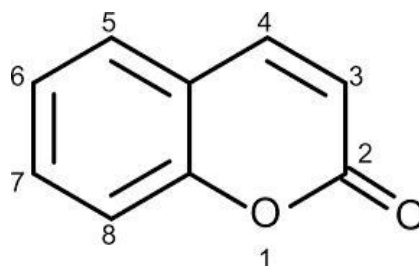


Figure 8 : Le squelette de base des coumarines (Meriem & Sadaoui, 2019).

- **Les tannins**

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir.

Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau. D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da, ils sont caractérisés de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité (Berkal & Bouchama, 2016).

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes :

- **Les tannins hydrolysables :**

Les tannins hydrolysables (THs) sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol

Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol : Les tannins galliques et Les tannins éllagiques (Berkal & Bouchama, 2016).

- **Les tannins condensés**

Les tannins condensés (TCs), ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes. Ils sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine), liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (Berkal & Bouchama, 2016) .

***Chapitre II :***

***Matériels et***

***méthodes***

## Objectif

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de biochimie, département de biologie université Ammar Telidji-LAGHOUAT. Le présent travail a pour objectif de l'étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques d'une plante largement utilisées dans la médecine traditionnelle : *Zizyphus Lotus L.*, en utilisant les méthodes d'extraction des composés phénoliques et de piégeage des radicaux libre DPPH et le test de FRAP.

## 1. Matériel végétal

### 1.1 Choix de la plante

*Zizyphus Lotus L.* c'est une plante spontanée qui pousse dans des régions à caractère climatique semi-aride et aride. Il possède des activités antioxydante et hypoglycémiant, du fait de sa richesse en composés phénoliques. Donc cette plante a été choisie pour son potentiel biochimique important.

Le but de cette étude est de quantifier les composés phénoliques de cette plante appelée communément : **Sedra (*Zizyphus Lotus L.*)**, et de comparer cette composition entre les régions, et aussi entre les différentes parties de la plante. Les parties de *Z. Lotus*. Qui font l'objet de cette étude sont : feuilles, tiges, racines.

### 1.2. Collecte du matériel végétal

La collecte a été effectuée au début du mois de décembre (11/12/2019) dans La Wilaya de Laghouat les deux régions suivantes : **Tadmout (Tad)** et **Guelat Sidi Saad (GSS)**.

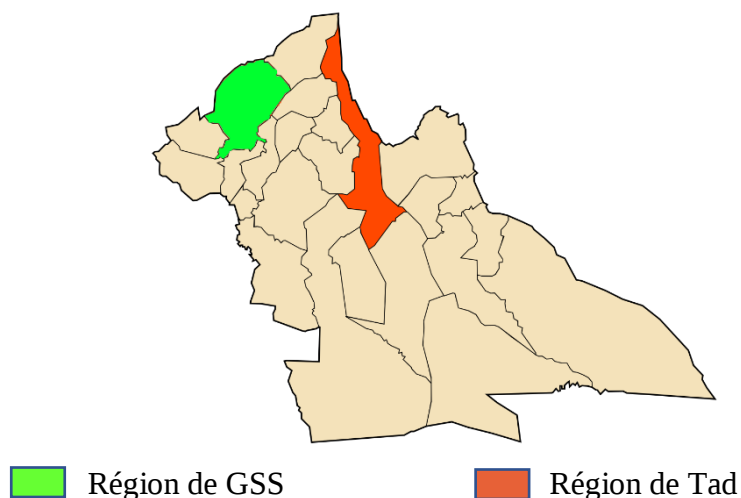


Figure 9 : Carte géographique montre la région de récolte les deux plantes étudiées

### 1.3. Séchage du matériel végétal

Après la récolte, les différentes parties du matériel végétal ont été séchées à l'ombre et à la température ambiante, jusqu'au séchage complet. Une fois séchés, ils ont été réduits en poudre puis soumis à l'extraction.

## 2. La méthode d'extraction

### 2.1 Préparation des extraits

Les différentes parties de *Zizyphus Lotus L* ont été réduites en poudre premièrement avec un mortier et ensuite écrasées avec une machine manuelle mécanique. Les poudres ont été conservées dans des sacs en papier à l'abri de la lumière.

Le matériel végétal de *Z. lotus* a été utilisé dans l'extraction par macération avec des solvants de polarité croissante ; méthanol et eau, éthanol.

### 2.2. Méthode d'extraction des polyphénols

Les composés phénoliques ont été extraits selon la méthode décrite par M.G.L HERTOOG (1995). Cette méthode comporte trois étapes :

#### 2.2.a Macération

1 g de chaque partie de plante *Z. Lotus* [feuilles (Fe), tiges (T), racines (R)] finement broyé est macéré simultanément dans 100 ml du mélange (méthanol/eau : MeOH) (80/20) et 100 ml d'éthanol (EtOH), pendant 48 heures à température ambiante. L'extrait est séparé du tourteau par filtration sur papier filtre (Whatman 0.7µm). Après filtration, le mélange a été évaporé à sec à l'étuve 30°C jusqu'au séchage complet.

#### 2.2.b Dépigmentation

La phase aqueuse ainsi obtenue est lavée trois fois avec 25 ml de l'éther de pétrole. Le rôle de l'éther de pétrole éliminé les lipides, les pigments et tous les composés apolaires.

### 2.3 Extraction liquide-liquide

La phase aqueuse a subi une décantation avec l'acétate d'éthyle (v/v). Par l'ajout de deux solutions aqueuses l'une de sulfate d'ammonium (20%) et l'autre de l'acide ortho-phosphorique (2%), qui facilitent le passage des substances phénoliques vers la phase organique. La phase organique ainsi obtenu a été séchée en ajoutant une quantité suffisante du sulfate de sodium anhydre (pour éliminer toutes les traces d'eau distillée après l'extraction liquide-liquide) et ensuit évaporée à sec sous vide. Le résidu est repris par 10 ml méthanol. (Hadj Aissa, 2004).

### 3. Calcul le rendement des extraits

La productivité des extraits est le rapport entre la masse de matière végétale sèche extraite obtenue qui est notée ( $Me$ ) sur la masse de matière végétale sèche utilisée et symbolisée par le symbole ( $Mv$ ), Il est calculé en utilisant la relation suivante. (شمسة, 2015)

$$R\% = (Me/Mv) \times 100$$

$R\%$  : rendement des extraits en %.

$Me$  : La masse de matière sèche extraite après évaporation du solvant.

$Mv$  : Masse de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction, qui est égale à 1g.

### 4. Tests phytochimiques

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques constituant une plante ; les tests y sont basés sur l'intensité du précipité et de la turbidité, la coloration étant proportionnelle à la quantité de substances recherchées (Lamiae, Ghizlane, Jamal, & Laila, 2016). Le screening phytochimique a nécessité divers réactifs.

#### 4.1 Test des alcaloïdes

2 ml de chaque extrait ont été ajoutés avec quelques gouttes de **Hcl** à 50% pour acidifier le milieu. La formation d'un précipité jaune indique la présence des alcaloïdes (Adra & Manel, 2018).

#### 4.2 Test des Saponines

La détection des saponines est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 1 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponines est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (Kanoun, 2011).

### 4.3 Test des phénols

Introduire Quelques gouttes de **FeCl<sub>3</sub>** 2% ajoutées au mélange de 1ml de l'extrait et 1 ml de l'éthanol à 96% conduit à l'apparition d'une coloration bleue qui indique la présence de phénols (**Adra & Manel, 2018**).

### 4.4 Test des tanins

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait avec 1 ml de la liqueur de Fehling, la formation d'un précipité rouge brique après 2 à 3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (**Adra & Manel, 2018**).

### 4.5 Test des flavonoïdes

Un volume de l'extrait est traité avec quelques gouttes de **AlCl<sub>3</sub>** (2%), la formation de couleur jaune, indique la présence de flavonoïdes (**Khacheba, 2020**).

## 5. Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques

Dans le but de quantifier le contenu en composés phénoliques des extraits de **Z Lotus**. Deux protocoles ont été suivis (**Benidiri & Benmammar, 2016**) :

### 5.1 Dosage des phénols totaux

Les phénols totaux ont été dosés par la méthode utilisant le réactif de **Folin-Ciocalteu** décrite par Singleton et Rossi en (1965), utilisée dans plusieurs travaux. (**Mbaïhougadó, et al., 2017**).

#### a. Principe

Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction de réactif de Folin-Ciocalteu (**Tirgine, 2016**). Il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_4$ ) (**Taouzinet, 2017**), qui sont réduits, lors de l'oxydation des polyphénols, en oxyde bleus de Tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de Molybdène ( $Mo_8O_3$ ) (**Hadj Aissa, 2004**). Ça en présence de carbonate de sodium (**Tirgine, 2016**).

#### b. Mode opératoire

100 µl de chaque extrait dilué a été mélangé avec 500 µl de Folin-Ciocalteu (10 %) et 2 ml de  $Na_2CO_3$  carbonate de sodium (20%) et 1 ml d'eau distillé. Après une heure à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance de l'extrait a été mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm (**Adra & Manel, 2018**). L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des polyphénols présents dans les extraits (**Tirgine, 2016**).

### c. Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage est réalisée avec une gamme d'étalon d'acide gallique (Mbailhougadobé, et al., 2017). Pour ce faire, une courbe d'étalonnage a été établie au préalable en préparant une gamme de solution d'acide gallique à différentes concentrations variant de 0.01 et 0.1mg/ml.

500µl du réactif de (RF-C) dilué 10 fois a été ajouté à la solution d'acide gallique à différentes concentrations. Puis 2 ml d'une solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20%). Les absorbances ont été mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible après incubation pendant 30 min à 37 °C (Rasmané Abdou, et al., 2015). Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide gallique, après l'établissement d'une droite d'étalonnage.

## 5.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été basée sur la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ahouche & Azouzi, 2019). La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour déterminer la teneur en flavonoïdes dans l'extrait de *Z. lotus* (Adra & Manel, 2018).

### a. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $\text{Al}_3^+$ , la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Tirgine, 2016).

### b. Mode opératoire

1 ml de chaque extrait dilué au méthanol (avec dilution convenable), est mise à réagir avec 1 ml d'une solution MeOH ou EtOH de tri chlorure d'aluminium (2%). Après 15 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 430 nm. (Hadj Aissa, 2004).

### c. Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage est établie avec des solutions standards de Quercétine à différentes concentrations.

Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0,01 et 0,12 mg/ml permettront de tracer la courbe d'étalonnage (**Ali-rachedi, Meraghni, Touaibia, & Sabrina, 2018**).

## 6. L'études de l'Activités antioxydantes (*in-vitro*)

L'évaluation du pouvoir antioxydant d'un extrait est importante si l'on veut apprécier sa capacité de défense contre le stress oxydant (**Hadj Aissa, 2004**).

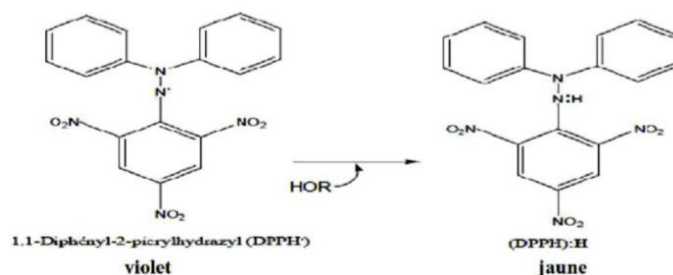
Dans cette étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des différents extraits issus de la plante étudiée est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, et la chélation des ions métalliques comme le Ferric Reducing Antioxidant Power (le teste FRAP) (**Saffidine K. , 2015**).

### 6.1 Evaluation de l'activité antioxydant par Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable. Dans ce test, les antioxydants réduisent le Diphénylpicryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Talbi, et al., 2014**).

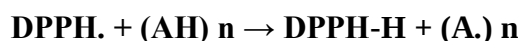
#### 6.1.1 Principe

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à piéger le radical libre DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Le radical DPPH<sup>•</sup> est réduit en son hydrazine correspondant lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antiradicalaire (**Tirgine, 2016**). Le mécanisme est récapitulé dans la Figure 10.



**Figure 10 : piégeage du radical libre DPPH\* (Tirgine, 2016)**

La disparition de la couleur violette de DPPH est expliquée par la réduction en Diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivant :



Où (AH)<sub>n</sub> Représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. (Adra & Manel, 2018) Avec quelques modifications.

### 6.1.2 Mode opératoire

#### a. La préparation du DPPH

Le protocole expérimental utilisé est celui de Brand-Williams et al. (1995) avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 0,0098 g de DPPH dans 100ml de méthanol (Benidiri & Benmammar, 2016).

#### b. Préparation de l'extrait

100 µl de chaque extrait dilué par 900 µl de méthanol, puis on ajoute à chacun un volume de la solution mère (20 µl – 200 µl) et on complète le volume avec le méthanol jusqu'à 500 µl, afin d'obtenir des solutions de différentes concentrations. Ces concentrations ont été ajoutées à 500 µl de la solution de DPPH fraîchement préparée (Tirgine, 2016). Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité. Les Abs ont été mesurées à 517nm.

Un standard de référence représenté par l'acide ascorbique a également été analysé en respectant la même procédure.

L'activité antiradicalaire de chaque extrait a été estimée en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante (Adra & Manel, 2018).

$$\%Inhibition = [(Abs\ Contr\hat{o}le - Abs\ d'extrait) / Abs\ contr\hat{o}le] \times 100$$

## 6.2 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP

La méthode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique (Benzaoui & Houari, 2016).

### 6.2.1 Principe

L'activité antioxydante des extraits méthanolique et éthanolique de la plante *Zizyphus Lotus* L. a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. (Abbas & Belhout, 2019)

Le test de FRAP est basé sur la réaction de réduction du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) en un fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) par un antioxydant (AH) (figure 11). Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleu vert intense apparaît très rapidement (Guerres & Moussous, 2018).

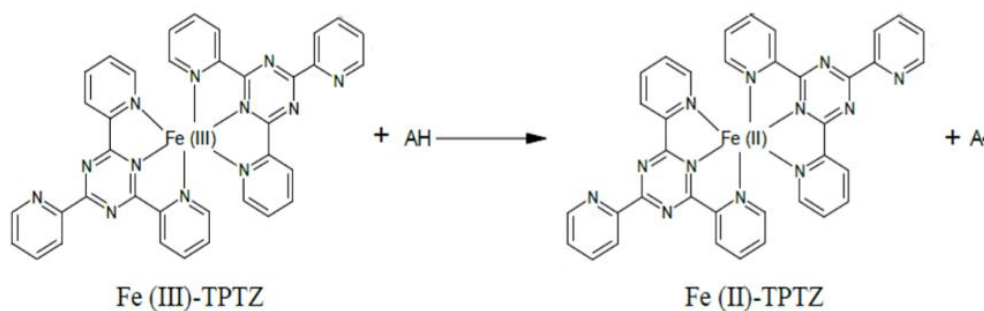


Figure 11 : Réduction du fer ferrique en fer ferreux par un antioxydant (AH) (Tirgine, 2016)

### 6.2.2. Mode opératoire

#### a) milieu réactionnel

La méthode FRAP est décrite par Benzie et al. (1996) et Proteggente et al. (2002) avec quelque modification. L'analyse de FRAP est réalisée comme suit :

1. Une solution tampon de 300 mM d'acétate, PH = 3.6 [3.1g d'acétate du sodium tri-hydraté (Riedel-dettæn, Geramny), plus 16 d'acide acétique glaciale, dissoutes dans 1 litre d'eau distillé].
2. Une deuxième solution, est préparée de 10Mm (0.01562g) TPTZ dissoute dans 5ml de HCL  
[40 mM (825µl de HCL dans 250ml d'eau distillée)].
3. 0.5406g de FeCl<sub>3</sub>(20mM) dans 100ml d'eau distillé (**Hadj Aissa, 2004**).

Le réactif de la méthode du FRAP (TPTZ) a été obtenu en mélangeant une solution de tripyridyltriazine (TPTZ), une solution tampon d'acétate de sodium et une solution FeCl<sub>3</sub> dans les proportions 1 :10 :1 (**Rasmané Abdou, et al., 2015**).

100 µl de chaque dilution de chaque type d'extrait ont été ajoutés 1 ml de solution de FRAP et l'absorbance a été mesurée après 10 min à 593 nm (**Hadj Aissa, 2004**).

*Chapitre III :*

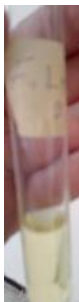
*Résultats et  
discussions*

## 1. Rendements des extraits bruts

L'extrait de méthanol a été préparé pour toutes les parties de la plante *Zizyphus Lotus* par macération pendant 48 heures, Après filtration et évaporation, nous avons calculé le rendement, ainsi que l'observation des propriétés des extraits en termes de couleur et de forme.

Il y a une grande différence entre les deux types de solvant. Une différence de couleur a été remarquée entre les extraits méthanoliques qui ont un caractère visqueux et glycosidés avec une couleur Brun foncé, tandis que les extraits éthanoliques été sous forme de poudre claire avec une couleur jaune.

**Tableau 4 : caractérisation des extraits étudiés**

| Solvant d'extraction | Aspect                                       | La couleur     | Moyenne de rendement | Image                                                                                 |
|----------------------|----------------------------------------------|----------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Extraits MeOH</b> | Substance collante et gélatineuse (visqueux) | Brune (marron) | 40%                  |   |
| <b>Extraits EtOH</b> | Poudre                                       | Jaune          | 16%                  |  |

Selon les résultats du tableau on remarque que les extraits MeOH sont récupérés sous forme gélatineuse de couleur marron. Les extraits EtOH sont récupérés sous forme de poudre. Les rendements sont variables où les deux extraits, et les extraits MeOH présentent la moyenne de rendement le plus élevé 40%, Alors que les extraits EtOH présentent de faible rendement

16%. De plus ces extraits présentent une bonne solubilité dans le méthanol à l'exception des extraits EtOH.

L'explication de l'apparition de la couleur brune et de la viscosité des extraits méthanoliques indique la présence des flavonoïdes glycosidés (Flavonoïde + Ose) dans ces extraits.

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité : la méthode d'extraction, la granulométrie des particules, la durée d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé (Tirgine, 2016).

### 1.1 Comparaison des taux de R% entre les extraits MOH et EOH

Les rendements en composés phénoliques dans les extraits méthanol/eau et éthanol sont représentés dans le figure 12.

Le taux de rendement des extraits méthanoliques est égal au double de celui des extraits éthanoliques.

Le taux de rendement des extraits MeOH est compris entre 35% et 49%. Et entre 13% et 23% pour les extraits EtOH.

La méthode d'extraction par macération en utilisant méthanol/eau comme solvant d'extraction a permis d'obtenir des taux d'extraction plus élevée que la méthode d'extraction en utilisant l'éthanol (figure 12).

Une variabilité de rendement d'extraction a été observée entre les parties d'extraction, cette variabilité du rendement dépend du solvant utilisé. Donc le solvant (méthanol/eau) est considéré comme meilleur solvant d'extraction (Figure 12).

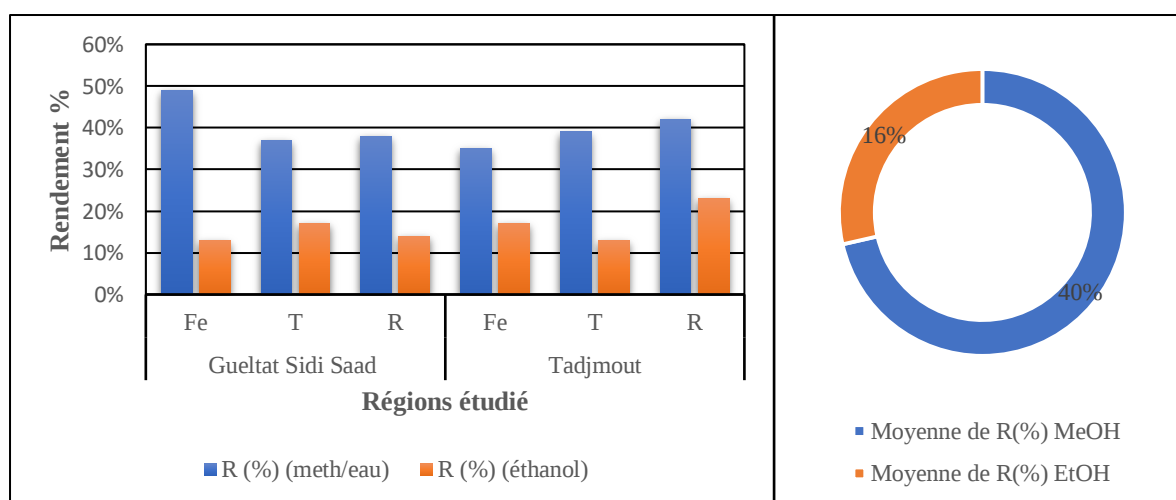


Figure 12 : Comparaison des R% entre les extraits MeOH et EtOH.

## 1.2 Comparaison des taux de R% entre chaque région et extrait

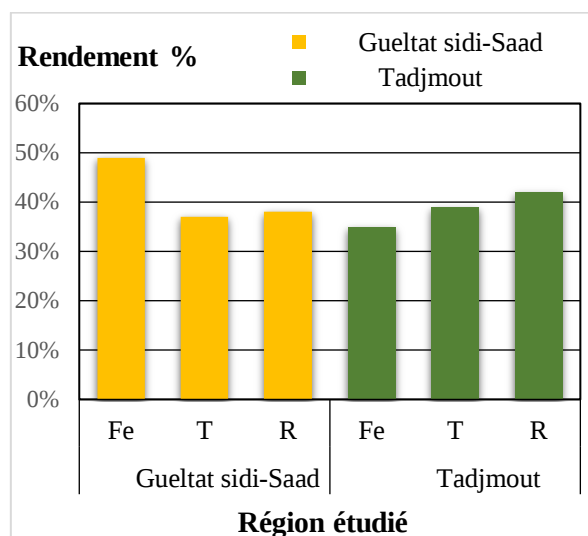


Figure 13 : Comparaison des R% entre les extraits MeOH.

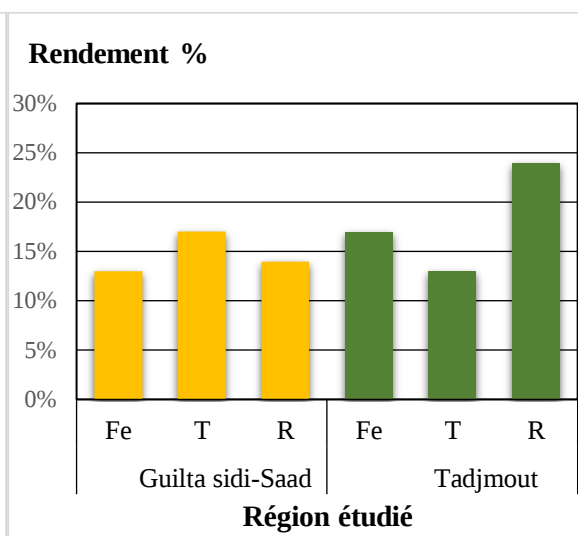


Figure 14 : Comparaison des R% entre les extraits EtOH.

Pour les extraits MeOH, des rendements élevés de 49% ; 38% ; 37% ont été enregistrés pour les extraits des feuilles, tiges, racines de *zizyphus lotus L* de la région de GSS respectivement, suivi par les extraits de la région de Tad. 35% ; 39% ; 42% respectivement (figure 13).

En général, on observe une convergence remarquable du taux de productivité entre les extraits MeOH dans les deux régions, et dans toutes les parties étudiées.

Dans le cas de l'extraction par d'éthanol, un très faible rendement est observé dans toutes les parties de *zizyphus lotus* et dans les deux zones étudiées GSS et Tad (figure 14).

Il y a aussi une convergence du taux de productivité. Les rendements varient de 13% (feuilles de GSS ; tiges de Tad) ; 14% (racine GSS) ; 17% (feuilles de Tad et tige GSS) ; 23% (racines de Tad).

On conclure, Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Lehout & Laibe, 2015).

Par rapport à d'autres études, nous constatons que :

Une étude réalisée par Marwa Ata Allah et Aisha Megrahi en 2019 a montré que le rendement de l'extrait MeOH de *Z. lotus* est (32%) (2019, عطاء الله ومقرحي).

Une autre étude par Basma Chamsa en 2015 le R% de cette plante est égale (7,28%) pour l'extrait EtOH, et 7,14%) pour l'extraits aqueuse. Et Par Benhammou en 2012 sur la même plante, le R% de l'extrait MeOH (14.305%) Cette différence est due au type de solvant, mais aussi à la partie végétale étudiée Dans cette étude, les parties aériennes de cette plante tige ont été utilisées uniquement.) (شمسة، 2015).

Une autre étude en 2008 par Djemai Zoughlache a montré que le R% varie d'un solvant à l'autre ; Lors de l'utilisation méthanol (6.4%), et en 2017 le R% (12.32%  $\pm$  0.27). Par Abbas a également mené une étude en 2016 sur la plante *Z. Lotus* de la région de Tlemcen avec un macération par l'eau distillée dont le R% est estimé à 15,16%. (عطاء الله و مقرحي، 2019).

De plus, la plupart des études disent que lorsque l'on utilise du méthanol comme solvant d'extraction, la couleur que nous obtenons est brun foncé, et c'est ce qui correspond à notre étude.

Nous avons remarqué, à travers nos études et les autres études sur la plante de Sedra que la différence de rendement est due à la différence des solvants, car le mélange méthanol/eau a donné le meilleur rendement grâce à cette recherche, également dans une étude en 2008 par (Zoughlache-Djemai) a donné au méthanol un meilleur résultat que d'autres solvants. **Selon Abbas en 2016, et une étude en 2018, Mesrane ; 2016, Halimi)** ont confirmé que les solvants ont un rôle dans l'extraction de substances actives.

La différence est également due aux conditions climatiques (humidité et température) et à la zone géographique. (عطاء الله و مقرحي، 2019)

## 2. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique consiste à détecter les différents métabolites secondaires existants dans les déférentes parties de *zizyphus lotus L.*

Ces tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits préparés dans différents solvants (eau /méthanol ; éthanol).

La détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique (Annexe I) (Adra & Manel, 2018). Les résultats expérimentaux de nos extraits motionnés dans les tableaux 3 et 4 montrent la présence ou l'absence de certains groupes chimiques.

## 2.1 Les extraits MeOH

Les résultats de cette manipulation indiquent clairement la présence des composés phénoliques en abondance, caractérisés par une réponse positive au test de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) et la présence des polyphénols, le test de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la présence des flavonoïdes, et le teste de saponine et tannin dans tous les extrait MeOH. Les composés phénoliques se sont confirmés par l'apparition d'une coloration bleu et les flavonoïdes par une coloration jaune. Alor que, nous avons obtenu des réponses mitigées aux tests des alcaloïdes et. Nous n'avons eu obtenu une réponse positive dans le racine de région de Tad et tige de région de GSS (tableau5).

**Tableau 5 : Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans les extraits MeOH de *Zizyphus Lotus L.***

| Métabolites secondaires | Coloration          | Les extraits méthanoliques |       |       |        |       |       |
|-------------------------|---------------------|----------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|
|                         |                     | Fe GSS                     | T GSS | R GSS | Fe Tad | T Tad | R Tad |
| <b>Polyphénols</b>      | Bleu                | ++                         | +++   | ++    | +++    | +++   | +++   |
| <b>Alcaloïdes</b>       | Précipitation jaune | -                          | +++   | -     | -      | -     | +++   |
| <b>Tannins</b>          | Rouge brique        | +++                        | +++   | +     | +++    | -     | +++   |
| <b>Flavonoïdes</b>      | Jaune               | +++                        | +     | +     | ++     | +++   | +++   |
| <b>Saponines</b>        | Mousse blanc        | +++                        | +++   | +++   | +++    | +++   | ++    |

## 2.2 Les extraits EtOH

Selon les résultats du tableau 6 les saponines sont présentes en quantité importante dans les extraits EtOH. Des réponses positive ont enregistré avec une coloration bleue qui révèle l'existence des polyphénols dans les extraits Fe GSS, Fe Tad, R GSS et T Tad. Et faiblement positive dans l'extrait T GSS. Mais dans l'extrait R Tad, les polyphénols sont totalement absents.

Le Flavonoïde est fortement positif dans l'extrait Fe GSS et Fe Tad, l'extrait T GSS, T Tad et R Tad sont plus ou moins positives mais l'extrait R GSS présent un test négative.

Les alcaloïdes sont moyennement présents dans l'extrait Fe GSS et Tad, T GSS et Tad, Mais totalement absent dans les autres extraits.

Les tannins sont présents au niveau de tous les extraits du plant avec différentes réponses aux tests.

**Tableau 6 : Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans les extraits EtOH de *Zizyphus Lotus L***

| Métabolites secondaires | Coloration    | Les extraits éthanoliques |       |       |        |       |       |
|-------------------------|---------------|---------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|
|                         |               | Fe GSS                    | T GSS | R GSS | Fe Tad | T Tad | R Tad |
| <b>Polyphénol</b>       | Bleu          | ++                        | +     | ++    | ++     | +++   | -     |
| <b>Alcaloïdes</b>       | Précipitation | ++                        | +     | -     | +      | +     | -     |
|                         | Jaune         |                           |       |       |        |       |       |
| <b>Tannin</b>           | Rouge brique  | ++                        | ++    | +     | ++     | +     | +     |
| <b>Flavonoïdes</b>      | Jaune         | +++                       | +     | -     | +++    | +     | +     |
| <b>Saponine</b>         | Mousse blanc  | +++                       | +++   | +++   | +++    | +++   | +++   |

(+) Résultat faiblement positif, (++) Résultat positif, (+++) Résultat fortement positif. (-) résultat négative.

En fin, Les essais phytochimiques effectués sur les extraits (MeOH et EtOH) de la plante de *Zizyphus Lotus L* ont révélé la présence des saponines dans toutes les parties étudiées, On remarque dans tous les feuilles de deux régions sont riches en tous types de métabolites secondaires (polyphénols ; alcaloïdes ; tannins flavonoïdes). Le reste du métabolites secondaires est réparti dans des proportions variables entre chaque partie étudiée ; Alors que dans les extraits méthanoliques, nous trouvons une plus grande proportion que d'extraits éthanolique tableaux (5 et 6).

Une étude en 2007 où l'analyse phytochimique faite sur l'extrait MeOH des feuilles a donné des résultats positifs pour les flavonoïdes et les tanins. Ils ont montré aussi que : l'extrait MeOH des feuilles riches en composés phénolique (Ammari et Gourissi,2017).

Dans une étude réalisée en (2016 Tlemcen, Halimi), la plante *Zizyphus Lotus L* de contenant des flavonoïdes, Qui sont en accord avec ces résultats.

Grâce à nos études et autres recherches sur la plante de *Z. Lotus*, nous pouvons dire que les solvants ont un rôle important dans l'extraction de plus de types de substances actives (عطاء الله و مقرحي، 2019)

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que les plantes étudiées sont plus ou moins riches en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis

d'avoir une idée générale sur la composition chimique des plantes étudiées (**Bouchouka, 2016**).

### 3. Teneur en phénols totaux et flavonoïdes dans les extraits obtenus

La teneur en phénols totaux de chaque extrait de plante a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matériel sèches. Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de chlorure d'aluminium en utilisant comme standard la quercétine, la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matériel sèches (**Ramdane, 2018**). Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués (**Amari & Gourissi, 2017**). Les analyses quantitatives des phénols totaux, des flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage.

#### 3.1 Dosage des phénols totaux

La couleur bleue après une heure d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le F-CR. L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le bleu foncé est fonction de la teneur en polyphénols (**Tirgine, 2016**).

Le contenu phénolique dans les extraits de *Z. lotus* est exprimé en termes d'équivalent d'acide gallique et déterminé à partir de l'équation de régression linéaire :

$$y = 7.0242x + 0.0147.$$

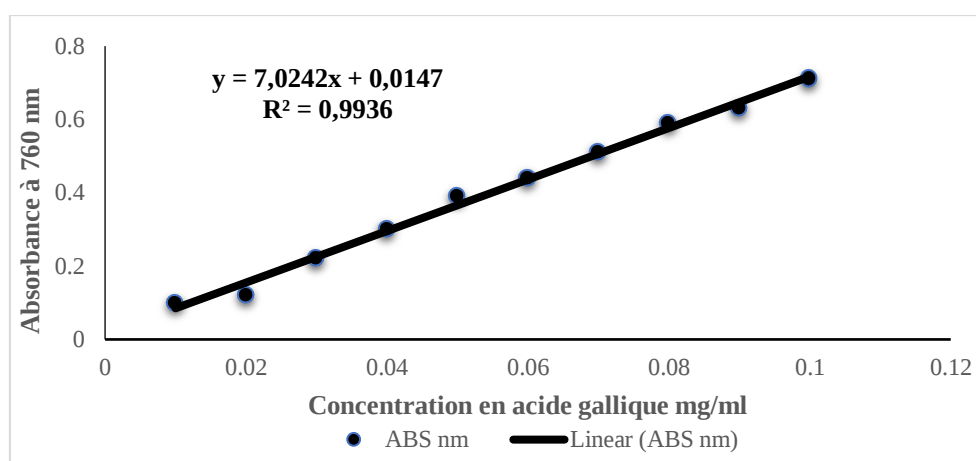


Figure 15 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Il existe une différence importante dans la teneur en phénols totaux tous dépend du type de solvant utilisé d'une part, et d'une partie à une autre de la plante en utilisant le même solvant d'autre part.

**Tableau 7 : Les teneurs en phénols totaux dans extraits MeOH et EtOH des différentes parties de *Zizyphus Lotus L***

| Région            | Extraits méthanoliques (mg EAG/g MS) |               | Extraits éthanoliques (mg EAG/g MS) |              |
|-------------------|--------------------------------------|---------------|-------------------------------------|--------------|
|                   |                                      |               |                                     |              |
| Gueltat Sidi-Saad | Fe                                   | 8,72 ± 0.006  | Fe                                  | 21,66±0.006  |
|                   | T                                    | 8,13 ± 0.002  | T                                   | 10,16±0.008  |
|                   | R                                    | 11,59± 0.006  | R                                   | 12,11±0.007  |
| Tadjmout          | Fe                                   | 29,88 ± 0,004 | Fe                                  | 19,28 ±0.005 |
|                   | T                                    | 21,88 ± 0,003 | T                                   | 34,72±0.004  |
|                   | R                                    | 33,74±0,022   | R                                   | 10,02±0.007  |

Pour la Teneur en phénols totaux (mg EAG/g MS) des extraits MeOH, la teneur le plus élevée est celle de la région de Tad de l'ordre (Racine 33,74 mg EAG/g MS ; feuilles : 29,88 mg EAG/g MS ; tiges : 21,88 mg EAG/g MS), suivi par la région de GSS avec des taux varient entre 8,13 mg EAG/g MS et 11,59 mg EAG/g MS.

Pour la Teneur en phénols totaux (mg EAG/g MS) des extraits EtOH de deux régions GSS, Tad. On constate une très faible teneur dans les racines (10,02 mg EAG/g MS) pour la région de Tad, alors que le reste des parties de la plante de même région et dans la région de GSS, Un teneur moyenne élevé a été enregistré dans les parties étudiées des deux régions. Pondant que nous regardons qu'il y a une teneur importante jusqu'a (34,72 mg EAG/g MS) dans la partie de tige de Tad (Tableau 7).

### 3.1.1 Comparaison entre les régions étudiées et les solvant d'extraction utilisé

Il existe une différence de teneur en phénol entre les deux régions étudiées et les deux solvants utilisés. Où l'on note que la région de GSS a enregistré un bon teneur lors de l'utilisation d'éthanol dans toutes ses parties. Alors que la région de Tad a enregistré une teneur élevée lors de l'utilisation de méthanol comme solvant d'extraction. Mais en général la teneur en phénol totaux des extraits EtOH sont supérieures aux extrait MeOH.

Nos extraits sont apparus moins riche en polyphénols par comparaison avec les résultats obtenus par :

Adra et manel en 2018 sur les feuilles ; la teneur des polyphénols est 56,8 mg/g d'extrait **(Adra & Manel, 2018)**.

Bakchiche et Gherib en 2014 dont la valeur est de l'ordre de 108.04 mg/g dans l'extrait hydro alcoolique des feuilles de *Zizyphus lotus* **(Bakchiche & Gherib, 2014)**.

Belguidoum en 2015 sur les mêmes espèces végétales, qui a été collectée en avril 2013 à Warguela, la teneur est égale  $5,118 \pm 0,105$  mg/g dans l'extrait alcoolique brut obtenu à partir du mélange (éthanol + eau) ; et  $2,008 \pm 0,012$  mg/g dans l'extrait aqueuse. **(2015، شمسة)**

En 2016 le contenu phénolique des feuilles de *Z. Lotus* contenait entre 13,62 et 21,98 mg GAE de contenu phénolique dans 1 g de matière sèche. Le méthanol s'est révélé être le solvant efficace pour extraire les feuilles de *Z. Lotus*.

Les quantités relatives de phénols dans les feuilles de *Z. Lotus* trouvées dans cette étude étaient plus importantes que celles effectuées (6,04 mg/g) par Elaloui et al en 2016 (Elaloui M., 2017). Cette variabilité pourrait s'expliquer par de nombreux facteurs dont l'origine, la période de récolte, l'âge et le stade de développement des plantes. D'autres facteurs environnementaux (température, altitude, ensoleillement, agressions animales et maladies) pourraient également influencer cette variabilité. Le stade physiologique pourrait également concerner les teneurs en polyphénols et l'activité biologique **(Meriem, et al., 2017)**.

Par Amari Imen et Gourissi Houda En 2017 la teneur phénolique de l'extrait méthanolique ( $0,09613 \pm 12,7$  mg EAG / mg d'extrait) **(Amari & Gourissi, 2017)**.

Le contenu en phénols totaux dans l'extrait avait une teneur en phénols totaux ( $0,105 \pm 1,39$  mg /g) dans la partie aérienne et ( $0,0636 \pm 0,58$  mg/g) dans la partie racinaire **(Mounira, Nasrine, yahias, Nada, & Amel)**.

Où la quantité de polyphénols de l'échantillon végétal prélevé dans la région sud tunisienne au mois de Juillet 2012 a été estimée à ( $391,65 \pm 7,83$  mg GAE / g Ext), et l'échantillon prélevé sur la côte méditerranéenne en Égypte (2014) a été estimée à 12,94 mg/g. Les différences obtenues pour chaque étude sont dues à la localisation, au temps de collecte et aux conditions climatiques.

Après avoir fait l'analyse et remarqué la différence dans les proportions dans les deux régions et les différentes parties étudiées, la variance de la teneur montre que le facteur de solvant exerce un effet sur le dosage. Quel que soit l'extrait phénolique dosé, l'extrait de méthanol/ eau (80/20) plus de quantité en phénol que l'éthanol pur. Pour les phénols totaux solubles où le

méthanol s'avère meilleur solvant d'extraction. Mais la concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans les extraits éthanoliques de *zizyphus lotus L.* Tout le contenu phénolique dans les extraits dépend du type de solvant, c'est à dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant les solvants polaires pour l'extraction (Ghedadba, et al., 2015).

### 3.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium. La quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits de la plante qui est exprimée en mg équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (Amari & Gourissi, 2017).

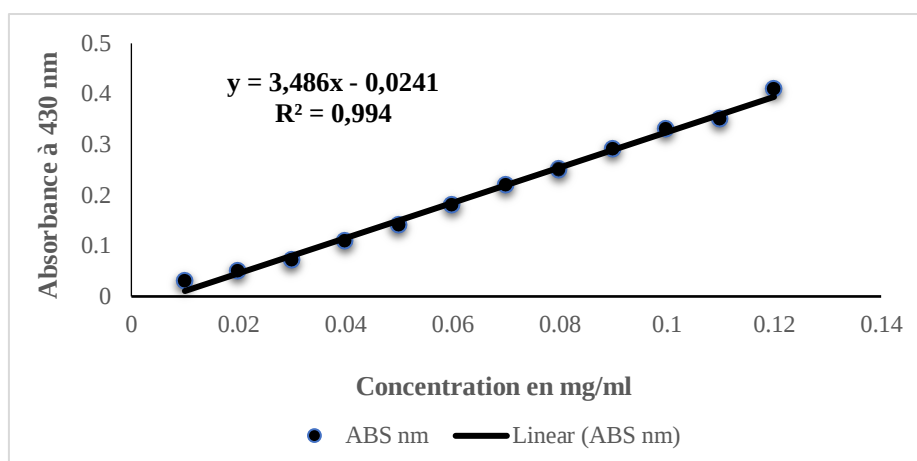


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Une couleur jaunâtre est formée dans les extraits de *Zizyphus Lotus L* après l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium  $AlCl_3$ , cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés (Tirgine, 2016).

Le tableau 8 résume les résultats obtenus des teneurs en flavonoïdes, des extraits purs méthanoliques et éthanoliques des différentes parties du plantes.

**Tableau 8 : les teneurs en flavonoïdes des extraits purs méthanoliques et éthanoliques des différentes parties du plantes étudiées**

| Région            | Teneurs en flavonoïdes (mg EAG/g MS)<br>Extraits méthanoliques |             | Teneurs en flavonoïdes (mg EAG/g MS)<br>Extraits éthanoliques |            |
|-------------------|----------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------|------------|
|                   | Partie de la plante                                            | Teneurs     | Partie de la plante                                           | Teneurs    |
| Gueltat Sidi-Saad | Fe                                                             | 11.94±0.01  | Fe                                                            | 26.66±0.07 |
|                   | T                                                              | 3.41±0.01   | T                                                             | 2.74±0.02  |
|                   | R                                                              | 3.55±0.004  | R                                                             | 3.86±0.004 |
| Tadjmout          | Fe                                                             | 10.77±0.004 | Fe                                                            | 8.94±0.08  |
|                   | T                                                              | 7.21±0.01   | T                                                             | 3,62±0.05  |
|                   | R                                                              | 4.21±0.008  | R                                                             | 1.07±0.04  |

L'extrait des feuilles du *Zizyphus Lotus L* dans les deux régions (**Gss ; Tad**) possèdent une teneur élevée en Flavonoïdes respectivement de l'ordre de 11,94 mg EAG /g MS ; 10,77 mg EAG /g MS pour les extraits MeOH. Mais les autres parties possèdent des teneurs plus faibles varier entre 3,41 et 7.21 mg EAG /g MS (Tableau 8).

Contrairement aux extraits EtOH, on remarque des valeurs Très différencié dans les deux région GSS et Tad, très élevées dans les feuilles de GSS pouvant atteindre 26.66 mg EAG /g MS, moyenne dans les feuilles de région Tad 8,94 mg EAG /g MS, et très faible dans les autres partie étudié, le contenu varie entre 1,07 mg EAG /g MS et racine 3,62 mg EAG /g MS.

D'après les résultats précédents, on constate que dans l'extrait méthanolique, la teneur en flavonoïdes importants et des proportions moyenne. La teneur en polyphénols est supérieure que celle des flavonoïdes (**Adra & Manel, 2018**).

Selon ces résultats, on peut constater une répartition inégale des flavonoïdes dans les différentes parties de la plante dans les extraits éthanoliques (**Tirgine, 2016**).

D'après les résultats obtenus on constate que nos extraits sont moins riches en flavonoïdes par comparaison avec les résultats obtenus par :

Adra et Manel en 2018 la teneur en flavonoïdes est égale 35.04 mg/g d'extrait (**Adra & Manel, 2018**).

Bakchiche et Gherib en 2014 dont la valeur est de l'ordre de 14.32 mg/g dans l'extrait hydro alcoolique des feuilles de *Z. lotus* (Bakchiche & Gherib, 2014).

Basma ; Chamsa en 2015 la teneur en flavonoïdes :  $14.567 \pm 0.950$  extrait éthanolique ;  $3.691 \pm 0.165$  extrait aqueuse (شمسة, 2015).

Belguidoum et al., (2015) sur les mêmes espèces végétales, qui a été collectée en avril 2013 à Warguela, la teneur flavonoïdique est  $2393,25 \pm 61,905$  mg/g dans l'extrait alcoolique brut obtenu à partir du mélange (éthanol + eau) ; et  $340,926 \pm 4,295$  mg/g dans l'extrait aqueuse

Marwa Ata Allah et Aisha Megrahi en 2019 sur le fruit de *n* dans la région de l'oued Souf la teneur est  $58.166 \pm 6.665$  µg/mg (عطاء الله و مقرحي, 2019).

Dans une autre étude qu'il a menée en 2013 par Rsaissi et al sur le *Zizyphus Lotus L* prélevés dans la région de Burj El Chaouia au Maroc, la teneur est égale 3029mg/g lors de l'utilisation de méthanol. Dans une autre étude en Tunisie utilisant du méthanol, la proportion de flavonoïdes était égale  $1,22 \pm 0.006$  mg/g .Et dans la Wilaya de Mila en 2017 lors de l'utilisation : L'extrait aqueuse :  $4,3719 \pm 0.9226$  µg/ml ; et l'extrait méthanolique :  $3.2608 \pm 1.314$  µg/mg.(عطاء الله و مقرحي, 2019)

Dans une autre étude réalisée en 2017 prélevés au Maroc, la teneur en phénol était enregistrée à  $77,6 \pm 0.6$  mg/g lors de l'utilisation du méthanol, et  $83.3 \pm 2.9$  mg/g lors de l'utilisation de l'éthanol, et  $15 \pm 0.3$  lors de l'utilisation l'eau distillé. Et aussi avec le résultat obtenu par Mansour (2016) de la plante *Zizyphus Lotus L* par macération avec l'éthanol la teneur est  $25.58 \pm 16.6$  mg/g. Par Amari Imen et Gourissi Houda (2017) la teneur est égale : pour l'extrait méthanolique : les flavonoïdes ( $0,008 \pm 2,96$  mg/ mg), et pour l'extrait aqueux ( $6,68 \pm 0,29$  mg/g) (Amari & Gourissi, 2017).

Les flavonoïdes ( $0,0104$  mg/g) dans partie aérienne, et ( $0,076$  mg/g) dans partie racinaire (Mounira, Nasrine, yahias, Nada, & Amel).

Dans une autre étude en 2018 utilisant différentes méthodes, les résultats des teneurs flavonoïdiques étaient les suivants : Ultrasons =  $239,36 \pm 5,23$  mg/100g ; Microonde =  $231,84 \pm 13,51$  mg/100g ; Agitation =  $157,47 \pm 65,28$  mg/100g (Karima, 2018).

### 3.3 L'estimation relative de la quantité des flavonoïdes et phénols totaux dans les extraits

- **Extrait des feuilles**

Dans les extraits MeOH des feuilles, nous avons remarqué que la quantité des phénols totaux est complètement différente dans chaque région, où elle atteint une teneur maximale aux régions de Tad égale à 29,88 mg EAG/g MS, ce qui représente 77,41% de la quantité totale des phénols obtenue pour les différents extraits des feuilles, 34,95% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble (feuilles + Tige + racine) proviennent de la même région. Alors que la teneur atteint 26,44% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.

Les flavonoïdes suivent la même évolution des phénols, dont la quantité est importante ; elle atteint au maximum 11,94 mg EAG/g MS dans la région de GSS. Cette teneur est représentée 52,58% de la quantité totale des flavonoïdes obtenues dans les extraits des feuilles, et 63,14% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties proviennent de la même région. Alors que la teneur atteint 29,06% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les trois régions.

Mais dans les extraits EtOH la comparaison se fait entre les deux région GSS et Tad, une teneur égale à 21,66 mg EAG/g MS (feuille GSS), qui représente 52,91% de la quantité totale des phénols obtenue pour les différents extraits des feuilles, 33,47% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble proviennent de la même région. Alors que la teneur atteint 19,94% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions. Pour les flavonoïdes la teneur des feuilles de GSS plus élevés 26,66 mg EAG/g MS qui représente : 74,89% de la quantité totale des flavonoïdes obtenues dans les extraits des feuilles, 88,10% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble, 60,74% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.

- **Extrait des tiges et racines**

**Tableau 9 : L'estimation relative de la quantité des flavonoïdes et phénols totaux dans les extraits**

| Les extraits méthanoliques                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Les extraits éthanoliques                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Pour les extraits des tiges :</p> <p>Une teneur phénoliques maximale aux régions de Tad égale à 33,74 mg EAG/g MS, ce qui représente :</p> <p>72,91% de la quantité totale des phénols obtenue pour les différents extraits des tiges.</p> <p>25,59% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble (feuilles + Tige + racine) proviennent de la même région.</p> <p>19,20% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.</p> <p>Alor que les teneur flavonoïdique sont faibles pour les deux régions : 7,21 mg EAG/g MS dans la région de GSS. Cette teneur est représentée : 67,89% de la quantité totale des flavonoïdes obtenues dans les extraits des tiges.</p> <p>32,49% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble proviennent de la même région.</p> <p>17,55% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les trois régions.</p> | <p>Une teneur égale à 34,72 mg EAG/g MS de tige de Tad), qui représente :</p> <p>77,36% de la quantité totale des phénols obtenue pour les différents extraits des tiges.</p> <p>53,65% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble (feuilles + Tige + racine) proviennent de la même région.</p> <p>22,83% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.</p> <p>Pour les flavonoïdes la teneur de tige de Tad est égale 3,62 mg EAG/g MS :</p> <p>65,91% de la quantité totale des flavonoïdes obtenues dans les extraits des tiges, 26,55% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble, 8,24% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.</p> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Pour les extraits des racines :</p> <p>Une teneur phénoliques maximale aux régions de Tad égale à 33,74 mg EAG/g MS, ce qui représente :</p> <p>74,43% de la quantité totale des phénols obtenue pour les différents extraits des racines.</p> <p>39,46% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble proviennent de la même région.</p> <p>29,61% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.</p> <p>Les teneur flavonoïdique sont faibles pour les deux régions : 4,21 mg EAG/g MS dans la région de Tad. Cette teneur est représentée : 54,25% de la quantité totale des flavonoïdes obtenues dans les extraits des tiges.</p> <p>18,97% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble proviennent de la même région.</p> <p>10,25% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les trois régions.</p> | <p>Une teneur égale à 12,11 mg EAG/g MS de racine GSS), qui représente :</p> <p>53,04% de la quantité totale des phénols obtenue pour les différents extraits des racines. 18,71% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble proviennent de la même région.</p> <p>11,15% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.</p> <p>Pour les flavonoïdes, la teneur de tige de Tad est 1,07 mg EAG/g MS :</p> <p>55,44% de la quantité totale des flavonoïdes obtenues dans les extraits des racines, 7,85% de la somme globale des phénols obtenus dans les trois parties ensemble, 2,44% de la somme totale de toutes les parties étudiées dans les deux régions.</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### 3.4 Conclure

Grâce à nos études et études antérieures, nous concluons que :

Toutes les parties de la région de Tad contiennent une grande quantité de phénols totaux, alors qu'elles contiennent une quantité minimale de flavonoïdes.

En comparant les solutions d'extrait des deux régions, nous constatons que les teneurs en phénols totaux des extraits EtOH sont supérieures aux teneurs en phénols totaux des extraits MeOH. Par contre les teneurs en flavonoïdes, les extrait MeOH sont meilleur aux extraits EtOH.

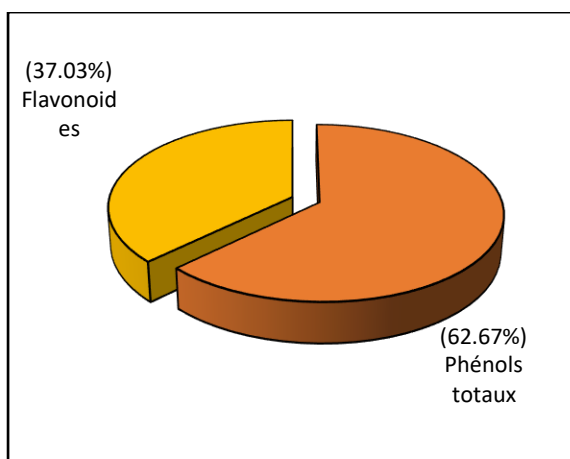
Le contenu polyphénoliques varie quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies, etc.

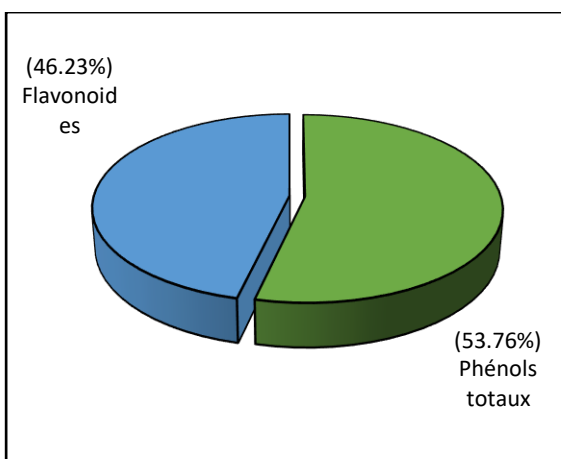
- le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante **(Bentabet, Boucherit-Otmani, & Boucherit, 2014).**

- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux **(Adra & Manel, 2018).**

Généralement les phénols totaux englobent une partie importante dans les deux régions et dans les deux solvant d'extraction par apport aux flavonoïdes. Les figures suivantes représentent les proportions des phénols totaux et flavonoïdes.



**Figure 17 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits MeOH dans les Fe.**



**Figure 18 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits EtOH dans les Fe.**

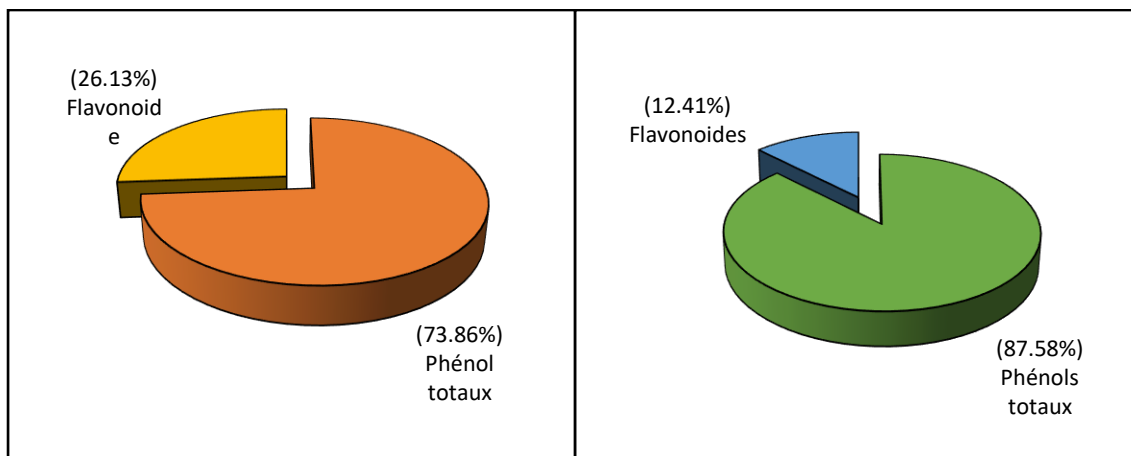


Figure 19 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits MeOH dans les T.

Figure 20 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits EtOH dans les T.

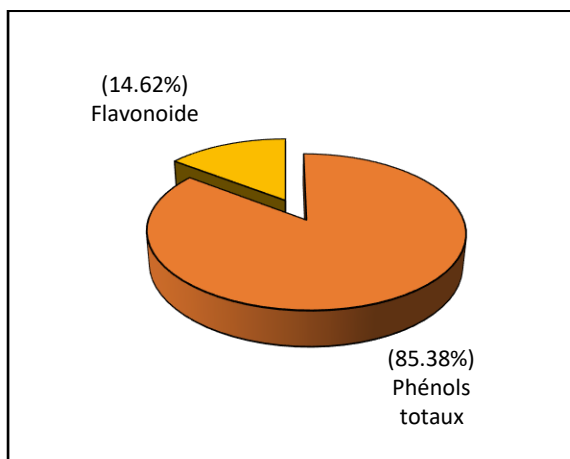
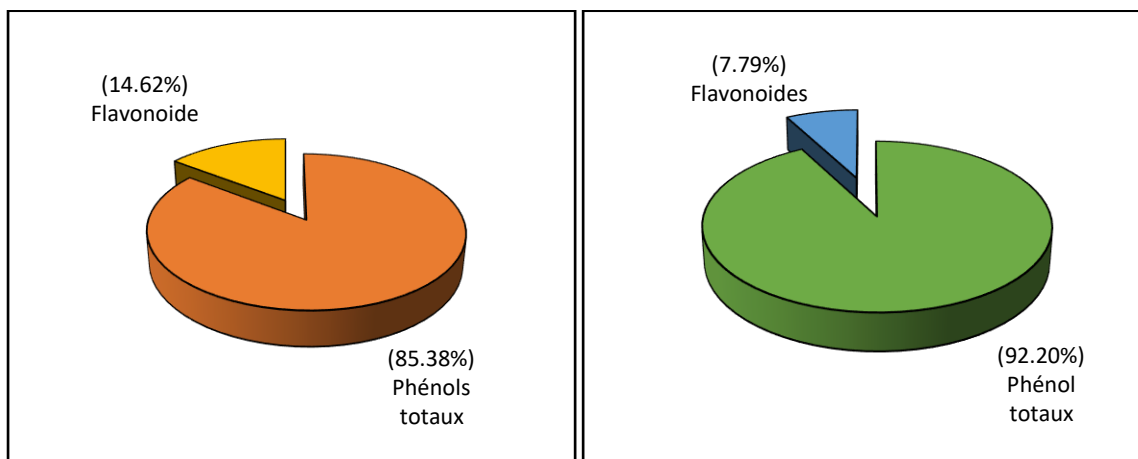


Figure 21 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits MeOH dans les R.

Figure 22 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits EtOH dans les R.

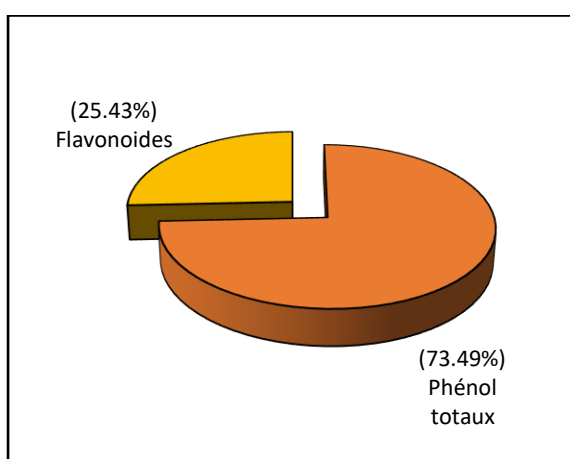
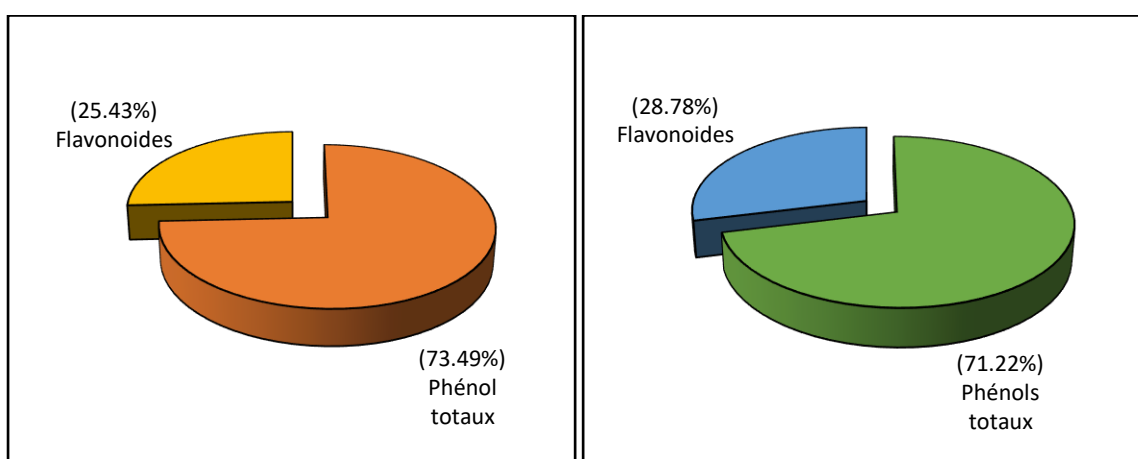


Figure 23 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits MeOH dans toutes les parties.

Figure 24 : La teneur des flavonoïdes par apport aux phénols totaux des extraits EtOH dans toutes les parties.

#### 4. Activité antioxydante

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits obtenus, différentes méthodes chimiques ont été utilisées ; le test de FRAP (FerricReducingAntioxidant Power) et le test de DPPH (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle). Le principe de ceux-ci repose sur un changement de couleur qui a été suivi par la lecture de l'abs à des longueurs d'ondes spécifique (**Ramdane, 2018**).

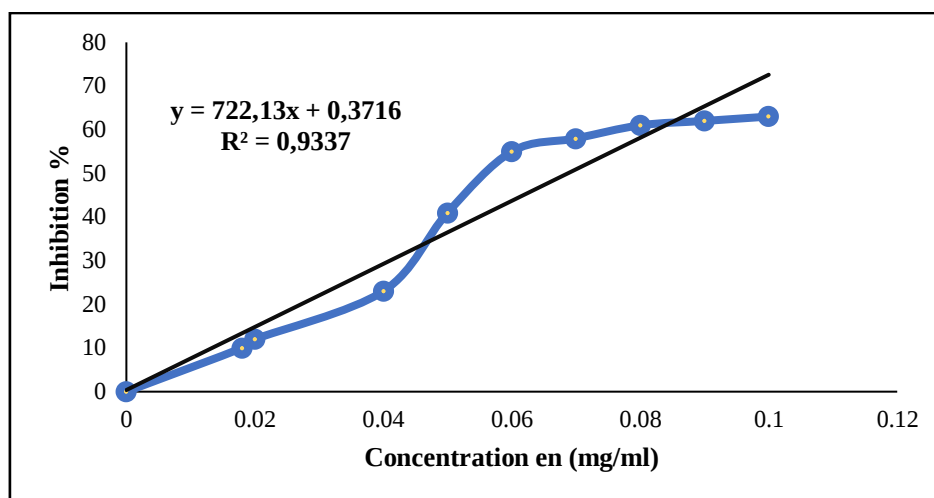
##### 4.1 Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

Le test de DPPH est un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire des extraits de plante. De nombreuses études démontrent l'importance portée aux antioxydants naturels dans les domaines de l'industrie agroalimentaire et médicale, mais également leurs rôles protecteurs contre les espèces réactives oxygénées, ainsi que la corrélation existante entre les composés bioactifs des matières végétales et leur capacité antioxydants (**Guerres & Moussous, 2018**).

La mesure de la densité optique (DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant (matériel et méthode). Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes (Annexe II et III) de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extraits de la plante. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (**IC<sub>50</sub>**), qui constitue l'activité antioxydante des extraits étudiés.

La variation du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration en antioxydant (phénols), nous ont permis de déterminer les valeurs d'IC<sub>50</sub> (qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres). De même nous avons calculé les IC<sub>50</sub> d'antioxydants de référence afin de comparer nos extraits (**Bekhaoua & Bensayah, 2015**).

Par les courbes des figures qui représentent les courbes d'activité des échantillons étudiés en inhibition des radicaux libres DPPH par lesquels la valeur IC<sub>50</sub> des échantillons est calculée (l'annexe II, III), (tableaux 10 et 11). Montrer que les extraits MeOH, EtOH et l'acide ascorbique inhibent les radicaux libres d'une manière directement proportionnelle à l'augmentation de la concentration. C'est-à-dire que plus la concentration est élevée, plus l'activité antioxydante est importante.



**Figure 25 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.**

#### 4.1.1 Détermination des valeurs $IC_{50}$

L'activité antioxydante de chaque extrait MeOH et EtOH d'*Zizyphus lotus L* a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique du DPPH, les résultats seront comparés avec le standard qui est l'acide ascorbique (figure 25). A partir des courbes des taux d'inhibition (Annexe II et III), nous avons pu déduire graphiquement les valeurs d' $IC_{50}$  de l'acide ascorbique et de l'extrait des différentes parties de la plante étudiée.

La valeur de  $IC_{50}$  est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (taux d'inhibition I%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d' $IC_{50}$  est faible, plus l'activité anti radicalaire d'un composé est appréciable.

Nous avons déterminé la concentration d' $IC_{50}$  pour comparer des extraits, les résultats sont résumés dans les deux tableaux 10 et 11.

##### a) Les extraits méthanoliques

Selon ces résultats, il est à constater que quel que soit l'espèce, la partie feuille de la région de GSS est celle qui a révélé une  $IC_{50}$  la plus faible (0.683 mg/ml). Ceci pourrait justifier que ces feuilles de *Z. lotus* sont significativement plus actives que les autres parties dans toutes les régions. Les valeurs d' $IC_{50}$  des extraits méthanoliques de racine de la région GSS et la ville de Tad pour les trois parties feuilles ; tige ; racine sont égales à (0,725 ; 0.813 ; 0.794 ; 0.708 mg/ml) respectivement (tableaux 10). Ces résultats révèlent des valeurs élevées. Donc l'activité est plus faible se trouve dans tous les extraits mentionnés. Et tous les extraits sont

plus éloignées à celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,069 mg/ml avec de taux d'inhibition de 63%.

**Tableau 10 : Les résultats des IC<sub>50</sub> de test DPPH pour les extraits MeOH**

| Les extraits méthanoliques |    | IC <sub>50</sub> (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) Max |
|----------------------------|----|--------------------------|---------------------------|
| <b>Gueltat Sidi-Saad</b>   | Fe | 0,683                    | 89,53                     |
|                            | T  | 1,760                    | 70,03                     |
|                            | R  | 0,725                    | 88,36                     |
| <b>Tadjmout</b>            | Fe | 0,813                    | 60,32                     |
|                            | T  | 0,794                    | 85,37                     |
|                            | R  | 0,708                    | 74,07                     |

#### **b) Les extraits éthanoliques**

Parmi les six extraits testés, les racines de deux régions GSS et Tad présentent la plus grande capacité antiradicalaire, Et une activité antioxydante important (IC<sub>50</sub> est égale 0,062mg/ml ; 0,063mg/ml) (tableau 11). Les autres parties de deux régions, Les valeurs d'IC<sub>50</sub> varient de 0,387 mg/ml à 0,586 mg/ml, Ce qui représente une activité antiaxydante plutôt faible par rapport au témoin qui est Ac Ascorbique.

**Tableau 11 : Les résultats des IC<sub>50</sub> de test DPPH pour les extraits EtOH.**

| Les extraits éthanoliques |    | IC <sub>50</sub> (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) Max |
|---------------------------|----|--------------------------|---------------------------|
| <b>Gueltat Sidi-Saad</b>  | Fe | 0,387                    | 59,38                     |
|                           | T  | 0,523                    | 60,63                     |
|                           | R  | 0,062                    | 51,3                      |
| <b>Tadjmout</b>           | Fe | 0,586                    | 55,66                     |
|                           | T  | 0,443                    | 57,52                     |
|                           | R  | 0,063                    | 52,39                     |

## c) Comparaison entre les deux extraits

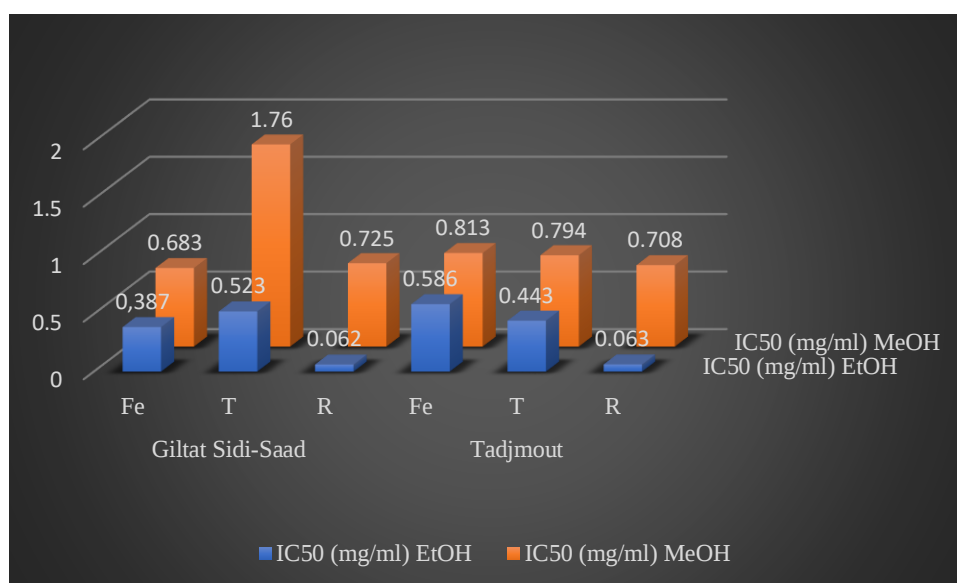


Figure 26 : Comparaison des IC<sub>50</sub> entre les extraits MeOH et EtOH.

À travers les valeurs d'IC<sub>50</sub> indiquées dans l'histogrammes pour les extraits MeOH et EtOH, nous constatons que les extraits EtOH contiennent des valeurs faibles par rapport aux extraits MeOH, ce qui explique pourquoi ils contiennent des activité antioxydants importante.

Dans plusieurs études dans différentes régions, les valeurs étaient les suivantes :

Par (Adra & Manel, 2018) L'extrait méthanolique des feuilles de *zizyphus lotus L* ont une activité antioxydante très importante leur IC<sub>50</sub> est 0,046 mg/ml, dont sa valeur est plus proche à celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,024mg/ml.

Par (Bakchiche & Gherib, 2014) dont la valeur d'IC<sub>50</sub> est de l'ordre de 0.042 mg/ml.

En Tunisia., 2016 les feuille de *Zizyphus Lotus L* de provenance Rouhia a enregistré l'activité la plus élevée (0,01 mg/ml). L'EAZJMD *Z. jujuba* (Mahdia) a montré une activité antioxydante élevée ( IC<sub>50</sub>= 0,61 mg / ml). En fait, une corrélation linéaire avait été observée entre l'IC<sub>50</sub> d'extraits de feuilles de *Z. Lotus* et leurs niveaux phénoliques. Les niveaux de capacité antioxydante étaient maximaux au stade de la floraison (Meriem, et al., 2017).

Par Mounira Kadri et al., L'étude biologique consiste à l'évaluation des activités antioxydante de l'extrait MeOH a été évaluée par la méthode du DPPH. Ces résultats ont révélé que l'extrait MeOH de *Z. Lotus* Avait l'activité de piégeage de radicaux libres. L'IC<sub>50</sub> pour l'activité de piégeage des radicaux DPPH était de 0,0047 mg/ml de partie aérienne, et 0,014 mg/ml de partie racinaire (Mounira, Nasrine, yahias, Nada, & Amel).

Dans une autre étude en 2018 utilisant différentes méthodes, les résultats de tests DPPH étaient les suivants : Ultrasons =  $63,64 \pm 2,59\%$  ; Microonde =  $57,84 \pm 3,2\%$  ; Agitation =  $55,59 \pm 9,1\%$  (Karima, 2018).

Par Meziti Asma en 2018 l'effet antioxydant des extraits *Zizyphus vulgaris* a été évalué en utilisant plusieurs tests in vitro et in vivo.  $IC_{50}$  de 0,0236 mg/ml dans l'essai de DPPH (Meziti, 2018).

Par Benhamou en 2012 ;  $l'IC_{50} = 3,948 \pm 0,770$  mg/ml dans l'extrait MeOH, et en 2015 par Belguidoum ;  $l'IC_{50} = 0,084 \pm 3,989$  mg/ml lors de l'utilisation (éthanol+ eau). (شمسة, 2015)

Par Marwa Atallah et Aisha Megrahi en 2019., L'étude a été réalisée sur le fruit Sidr, où le spécimen de plante a été récolté dans la municipalité d'Al-Marara, située au nord-ouest de Wadi El-Oued qui affiliée au दौरا Djamea le 15 août 2017 (stade de fructification),  $l'IC_{50}$  était égale  $0,663 \pm 25,77$  mg/ml. (عطاء الله و مقرحي, 2019).

Autre étude sur le *Zizyphus Lotus L* du Maroc à l'aide de méthanol,  $IC_{50}$  a été estimée à  $0,477 \pm 47,6$  mg/ml. Et par Ait- Aissa et Aicha en 2016 sur la plante de Sidra à l'aide de méthanol comme solvant d'extraction  $l'IC_{50}$  est égale 2045-1022.81 mg/ml (Aissa & Aicha, 2016).

Il a été démontré que les molécules antioxydant telles que l'acide ascorbique, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène, ceci peut être expliqué par la forte teneur en flavonoïdes, et polyphénols.

En général, nous concluons, à travers nos études et études antérieures, que les plantes Sidra *Zizyphus Lotus L* ont une activité antioxydante faible ou modérée (عطاء الله و مقرحي, 2019).

La différence dans l'activité anti-radicalaire au DPPH entre les extraits analysés est probablement due à leur composition en différents composés phénolique. La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité entre les extraits.

Les différents résultats de recherche sont dus aussi aux différents solvants, conditions climatiques et géographiques, ainsi qu'à une différence dans la méthode d'extraction elle-même (عطاء الله و مقرحي, 2019).

#### 4.2 Pouvoir réducteur FRAP

L'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée zizyphus lotus a été évalué en utilisant la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxydant power) (Adra & Manel, 2018).

En plus des méthodes précédemment décrites, l'activité antioxydante a été évaluée par le test FRAP basé sur la capacité des extraits à réduire les ions fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ions de fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). La réduction du fer ferrique s'accompagne d'un changement de couleur du jaune vers le bleu vert. L'intensité de la couleur dépend du potentiel réducteur des composés présents dans le milieu réactionnel (Guerres & Moussous, 2018). Afin de tester et de déterminer la concentration d'extrait le plus actif (Rais, et al., 2020).

Par des dilutions en cascade des différents extraits à tester (0 à 10mg/ml), ainsi que des substances de référence, l'acide ascorbique. Pour chaque concentration, nous mesurons les DO à 593 nm.

Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats, représentés dans les figures (27 et 28), nous ont permis de remarquer que la réduction du fer est proportionnelle avec les concentrations utilisées. Une augmentation de l'absorbance signifie une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Amari & Gourissi, 2017).

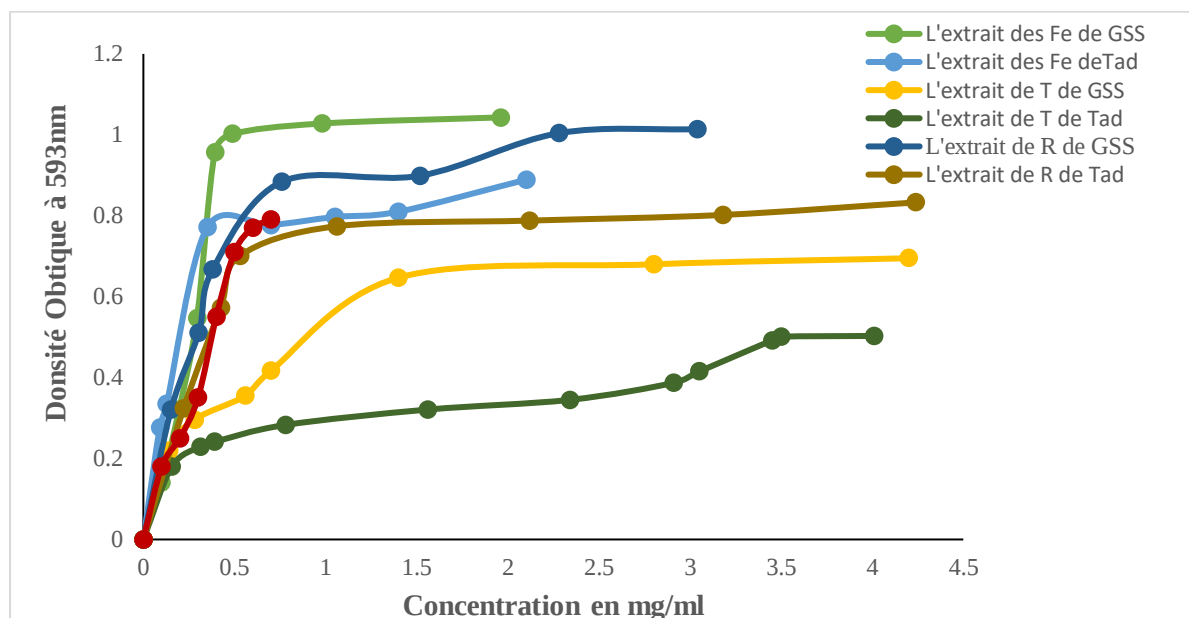
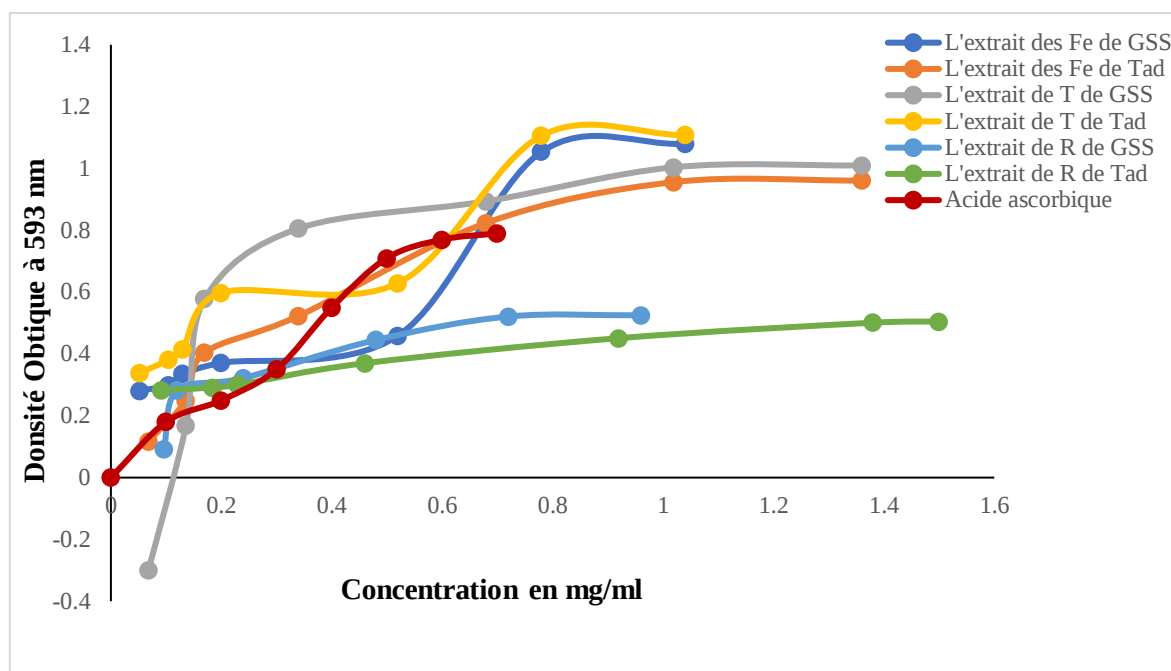


Figure 27 : Evolution de la densité optique en fonction de concentration des extraits MeOH



**Figure 28 : Evolution de la densité optique en fonction de concentration des extraits EtOH.**

Les courbes donnant l'évolution du DO en fonction de concentration pour chaque extrait MeOH et EtOH.

D'après les résultats, on remarque que : la capacité de la réduction est proportionnelle à la concentration des échantillons. C'est à dire le pouvoir réducteur et les concentrations dépendante. Car nous avons obtenu une série de courbes de même tendance.

Nous avons déterminé la concentration  $IC_{50}$  pour comparer des extraits, les résultats sont résumés dans les deux tableaux. ( $IC_{50}$  de l'acide ascorbique est 0,380 mg/ml).

**Tableau 12 : Les résultats des  $IC_{50}$  de test FRAP pour tous les extraits**

| Régions                             | Guelat Sidi-Saad |       |       | Tadjmout |       |       |
|-------------------------------------|------------------|-------|-------|----------|-------|-------|
| Parties                             | Fe               | T     | R     | Fe       | T     | R     |
| $IC_{50}$ des extraits MeOH (mg/ml) | 0,250            | 0,890 | 0,300 | 0,200    | 3,500 | 0,450 |
| $IC_{50}$ des extraits EtOH (mg/ml) | 0,550            | 0,185 | 0,950 | 0,300    | 0,151 | 1,500 |

D'une manière similaire à ce qui a été observé lors du test précédent ; DPPH. Les extraits de *Zizyphus Lotus L* montrent une activité élevée dans le test FRAP contrairement au test DPPH.

Pour les extraits MeOH, Selon les valeurs d' $IC_{50}$ , il en ressort que les extraits Méthanoliques des feuilles de deux régions GSS ; Tad sont ceux qui ont présenté des concentrations minimales. Où les valeurs d' $IC_{50}$  sont 0,250 ; 0,200 mg/ml respectivement. Ces  $IC_{50}$  sont encore meilleurs que l' $IC_{50}$  d'acide ascorbique qui est 0.380 mg/ml. Donc les feuilles de *Z. lotus* représentent une activité antioxydante très importants.

Le racine de région GSS et Tad sont aussi représentent une activité antioxydante importants, l' $IC_{50}$  sont 0.300 mg/ml ; 0,450 mg/ml respectivement. Les autres parties contiennent une activité faible avec des concentrations élevées entre 0.880 mg/ml à 3.500 mg/ml. L'extraits de tige de deux régions ont marqué un effet moins important et sont significativement moins actifs.

Les valeurs enregistrées dans les extraits EtOH sont complètement différentes des valeurs des extraits MeOH. Où les deux régions ont enregistré des concentrations minimales dans les deux tiges (T GSS : 0,300 mg/ml ; T Tad : 0,151 mg/ml) qui représentent une activité antioxydante très importantset. Suivi par les feuilles de région de Tad avec des concentrations 0,300 mg/ml et feuilles de région GGS 0,550 mg/ml. Alors que la racine de deux régions a enregistré d' $IC_{50}$  maximale qui est loin de l' $IC_{50}$  pour l'acide ascorbique, elles représentent une faible activité antioxydante (tableaux 12).

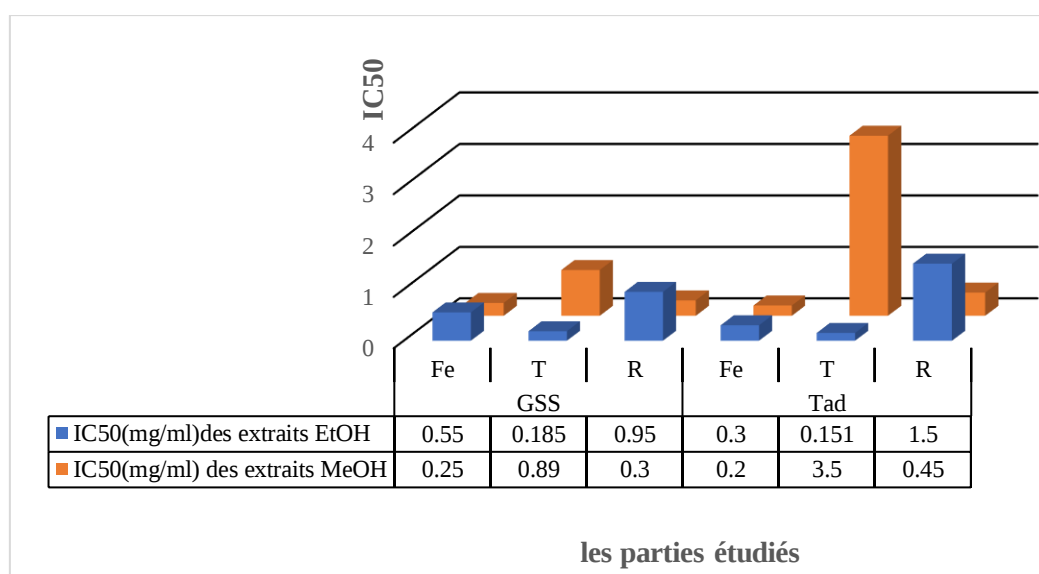


Figure 29 : Comparaison des  $IC_{50}$  entre les extraits MeOH et EtOH.

Dans ce test, nous constatons également que les extraits EtOH sont meilleurs que les extraits MeOH en termes d'activité antioxydants. On peut expliquer cette différence entre les deux solvant que le mélange méthanol/eau est un solvant très fort et extrait de nombreux métabolites secondaires différents voire des métabolites primaires présents dans la plante étudiée *Z. lotus*. Ce qui affecte les résultats et les valeurs obtenus dans tous les tests précédents. Contrairement au solvant de l'éthanol, malgré notre faible productivité, nous avons obtenu des teneurs importantes en phénol et flavonoïdes, ainsi que la capacité d'inhiber les radicaux libres et l'efficacité d'activité antioxydant.

Nos résultats sont en accord avec ceux de nombreuses études précédentes, notamment :

Par **(Adra & Manel, 2018)** Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique zizyphus lotus est égale à  $IC_{50} = 0.618 \text{ mg/ml}$  et cette valeur, elle est nettement moins. Donc ces résultats montrent la présence des composés phénoliques tels que les polyphénols, les flavonoïdes dans l'extrait MeOH qui possèdent la propriété de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants

Par Bakchiche et Gherib en (2014) que l'extrait méthanolique de *Zizyphus Lotus L* possède une activité importante par la méthode de FRAP,  $IC_{50}$  est égale  $0.006 \text{ mg/ml}$  **(Bakchiche & Gherib, 2014)**.

L'extrait MeOH des feuilles du *Zizyphus lotus L* révèle une meilleure activité antioxydante totale ( $0.5 \text{ mg/ml}$ ) par rapport à l'extrait AQ ( $10 \text{ mg/ml}$ ) **(Amari & Gourissi, 2017)**.

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols, ce qui explique le potentiel réducteur des extraits du *Zizyphus lotus L* riche en polyphénols **(Amari & Gourissi, 2017)**.

# *Conclusion*

Les plantes médicinales ont été longtemps utilisées dans la médecine traditionnelle et représentées le constituant majeur des différents ingrédients et mélanges thérapeutiques ce qui a été expliqué aujourd'hui par la présence de composés bioactifs à potentiels pharmaceutiques importants.

L'objet de ce travail était l'étude phytochimique et l'activité antioxydant des composés phénoliques de l'espèce *Zizyphus Lotus L.* Une plante de la famille des Rhamnacées, employée en Algérie pour ses propriétés thérapeutiques.

La préparation des extraits à partir des différentes parties de *Z. lotus* a montré que les rendements des extraits méthanoliques sont très importants par rapport aux extraits éthanoliques.

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des alcaloïdes avec des teneurs différents.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes de polyphénols dans les deux extraits éthanoliques et méthanoliques. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes.

Les résultats obtenus dans l'estimation de la capacité de piégeage du radical libre DPPH, montrent que toutes les parties de la plante étudiées dans la deux extraits méthanoliques et éthanoliques possèdent une activité antioxydante moyenne ; à l'exception des extraits éthanoliques des deux racines par les deux région Gueltat Sidi Saad et tadjmout qui ont montré un pouvoir antioxydant intéressant.

Par contre, le pouvoir antioxydant par la méthode de réduction du Fer (FRAP) a montré que les extraits méthanolique et éthanolique possèdent des pouvoirs réducteurs élevés dans la plupart des extraits.

On peut résumer que l'éthanol est meilleur que le méthanol en termes de dissolution des substances actives de cette plante ; par contre le méthanol est préféré point de vue rendement.

Le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la nature de l'espèce végétale et l'organe utilisé, la taille des particules, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation. L'utilisation d'un

mélange hydroalcoolique comme solvant d'extraction donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction.

Sur la base de ces résultats obtenus dans cette étude, il est possible de considérer que la différence entre les méthodes d'extraction de ces composés actifs se traduisant par une efficacité différente de l'activité antioxydante, du fait de la capacité des solvants d'extraction à dissoudre les composés actifs dans la plante. Par conséquent, on peut conclure que le pouvoir antioxydant dépend principalement de la composition des extraits en substances actifs et pas de leurs teneurs.

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude ont permis de valoriser le potentiel biochimique de la plante locale *Z. lotus*. Et à la lumière de ces résultats, des nouvelles perspectives peuvent approfondir les connaissances sur la biochimie de cette espèce.

Il est souhaitable de compléter et d'approfondir le travail par des analyses biochimiques de chromatographie et de spectroscopie dans le but d'identifier et d'isoler des composés biologiquement actifs.

Il serait aussi intéressant de faire des tests in vivo sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et d'étudier l'effet synergique des extraits pour améliorer l'index thérapeutique.

Il reste encore d'autres plantes locales utiles qui n'ont pas été analysées et qui mériteraient de déterminer leur potentialité dans le domaine étudié.

Ce travail a fourni un complément aux connaissances phytochimiques de la plante locale *Z. lotus* et a permis de mettre en évidence le rôle antioxydant des polyphénols naturels.

La biodiversité des plantes médicinales traditionnelles constitue un réservoir assez important de métabolites secondaires pour la recherche dans le futur.

# *Références*

## *Bibliographiques*

## Bibliographie

- Abbas, K., & Belhout, T.** (2019). Etude de l'activité hypolipémiante des polyphénols des graines de *Pinus pinea* L sur des rats hyperlipidémiques induit par le Triton X-100. Thèse, Université de Bouira, Bouira. Récupéré sur <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/handle/123456789/4976>.
- Abdel-Zaher A.O., Salim S.Y., Assaf M.H.et Abdel-Hady R. H.** (2005). Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *J. Ethnopharmacol*, 101 :129-138.
- Abu-Zarga M., Sabri S., Al-Boudi A., Ajaz S., Sultana N. et Rahman A.U.** (1995). New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, 58 : 504-511.
- Achouche, M., & Azouzi, A.** (2019). Evaluation in vitro du pouvoir hypoglycémiant des extraits des feuilles de *Punica granatum* L. Thèse, Université Djilali BOUNAAMA de Khemis-Miliana , Khemis-Miliana .
- Adra, A., & Manel, A.** (2018). Caractérisation phytochimique et évaluation de l'effet antioxydant et anti-hyperglycémiant de *Zizyphus lotus* L de la région de l'Oued d'Algérie. Thèse, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie , Constantine.
- Aissa, A., & Aicha, A.** (2016). Effets des méthodes d'extraction (agitation, microonde et sonication) sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydant des extraits de feuilles et de graines de *Zizyphus jujuba*. Université A. MIRA – Bejaia, Bejaia.
- Ali-rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Sabrina, M.** (2018, Février 21). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne. pp. 15-16.
- Amari, I., & Gourissi, H.** (2017). Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro des extraits méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*. Thèse, Université FrèresMentouriConstantine 1 .
- Ammari, M., & Laouar, S.** (2019). Contribution à étude phyto-chimique et l'activité biologique des extraits méthanoliques de *Calligonum comosum* L'her. issue de quatre régions différentes ( Oued-Souf ). Thèse, El OUED.

- Bakchiche, B., & Gherib, A.** (2014, November). Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia. *International Journal of Innovation and Applied Studies*.
- Bekhaoua, A., & Bensayah, N.** (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et étude de l'effet inhibiteur sur l'  $\alpha$  - amylase de quelques plantes antidiabétiques. Thèse, Université Amar TELIDJI Laghouat , Laghouat.
- Benidiri, S., & Benmammar, S.** (2016). Dosage des Composés Phénoliques et Détermination de L'activité Antioxydante de Rhamnus alaternus L et Malva sylvestris L. Thèse , Université ABDERRAHMANE MIRA – Bejaia , Bejaia.
- Benkaddour, S., & Ben abd allah, S.** (2019). Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de Malva sylvestris L. Thèse, Bordj Bou Arreridj.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, & Boucherit, K.** (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredolia aretioides de la région de Béchar en Algérie. *Pharmacognosie*. doi:10.1007/s10298-014-0834-x.
- Benzaoui, F., & Houari, A.** (2016). Contribution à l'étude des activités biologiques de Brocchia cinerea(Vis.) et Matricaria pubescens(Desf.). UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA , OUARGLA .
- Berkal, G., & Bouchama, S.** (2016). Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : Euphorbia characias L. Thèse, Constantine.
- Bouchouka, E.** (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse, BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA , Annaba.
- Djemai Zoughlache, S.** (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L. Thèse, Batna.
- Elaloui M., E.** (2017). Quantification of total phenols ,flavonoides and tannins from ziziphus jujube (mill) and ziziphus lotus L (Desf).Leaf extracts and their effects on antioxidant and antibacterial activities. *journal homepage* .

- Emilio Guirado, I., Siham Tabik, I., Domingo Alcaraz-Segura, I., Javier Cabello, I., Herrera, F. E., Siham Tabik, I., Herrera, F.** (2017, november 26). Deep-learning Versus OBIA for Scattered Shrub Detection with Google Earth Imagery: *Ziziphus lotus* as Case Study. *Remote Sens*, 2.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., A.** (2015). Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* de Noé ex Coss. Lavoisier.
- Guerres, C., & Moussous, K.** (2018). Effets antioxydants et anti-enzymes du brunissement des extraits de *Marrubium vulgare* L. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA , BOUIRA.
- Hadj Aissa, F.** (2004). Etude de l'évolution de l'activité antioxydant et antiradicalaire de feuilles et fruits du Pistachier de l'atlas. thèse, Université Amar Telidji - Laghouat, Laghouat.
- Hamdad, H.** (2017). Conditions optimales de la germination des graines de *Ziziphus lotus* L. à différentes températures et durées de trempage (Provenance: Beni Snous, Tlemcen). Tlemcen .
- Hamza, K., & Meziani, A.** (2015). Etude de l'activité biologique de l'extrait Aqueux des feuilles du *Ziziphus lotus* L. Constantine.
- Kanoun, K.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Diplome de Magister , UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMEN, Tlemcen.
- Karima, M.** (2018). Optimisation de l'extraction assistée par l'ultrason des composés phénoliques du jujubier *Ziziphus lotus*. Thèse , UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA , Bouira.
- Khacheba, I.** (2020). Extraction et dosage des métabolites secondaires. Université Amar Telidji- Laghouat, département de biologie.
- Lamiae, B., Ghizlane, E., Jamal, I., & Laila, N.** (2016, October ). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 316. Récupéré sur <http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n30p313>

- Lehout, R., & Laibe, M.** (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Thèse , Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie .
- Mbaïhougadobé, Ngakegni, L., T, G.** (2017, November 10). Evaluation de l'activité antioxydante de trois espèces de plantes utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad. 30. Unité de chimie du végétale et de la vie, PER-AUF-PMTA, Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien N'gouabi, BP 69, Brazzaville, Congo; Laboratoire de Recherche sur les Substances Naturelles, Faculté des Sciences Exactes et Appliquées, Univer.
- Meriem, A., & Sadaoui, R.** (2019). Quantification des composés phénoliques et activités biologiques de l'extrait méthanolique De zingiber officinale et opuntia ficus indica. Thèse , Oum el bouagui.
- Meriem, E., Amel, E., Hanene, G., Imen, B. Y., Nada, B. O., Hajlaoui, R.** (2017). Quantification of total phenols, flavonoides and tannins from *Ziziphus jujuba* (mill.) and *Ziziphus lotus* (l.) (Desf). Leaf extracts and their effects on antioxidant and antibacterial activities. IGSM.
- Mesrane, K.** (2018). Optimisation de l'extraction assistée par l'ultrason des composés phénoliques du jujubier *Ziziphus lotus* . BOUIRA.
- Meziti, A.** (2018). Régulation de l'inflammation par les extraits de *Rubus fruticosus* et *Zizyphus vulgaris*. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Setif.
- Moctar, C., PhD Abdoul, N., Moussa, B., PhD Idrissa, M., Amadou, M., Tidjani, I., & MC Ikhiri, K.** (2020, Février). Etude Bibliographique et Phytochimique de Quelques Plantes Médicinales Utilisées Pour Le Traitement de Certaines Maladies par les Tradipraticiens de la Zone de l'Azawagh au Niger. *European Scientific Journal*, 127.
- Mounira, K., Nasrine, s., yahias, A., Nada, S., & Amel, S. (s.d.).** ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE D'EXTRAIT METHANOLIQUE DU ZIZYPHUS. université Elchahid Hamma takhder. Et-oued, et Labo Bio-ressources sahariennes , Faculté SNV tUniversité Kasdi Merbah- ouargla . Laboratoire de Bio'ressources sahariennes.

- Panche, A. N., & Chandra, A. D.** (2016). Flavonoids: an overview. *JNS ; JOURNAL OF NUTRITIONAL SCIENCE*.
- Rais, C. S., Benidir, M., Elhanafi, L., Zeouk, F., Errachidi, L. E., & Louahlia, S.** (2020, juin 8). Seeds of *Zizyphus lotus*: In Vivo Healing Properties of the Vegetable Oil. Hindawi. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/1724543>
- Ramdane, F.** (2018). Contribution à l'étude des activités biologiques de quelques plantes médicinales du Sahara algérien : *Nauplius graveolens*, *Zizyphus lotus* et *Capparis spinosa*. Thèse, Algérie.
- Rasmané Abdou, O., Moumouni, K., Constantin, D., Adama, H., Valérie B.E.J.T, B., Lamoussa Paul, O., Eloi PALE et Roger H.C, N.** (2015, mars ). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso . Article in *International Journal of Biological and Chemical Sciences* · , 283. Récupéré sur <http://ajol.info/index.php/ijbcs> .
- Saffidine, K.** (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L. thèse, DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE, Setif.
- Suksamrarn S., Suwannapoch N., Aunchai N., Kuno M., Ratananukul P., Haritakum R., Jansakul C. et Ruchirawat S.** (2005). Ziziphine N, O, P, new anti plasmodial cyclopeptides alkaloids from *Zizyphus oenopliavar. Brunoniana*. *Tetrahedron*, 61 :1175-1180.
- Sunna, E.** (2019, Avril 29). Les feuilles de sidr : bienfaits et utilisations. Récupéré sur Ton Ebook sur le jeûne du ramadan.
- Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi J, Hilali, K., Talbi, H., . . . Hilali, K.** (2014). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. Laboratoire Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques. Université Hassan 1er . Laboratoire de Biochimie et Neurosciences Faculté des Sciences et Techniques. Université Hassan 1er. Maroc. , maroc.

**Taouzinet, M.** (2017). Extraction, dosage et fractionnement sur CCM des composés phénoliques des feuilles de Melia azedarach. Thèse, Université A. MIRA - Bejaia, Bejaia.

**Tirgine, N.** (2016). Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis. thèse, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, Bejaia.

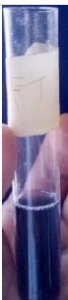
**Yezza, S., & Bouchama, S.** (2014). INDEX DES MÉTABOLITES SECONDAIRES VEGETAUX. Thèse, OUARGLA.

بسمة شمسة. (2015). دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات (Zygophyllum album L). مذكرة تخرج، جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي ، الوادي.

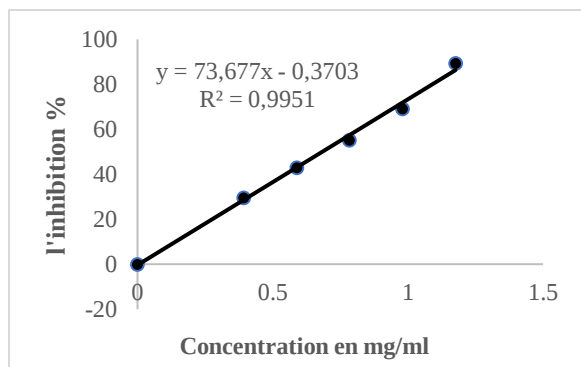
مروة عطاء الله، و عائشة مقرحي. (2019). الدراسة الكيميائية والبيولوجية لثمار نبات السدر البري (Zizyphus lotus L). مذكرة تخرج ، جامعة الشهيد حمدة لخضر بالوادي كلية علوم الطبيعة والحياة .

# *Annexe*

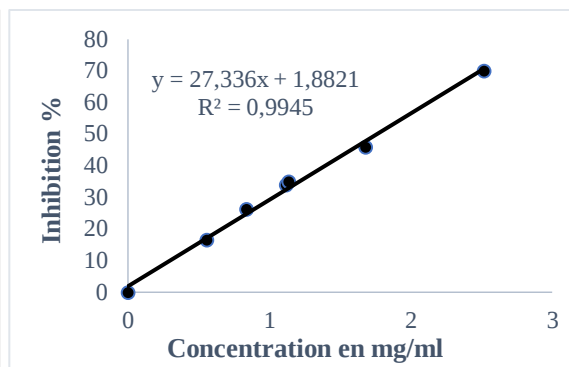
**Annexe I :** résultats de quelques tests phytochimiques des composés phénoliques dans les extraits étudiés de la plante *Zizyphus Lotus L.*

|                                                                                     |                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
|    |  |
| <b>Alcaloïdes</b>                                                                   | <b>Flavonoïdes</b>                                                                |
|    |  |
| <b>Saponine</b>                                                                     | <b>Tanin</b>                                                                      |
|  |                                                                                   |
| <b>Polyphénols</b>                                                                  |                                                                                   |

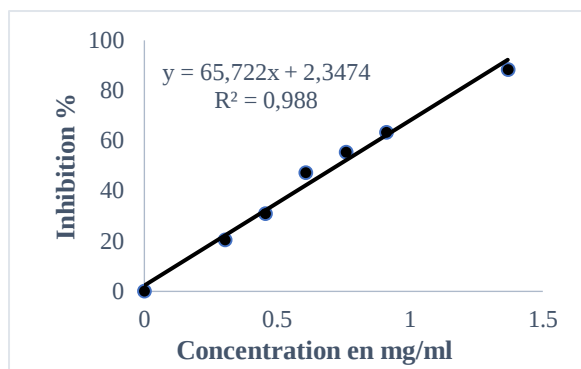
## Annexe II : Le test du DPPH exprimés par l'inhibition en fonction de la concentration des extraits méthanoliques.



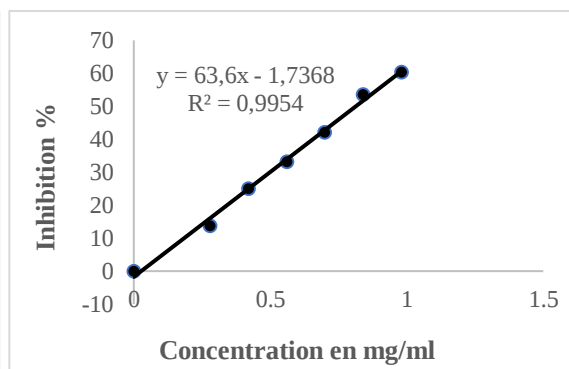
Extrait MeOH des feuilles (région de Gueltat Sidi Saad).



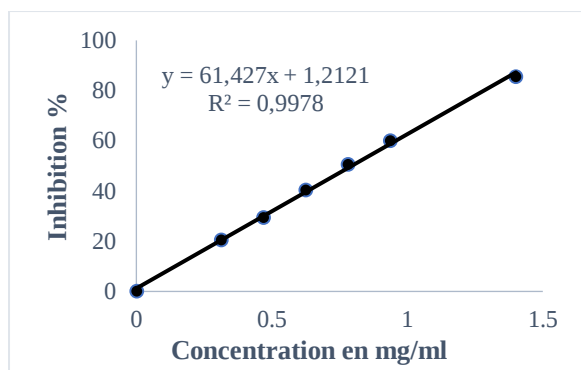
Extrait MeOH des tiges (région de Gueltat Sidi Saad).



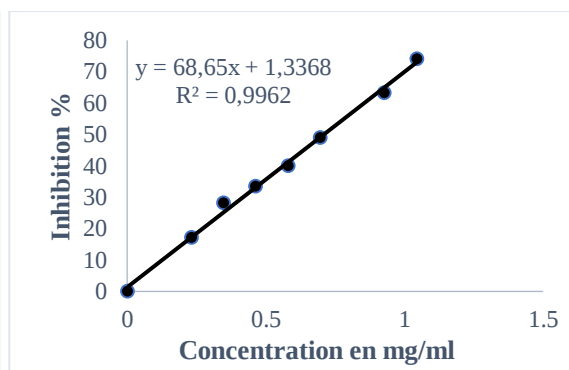
Extrait MeOH de racine de la région de GSS.



Extrait MeOH des feuilles de la région de Tad.

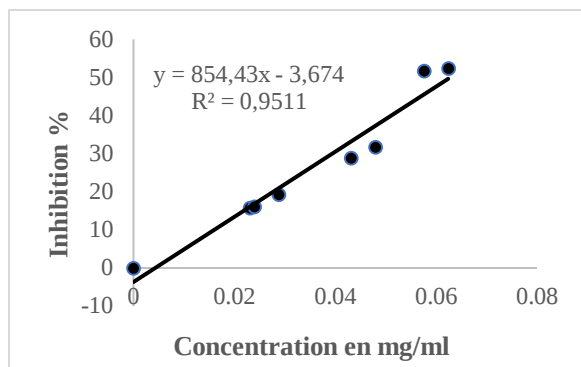


Extrait MeOH de tige de la région de Tad.

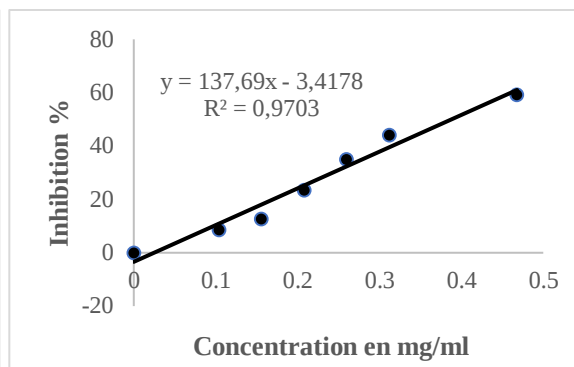


Extrait MeOH de racine de la région de Tad.

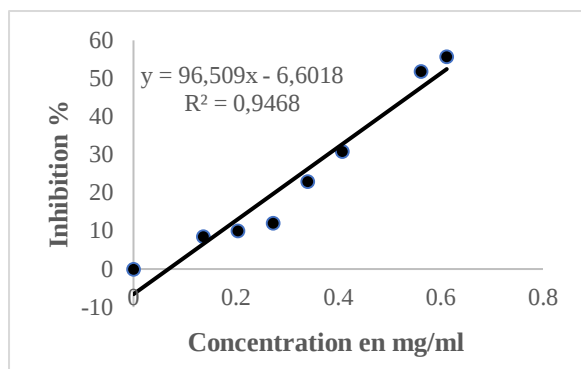
### Annexe III : Le test du DPPH exprimés par l'inhibition en fonction de la concentration des extraits éthanoliques.



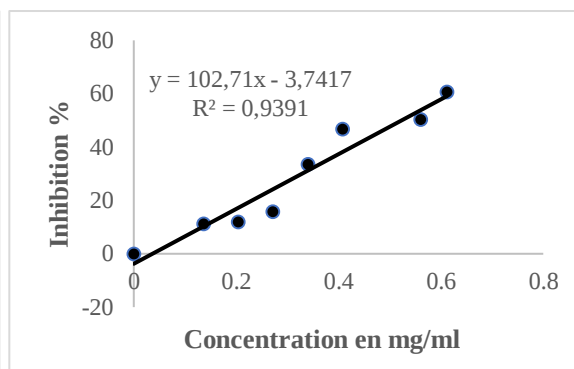
Extrait EtOH de racine de la région de Tad.



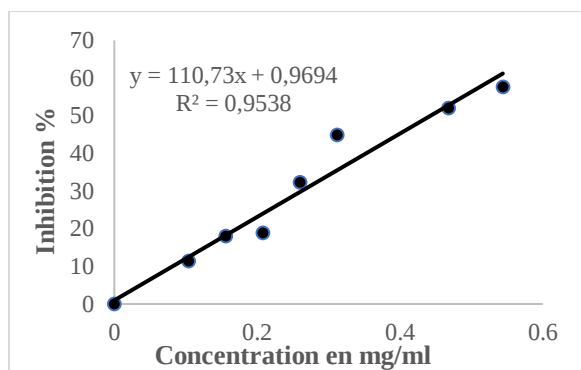
Extrait EtOH de feuilles de la région de GSS.



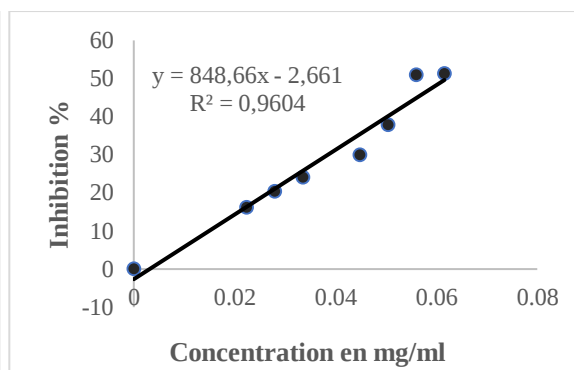
Extrait EtOH des feuilles de la région de Tad.



Extrait EtOH de tige de la région de GSS.



Extrait EtOH de tige de la région de Tad.



Extrait EtOH de racine de la région de GSS.