

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

Bakhti Hanene

&

Boucherba Nadia

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Spécialité: Pharmaco-Toxicologie

Thème

**Étude phytochimique et activité antioxydante de différents extraits de
Zizyphus lotus L.**

Soutenue publiquement le/...../2020

Devant le Jury:

Président	: Salima DOUICHENE	Grade	Univ. de Mostaganem
Rapporteur	: Wahiba RACHED	Grade	Univ. de Mostaganem
Examineur	: Hadria GRAR	Grade	Univ. de Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Pharmacognosie et Api Phytothérapie

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

Nous remercions DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail.

*Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur **Mme Wahiba Rached**, maître de conférences qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également **Mr Nourredine Djebli**, professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Mostaganem.*

Nos sentiments de profonde gratitude vont à nos professeurs qui nous ont enseigné durant toutes nos études.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à toute l'équipe de laboratoire de pharmacognosie API-phytothérapie de l'université Abdelhamid ibn Badis, et tous ce qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail :

Aux deux être les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance qui m'ont soutenu nuit et jours durant tout mon parcours.

J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

A mon très chère mari Amour, et mon fils Rayane.

Ma très chère sœur Nessrine.

Ma très chère frère Bendhiba

A ma belle famille

A toute la famille Bakhti

A toutes mes amis : Nadia, Hanae, Amina .

A ma chère binôme Nadia et sa famille.

A toute la promotion de pharmacotoxicologie « 2020 »

Hanene .B

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde mon père « Djilali » et ma mère « Aïcha » qui sont la lumière de mes yeux, ombre de mes pas et le bonheur de ma vie qui m'ont apportés son appui durant tous mes années d'études, pour ces sacrifices, soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

A mes chères sœurs : Nabila, Imene, Hadjer et Wassila

A mon cher mari : Abdel aziz

A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir : Hanane, Lamia et Hanae

A toute ma famille.

A mon binôme : Hanane et sa famille.

A mes ami(e)s de la promotion de master Pharmacotoxicologie.

Nadia.B

Résumé

Cette étude porte sur l'étude phytochimique et activité antioxydante d'un arbrisseau fruitier appelé *Zizyphus lotus* L. (Rhamnacées) connu dans l'Algérie sous le nom vernaculaire Sedra. C'est une plante utile, en médecine populaire, pour soigner le tube digestif, le foie et les affections respiratoires.

Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydant *in vitro* des extraits aqueux préparés à partir des feuilles du *Z. lotus*. L'étude de l'activité antioxydante est réalisée par deux tests: la méthode du pouvoir antioxydant par Réduction du Fer (FRAP) et DPPH.

L'analyse qualitative de ces extraits par les tests préliminaires a révélé la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes, ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes. L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP) et DPPH a révélé une grande activité antioxydant.

Les teneurs en polyphénols totaux pour les extraits aqueux de décoction et d'infusion sont $158,16 \pm 5$ et $100,02 \pm 4$ mg/g, respectivement. Les concentrations des flavonoïdes totaux sont $54,75 \pm 2,79$ et $40,8 \pm 2$ mg/g, pour la décoction et l'infusion, respectivement. Les feuilles de *Z. lotus* contiennent une quantité importante de polyphénol et riche en flavonoïdes.

Les résultats de FRAP obtenus montrent une présence du pouvoir antioxydant dans les extraits étudiés avec des valeurs d'IC50 de $11,798 \pm 0,54$ et $20,839 \pm 0,08$ µg/mL pour la décoction et l'infusion, respectivement et pour le DPPH l'activité antioxydante plus élevée dans la décoction avec une valeur de $12,12 \pm 0,19$ µg/mL par rapport l'infusion avec une valeur de $19,502 \pm 0,71$ µg/mL contre l'acide ascorbique, catéchine et trolox ($0,45 \pm 0,02$ et $1,0493 \pm 0,01$ et $2,76 \pm 0,04$ µg/mL, respectivement).en conséquence ,les feuilles de *Z. lotus* sont riches en polyphénols et surtout en flavonoïdes. Ces derniers sont des composés phénoliques connus par leurs activités antioxydante et anti-radicalaire. Cette plante est également utilisée dans l'industrie pharmaceutique moderne, pour soigner le tube digestif et le foie.

Mots clés: *Zizyphus lotus*, activité antioxydante, composés Phénoliques, flavonoïdes.

ABSTRACT

The present study was conducted on the shrub called *Zizyphus lotus* L. (Rhamnaceae) which is known as Sedra in Algeria. This plant is very well-known in the traditional medicine to cure gastro-intestinal tract, liver and other different respiratory infections. It is also known for its anti-inflammatory, analgesic, anti-ulcer and anti-diabetic properties.

In this study we tempted to evaluate *in vitro* the antioxidant activity of aqueous extract prepared from the leaves of the *Z. lotus* realized by two assays: the ferricreducing-antioxidant power assay (FRAP) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH). Qualitative analysis of these extracts by preliminary assays were revealed the presence of phenolic compounds and flavonoids; this result was confirmed by a quantitative analysis based on the colorimetric assays for phenolic and flavonoids compounds. The quantity of phenolic compounds for both aqueous extracts, decoction and infusion, is 158.16 ± 5 and 100.02 ± 4 mg/g. the amount of flavonoids is 54.75 ± 2.79 and 40.8 ± 2 mg/g for decoction and infusion extracts.

Z. lotus leaves contain a significant amount of polyphenol and rich in flavonoids.

The study of antioxidant activity by the method of ferricredu, cingantioxidant power (FRAP) and DPPH revealed high antioxidant activity. The FRAP results obtained show the presence of antioxidant power in the extracts studied with IC50 values of 11.798 ± 0.54 and 20.839 ± 0.08 $\mu\text{g} / \text{mL}$ for the decoction and the infusion, respectively and for the DPPH 1' higher antioxidant activity in the infusion with a value of 19.502 ± 0.71 $\mu\text{g} / \text{mL}$ compared to the decoction with a value of 12.12 ± 0.19 $\mu\text{g} / \text{mL}$ against ascorbic acid, catechin and trolox (0.45 ± 0.02 and 1.0493 ± 0.01 and 2.76 ± 0.04 $\mu\text{g} / \text{mL}$, respectively). Therefore the leaves of *Z. lotus* are rich in polyphenols and especially in flavonoids. The latter are phenolic compounds known for their antioxidant and anti-free radical activities. This plant is also used in the modern pharmaceutical industry, to treat the digestive tract and the liver.

Keywords: *Zizyphus lotus*, antioxidant activity, Phenolic compound, flavonoids.

المخلص

تتعلق هذه الدراسة بالدراسة الكيميائية النباتية والنشاط المضاد للأكسدة لشجيرة فاكهة تسمى سدره (Rhamnaceae) . المعروفة في الجزائر تحت الاسم العام السدره وهي نبات مفيد في الطب الشعبي لعلاج الأنبوب والجهاز الهضمي والكبد والجهاز التنفسي.

في هذه الدراسة ، جرت محاولة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر المائي المستخرج من أوراق سدره، وقد أظهر التحليل النوعي لهذه المستخلصات عن طريق الاختبارات الأولية وجود المركبات الفينولية والفلافونويد . يتم تأكيد ذلك من خلال التحليل الكمي على أساس الجرعة ، والمركبات الفينولية ، والفلافونويد التي تكون قيمها: بالنسبة للمستخلص المائي في التسريب: المركبات الفينولية (100.02 ± 4 ملغم / غم) ، مركبات الفلافونويد ($40.8 \pm$ mg / g²) ، و decoction: المركبات الفينولية (158.16 ± 15 mg / g) ، مركبات الفلافونويد (54.75 ± 2.79 mg / g). تحتوي أوراق سدره على كمية كبيرة من مادة البوليفينولو غنية بالفلافونويد.

كشفت دراسة النشاط المضاد للأكسدة بطريقة القوة المضادة للأكسدة عن طريق الحد من الحديد (FRAP) و DPPH عن نشاط كبير مضاد للأكسدة. أظهرت نتائج FRAP التي تم الحصول عليها وجود قوة مضادة للأكسدة في المستخلصات المدروسة بقيم 11.798 ± 0.54 IC₅₀ أو 20.839 ± 0.08 ميكروغرام / مل للمغلي و التسريب ، على التوالي و DPPH 1 ' نشاط مضاد للأكسدة أعلى في التسريب بقيمة 19.502 ± 0.71 ميكروغرام / مل مقارنة بالمغلي بقيمة 12.12 ± 0.19 ميكروغرام / مل ضد حمض الأسكوربيك والكاتشين و الترولوكس (0.45 ± 0.02 و 1.0493 ± 0.01 و 2.76 ± 0.04 ميكروغرام / مل، على التوالي). لذلك فإن أوراق سدره غنية بالبوليفينول و خاصة الفلافونويد. هذه الاخيرة هي مركبات فينولية معروفة بنشاطاتها المضادة للأكسدة والجذور الحرة. يستخدم هذا النبات أيضًا في صناعة الأدوية الحديثة، لعلاج الجهاز الهضمي والكبد.

الكلمات المفتاحية السدره، نشاط مضاد للأكسدة ، مركبات الفينول ، مركبات الفلافونويد.

Abréviation

ABS Absorbance

ASC : Acide Ascorbique

AG : Acide gallique

CA : Catéchine

D.O : Densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

ERO : Espèces Réactifs de l'Oxygène

FeCl₃: Trichlorure de fer

Fe²⁺: Fer ferreux

Fe³⁺: Fer ferrique

FRAP : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferricreducing/antioxidant power).

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

FT: flavonoïdes totaux

Q: Quercétine

RL : Radicaux libres

TPT: Teneurs en polyphénols totaux

µg : Microgramme

mL : Millilitre

min: Minute

mg : Milligramme

mM : Milli mole

Liste des figures

Figure 01. <i>Zizyphus lotus</i> (L.)(a),fleurs(b),fruits(c)	6
Figure 02. Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> (L)en algérie.	6
Figure 03. Classification des polyphénols	10
Figure 04. les systèmes de défense contre les radicaux libres.....	18
Figure 05. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenseantioxydants	18
Figure 06. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant	19
Figure 07. Feuilles sèches de <i>Zizyphus lotus</i> (L).....	20
Figure 08. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	24
Figure 09 . Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	26
Figure10. Etude de l'activité antioxydante de différents extraits de <i>Zizyphus lotus</i>	35
Figure11. Etude phytochimique de différents extraits de <i>zizyphus lotus</i>	35

Liste des tableaux

Tableau 01. Pourcentage des compositions primaires du <i>Zizyphus lotus</i>	8
Tableau 02. Composition en métabolites secondaires des différentes organes du <i>Zizyphus lotus</i>	8
Tableau 03. Principales classes des flavonoïdes et leurs structures.....	11
Tableau 04. Principaux radicaux libres et leurs structures chimiques	14
Tableau 05. Les antioxydants enzymatiques avec leurs mécanismes d'actions	16
Tableau 06. Les antioxydants exogènes avec leurs mécanismes	18
Tableau 07. Rendement de l'extraction aqueuse.....	23
Tableau08. Rendement de l'extraction aqueuse de <i>Z. lotus</i>	26
Tableau 09. Activité antioxydante et teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits aqueux des feuilles de <i>Z. lotus</i>	34

Tableau de matière

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

PARTIE I. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I. Plantes médicinales et métabolites secondaires 3

I.1. Plantes médicinales 4

I.2. Présentation de plante étudiée 4

I.2.1. Classification botanique 4

I.2.2. Nomenclatures et synonymes 5

I.2.3. Description botanique, distribution géographique et habitat 5

I.2.4. Utilisation traditionnelle et activités biologiques et thérapeutiques 7

I.2.5. Composition chimique 8

I.3. Métabolites secondaires 9

I.3.1. Composés phénoliques 9

I.3.1.1. Définition et rôles 9

I.3.2. Activités biologiques des polyphénol 10

I.3.1.2. Classification 10

I.3.3. Flavonoïdes 11

I.3.3.1. Définition et classification 11

I.3.3.2. Quelques propriétés de flavonoïdes 13

II. Généralités sur les antioxydants et les radicaux libres 12

II.1. Oxydation et oxydants 13

II.1.1. Définition des radicaux libres 14

II.1.2. Stress oxydatif 15

II.2. Antioxydants 15

II.2.1. Définition 15

II.2.1. Classification et mécanismes d'action.....	16
II.2.2. Antioxydants primaires (enzymatiques).....	16
II.2.3. Antioxydants secondaires (non enzymatiques).....	17
II.2.4Activité antioxydante des composés phénoliques.....	19
II.3. Balance Oxydants /Antioxydants.....	20

PARTIE II. MATÉRIEL ET METHODES

I. Matériel végétal et extraction.....	22
I.1. Récolte du matériel végétal.....	22
I.2. Extraction aqueuse.....	22
I.2.1. Décoction.....	22
I.1.3. Infusion.....	22
II. Dosage colorimétrique des composés phénoliques.....	23
II.1. Dosage des polyphénols totaux.....	23
II.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	24
III. Détermination de l'activité antioxydante.....	25
III.1. Pouvoir scavenger du radical DPPH.....	25
III 1.1. Principe.....	25
III.1.2. Méthodologie.....	25
III.2. Pouvoir réducteur d'ions ferriques (FRAP).....	26
III.2.1. Principe.....	26
III.2.2. Méthodologie.....	26

PARTIE III. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Extraction et caractérisation phytochimique.....	29
I.1 Rendements d'extraction.....	29
I.2 Analyses phytochimiques des extraits étudiées.....	29
I.2.1 Dosage colorimétrique des composés phénoliques.....	29
I.2.1.1 Dosage des polyphénols totaux.....	20
I.2.1.2 Dosage des flavonoïdes totaux.....	30
II. Étude de l'activité antioxydante.....	31
II.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	31
II.2.Pouvoir réducteur d'ions ferriques (FRAP).....	31
Conclusion et perspectives.....	36

Références bibliographiques	38
--	----

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales renferment une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes. Elles présentent une large variété d'activités biologiques. Il est par ailleurs, aujourd'hui reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives (**Michel, 2011**).

Actuellement, les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé. (**Dahmoune et al., 2015**).

Notons aussi leurs diverses propriétés biologiques comme les activités antiallergique, anti-athérogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, anti carcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (**Ksouri et al., 2007**).

Pour être bien les valoriser, les composés bioactives doivent d'abord être séparés de leur matrice végétale. Leur diversité rend le choix des processus d'obtention de ces molécules est très important (**Michel, 2011**). Pour cela, des différents procédés conventionnels et innovants d'extraction sont utilisés.

Depuis très longtemps, les herbes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé humaine et de la survie de l'humanité (**Gourguillon et al., 2016**). L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique en particulier saharienne et subsaharienne spontanées qui a des utilisations thérapeutiques très intéressantes. Parmi les plantes les plus répandues on peut citer le genre jujube de différentes espèces qui est largement exploité dans la médecine populaire Algérienne pour sa richesse en composants bioactives comme la vitamine C, polyphénols, flavonoïdes, triterpénoïdes et polysaccharides (**Gourguillon et al., 2016**).

L'objectif visé par la présente étude consiste en premier lieu à extraire des composés phénoliques par deux différentes méthodes à partir de la feuille de *Zizyphus lotus* L. En deuxième lieu, on s'intéresse de tester leur effet antioxydant *in vitro* par deux tests à savoir le test de DPPH et le test de FRAP.

Dans ce contexte nous avons réalisé un travail comprend trois parties:

La première partie renferme une étude bibliographique qui comporte une description de la plante étudiée, des généralités sur les polyphénols et les antioxydants.

Introduction

La deuxième partie est consacrée à la présentation de matériels et méthodes, et la troisième partie inclut l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus ainsi que une conclusion générale et perspectives.

Chapitre 1.

Étude Bibliographique

I. Plantes médicinales et métabolites secondaires

I.1. Plantes médicinales

Les plantes médicinales (PM) sont utilisées dans le monde entier. Les réglementations définissant leur utilisation correcte telles que l'identification des espèces appropriées et la vérification de la présence de la pureté et de la concentration requise des composés chimiques qui sont largement reconnues (**Palhares *et al.*, 2015**). Dans le monde, Il est estimé qu'il existe d'environ 70.000 espèces de plantes médicinales, utilisées comme des produits pharmaceutiques ou cosmétiques (**Jamshidi-Kia *et al.*, 2018**). La PM désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des substances appelées principes actifs, pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques sans effets nocifs en respectant les doses recommandées (**Didier *et al.*, 2011**). Ces principes actifs peuvent être des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles c'est à-dire possédant des effets qui se rapportent à la santé ou ont été prouvés utiles comme médicaments selon les normes occidentales, ou qui contiennent des constituants qui sont utilisés comme médicaments (**Máthé, 2015; Bureau, 2016**).

I.2. Présentation de plante étudiée

I.2.1. Classification botanique

La position systématique de l'espèce étudiée selon la classification d'APG III (2009) est la suivante:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Embranchement	Spermatophytes.
Sous embranchement	Angiospermes.
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae.
Genre	<i>Ziziphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> L.

I.2.2. Nomenclatures et synonymes (Von Maydelle, 1990; Baba Aissa., 1999; Borgi *et al.*, 2007)

- **Nom arabe/ Berbère:** Sedra, Djerdjer, Azar, N'beg.
- **Nom français:** Jujubier sauvage ou Jujubier des Lotophages, Jujubier, Dindonnier, Jujubier de Berbérie.
- **Nom anglais:** Jujube
- **Synonyme:** *Zizyphus orthacantha* DC, *Zizyphus sativus* creat.

I.2.3. Description botanique, distribution géographique et habitat

Zizyphus lotus L. (Rhamnaceae) est un arbrisseau sous forme de buisson qui ne dépassant pas 2,5 m et possède des rameaux flexueux, très épineux, gris-blanc, poussant en zigzag (Claudine, 2007). Les feuilles sont glabres, glauques en dessous, petites, courtes, ovales plus au moins elliptiques de 1 à 2 cm de longueur et de 7 mm de largeur à marges entières ou finement sinuées (Bayerand et Butter, 2000). Les fleurs sont très visibles de couleur jaune avec des sépales ouvertes en étoiles, un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin (Baba Aissa, 1999; Claudine, 2007). Il contient un fruit ovoïde, ayant la forme et la grosseur d'une belle olive. D'abord vert puis jaune, il devient rouge foncé quand il est mur, en octobre. Sa pulpe épaisse peut être d'un blanc verdâtre et d'une saveur à la fois douce et acidulée ou brun jaunâtre, un peu glutineuse, à saveur sucrée et fade (Bayer et Butter, 2000). Le genre *Zizyphus* renferme environ 100 espèces, principalement, existent dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie et des Amériques, tandis que quelque espèces vivent en Afrique et dans les régions tempérées (Bonnet, 2001). *Zizyphus lotus* L. est très répandu dans les régions arides et surtout le sud d'Algérie, Ain Ouessara et Maessad (willaya de Djelfa) à climat aride et Taghit wilaya de Bechar au climat Saharien (Mounni, 2008)



A



B



C

Figure 01. *Zizyphus lotus* L. (a); fleurs (b); fruits (c).



 Aire de *Zizyphus lotus* L.

Figure 02. Aire de répartition du *Zizyphus lotus* L en Algérie (Quezel et Santa, 1962)

I.2.4. Utilisation traditionnelle et activités biologiques et thérapeutiques

Zizyphus lotus L. est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme sédatif, tonique et anti-inflammatoire (**Ghedira et al., 1995; Claudine et al., 2007; Mounni et al., 2008**). Ses feuilles possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs; les flavonoïdes et les saponines (**Borgi et al., 2007**). Elles sont utilisées aussi contre les piqûres des vipères au Sahara (**Benchalah, 2004**). La décoction des racines est utilisée comme hypoglycémiant (**Lahlou et al., 2002; Allali et al., 2008**) et les fruits sont préconisés dans le traitement de gorge et les affections respiratoires (**Baba Aissa et al., 1999; Borgi et al., 2007**). Cette plante est également utilisée pour soigner le tube digestif et le foie (**Baba Aissa et al., 1999**). L'industrie pharmaceutique moderne recherche encore largement sur la diversité des molécules à différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus*. Parmi ces effets, on peut souligner les plus importants:

- **Activités anti-inflammatoires et analgésiques**

L'activité anti-inflammatoire est due aux saponosides et oligomères flavonoïques des racines. Les résultats obtenus par **Borgi et Chouchane (2007)** ont montré que les saponosides et les oligomères flavonoïques des écorces de racine de *Zizyphus lotus L.* donnent une inhibition maximale de l'œdème de la patte chez la souris. De plus, **Borgi et al. (2008)** ont prouvé que les extraits aqueux, chloroformique, acétate d'éthyle et méthanolique des racines et des feuilles possédaient des activités anti-inflammatoires et analgésiques.

- **Activités anti-ulcérogènes**

Borgi et al., (2008) ont montrés que les extraits aqueux des racines, des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus L.* possèdent une activité anti-ulcérogénique grâce à la présence des tanins et des flavonoïdes qui sont connus par leur effet gastro-protecteur.

- **Activités antimicrobienne**

Les extraits de *Zizyphus lotus L.* obtenus par épuisements successifs à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au méthanol se sont avérés très actifs in vitro vis-à-vis neuf souches de champignons pathogènes (**Ghedira et al., 1995**). **Lahlou et al. (2002)** ont rapporté que le mélange des alcaloïdes possède une activité antibactérienne.

• Activités antioxydantes

Les concentrations de des différentes vitamines (vitamine A, C et E) et les acides gras des racines, des tiges, des feuilles, de pulpe de fruits et des graines de *Zizyphus lotus* L. sont évaluées l'effet de leurs extraits aqueux sur le statut antioxydant (**Benammar *et al.*, 2010**).

I.2.5. Composition chimique

Des études phytochimiques menées sur l'espèce du *Zizyphus lotus* montrent la présence des métabolites primaires (**Tableau 1**) (**Catoir *et al.*, 1999**; **Chouaibi *et al.*, 2011**). Cette espèce connue comme une plante médicinale synthétise des nombreux composés appelés métabolites secondaires tels que les polyphénols (flavonoïdes et tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides) et les saponosides (**Tableau 2**) (**Catoire *et al.*, 1994**; **Borgi et Chouchane, 2006**).

Tableau 01. Pourcentage des compositions primaires du *Zizyphus lotus* (**Chouaibi., 2011**).

Vitamines	Vitamine A: Les vitamines sont impératives en période de croissance (Herberg <i>et al.</i>, 1998).
Protéines	19,11%
Carbohydrates	40,87%
Lipides	32,92%
Sucres	20%

Tableau 02. Composition chimique des métabolites secondaires présents dans les différents organes du *Zizyphus lotus*

Organe végétal	Composition chimique	Références
Fruits	-flavonoïdes, tanins saponines. – Alcaloïdes	Borgi <i>et al.</i> (2007b)
Feuilles	-Flavonoïdes. tanins. Alcaloïdes, -saponines de type danunarane: - jujuboside B -jujubogenin glycoside -dérivé sulfaté de jujuba saponine IV.	Borgi <i>et al.</i> (2007b); Macuek <i>et al.</i> (2004)

Écorce des racines	-flavonoïdes, saponines de type damarane. -tanins. -alcaloïdes cyclopeptidiques otusines A-G	Borgi <i>et al.</i> (2007a); Borgi <i>et al.</i> (2007b); Le crouéour (2002). 1
--------------------	---	--

I.3. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques synthétisés par les plantes (Croteau *et al.*, 2000). Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire (Hartmann, 2007; Zhuang *et al.*, 2015). Ces molécules sont parfois toxiques susceptible de provoquer des effets indésirables sur l'organisme vivant (Marquet & Hambuchers, 2000). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002; Marouf et Reynaud, 2007). Dans cette étude, Le groupe des antioxydants naturels qui nous intéressent sont les composés phénoliques.

I.3.1. Composés phénoliques

Ce sont des antioxydants naturels puissants; en luttant contre la production des radicaux libres néfastes impliqués dans l'apparition de diverses maladies, ainsi en restaurant les antioxydants enzymatiques (Neve et Pincemail, 2008; Pourreza, 2013).

I.3.1.1. Définition et rôles

Les polyphénols (8000 structures phénoliques connues) représentent un groupe des métabolites secondaire complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal, caractérisés par la présence au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins d'un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que éther, ester, hétéroside etc. (Cuevas-Valenzuela *et al.*, 2016). jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix *et al.*, 2005). Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme (environ 1g de polyphénols/ chaque jour) soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Kaurinovic et Vastag, 2019).

I.3.2. Activités biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques, en dehors de l'impact bénéfique sur la plante, peuvent être efficaces pour l'homme dans le traitement d'une variété de troubles. Les propriétés les plus courantes ; antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, indiquent qu'ils méritent d'être reconnus dans la médecine naturelle et peuvent être très efficace dans le traitement de divers problèmes de peau (Dzialo *et al.*, 2016).

I.3.2.2. Classification

Les principales classes sont largement répandues (Macheix *et al.*, 2005):

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques).
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines.

Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et en fonction des substitutions qui les relie (Oliveira *et al.*, 2014; de la Rosa *et al.*, 2019). De ce fait, On distingue les flavonoïdes et les composés non flavonoïdiques (Figure 03).

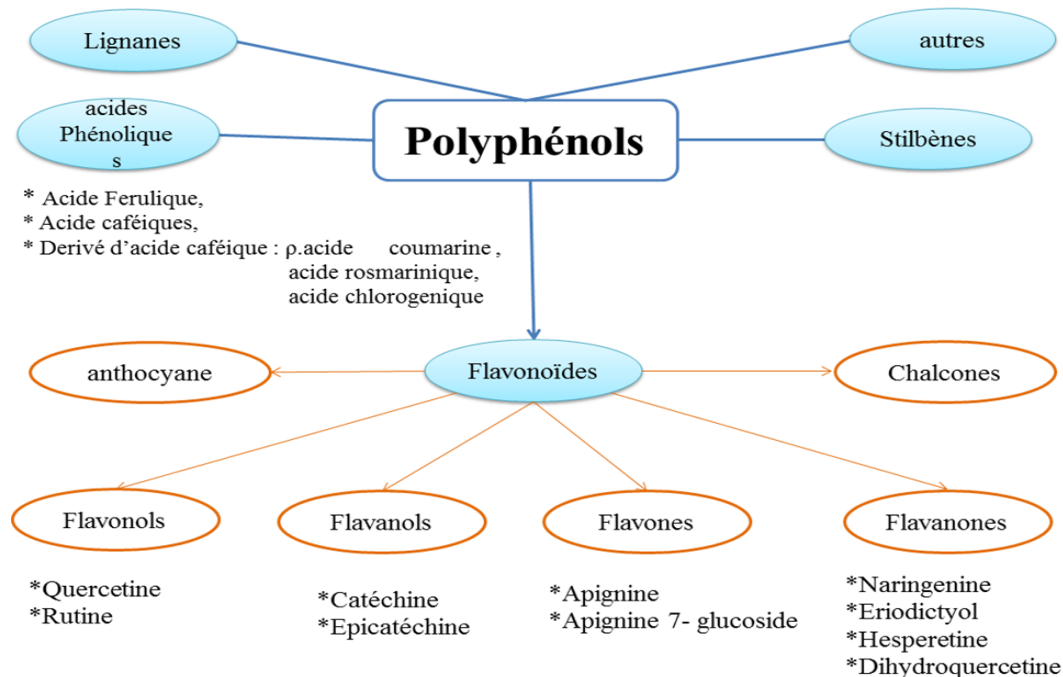


Figure 03 .Classification des polyphénols (de la Rosa *et al.*, 2019)

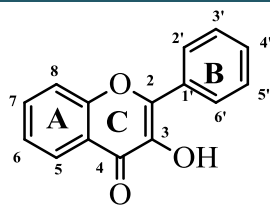
I.3.3. Flavonoïdes

I.3.3.1. Définition et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- γ -pyranne, isolées d'une large gamme de plantes vasculaires, avec plus de 6000 composés connus. Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆) (Santos-Buelga et Scalbert, 2000) généralement constitués de deux noyaux benzènes et un hétérocycle pyrane oxygéné (Cuevas-Valenzuela *et al.*, 2016). Parmi les principales classes des flavonoïdes, On distingue notamment les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune clair, les flavanes (flavanols) dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important des tanins et des isoflavones, qui jouent un rôle sérieux dans la santé humaine (Bruneton, 2009), les (prényl) chalcones et les dihydrochalcones ainsi que les anthocyanines ou anthocyanidines, des pigments rouges ou bleus (Tableau03) (Bhuyan et Basu, 2017; Shahidiet *al.*, 2019). De façon générale, les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides et dans ce cas ce sont des hétérosides. Les sucres qui sont couramment liées aux flavonoïdes sont le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (Cuevas-Valenzuela *et al.*, 2016) (Tableau 03).

Tableau 03. Principales classes des flavonoïdes et leurs structures (Cuevas-Valenzuela *et al.*, 2016)

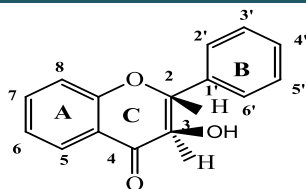
Flavonoïdes	Structure	Exemple (substitution)
Structure de base (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n		
Flavones		-Apigénine: 5,7,4' tri OH -Lutéoline: 5, 7, 3',4' tetraOH -Rutine: 5,7,3',4' tetra OH (Rutoside) -Baicaline

Flavonols

-Quercétine: 5,7,3,4' tetra OH

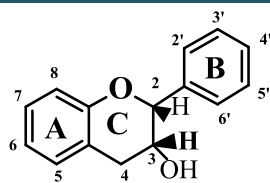
-Kaempférol: 5,7,4' triOH

-Myricétine: 5,7,3',4',5' penta OH

Dihydroflavonols

-Taxifoline: 5,7,3',4' tetra OH

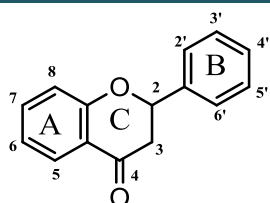
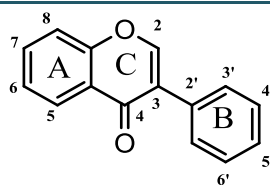
-Fisétine: 7,3',4' tri OH

Flavanols

-(+)-Catéchine: 5,7,3',4' tetra OH,

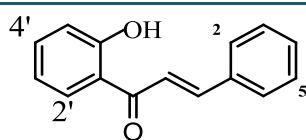
(-)epicatéchine: 5,7,3',4',

(+)gallocatéchine: 5,7,3',4',5' penta OH,

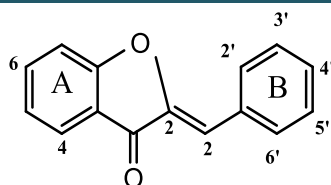
epigallocatéchine: 5,7,3',4' pentaOH
tetraOH 3galoyl**Flavanones**-Naringénine: 5,7,4' tri OH, taxifoline:
5,7,4',5' tetra OH**Isoflavones**

-Génicéteine: 5, 7, 4' tri OH

-Daidzéine: 7,4'-di OH

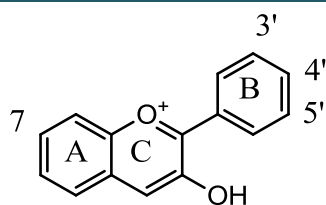
Chalcones-Butéine: 3,4,2',4', tetrahydroxychalcone;
davidigénine: 4,2',4' tri OH; rengasine:

4-O-méthylauréusidine

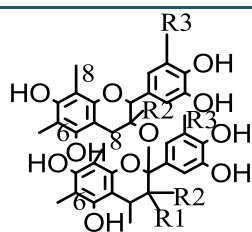
Aurones

-Auronol: 4,6,4'-trihydroxyaurone

-Maritimétine: 6,7,3',4' tetra OH

Anthocyanidines

- Cyanidine:(3,5,7,3',4'-penta OH)
- Apigéninidine: (5,7,4'-tri OH)
- Lutéolinidine: (5,7,3', 4'-tetra OH)
- Pélagonidine:(3,5,7,4'-tetra OH)
- Malvéidine

**Tanins condensés
(polymères de
flavan3ol)
(C₆-C₃-C₆)_n**


- Procyanidine

I.3.3.2. Quelques propriétés de flavonoïdes

Ils possèdent des propriétés anti-tumorales, antiparasitaires, antibactériennes, anti-inflammatoires, vas dilatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène et antioxydantes (**Rao et al., 2009 ; Choi et al., 2009**).

II. Généralités sur les antioxydants et les radicaux libres**II.1. Oxydation et oxydants**

L'oxydation est un processus indispensable dans le métabolisme des cellules aérobies de l'organisme pour la production des espèces réactives dérivées de l'oxygène (E.R.O) (**Sarr et al., 2017**). Chaque cellule du corps humain maintient une homéostasie entre les oxydants et antioxydants. Ainsi, 1 à 3% de l'apport pulmonaire en oxygène chez l'homme est converti en E.R.O. Dans des conditions de métabolisme normal, la formation continue de E.R.O et d'autres radicaux libres est importante pour les fonctions physiologiques normales telles que la génération d'ATP, les divers processus cataboliques et anaboliques et les cycles d'oxydoréduction cellulaires (**Rahal et al., 2014**). L'organisme doit confronter et contrôler la présence des antioxydants et des pro-oxydants continuellement, ces derniers sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Le stress oxydant est le terme se rapportant au déséquilibre entre la génération excessive des espèces radicalaires toxiques «les oxydants» et l'activité des systèmes de défense antioxydants, qui pourrait mener aux dommages oxydatifs (**Ríos-Arrabal et al., 2013**). Sous certaines conditions, un déséquilibre provoqué soit par une production excessive des radicaux libres soit par une diminution des défenses antioxydantes sous l'effet de certains stimuli exogènes (polluants

environnementaux, tabagisme...) ou endogène. On parle alors de stress oxydant à l'origine d'altérations moléculaires attaché à de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose, l'inflammation, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et le cancer (Phaniendra et al., 2015).

II.1.1. Définition des radicaux libres

Un radical libre est défini comme étant une molécule qui possède un ou plusieurs électrons non appariés (célibataire), ce qui le rend extrêmement réactif. Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, tentant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité (Halliwell, 2012; Halliwell et Gutteridge, 2015). Parmi les radicaux libres: l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$, d'où le symbole \bullet indique la présence d'un électron célibataire). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne, c'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (Halliwell, 1994).

D'autre classification basée sur le type de radical en donnant deux groupes principales: des radicaux dérivé de l'oxygène (*Reactiveoxygenespecies*: R.O.S ou E.R.O) ou d'autres atomes comme l'azote (*Reactivenitrogenespecies* : R.N.S ou E.R.N) (Ray, 2012; Gutowski et Kowalczyk, 2013). Les radicaux libres sont formés au niveau de divers organites cellulaires: les mitochondries, les microsomes, le cytosol à travers plusieurs systèmes enzymatiques tels que la xanthine oxydase, la monoamine oxydases, la NAD(P)H oxydase, la cyclooxygenase et la lipooxygenase (Berger, 2005; Halliwell et Gutteridge, 2015).

Tableau 04 : Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Haton, 2005).

Radical	Structure chimique
Radical hydroxyle	$OH\bullet$
Radical hydroperoxyde	$HOO\bullet$
Radical peroxyde	$ROO\bullet$
Radical alkoxyde	$RO\bullet$
Peroxyde d'hydrogène*	H_2O_2
Peroxynitrite	$ONOO\bullet$
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$

II.1.2. Stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre le système de défense des antioxydants et la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Sayre et al., 2008 ; Bloomer et al., 2008; Power et al., 2010**). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense des antioxydants est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies suite à une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschvink et al., 2008**). Cela entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organismes du fait de leur conséquence sur le plan moléculaire telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (**Stadtman et al., 1998; Halliwell et al., 1999; De Zwart et al., 1999**).

II.2. Antioxydants

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert et al., 2005**).

II.2.1. Définition

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimique. Les antioxydants sont utilisés pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés. Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les E.R.O et E.R.N (**Kumar et al., 2017**). L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes:

- 1) Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers,
- 2) ils détruisent les hydroperoxydes, composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O, en diminuant ainsi la vitesse de formation des radicaux libres (**Ribeiro et Bernardo, 2001**).

II.2.1. Classification et mécanismes d'action

Il existe deux classes d'antioxydants: les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés par l'alimentation (**Guillouty, 2016**).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

II.2.2. Antioxydants primaires (enzymatiques)

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (**Favier, 2006**). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires (**Lehucher-Michel et al., 2001**). De ce fait, elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes contre la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

Tableau 05. Les antioxydants enzymatiques avec leurs mécanismes d'actions.

Système enzymatique d'antioxydant	Propriété	Référence
Superoxydedismutase (SOD) (EC 1.15.1.1)	-Elle catalyse la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire par la réaction suivante: $2 \text{O}_2^{\cdot -} + 2 \text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	(Papa et al., 2014; Ighodaro et Akinloye, 2018)
Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6)	-C'est une enzyme fer dépendante capable de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau et est présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. Son activité la plus importante est dans les érythrocytes, les érythrocytes et les	(Bonnefont-Rousselot et Collin, 2010; Ighodaro et Akinloye, 2018)

	reins.	
	-Elle transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante:	
		$2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
Glutathion peroxydase (GPx) (EC 1.11.1.9)	-C'est une enzyme sélénium dépendante capable de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques par oxydation du glutathion réduit (GSH). On distingue 5 isoenzymes de la GSH-Px chez les eucaryotes, la plus abondante étant la GSH-Px cytoplasmique (90%) et mitochondriale (10%) -Elles détoxifient les peroxydes d'hydrogène et lipidique selon les deux réactions suivantes: -ROOH + 2 GSH → ROH + GSSG + H ₂ O <i>(reaction 1)</i> -H ₂ O ₂ + 2 GSH → 2H ₂ O + O ₂ + GSSG <i>(reaction 2)</i>	(Lobo et al., 2010; Jacquot, 2013; Lonn et al., 2012)
Autres systèmes comme la glutathion réductase; la thioredoxine réductase et la glutathion transférase.	-Elles régénèrent le glutathion réduit en utilisant le NAD(P)H comme cofacteur, est localisée avec la glutathion peroxydase, réduit le GSSG en GSH. Elles se trouvent dans le cytosol et les mitochondries.	(Lobo et al., 2010)

II.2.3. Antioxydants secondaires (non enzymatiques)

Ce sont des molécules exogènes, contrairement aux enzymes antioxydantes, piègent un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Figures 4 et 5**) (**Dacosta, 2003**). Plusieurs substances peuvent être agies en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent: la vitamine E, l'acide ascorbique, le β-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,... etc.

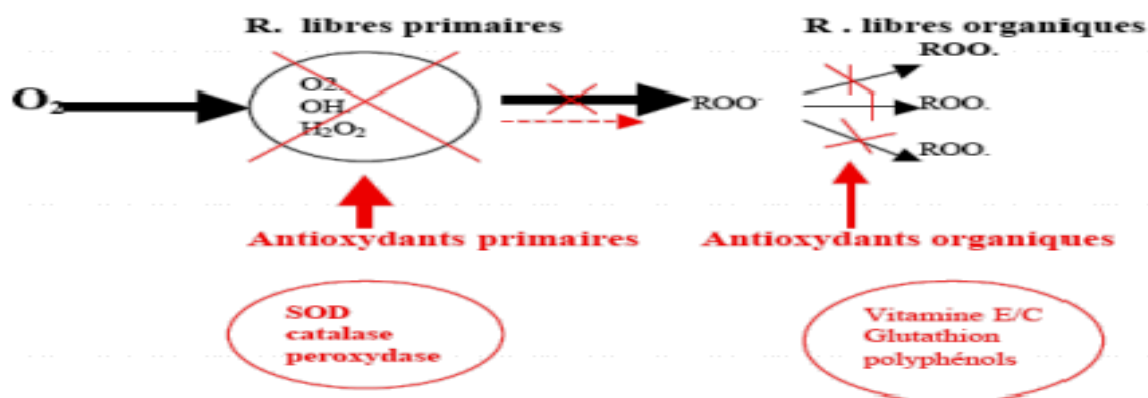


Figure 04 : Systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

Tableau 06 : les antioxydants exogènes avec leurs mécanismes

Antioxydant	Propriété	Référence
Vitamine C	-Elle est capable de piéger des radicaux libres mais son intérêt majeur en terme de pouvoir antioxydant réside en sa capacité à régénérer la vitamine E au sein de la membrane.	(Fabre <i>et al.</i> , 2015)
Vitamine E	-Elle agit comme antioxydant contre les ERO(en parallèle de la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La chaine carbonée augmente en effet le caractère lipophile de la molécule et ainsi facilite la pénétration dans les bicouches lipidiques, et permet une action directe intracellulaire.	(Fabre <i>et al.</i> , 2015)
Caroténoïdes	-Elles peuvent agir comme un inhibiteur de la peroxydation lipidique uniquement à une faible pression partielle en O ₂ . Ils peuvent être oxydés tout comme un acide gras et ainsi avoir un effet pro-oxydant.	(Higdon, 2003)
Sélénium	-C'est un oligo-élément constituant des sélénoprotéines dont fait partie le principal antioxydant intracellulaire, la glutathion peroxydase. On le retrouve notamment dans le bœuf et le poisson. Il joue également le rôle de détoxification des métaux lourds comme le cadmium.	(Jomova, 2011)
Zinc	-C'est un cofacteur de la SOD. On le retrouve dans les huitres, le foie de veau et la viande de bœuf. Le zinc a également comme fonction de protéger le groupement thiol des protéines. De plus, il peut lutter contre la formation des ERO induite par le fer ou le cuivre.	(Mezzetti <i>et al.</i> ,1998)

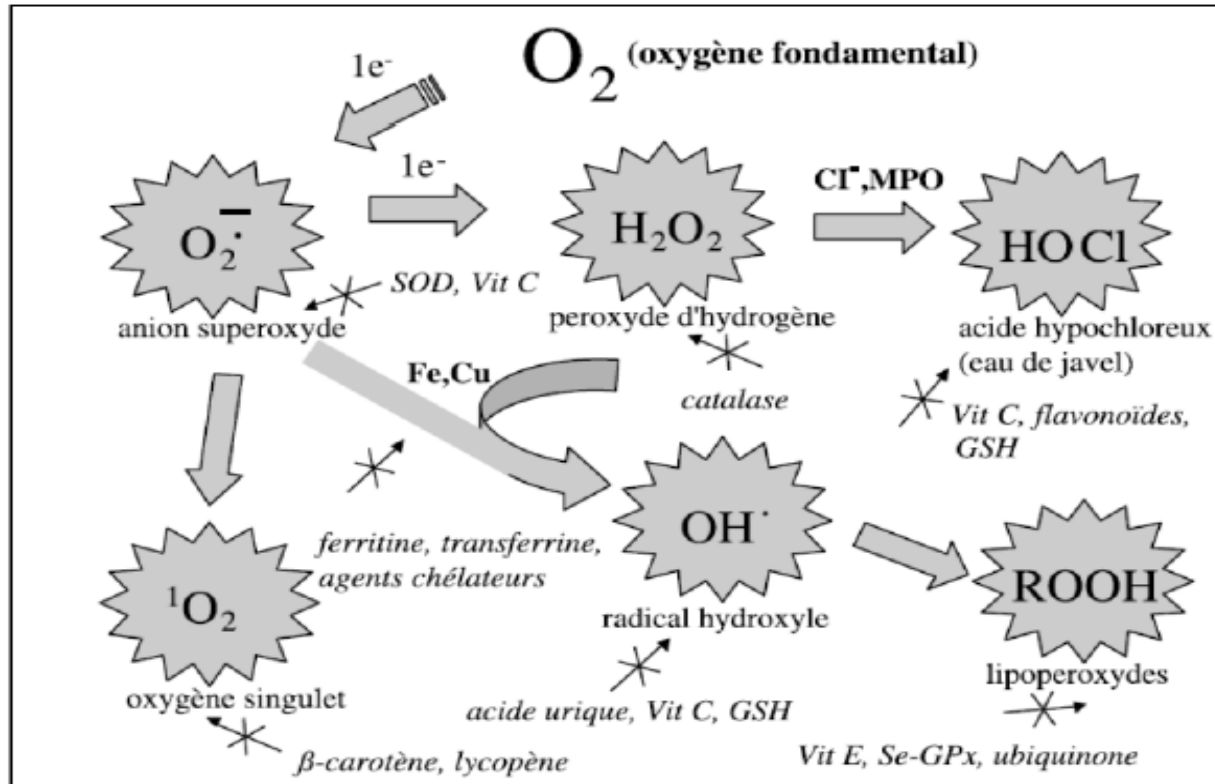


Figure 05. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer, 2008)

II.2.4. Activité antioxydante des composés phénoliques

Plusieurs auteurs ont été prouvés que la capacité antioxydante de plusieurs plantes médicinales est due à la présence des flavonoïdes, en fait, la plus part des constituants polyphénoliques montre un pouvoir antioxydant élevé en comparant avec les autres antioxydants connus tels que la vitamine C, la vitamine E, et la β -carotène (Kaurinovic et Vastag, 2019).

Des études expérimentales sur des souris ont montré que la consommation quotidienne des composés phénoliques dérivés des plantes médicinales, des épices et des fruits riches aux antioxydants s'accompagne avec une augmentation du statut antioxydant plasmatique et une diminution de paramètre biochimique lipoprotéines de faible densité, ce qui prévient contre les maladies cardiovasculaire (Tressera-Rimbau *et al.*, 2017). Des travaux antérieurs ont montré qu'il existe une relation entre la structure et l'activité antioxydante. Les mécanismes d'actions des polyphénols peuvent se faire par (Bouayed et Bohn, 2012; Zhang et Tsao, 2016; Kaurinovic et Vastag, 2019):

- neutraliser les radicaux libres étant un donneur d'électron ou atome d'hydrogène à une large gamme des espèces réactifs d'oxygène y compris $O^{\bullet-2}$, OH^{\bullet} , radicale peroxy LO_2 , Acide hypochloreux (HOCl) et acide peroxyntrique (ONOOH),
- interagir avec les ions métalliques responsables de la production des E.R.O; aboutissant à la formation de complexe chélateur stable et inerte,
- inhiber des enzymes responsables de la production des E.R.O. (exemple: xanthine oxydase et cyclooxygenase),
- assurer l'inhibition de la peroxydation lipidique par l'inhibition de la phase de propagation dans les réactions en chaînes.

II.3. Balance Oxydants /Antioxydants

Les ERO ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (**Faviere et al., 2003**). Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé le stress oxydatif (**Sohal et al., 2002**) (**Figure 06**). Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (**Kohen et Nyska, 2002**).

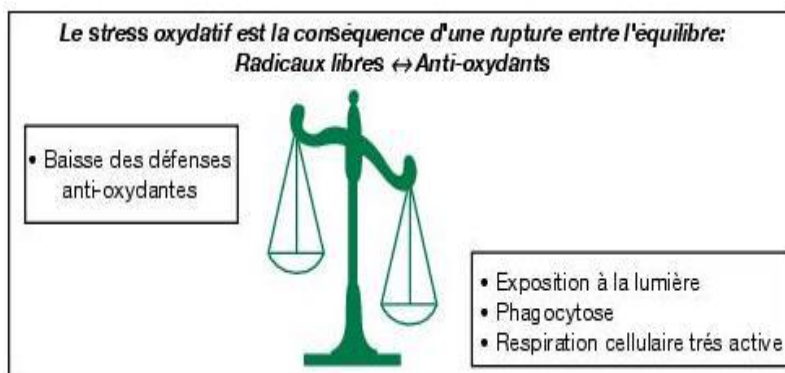


Figure 06. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (**Shimizu, 2004**).

CHAPITRE II.

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal et extraction

I.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétale est constitué des feuilles du *Zizyphus lotus*, récolté en Octobre 2019, de la région d'Oran-Ouest de l'Algérie- et authentifié par des professeurs au niveau de laboratoire de botanique, Université Oran1. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à l'abri de la lumière et à température ambiante (**Figure 7**). Après séchage, les feuilles de plante ont été broyées pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation des extraits aqueux.



Figure 07. Feuilles sèches de *Zizyphus lotus*.

I.2. Extraction aqueuse

I.2.1. Décoction

La poudre fine des feuilles de *Zizyphus lotus* est mise à décoctée dans l'eau distillée (10%, p/v) sous chauffage pendant 10 min. L'extraction a été renouvelée deux fois. La décoction est ensuite refroidie et filtrée à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat obtenu est congelé puis lyophilisé pour obtenir un résidu lyophilisé sec. Le lyophilisat est stocké à température ambiante (**Rached et al., 2019**).

I.1.3. Infusion

Cette extraction est effectuée dans l'eau distillée bouillante (10%, p/v) pendant 10 min. Cette étape est répétée deux fois. Le tout est ensuite refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre.

Le filtrat est congelé puis lyophilisé pour obtenir un résidu sec chargé en substances extractibles (**Rached *et al.*, 2019**).

Le rendement d'extraction calculé par rapport au poids total du matériel sèche est rapporté dans le tableau 8.

II. Dosage colorimétrique des composés phénoliques

II.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**).

-Principe et protocole

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**). Brièvement, la technique est exécutée selon le protocole suivant: 100 µL de l'extrait (2,5 mg/mL) sont mélangés avec 0,5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v, H₂O). L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex puis incubé pendant 5 min à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite, 1,5 mL de carbonate de sodium anhydre (Na₂CO₃, 2%, H₂O) sont ajoutés. Le mélange est agité et incubé pendant une heure. L'absorbance est lue à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (UViline 9400, Secomam). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg /ml). Les résultats des teneurs en polyphénols totaux sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait lyophilisé sec (mg Eq AG/g d'extrait). Les teneurs sont calculées à partir d'une droite (équation de régression linéaire: $y = 4,2333 x + 0,0163$; $R^2 = 0,9996$) préparée à l'aide de différentes concentrations d'acide gallique (0,02; 0,04; 0,06; 0,08 et 0,1 mg/mL, H₂O) (**Figure08**). Cette courbe est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons étudiés. Les dosages sont effectués en triplicata.

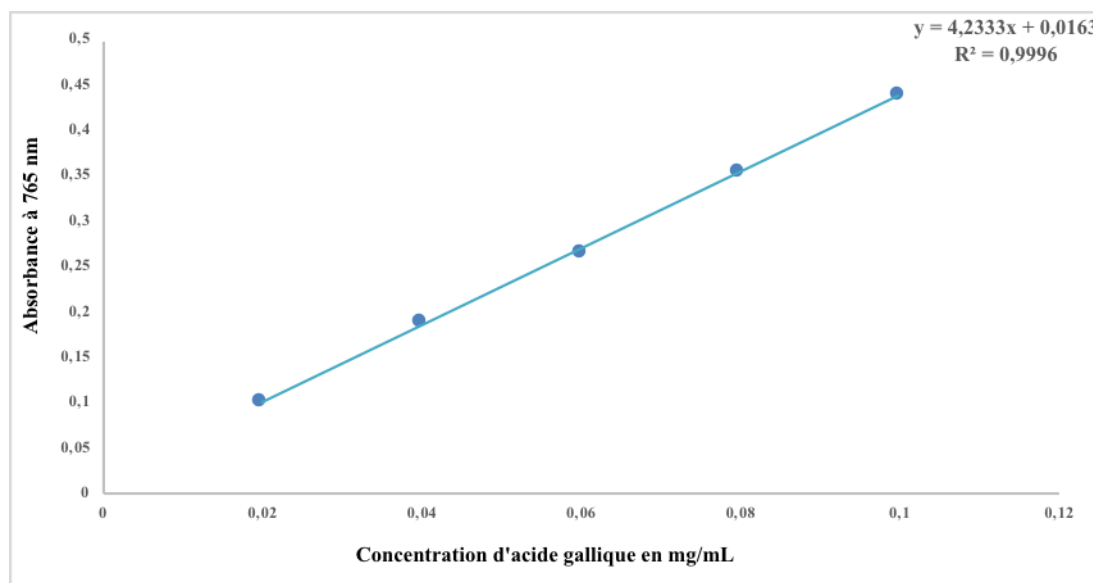


Figure08. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (TPT)

II.2. Dosage des flavonoïdes totaux

-Principe et protocole

L'analyse quantitative des flavonoïdes totaux est réalisée selon un dosage colorimétrique par le trichlorure d'aluminium en présence de NaNO_2 en milieu alcalin suivant la méthode décrite par **Kim et al. (2003)**. Cette méthode est couramment basée sur la formation d'un complexe entre les groupements hydroxyles des flavonoïdes avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3), suivie par une mesure spectro photométriquement de ce complexe produit (**Mammen et Daniel, 2012**). La coloration rosâtre produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait, mesurée à 510 nm (**Pękal et Pyrzynska, 2014**).

Cette méthode est adoptée pour déterminer la teneur en flavonoïdes présente dans chaque matrice à base de plantes ou d'aliments selon la procédure suivante: 0,5 mL de l'extrait de poudre des feuilles sont mélangés avec 1.5 mL d'eau distillée. À $T=0$; 0,150 mL de nitrate de Sodium (NaNO_3) (5% p/v, H_2O) sont ajoutés. À $T= 5$ min; 0,150 mL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (10% p/v, H_2O) sont additionnées. Après 6 minutes; 0,5 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1 M p/v, H_2O) sont ajoutés. Le mélange est bien homogénéisé à l'aide d'un vortex, puis la lecture de l'absorbance est effectuée immédiatement à 510 nm. Les concentrations en flavonoïdes totaux sont exprimées en mg d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait lyophilisé sec (mg EC/g d'extrait), calculées à partir d'une courbe d'étalonnage (équation de la régression linéaire: $y = 0,0045 x - 0,0525$; $R^2 = 0,9946$)

préparée avec la catéchine (0,04; 0,06; 0,08; 0,1 et 0,2 mg/mL, Méthanol) (**Figure09**). Cette courbe est procédée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons étudiés. Les dosages sont encore effectués en triplicata.

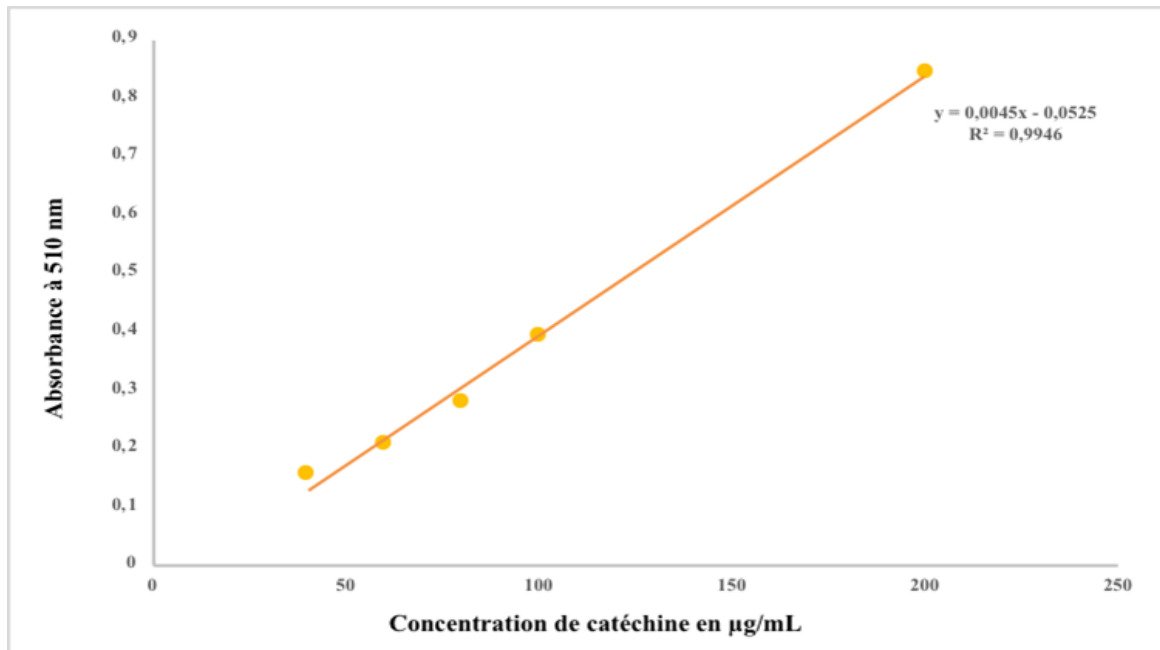


Figure09. Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

III. Détermination de l'activité antioxydante

Dans cette partie nous nous intéressons d'étudier l'activité antioxydante, *in vitro*, par plusieurs méthodes. Ces essais sont totalement classifiés selon leur mécanisme d'action. Dans présente étude, l'activité antioxydante des extraits aqueux étudiés a été évaluée *in vitro* selon la méthode décrite par **Barros et al. (2013)**.

III.1. Pouvoir scavenger du radical DPPH

III.1.1. Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

II.3.1.2. Méthodologie

Cette technique est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre (UViline 9400, Secomam). Elle consiste donc à mélanger 100 µL de différentes concentrations de chaque extrait aqueux testé (0,019 – 5 mg/ML) avec 900 µL d'une solution méthanolique de DPPH (0,06 MM). L'absorbance est mesurée à 517 nm après avoir laissé incuber la réaction, à l'obscurité, pendant une heure. Les extraits sont testés contre un blanc qui contient la solution méthanolique de DPPH incubée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le Trolox, l'acide ascorbique et la catéchine sont utilisés comme des témoins positifs (substances de références). Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule suivante:

$$PI\% = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où A_C : Absorbance de solution DPPH; A_E : Absorbance de la solution contenant l'extrait.

Les résultats sont exprimés en valeur d'IC₅₀ où la concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50) qui présente la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH°. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, représentées par pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

III.2. Pouvoir réducteur d'ions ferriques (FRAP)

III.2.1. Principe

La méthode de pouvoir réducteur de fer est basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer de forme ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en présence d'un antioxydant par transfert d'électrons (**Chung *et al.*, 2006; Benzie et Devaki, 2018**). La forme réduite donne une couleur bleue qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait. De ce fait, cette densité de couleur est mesurée à 690 nm. Ce test est peu coûteux, simple, reproductible et rapide utilisé pour indiquer la présence des composés phénolique (**Benzie et Devaki, 2018**).

III.2.2. Méthodologie

Les différentes concentrations des extraits aqueux et des substances de références (0,019 - 5 mg/ML; 0,5 L) sont mélangées avec une quantité égale de tampon phosphate (200 MM p/v; pH=6,6; 0,5 ML) et de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$; 1% p/v; H₂O; 0,5

ML). Après 20 mn d'incubation à 50°C, 0,5 ML d'acide trichloracétique (10%, p/v) sont ajoutés au mélange. Ensuite, 0,8 mL de mélange de chaque concentration sont mixés avec une quantité égale d'eau distillée et 160 µl du chlorure ferrique (FeCl₃; 10%). L'absorbance est lue à 700 nm contre un témoin négatif sans extrait. L'absorbance est directement proportionnelle au pouvoir réducteur. Les résultats sont exprimés en valeurs IC₅₀ qui est calculée à partir de la courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

Étude statistique

Les courbes et les histogrammes dans cette étude sont tracés par le Microsoft Excel 2010. Les analyses statistiques unies variées sont utilisées dans tous les tests. Les résultats sont ensuite suivis par le test Tukey's HSD avec un niveau de signification de 5% ($p = 0.05$), et analysés par le test de t-Student. Ces analyses sont réalisées par le logiciel SPSS (Statistics Package for Social Sciences) version 23.0 (IBM Corporation, New York, USA). Les données sont figurées par leur moyenne \pm erreur standard par rapport à la moyenne (ESM). Pour toutes les méthodes utilisées, trois répétitions sont effectuées (triplicata).

CHAPITRE III.

Résultats et discussion

I. Extraction et caractérisation phytochimique

I.1. Rendements d'extraction

Le tableau 08 indique les résultats du rendement d'extraction des feuilles de *Zyziphus lotus*. Cette plante est décoctée et infusée par l'eau distillée sous des conditions de chauffage. La décoction de la plante a donné un rendement plus élevé (19,01%) que ce de l'infusion (14,79%). Dans ce contexte, une étude faite par Salah (2016) sur les feuilles de *Z. lotus* récoltées le mois d'avril dans la région de Chlef. En comparaison avec notre résultat, un faible rendement de 09,78% a été trouvé après une extraction par une combinaison de méthanol et l'eau de 80% a été réalisée. Une autre étude a été réalisée par Aymane (2017) sur les fruits de *Z. lotus* récoltés dans la région de Fès (Maroc) par la méthode d'extraction adoptée est Soxhlet ont montré que l'extrait aqueux à un rendement de 19,73%. Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent sur tous le contenu total en métabolites secondaires, et par conséquent affecte sur les activités biologiques m'édifiées par ces métabolites (Lee *et al.*, 2003).

Tableau 08. Rendement de l'extraction aqueuse de *Z. lotus*.

Extraction	Rendement %
Infusion	14,79
Décoction	19,01

I.2 Analyses phytochimiques des extraits étudiées

I.2.1. Dosage colorimétrique des composés phénoliques

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles de *Z. lotus*, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés pharmacologiques des plantes leurs sont attribuées.

I.2.1.1 Dosage des polyphénols totaux

Les analyses phytochimiques des extraits des plantes médicinales est une étape préliminaire, d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques (Wang *et al.*, 2018).

Les résultats du dosage colorimétrique des polyphénols sont présents dans le tableau 09 indiquent que tous les extraits testés renferment des teneurs les plus élevées en polyphénols totaux. D'après les résultats obtenus, une variabilité des teneurs en a été constatée: celle des polyphénols est plus élevée pour la décoction ($158,16 \pm 5$ mg/g) et plus faible que l'infusion ($100,02 \pm 4$ mg/g) (**Figure 10**). On remarque que les feuilles de *Z. lotus* contiennent une quantité importante des composés phénoliques. En comparaison avec le résultat obtenu par Amari et Gourissi (2017) sur l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des feuille de *Z. lotus* récoltés de Mila (Tadjanet) en Octobre, les teneurs en polyphénols totaux apparaissent plus faible ($33,06 \pm 4,75$ µg/mg). Les résultats obtenus par Lahmer et Messai (2017) sur les racines et les écorces de *Z. lotus* qui sont récoltées en mars 2017 de la région de Mila montrent une présence plus élevées des teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux par rapport à celle de l'extrait méthanolique avec des contenus de $39,966 \pm 2,555$ et $26,989 \pm 2,016$ µg/mg, respectivement).

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux adaptée par la méthode de Folin-Ciocalteu indique que tous les extraits testés sont riches en composés phénoliques mais avec des valeurs variables fortement dépendantes de la méthode d'extraction, la partie testée et le temps de prélèvement (**Konieczynski et al., 2016**).

I.2.1.2 Dosage des flavonoïdes totaux

On remarque que la concentration en polyphénols totaux est plus élevée pour la décoction ($54,75 \pm 2,79$ mg/g) que celle de l'infusion ($40,8 \pm 2$ mg/g). En comparant avec les résultats trouvés par Amari et Gourissi (2017) sur les extraits méthanolique et aqueux des feuille de *Z. lotus* montre que l'extrait aqueux des flavonoïdes est de $6,68 \pm 0,29$ µg/mg. D'après les résultats obtenus on constate que nos extraits sont plus riches en flavonoïdes. Des études similaires ont été effectuées par Dahlia (2019) ont montrés que l'extrait aqueux des pulpes trouvé de la population de Metlili (Ghardaïa) avait enregistré un maximum de teneur en flavonoïdes ($98,260 \pm 12,258$ mg/g). Cet résultat été révélé des concentrations en flavonoïdes voisines à celles rapportées par **Li et al., (2015)** qui ont trouvé que la teneur en flavonoïdes du jujube rouge de trois zones différentes dans la chine était de 65,1-158,6 mg /100g. Les résultats de dosage ont été montrés la présence des flavonoïdes dans tous les extraits aqueux testés. Cela confirme la richesse de *Z. lotus* par les flavonoïdes et sa variabilité selon la méthode d'extraction, la partie utilisée et la région du prélèvement (**Ding et al., 2009; Bozin et al., 2008**).

Les composés phénoliques ont une activité antioxydante et il est probable que l'activité des extraits due à ces composés (**Adedapo et al., 2008**). Leurs propriétés redox, jouent un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres, la désactivation d'oxygène triplet et singlet, ou la décomposition des peroxydes (**Pawar et Surana, 2010**). En outre, les composés polyphénoliques jouent un rôle important dans la cicatrisation des plaies grâce à leur activité antimicrobienne et antioxydante, et leur capacité de chélation des métaux (**Antonio et al., 2011**).

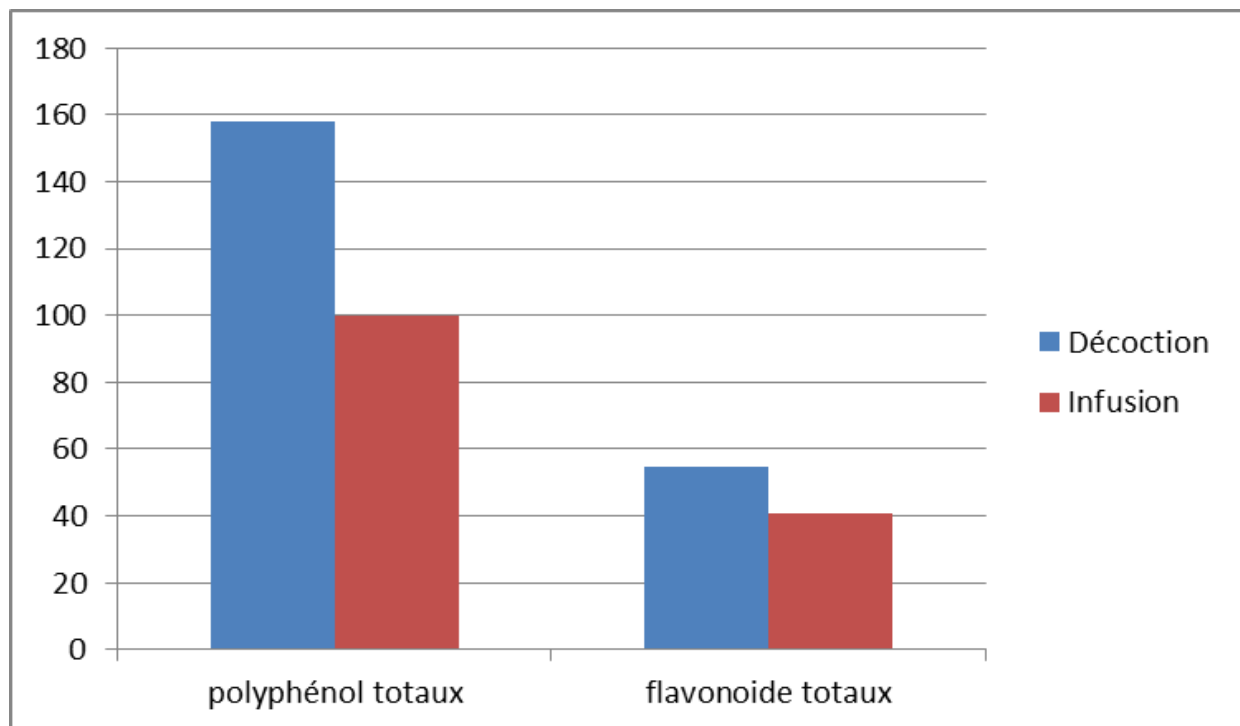


Figure 11. Étude phytochimique de différents extraits de *Zizyphus lotus*.

II. Étude de l'activité antioxydante

Deux principaux mécanismes antioxydant ont été proposés pour la prévention contre le stress oxydatif par les polyphénol, à la fois *in vitro* et *in vivo* (**Perron et al., 2009**). Le premier est basé sur la capacité de la fonction phénol à donner un atome d'hydrogène à un radical libre; le deuxième est le transfert d'électron d'un composé phénolique à un radical libre (**Quideau et al., 2011**).

II.1. Piégeage du radical libre DPPH

La méthode de piégeage du radical DPPH est parmi les méthodes spectrophotométriques les plus répondues et très utilisées pour l'évaluation de la capacité antioxydante des produits naturels comme d'extraits de plantes, de végétaux, de fruits et des

composés chimiques (**Burgos *et al.*, 2013**). L'estimation de l'activité antioxydante des extraits aqueux de *Z. lotus* et leurs activités sont comparés à celles de l'acide ascorbique (vitamine C), la catéchine et le Trolox qui sont des antioxydants synthétiques connus par leurs propriétés antioxydantes et sont couramment utilisés comme substances de référence (**Wong *et al.*, 2015**).

Les valeurs de la concentration inhibitrice (IC₅₀) des différents extraits bruts et standards sont représentées dans le tableau 09, qui est un paramètre employé pour quantifier l'activité antioxydante d'un produit chimique. La valeur d'IC₅₀ d'une substance antioxydante correspond à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % d'un oxydant impliqué. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (**Chen *et al.*, 2013**).

Les résultats obtenus montrent une présence de l'activité antioxydant plus élevée dans l'infusion avec une valeur de $19,502 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ par rapport la décoction avec une valeur de $12,12 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ contre l'acide ascorbique, catéchine et trolox ($0,45 \pm 0,02$ et $1,0493 \pm 0,01$ et $2,76 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

II.2. Pouvoir réducteur d'ions ferriques (FRAP)

Cette méthode est une technique simple, rapide et productible. Elle est universel peut être appliqué chez les plantes afin de tester et de déterminer la concentration d'extrait le plus actif (**Ozturk *et al.*, 2007**). La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe_3^+ /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe_2^+ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Su *et al.*, 2008**). L'acide ascorbique, catéchine et trolox sont des substances de référence utilisées comme des témoins positifs pour l'activité antioxydante qui a été exprimée sous la forme de valeurs IC₅₀ (moyenne \pm SD), ce qui signifie que plus cette valeur est faible, plus le pouvoir antioxydant est fort. IC₅₀: la concentration d'extrait correspondant à 50% de l'activité antioxydante ou à 0,5 de l'absorbance dans le test du pouvoir réducteur (**Liu *et al.*, 2009**). Les différentes lettres signifient des différences significatives entre les différents extraits d'espèce étudiée ($p < 0,05$).

Les résultats obtenus montrent une présence du pouvoir antioxydant dans les extraits étudiés avec des valeurs d'IC₅₀ de $11,798 \pm 0,54$ et $20,839 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ pour la décoction et l'infusion, respectivement. Le potentiel antioxydant remarqué sur l'extrait aqueux de *Z. lotus* par la méthode d'extraction aqueuse est supérieure à celui trouvée par Salah (2016) a

démonstré que l'extrait de même espèce de la région de Chlef possède une IC_{50} de $133,100 \pm 1,85 \mu\text{g/ml}$. Les résultats obtenus montrent que les feuilles de *Z. lotus* sont riches en polyphénols et surtout en flavonoïdes. Ces derniers sont des composés phénoliques connus par leurs activités antioxydante et anti-radicalaire (**Barreca et al., 2011**). Mais la qualité de ces molécules sera beaucoup plus intéressante puisqu'elle détermine l'ampleur de propriétés biologiques (**Bettaieb et al., 2016**). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur structure, au nombre de groupements donneurs d'hydrogène et au nombre élevé des groupements hydroxyles présentant une activité antioxydant élevée (**Heim et al., 2002**). L'activité antioxydante des extraits testés pourrait être due à la présence de flavonols glycosides (tel que glicosides de quercitine) et l'acide gallique présents dans ces extraits (**Longo et al., 2007**). Zhang et al. (2011) ont estimé les propriétés antioxydantes de la quercétine. Les feuilles contiennent des taux plus élevés en phénols totaux, en flavonoïdes que les fruits, bien que les deux extraits aqueux aient des activités antioxydantes importantes (**Ghazghazi et al., 2014**).

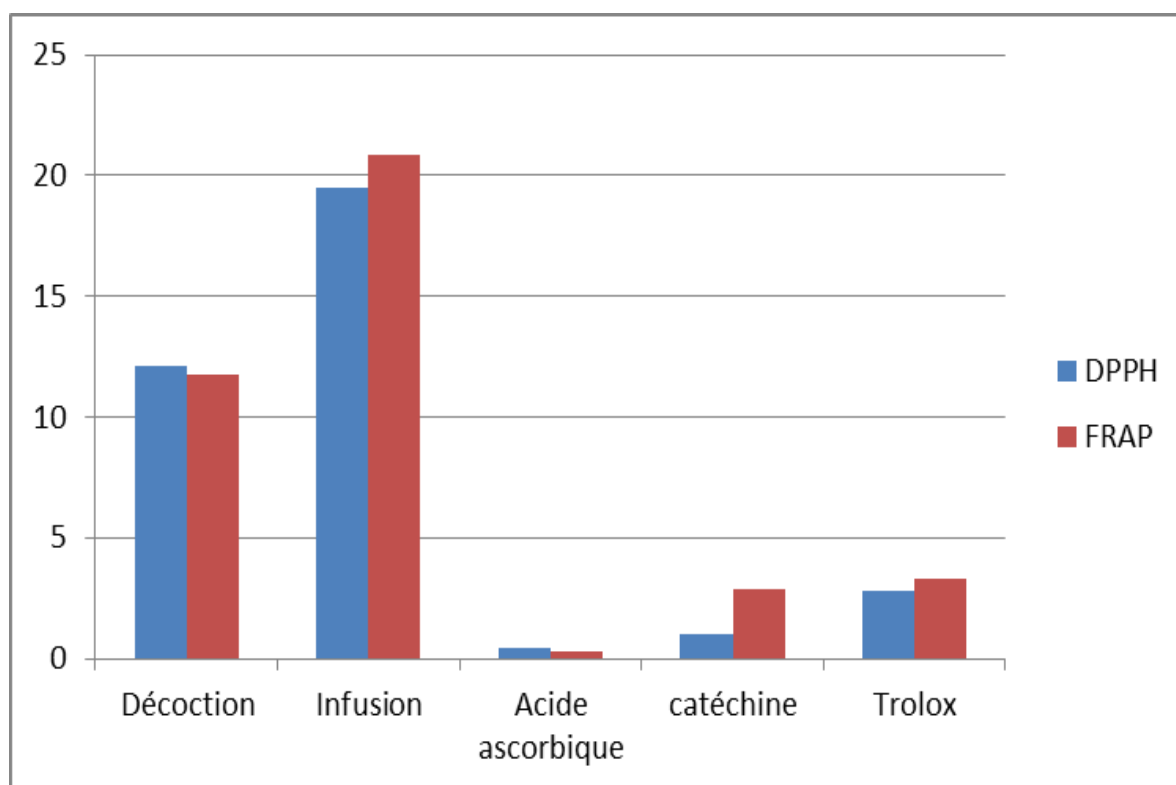


Figure10. Étude de l'activité antioxydante de différents extraits de *Zizyphus lotus*

Tableau 09. Activité antioxydante et teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits aqueux des feuilles de *Z. lotus*

Activité antioxydante (valeurs d'IC ₅₀ en µg/mL)	Décoction	Infusion	Acide* ascorbique	Catéchine*	Trolox*
Test de DPPH	12,12 ± 0,19	19,502 ± 0,71	0,45 ± 0,02	1,05 ± 0,01	2,8 ± 0,04
Test de pouvoir réducteur	11,8 ± 0,54	20,84 ± 0,08	0,32 ± 0,01	2,9 ± 0,4	3,3 ± 0,01
Polyphénols totaux (mg/g)	158,16 ± 5	100,02 ± 4			
Flavonoïdes totaux (mg/g)	54,75 ± 2,79	40,8 ± 2			

* acide ascorbique, catéchine et trolox sont des substances de référence utilisées comme des témoins positifs pour l'activité antioxydante qui a été exprimée sous la forme de valeurs IC₅₀ (moyenne ± SD), ce qui signifie que plus cette valeur est faible, plus le pouvoir antioxydant est fort. IC₅₀: la concentration d'extrait correspondant à 50% de l'activité antioxydante ou à 0.5 de l'absorbance dans le test du pouvoir réducteur. Les différentes lettres signifient des différences significatives entre les différents extraits des espèces étudiées (p <0.05). Les valeurs des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux sont exprimées en mg équivalent d'un standard par g de matière sèche (moyenne ± SD). Les différentes lettres signifient des différences significatives entre les différents extraits de plantes testées (p <0.05).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydantes a concerné une plante appartient à la famille des Rhamnacées, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols dans les deux extraits de l'infusion et la décoction. De même, nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes. Il ressort de ces analyses que les extraits des feuilles du *Zizyphus lotus* est riche en flavonoïdes.

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par deux méthodes: test de DPPH et le test de réduction de fer (FRAP). Les résultats obtenus montrent que ces extraits possèdent une activité antioxydante. Donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques.

En fin, la biodiversité des plante médicinale traditionnellement connu dans n'outrepasse caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments anti radicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

***RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

Références bibliographique

A

Adedapo, A., Jimoh, F., Koduru, S., Afolayan, A., Masika, P. (2008). Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves stems of stems of *Calpurnia aurea*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 8(1):1-9.

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

Amari, I. et Groussi, H. (2017). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne *in vitro* des extraits méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*. Mémoire de master: Biochimie. Université Frères Mentouri Constantine 1, 84p.

Antonio, F., Guillem, R., Sonia, T., Clara, M., Piergiorgio, G., Gianluca, C., Tznov, T. (2011). Cross-linked collagen sponges loaded with plant polyphenol with inhibitory activity towards chronic wound enzymes. Biotechnology Journal, 6:1208-1218.

Ayman, B., (2017). Évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des extraits de *Zizyphus lotus*. Projet de fin d'étude: Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources. Université sidi Mohamed ben Abdellah, 1-34p.

B

Baba Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb – Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouiba, p. 145.

Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U., Kumquat, G.G. (2011). *Fortunella japonica* swingle juice: Flavonoid distribution and antioxidant properties. Food Research International, 44:2190-2197.

Bayer, E., and Butter, K. (2000). Guide de la flore méditerranéenne, p. 280.

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

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

Bettaieb Rebey, L., Sriti, J., Besbes, B., Makhaddmini Hammi, I., Hamrouni, A., Sllami, B., Marzouk, B., Ksouri, R. (2016). Effet de la prévenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des grains de fenouil (*Foeniculume vulgare* Mill), Journal of New Sciences, 27(4) :1478-1487.

Bhuyan, D.J., Basu, A. (2017). Phenolic compounds potential health benefits and toxicity. In Utilization of bioactive compounds from agricultural and food production waste. CRC Press, pp. 27-59.

Boizot Net Charpontier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, 79-82.

Bonnefont-Rousselot D et Collin F. (2010) Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. Toxicology, 278; 55-67.

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

Borgi, W., Bouraoui, A., Chouchane, N.(2007). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. Journal of Ethnopharmacology, 12:228-231.

Borgi W et Chouchane N. (2006). Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces des racines de *Zizyphus lotus* (L). Revue des Région Arides ,283-286.

Bouayed, J., Bohn, T. (2012). Dietary derived antioxidants: implications on health. In Nutrition, well-being and health. Intech Open.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R. (2008).Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). Food Chemistry, 925-929.

Bruneton, J., (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, Paris: pp. 173-176.

Bureau, L., (2016). Plantes, compléments alimentaires et nutraceutiques, une réglementation complexe. Actualités Pharmaceutiques, 55 (561): 34-38.

C

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

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

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

Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress.1:569-590.Current Topics in Medicinal Chemistry

Cuevas-Valenzuela, J., Vergara Salinas, J.R., Pérez-Correa, J.R., (2016). Advances in Technologies for Producing Food-Relevant Polyphenols. CRC Press, Boca Raton, p. 335.

Croteau, R.T.M.,Kutchan, N.G. L. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). In: Buchanan, Gruissem, Jones (éds.), Biochemistry and Molecular Biology of Plants, American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland.

D

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

Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., Madani, K. (2015).optimization of microwave assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. Food Chemistry, 166:585-95.

De la Rosa, L.A., Moreno-Escamilla, O.J., Rodrigo-García, J., Alvarez-Parrilla, E. (2019).Phenolic compounds in Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables, 253-271.

Devi, G, Manivannan Thirumaran, F., Anantharaman, P. (2011).In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from southeast coast of India. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 4:205-211.

Didier, D.S., Emmanuel, M.M., Alfred, N., France, K.M., Lagarde, B.J., (2011). Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. Journal of Applied Biosciences, 37: 2496-2507.

Ding, X.P., Qi, J., Chang, Y.X., Mu, L.L., Zhu, D.N., Yu, B.Y. (2009). Quality control of flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves by high-performance liquid chromatography with diode

array detection and on-line radical scavenging activity detection. *Journal of Chromatography*. A., 1216: 2204-2210.

DzialoMierziak, J.,Korzun, U., Szopa, J., Kulma, A. (2016). The potencial of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *International Journal of Molecular sciences*, 17:160-201.

F

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

G

Gharghazia, H., Aouadhi, C., Riahi, L., Maaeoufi, A., Hasnaoui, B. (2014). Fatty acids composition of Tunisian *Ziziphus lotus* L. (desf) fruit and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural Product Research*, 28:1106-1110.

Ghazghazia, H., Chediab, A., Abderrazakb, M., Brahima, H. (2014).Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbioloyg Alim*, 25 (73): 37-41.

Ghedira, K., Chemli, R., Caron, C., Nuzillard, J.M., Zeches, M., Le Men-Olivier, L. (1995). Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 38 :767-772.

Gourguillon, L., Destandau, E., Lobstein, A., Lesellier, E. (2016). Comparison of different ways to extract dicaffeoylquinic acids from a halophytic plant. *Comptes Rendus Chimie*, 19(9):1133-41.

Guinebert, E., Durand, P., Prost, M., Grinand,R. and Bernigault, R. (2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*, 554-558.

Gutowski, M., & Kowalczyk, S. (2013). A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochimica Polonica*, 60, 1.

H

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antiaxydants . *Nutritionist. Rev.*52:253-265.

Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews*, 70, 5: 257-265.

Halliwell, B., & Gutteridge, J.M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, Oxford.

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68 (22): 2831-2846.

Haton, C. (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.

Heim, K., Tagliaferro, A. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10): 572-584.

I

Ighodaro, O.M., & Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 4: 287-293.

J

-Jacquot, J.P., Dietz, K.J., Rouhier, N., Meux, E., Lallement, P.A., Selles, B. and Hecker, A. (2013) Redox regulation in plants: glutathione and “redoxin” related families. In: *Oxidative stress and redox regulation*. Springer Science Business Media Dordrecht, pp. 213-291.

Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7, 1.

K

Kaurinovic, B., Vastag, D. (2019). Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. In *Antioxidants*. Intech Open, NoviSad.

Kohen R. and Nyska A,(2002). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.*; 30: 620-650.

Konieczynski, P., Arceusz, A., Wesolowski, M. (2016). Essential elements and their relations to phenolic compounds in infusions of medicinal plants acquired from different European regions. *Biological Trace Element Research*, 170 (2): 466-475.

Ksouri, R., Megdiche, W, Debez, A, Falleh, H, Grignon, C, Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakilemaritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3-4):244-9.

Kumar, S., Sharma, S., & Vasudeva, N. (2017). Review on antioxidants and evaluation procedures. *Chinese Journal of Integrative Medicine*: 1-12.

L

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

Lahmar, N., Messai, S. (2017). Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines du *Zizyphus lotus* (L). Mémoire de master: Biochimie/Biochimie moléculaire et santé. Université des Frères Mentouri Constantine 1, 112p.

Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales. (2001). Identification, préparations, soins. ISBN 2-03-560252-1, p. 12-22.

Lango, L., Scardio, A., Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of antocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L. and *Phyllyrea latifolia* L. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8:360-364.

Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 7292-7295.

Li, J., Percival, D., Hoyle, J., Yue, J., White, J., Head, K., Pruski, K., (2015). Environmental effects on fruit composition of cloudberry/ bakeapple (*Rubus chamaemorus* L.) grown in southern Labrador, Canada. *Can. journal of plant sciences*, 95: 1167-1175.

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

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4, 8: 118.

Lonn, M.E., Dennis, J.M., & Stocker, R. (2012) Actions of “antioxidants” in the protection against atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 53: 863-884.

Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002). *Botanique: Technique et documentation*. Lavoisier, Paris, 3, p. 211.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques, ed. Presses Polytechniques et Universitaires, Romandes, p.4-5.

Mammen, D., Daniel, M. (2012). A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food Chemistry*, 135 (3): 1365-1368.

Marouf, A., Reynaud, J. (2007). *La botanique de A à Z*. Dunod, Paris, p.177.

Marquet, J.A., Hambuchers, k. (2000). *Observation du monde des plantes*. Communauté Française de Belgique, exposition du 19/09/2000.

Máthé, Á. (2015). *Medicinal and aromatic plants of the world: Scientific, production, commercial and utilisation aspects*. Springer, New York, p. 1- 5.

Michel, T. (2011). *Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophaerhamnoides) : université d'orléans*.

Miguel-Chávez, S.R. (2017). Phenolic antioxidant capacity: a review of the state of the art. *Phenolic compounds: Biological activity*. Intech Open, Rijika, pp. 59-74.

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

Milbury, P., Richer A.,(2008). *Understanding the Antioxidant Controversy*. Ed. Praeger:81p.

Mounni, S. (2008). Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegusa zarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L., et *Zizyphus lotus* L., Mémoire de Magistère en Agronomie, Université de Batna.

N

Neve, J., Pincemail, J. (2008). Antioxydants alimentaires: vitamines, oligoéléments et non-nutriments. Aliments fonctionnels. Lavoisier, Paris: 203-41.

O

Oliveira, L.D.L.D., Carvalho, M.V.D., Melo, L. (2014). Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres*, 61: 764-779.

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

P

Palhares, R.M., Drummond, M.G., Brasil, B.D.S.A.F., Cosenza, G.P., Brandão, M.D.G.L., Oliveira, G. (2015). Medicinal plants recommended by the world health organization: DNA barcode associated with chemical analyses guarantees their quality. *PloS one*, 10, 5.

Papa L., Manfredi G., Germain D. (2014) SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. *Genes and Cancer*, 5 (1-2): 15-21.

Pawar, C., Surana, S. (2010). Antioxidant properties of the methanol extract of the wood and pericarp of *Caesalpinia decapetala*. *Journal of Young Pharmacists* 2:45-49.

Pękal, A., et Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9): 1776-1782.

Pereira, D., Valentão, P., Pereira, J., Andrade, P. (2009). Phenolics: from chemistry to biology. *Molecules*, 14: 2202-2211.

Perron, N., Brumaghim, J. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53:75-100.

Phaniendra, A., Jestadi, D.B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 1: 11-26.

Pourreza, N. (2013). Phenolic compounds as potential antioxidant. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8 (4): 149.

Q

Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Cassassus, C., Pouysegou, L. (2011). Cheminform abstract: plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Cheminform*,42(17): 586-621.

Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris, 616-620.

R

Rached, W., Calhelha, R.C., Fernandes, A., Carvalho, A.M., Bennaceur, M., Marouf, A., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., (2016). Phytochemical characterization and bioactive properties of *Osyris quadripartita* Salzm. Ex Decne. leaves from Algeria. *RSC Advances*, 6 (76): 72768-72776.

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Research International*, 2014.

Ramshankar, Y.V., Vinay, P. (2008). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity properties of the methanolic extract from *Grewia*Valh. *Pharmog Mag*, 4: 330-334.

Ray, P.D., Huang, B.W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24, 5: 981-990.

S

Salah, H., (2016). Caractérisation phytochimique et détermination des effet pharmacologiques des extraits de deux plantes médicinales: *Pistacia lentiscus* et *Ziziphus lotus*. thèse de Doctorat: Biochimie.Université Oran 1,175p.

Santos-Buelga, C., Scalbert, A., (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food And Agriculture*, 80 (7): 1094-1117.

Shimizu, H. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,35 (9) : 2072-2077.

Singleton, V., and Rossi, J. (1965). Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

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

T

Tanase, C., Coșarcă, S., Muntean, D.L. (2019).A Critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*, 24 (6): 1182.

Tiveron, A., Melo, P., Bergamashi, K., Viera, T., Regitano-d'Arce, M., Alencar, S. (2012). Antioxidant activity of brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. *International Journal of Molecular sciences*, 13:8943-8957.

Tressera-Rimbau, A., Arranz, S., Eder, M., Vallverdú-Queralt, A. (2017).Dietary polyphenols in the prevention of stroke.*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.

V

Von Maydell, H.J.V. (1990). Arbes et arbustes du Sahel : leur caractéristique et leur utilisation. Margraf, Weikersheim.83 p.

W

Wong, S.P., Leong, L.P., William Koh, J.H. (2015). Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99:775-783.

Z

Zhng, M., Swarts, S.G., Yin, L., Liu, C., Tian, Y., Cao, Y., Swarts, M., Zhang, S.B., Zhang, K., Ju, S., Olek, D.J.Jr, Schwaetz, L., Keng, L., Howell, R., Zhang, L., Okunieff, P. (2011). Antioxidant properties of quercetin. *Advances in Experimental Medicine and biology* 701:283-289.

Zhuang, T., Li, F., Huang, L.R., Liang, J.Y., Qu, W., (2015). Secondary metabolites from the plants of the family Saururaceae and their biological properties. *Chemistry And Biodiversity*, 12 (2), 194-220.