



Université Ibn Khaldoun-Tiaret
Faculté : Sciences de la Nature et de Vie
Département : Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Science de la Nature et de Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

- GUIDOUM Djilali
- SALAH Chahinez

Thème

Étude phytochimique et évaluation *in-vitro* de l'activité biologique des extraits de *Ziziphus lotus*

Soutenu publiquement le; 10 /07/2023

Devant le jury:

Présidente:	Dr. NEHILA Affaf	MCB
Examineur:	Dr. SOUANA Kadda	MCA
Encadrant:	Dr. BOUSSAID Mohamed	MCA

Remerciement

Nous exprimons notre gratitude envers Dieu, qui nous a guidés vers notre situation actuelle, et nous lui demandons de nous permettre d'atteindre les plus hautes sphères de la religion et du monde, et de nous remettre sur le droit chemin.

Nous souhaitons remercier sincèrement tous ceux qui ont apporté leur contribution, qu'elle soit directe ou indirecte, à la réalisation de ce modeste travail. Nous espérons qu'il contribuera, ne serait-ce qu'en partie, au service de la recherche scientifique.

À M. BOUSSAID Mohamed , M. TAIBI Khaled, M. ACHIR Mohamed , M. SOUANA Kadda et Mme AIT ABDRAHIM Leila ; nos anciens enseignants.

A M. BOUSSAID l'encadrant, nous vous remercions pour vos efforts vos conseils et vos encouragements continus

Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimé aux membres de jury: Dr. NEHILA Affaf qui ma fait honneur de présider le jury, le Dr SOUANA Kadda qui ont accepté d'examiner mon travail.

A tous ceux que nous avons réunis pour travailler au laboratoire, Docteurs (Khadija, Asma ,Fadila) ou confèr

Nous remercions Mm Semmar .F , ingénierie de laboratoire Biochimie et n'oublie pas. Mm Hellal . F et Mm Merabet . F..

Nous souhaitons à chacun plus de réussite dans sa vie professionnelle et sociale.

Enfin, nous remercions tous les responsables de la bonne conduite de l'Université Ibn Khaldoun

des Sciences de la nature et la vie -Tiaret

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE HOUARIA :

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A MON TRÈS CHER PÈRE BOUABDELLA :

*Qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ;
Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

A MES SŒURS ET MON FRÈRE :

pour les soutenir, les aide, encouragement et de leurs conseils. A tous les membres de ma famille, petits et grands

A tous mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université : AYMEN, CHAMES EDDINE, AZIZ, NACER, DAOUD, OUSSAMA, MOHAMED, ILYES , SABRINA, YASSMIN, ZOHERA, KHALIDA .

Sans oublier mon binôme SALAH CHAHINEZ :

Qui elle a ajouté plus de distinction à notre travail avec ses idées brillantes et l'a permis d'ouvrir la voie par laquelle nous cherchons le succès, si Dieu le veut

DJILALI

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à:

-Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, Qui m'a donnée la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Mes sincères remerciements à la promotrice BOUSAID Mohamed pour ses orientations et ses conseils.

-à mes très chers particulières parents pour leur soutien tout long de mes études, qui sont la lumière de mes yeux.

*Mon père *SALEH Miloud * mon plus haut exemple de persévérance pour aller toujours à l'avant et ne jamais baisser les bras, par leur dévouement et les énormes sacrifices et leur soutien, et qui m'a donné le sens du savoir et de la vie, et dont l'aide m'a permis de mener à bout ce mémoire, merci, à vous l'honneur PAPA.*

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère ABDOU Fatma

À ceux qui ont partagé mes joies et mes tragédies

À ceux qui m'ont appris que le monde se débattait et était armé de science et de connaissances... à ceux qui ne lésinaient pas sur moi... à ceux qui cherchent mon réconfort et mon succès à la plus grande sœur NACERA. Sans oublier mon beau-frère .TAYEB

A Mes chers frère: Mohamed , Houari , Khaled , Youcef et leurs épouses

Sans oublier mes neveux, la prunelle de mes yeux et ma joie, chacun en son nom sans exception

A ma chère tante :

Qu'est ma deuxième sœur pour son encouragement permanent, et son soutien moral

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leurs amours et leurs encouragements

À ceux qui étaient amicaux. Et distingués par la loyauté, l'honnêteté et la générosité. A ceux avec qui j'étais heureux. Qui étaient avec moi sur le chemin du succès et de la bonté sont mes amis: chaimaa ,aya, imen ,zohera, sabrina, yassmin ,khalida ,zohera houda ,halima ,radjaa, aicha .

Sans oublier mon binôme GUIDOUM DJILALI pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

CHAHINEZ

Résumé

Les plantes médicinales offrent une source inépuisable de substances naturelles bioactives. *Zizyphus lotus*, une plante appartenant à la famille des Rhamnaceae, est largement utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie, notamment dans les régions de Tisssilet et d'Ami Moussa. Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une espèce spontanée des régions arides et semi arides d'Algérie à travers la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et hémolytique de ses feuilles et ses rameaux. Les extraits aqueux et éthanoliques testés proviennent des parties aériennes du jujubier (*Zizyphus lotus* L.) collectées.

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins, varient considérablement, selon le type de solvant utilisé dans la préparation des extraits et selon la partie de la plante testée, comme elles sont dépendantes des sites de prélèvements.

En outre, la détermination de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a dévoilé les propriétés intéressantes que possèdent les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et des rameaux de jujubier à piéger les radicaux libres. Les extraits testés n'ont pas montré une activité hémolytique conséquente.

Mots clés : *Zizyphus lotus* L.) L.; pouvoir antioxydant ; extrait aqueux; extrait éthanolique ; polyphénols ; flavonoïdes ; tanins ; Algérie.

Abstract

Medicinal plants offer an inexhaustible source of bioactive natural substances. *Zizyphus lotus*, a plant belonging to the Rhamnaceae family, is widely used in traditional medicine in Algeria, especially in the regions of Tissmsilet and Ami Moussa. The main objective of this study was to analyse in a synthetic and analytical way the research conducted on the *Zizyphus Lotus* plant. Different experimental techniques and procedures have been applied to different parts of the plant, namely the aerial part. These methods included phytochemical screening and quantitative study of secondary metabolites such as polyphenols, flavonoids and tannins. In addition, various biological activities were evaluated, such as antioxidant and hemolytic activity. The results of the phytochemical screening showed a high concentration of phenolic compounds such as flavonoids and tannins in the stems and leaves of the plant. The results of the phytochemical screening revealed a high concentration of phenolic compounds, such as tannins, in the stems and leaves of the plant. Ethanol-based extracts were found to be richer in polyphenols and flavonoids, and showed greater antioxidant activity compared to aqueous extracts. Tannins are present in large quantities in the weave twigs. Ethanolic extract was identified as the most cost-effective fraction for secondary metabolites among the different extraction solutions. The evaluation of the antioxidant activity of the extracts revealed a powerful activity in the ethanolic extract compared to the aqueous extract. These differences can be explained by the amount of phenolic compounds present in the plant, which depends on its geographical origin and the climatic conditions in which it develops.

Keywords: *Zizyphus Lotus*, phytochemical screening, extract, antioxidant activity, hemolytic

المخلص

توفر النباتات الطبية مصدرًا لا ينضب من المواد الطبيعية النشطة بيولوجيًا. يُستخدم زيزيف لوتس، وهو نبات ينتمي إلى عائلة الرامناسي، على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر، وخاصة في منطقتي تسمسيات وعمي موسى. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحليل البحث الذي تم إجراؤه على نبات *Zizyphus Lotus* بطريقة اصطناعية وتحليلية. تم تطبيق تقنيات وإجراءات تجريبية مختلفة على أجزاء مختلفة من النبات، وهي الجزء الجوي. تضمنت هذه الطرق الفحص الكيميائي النباتي والدراسة الكمية للمستقلبات الثانوية مثل البوليفينول والفلافونويد والعفص. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم أنشطة بيولوجية مختلفة، مثل مضادات الأكسدة ونشاط انحلال الدم. أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي تركيزًا عاليًا للمركبات الفينولية مثل الفلافونويد والعفص في سيقان وأوراق النبات. كشفت نتائج الفحص الكيميائي النباتي عن تركيز مرتفع للمركبات الفينولية، مثل العفص، في سيقان وأوراق النبات. تم العثور على المستخلصات القائمة على الإيثانول لتكون أكثر ثراءً في البوليفينول والفلافونويد، وأظهرت نشاطًا أكبر لمضادات الأكسدة مقارنة بالمستخلصات المائية. العفص موجود بكميات كبيرة في أغصان النسيج. تم تحديد مستخلص الإيثانوليك باعتباره الجزء الأكثر فعالية من حيث التكلفة للمستقلبات الثانوية بين حلول الاستخراج المختلفة. كشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات عن نشاط قوي في المستخلص الإيثانولي مقارنة بالمستخلص المائي. يمكن تفسير هذه الاختلافات بكمية المركبات الفينولية الموجودة في النبات، والتي تعتمد على أصلها الجغرافي والظروف المناخية التي تتطور فيها.

الكلمات الرئيسية: السدر ، فحص كيميائي نباتي، مستخلص، نشاط مضاد للأكسدة، انحلال الدم

Table des matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	
1er Partie : Synthèse Bibliographique	
1. Généralités sur le Zizyphus lotus	
1.1 Description botanique	1
2.1 Classification botanique:	2
1.3. Écologie de la plante	2
1.4. Aire et répartition géographique	2
1.4.1. Dans le monde	2
1.4.2. En Algérie.....	3
1.5. Usage traditionnel (thérapeutique) de la plante.....	4
2. Les composés phénoliques	5
2.1. Les polyphénols	5
2.1.1. Les flavonoïdes.....	5
2.1.2. Les tanins	6
3. Les activités biologiques.....	6
3.1. Activité antioxydante	7
3.2. Activité anti-inflammatoire	8
3.4. Activité antimicrobienne	9
3.5. Activité hémolytique	10
2ème Partie : Matériel et Méthodes	11
1. Objectif	12
2. Matériel et méthodes	12
2.1 Matériel végétal.....	12
2.2 Méthodes.....	13

2.2.1 Préparation des extraites.....	13
Séchage.....	13
Broyage.....	13
2.2.2 Extraction	14
a. Macération.....	14
b. Filtration.....	15
Détermination de rendement	16
Caractérisation phytochimique	17
Dosage des polyphénols totaux.....	17
Dosage des Flavonoïdes	18
Dosage des Tanins.....	18
Tests des activités biologiques	19
Activité antioxydante	19
Activité hémolytique	21
Résultats et discussion.....	24
Rendement en extraits	24
2.Activité antioxydante de Ziziphus lotus provenant de Tissemsilt et d'Ami Moussa	29
Teneur en Polyphénols	25
Teneurs en flavonoïdes	26
Teneur des tanins.....	27
Activité Hémolytique du Zizyphus lotus :	31
Conclusion	33
Références Bibliographique	36

Liste des abréviations

ABS : Absorbance

Abts : sel d'ammonium de l'acide 2.2-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique.)

Ac : absorbance du contrôle négatif (blanc).

APR : Pouvoir antiradicalaire

AQ : extrait aqueux

At : absorbance de l'extrait testé

BAW : n-Butanol/Acide acétique/eau

CCM : Chromatographie sur couche mince

CK : créatine kinase

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EAG/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait μg

EAO : espèce réactive de l'oxygène

EC50: Concentration effective à 50%

ECh : Echantillon

ECT/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait μg

EQ/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait

ERO : espèces réactives de l'oxygène

Eth : éthanol

Ext : Extrait

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

IC50 : Concentration inhibitrice à 50% μg

LDH : lactate déshydrogénase

ORAC: Oxygène Radical Absorbance Capacity

ROS : espèces réactifs oxygénées

SM: Solution Mère

TRAP: Total Réactive Antioxidant Potentiel

Liste des tableaux

Tableau 1. La quantité d'IC50 inhibiteur des radicaux libre DPPH

Tableau 2 . IC50 des différents extraits en ($\mu\text{g/ml}$)

Liste des figures

Figures 1 : la plante *Zizyphus lotus*

Figures 2 : présence globale de *zizyphus lotus* (accès via GBIF.org)

Figures 3 : Aire de répartition du *Zizyphus lotus* En Algérie (accès via GBIF.org)

Figures 4 : les rameaux et les feuilles du *zizyphus lotus* (novembre 2022)

Figures 5 : la poudre de *Zizyphus lotus*

Figures 6 : filtration à l'aide d'un papier filtre Watchman

Figures 7 : Etapes de préparation des extraits de *Zizyphus Lotus*.

Figures 8 : Forme libre et réduit de DPPH

Figures 9 : Teneurs en polyphénols des différents extraits de *Zizyphus lotus*.

Figure 10 : Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de *Zizyphus lotus*

Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de *Zizyphus lotus*

Figure 12 : L'évolution de taux d'hémolyse (par absorbance) dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'extrait éthanolique et aqueux des feuilles et des rameaux de *zizyphus lotus* de deux différentes régions

Introduction

Le règne végétal offre un vaste réservoir largement inexploité de composés biologiquement actifs, qui peuvent servir non seulement de médicaments, mais également de modèles uniques pour la création de composés synthétiques et d'outils intéressants permettant une meilleure compréhension des processus biologiques (Pushparaj et al., 2004). L'Algérie est reconnue comme l'un des pays les plus riches en biodiversité en Afrique, avec une flore composée principalement d'arbres et d'arbustes, dont la plupart n'ont pas encore été étudiés en détail. Toutefois, la flore médicinale algérienne demeure largement méconnue, car parmi les milliers d'espèces végétales recensées, seules 146 sont répertoriées comme ayant des propriétés médicinales (Baba Aïssa, 1999). *Zizyphus lotus* est mentionné à plusieurs reprises dans le Coran en raison de sa richesse en nutriments et en composés phytochimiques (Wojdylo et al., 2016). Il contient notamment des antioxydants tels que des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tocophérols, des tocotriénols, de l'acide ascorbique et des caroténoïdes, qui contribuent à réduire les risques de maladies liées au stress oxydatif et à l'oxydation des molécules (Zhao et al., 2014 ; Siriamompun et al., 2015). L'objectif principal de notre mémoire est de valoriser la plante médicinale *Zizyphus lotus* en identifiant ses différents métabolites secondaires et en étudiant leurs activités biologiques. Les volets de notre recherche comprennent l'extraction des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins par macération, l'analyse quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins par dosage, ainsi que l'étude de l'activité hémolytique et l'activité antioxydante des extraits actifs de la plante sélectionnée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH,

1er Partie :
Synthèse Bibliographique

1. Généralités sur le *Zizyphus lotus*

1.1 Description botanique

Le *Zizyphus lotus* est une plante dicotylédone, issue de la famille Rhamnacée (Rsaissi et Bouhache, 2002). Appelée localement « Sedra » (Borgi et al., 2007). Il peut prendre la forme de buissons, d'arbustes ou de petits arbres. Il se reconnaît à ses rameaux en zigzag, à ses petites feuilles brillantes à bordure dentelée avec 3 nervures et à ses épines droites ou recourbées très vulnérantes à grandes souches souterraines de 1,3 m à 2,2 m. La floraison est au mois de mai. Les fleurs sont réunies en grappes, elles sont de couleur jaune pâle. Le fruit connu sous le nom de Nbeg dans la langue locale (Boussaid et al., 2018) est une drupe de couleur marron à la maturité et à goût délicieux (Messaoudi, 2005).



Figure 1. Plant de *Zizyphus lotus*

2.1 Classification botanique: Selon l'APG IV (2016), la classification du jujubier est la suivante :

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous-classe : Rosidae

Ordre: Rhamnales

Famille: Rhamnaceae

Tribu: Ziziphae

Genre: *Zizyphus*

Espèce: *Zizyphus lotus* (L.) Desf.

Il est dénommé en langue arabe par : Zizouf زيزوف, sedra سدرة, sidr سدر, sidr barri بري سدر et en français, Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, lotus des anciens,

Étymologie : *Zizyphus* proviendrait de zizouf, nom arabe de *Zizyphus lotus* .

1.3. Écologie de la plante

Le jujubier est une plante robuste qui peut tolérer différents types de sol, y compris les sols pauvres et rocailleux. Il supporte tous les types de sols, mais préfère les sols sableux profonds bien drainés présentant un pH neutre ou légèrement alcalin (Amara et Benabdeli, 2020). Il préfère une exposition plein soleil et peut supporter les climats chauds et secs. C'est une espèce tolérante à la sécheresse et peut survivre avec peu d'eau une fois établie. Il peut être rencontré dans des zones désertiques avec des précipitations très faibles et dans des zones à différences climatiques marquées (entre 150 et 1000 mm de pluviométrie), C'est un arbuste des zones rocailleuses, on le rencontre dans les falaises, aux pieds des collines et dans les lits d'oueds à fond rocailleux" (Laouedj, 2018).

1.4. Aire et répartition géographique

1.4.1. Dans le monde

Dans le monde, le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. Les jujubiers sont, généralement, répartis dans les

régions tempérées chaudes, tropicales et subtropicales du monde (San et Yildirim, 2010). *Zizyphus lotus* (jujubier sauvage) se rencontre généralement dans les pays arides et semi arides, particulièrement dans la région méditerranéenne (Abdoul-Azize et al., 2013). Il pousse dans certains pays du sud de l'Europe comme l'Espagne, l'Italie et la Grèce. Il se trouve aussi dans l'ouest de l'Asie et est très fréquent au nord de l'Afrique du Maroc jusqu'en Égypte (Tardío et al., 2016), il est plus rare au Sahara occidentale (Ozenda, 1991).

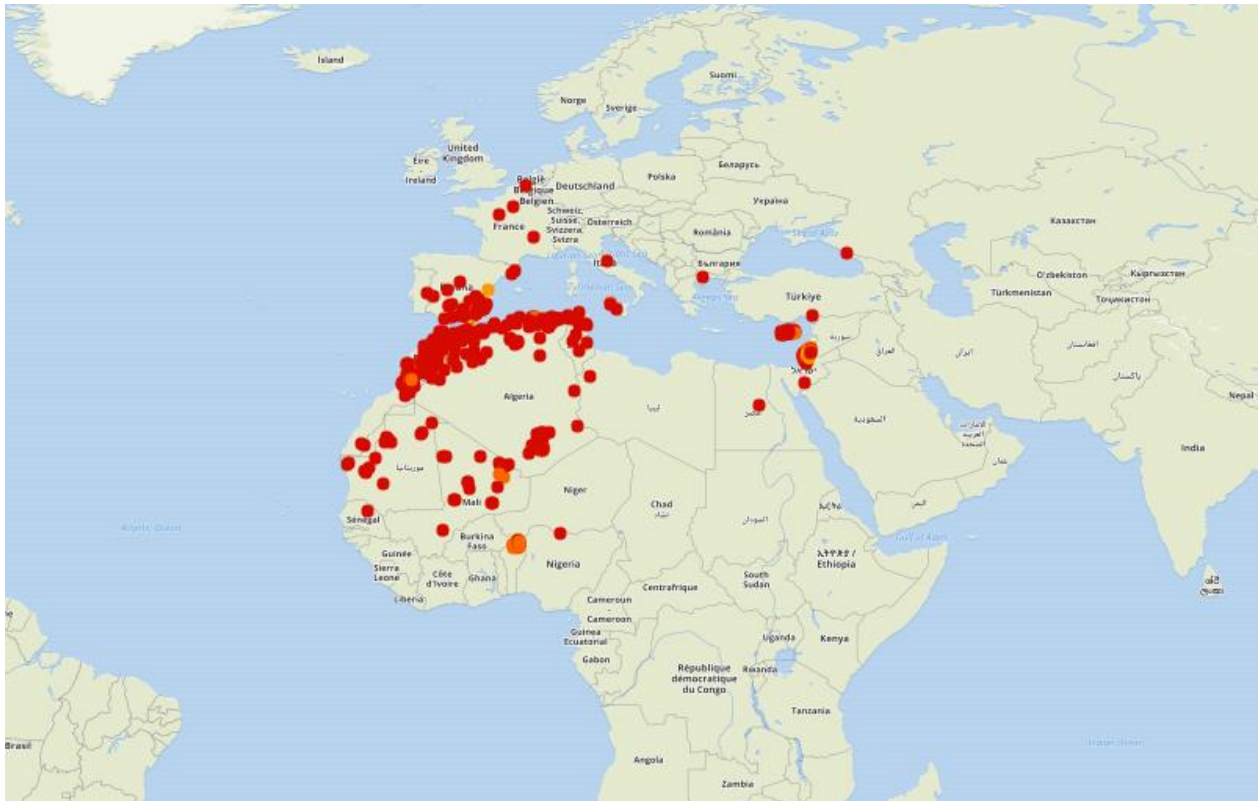


Figure 2. Présence globale de *zizyphus lotus* (accès via GBIF.org)

1.4.2. En Algérie

En Algérie, le *Zizyphus lotus* est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962 ; Amara et Benabdeli, 2020).

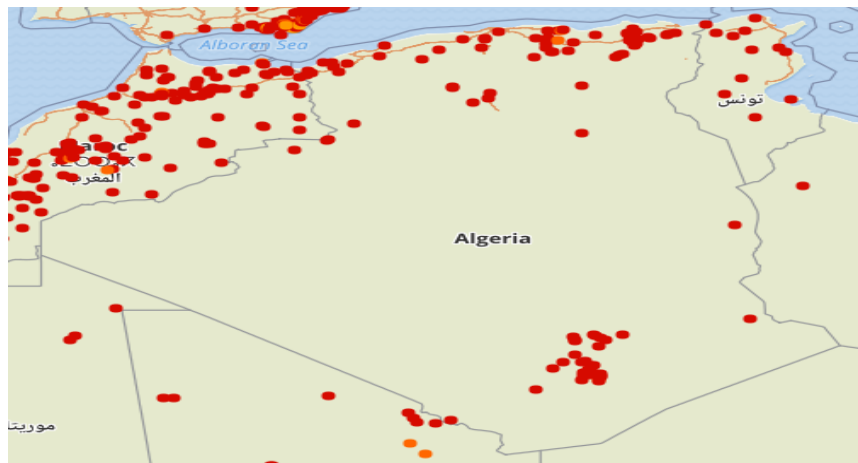


Figure 3. Aire de répartition du *Zizyphus lotus* en Algérie (accès via GBIF.org)

1.5. Usage traditionnel (thérapeutique) de la plante

Les usages traditionnels du *Zizyphus Lotus* en médecine populaire sont limités. Cependant, certaines pratiques sont bien documentées.

- Les racines, les feuilles et les fruits du figuier de Barbarie sont utilisés à des fins thérapeutiques. Un mélange de feuilles et de fruits est employé pour traiter les abcès (Glombitza et al., 1994).
- Il est utilisé pour soigner les troubles digestifs en éliminant les vers ronds et en soulageant les problèmes de gaz. Pour ce faire, les cactus sont bouillis et consommés, ce qui permet de nettoyer l'estomac et de purifier le sang (Baba Aissa, 1999).
- Ses propriétés antipyrétiques en font un remède efficace pour réduire la fièvre (Claudine, 2008; Mouni, 2007).
- Les feuilles de la plante sont utilisées par les habitants des régions désertiques pour traiter les morsures de serpents (Benchalah, 2004). Les fruits sont utilisés pour traiter les affections de la gorge et du système respiratoire (Borgi et al., 2007a). Certains les consomment avant les repas pour stimuler l'appétit, car ils sont riches en substances énergétiques et en vitamines diverses (Claudine, 2007).
- Les feuilles réduites en pâte ou en poudre sont utilisées comme substance de nettoyage pour le corps ou les cheveux. Les cheveux lavés avec cette préparation deviennent extrêmement doux et brillants, tout en éliminant les pellicules (Ghedira, 2013)."

2. Les composés phénoliques

2.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques où les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal étant trouvés dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisé en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (Hennebelle et al, 2004). Les polyphénols sont des métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes (Bouchouka, 2016). Ils possèdent des propriétés antioxydantes qui sont capables de piéger les radicaux libres générés par notre organisme ou formé en réponse des agressions de notre environnement : pollution, tabac, infection (Belkhiri, 2009)

Des études ont montré que les polyphénols ont une activité biologique importante et des applications prometteuses dans le domaine de la santé et de la nutrition. (Munawar et al ., 2017)

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (Bruneton, 2009). Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou dérivés de l'acide cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines, tanins (Cheynier, 2005).

2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont l'un des principaux groupes de polyphénols présents dans les plantes. Ils se trouvent dans une grande variété d'aliments d'origine végétale, tels que les fruits, les légumes, les herbes, les épices (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).

Les flavonoïdes se caractérisent par leur structure chimique composée de deux cycles aromatiques reliés par un groupe de trois atomes de carbone. Ils sont responsables de la coloration (jaune, orange, et rouge) des plantes, contribuant aux teintes vives des fleurs, des fruits et des feuilles, ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2008).

Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités biologiques intéressantes telles que l'activité antimicrobienne (Ulanowska et al., 2006), antifongique (Ortuno et al., 2006), antiinflammatoire (Park et al., 2008) et une activité contre la peroxydation lipidique et

2. Les composés phénoliques

l'atteinte hématologique (Rao et Vijayakumar, 2008). ils exercent des effets antioxydants jusqu'à 2.5 fois plus que la vitamine C et E (Benavente-Garcia et al., 2000).

2.1.2. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques naturelles utilisées pour le tannage du cuir (H. Ottiger et al.), leur nom provient du français "tanin" qui désigne une substance utilisée dans le tannage (Römpp, 1997). Les tanins sont présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures.

Ils ont une structure chimique variée en fonction de leur origine, avec une masse molaire pouvant atteindre 20 000 Daltons (L. J. Porter, and J. B. Harborne 1989.). Ils se trouvent dans différentes parties de la plante, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés telles que l'écorce, le bois, les feuilles ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelque fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Roux et Catier, 2007). Les tanins sont souvent produits en plus grande quantité lorsque la plante est malade, suggérant un rôle de protection contre les infections, les insectes et les herbivores. (E. Haslam 1989; L. J. Porter 1989)

Ils sont décrits comme des poudres amorphes de couleur jaune clair ou blanche, ou des masses brillantes presque incolores, avec une odeur caractéristique étrange et un goût astringent (J . Falbe and M. Regitz, 1995). Ils ont été utilisés depuis des millénaires pour le tannage du cuir et ont également trouvé des applications médicales, notamment comme astringents, diurétiques, anti-inflammatoires, antiseptiques et hémostatiques. (E. Haslam, , 1989.) Les tanins peuvent également précipiter certains métaux lourds et alcaloïdes (sauf morphine), ce qui les rend utiles en cas d'empoisonnement par ces substances. (E. Haslam, J. Nat. Prod., 1996)

En plus de leur utilisation dans l'industrie du cuir et de la médecine, les tanins ont également des applications dans l'industrie des colorants, des encres, des jus de fruits et des boissons (G. Würdig and R. Woller, 1989). Ils ont suscité un intérêt scientifique croissant en raison de leur activité antivirale, antibactérienne et antitumorale potentiellement bénéfique dans le développement de nouveaux médicaments (P. Grunwald 1998 ; N. Kakiuchi, et al 1986 ; E. Haslam, J. Nat. Prod., 1996).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (Fiorucci, 2006

3. Les activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

Le stress oxydatif cause d'importants dommages à diverses biomolécules, y compris les protéines, les lipides, les lipoprotéines et l'ADN. Les dommages oxydatifs ont été associés à plusieurs maladies chroniques chez l'homme, notamment les maladies cardiovasculaires, les rhumatismes, le diabète et le cancer (Pong, K.,2003) Ces dernières années, l'intérêt pour les antioxydants naturels et leurs propriétés thérapeutiques a considérablement augmenté. De nombreuses recherches ont été menées dans le domaine de l'extraction, de l'identification et de la quantification de ces composés à partir de plantes médicinales et de produits alimentaires (Sanchez-Moreno. C., et al., 2004)

3.1.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié (Cano, N. et al ,2006).Il est comparé à un déchet toxique qui doit être constamment recyclé pour éviter ses effets néfastes (Causse, C.,2005)

3.1.2. Sources des radicaux libres

La première source de radicaux libres provient de l'activité cellulaire pour la production d'énergie : chaque fois que nos cellules utilisent de l'oxygène, des radicaux libres se forment. Ils sont également produits lors d'inflammations, de stress chronique et leur concentration augmente lorsque la glycémie est trop élevée.

La deuxième source de radicaux libres est externe. Des radicaux libres apparaissent lors de l'exposition au soleil, de la consommation de tabac ou de la consommation de légumes traités avec des pesticides (Causse, C.,2005)

3.1.3. Conséquences de la présence des radicaux libres

Les radicaux libres sont extrêmement réactifs et capables d'altérer de nombreuses molécules telles que les acides nucléiques, les protéines et les lipides (Karp, G., Bouharmont, J. et Wissocq, J-C.,2004). Ils favorisent l'apparition de certaines maladies dont la fréquence

3. Les activités biologiques

augmente avec l'âge : cancer, maladies cardiovasculaires, diabète, cataracte, maladie de Parkinson et maladie d'Alzheimer (Edeas, M.,2005)

3.1.4 Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui s'oppose aux effets dévastateurs des radicaux libres (Duclos, A.,2007) Il se définit comme une substance qui, à faible concentration par rapport à la cible oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de cette cible (Cano, N.,2007).Les antioxydants se trouvent notamment dans les aliments contenant de la vitamine E, du zinc, du sélénium, du cuivre et du manganèse. Les caroténoïdes et les flavonoïdes sont également d'excellents antioxydants (Poirier, j.,2009) Selon CAUSSE [92], on les trouve également dans les terpènes présents dans les épices et les aromates.

3.2. Activité anti-inflammatoire

3.2.1. Inflammation

Lorsqu'il y a une altération physique des cellules ou une invasion par des agents pathogènes, une réponse inflammatoire se produit. Les signaux provenant des microorganismes externes et les signaux internes émis par le corps conduisent à la production de médiateurs de l'inflammation. Les molécules produites en réponse au stress cellulaire contribuent à l'initiation, à la régulation et au maintien de l'inflammation. Les cytokines de l'inflammation jouent un rôle clé dans ce processus, tandis que l'interféron l'amplifie. Les chémokines participent au recrutement des leucocytes vers la zone inflammatoire, et d'autres médiateurs tels que les lipides et les radicaux libres sont également impliqués (Kaloustian, J. et Hadji-Minaglou, F.,2013). La plupart du temps, les tissus réagissent à différentes formes d'agression (traumatisme, nécrose cellulaire, infection) en déclenchant une réaction inflammatoire. L'objectif de cette réaction est de détruire (ou contenir) l'agent responsable des dommages, d'amorcer les processus de réparation et de rétablir la fonction normale du tissu lésé (Stevens, A., Lowe, J-S.et Young, B.2004), Les signes classiques de l'inflammation comprennent la rougeur, la chaleur, la douleur, le gonflement et l'altération de la fonction (Prescott, L-M.,et al ,2003)

3.2.2. Agents anti-inflammatoires

Les agents anti-inflammatoires sont des médicaments qui s'opposent aux processus inflammatoires (Cohen, Y. et Jacquot, C.,2003) Ils appartiennent à différentes classes chimiques (Muster, D.,2004) Le traitement de l'inflammation fait appel à des médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens tels que les glucocorticoïdes, ainsi qu'à des médicaments non stéroïdiens comme l'aspirine. Bien que ces molécules soient efficaces, elles sont souvent accompagnées d'effets indésirables qui peuvent limiter leur utilisation à long terme (Gaziano, J.M. et Gibson, C.M.,2006) Dans les pays en développement, les plantes ayant des propriétés anti-inflammatoires pourraient constituer une alternative intéressante dans le traitement anti-inflammatoire en raison de leur accessibilité accrue et de leur toxicité générale moindre par rapport aux médicaments anti-inflammatoires conventionnels (Khalil, N.M., Sperotto, S. et Manfron, M.P.,2006) Selon PARIS et MOYSE (Paris. R. et Moyse. M.,1965) les composés terpéniques confèrent aux plantes des propriétés anti-inflammatoires. D'autre part, certains flavonoïdes inhibent la synthèse des prostaglandines, ce qui leur confère des propriétés anti-inflammatoires. Les tanins catéchiques ont la capacité de réduire la perméabilité des capillaires, leur conférant ainsi une activité anti-inflammatoire (Martini, M.C., 2011)

3.4. Activité antimicrobienne

Il est indéniable que la plupart des antibiotiques prescrits sont dérivés de microorganismes. Chaque année, un à trois nouveaux antibiotiques sont mis sur le marché (Clark, A.M.,1996) car chaque antibiotique a une durée d'efficacité limitée, au-delà de laquelle les microorganismes développent des résistances (Kirby, G.C.1996 ; Hostettmann, K. et Marston, A.,2002) Les antibiotiques sont constitués d'une seule molécule chimique synthétique, tandis que les huiles essentielles sont composées d'un ensemble de molécules chimiques naturelles différentes ayant des propriétés anti-infectieuses qui agissent en synergie. Cela explique la faible résistance des micro-organismes aux huiles essentielles, car il est peu probable qu'une mutation se produise en réponse à plusieurs substances chimiques, contrairement à une seule molécule, comme c'est le cas pour les antibiotiques

(Descheemaeker, K.,2003) Selon COWAN (Cowan, M.M.,1999) les agents antimicrobiens d'origine végétale ont leur place dans l'arsenal de médicaments prescrits par les cliniciens.

Certains extraits et huiles essentielles de plantes ont démontré leur efficacité dans le contrôle de la croissance d'une grande variété de micro-organismes, y compris les champignons

3. Les activités biologiques

filamenteux, les levures et les bactéries. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est attribuée à certains constituants reconnus comme des agents antiseptiques, tels que le thymol, le phénol et le carvacrol (Vigneau, C.,1985). Selon BURT (Burt, S.A.,2004), le pouvoir antibactérien des huiles essentielles est attribué à l'hydrophobicité de certains de leurs composants, qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en altérant sa perméabilité et en entraînant des pertes anormales d'ions, voire de macromolécules.

3.5. Activité hémolytique

L'hémolyse (hémo : sang ; lyse : perturbation) est un phénomène physiologique irréversible qui se caractérise par la rupture de la membrane des globules rouges, entraînant la libération d'éléments intra-érythrocytaires, notamment l'hémoglobine, dans le plasma. Ce phénomène peut être détecté visuellement par l'apparition d'une teinte rose à rouge dans l'échantillon après centrifugation, ou en mesurant la densité optique du surnageant (hémoglobine) à l'aide de la spectrophotométrie (Mezzou et al., 2006).

L'hémolyse se traduit par une augmentation des taux sériques d'hémoglobine, ainsi que par une augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH), du phosphate et de la créatine kinase (CK) (Ali et al., 2014). De plus, on observe une diminution du taux d'haptoglobine et d'hémoglobine glycosylée. L'hémoglobine libérée lors de l'hémolyse est ensuite dégradée en bilirubine non conjuguée, ou bien elle forme un complexe avec l'haptoglobine qui est rapidement éliminé par le foie (Marchand et al., 1980).

2éme Partie :
Matériel et Méthodes

1. Objectif

L'objectif de cette étude est la caractérisation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et hémolytique des différents extraits de la partie aérienne du *Zizyphus lotus*.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal testé est composé de feuilles et des rameaux de *Zizyphus lotus* prélevés sur deux sites différents, à savoir : Ammi Moussa (Rélizane) et Lardjem (Tissemsilt), le mois de novembre 2022.



Figure 4. Rameaux et les feuilles du *Zizyphus lotus*

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation des extraites

Séchage

Le séchage consiste à déshydrater le végétal, cette opération importante permet la conservation des principes actifs de la plante et sa protection contre toute dépréciation ou pourriture. Le but principal du séchage est d'éliminer la teneur en eau des plantes afin que les plantes puissent être stockées.

Le matériel végétal collecté a été mis dans un lieu aéré sur du papier cartonné à l'abri du soleil et à température ambiante relativement comprise entre 20 à 35° C, avec un étiquetage.

Broyage

Après séchage complet de l'humidité, et détachement des feuilles des rameaux les échantillons de plantes sont réduits séparément en poudre pour une analyse ultérieure à l'aide d'un broyeur électrique pour les branches et d'un moulin à café pour les feuilles, jusqu'à l'obtention de poudre fine et homogène. La poudre est conservée ensuite dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation pour éviter la photo-oxydation des substances actives. Le broyage augmente l'efficacité de l'extraction en raison de l'augmentation de la surface des plantes.



Figure 5. Poudre de *Zizyphus lotus*

2.2.2 Extraction

a. Macération

La macération (procédé d'extraction solide- liquide) est un processus de contact entre la poudre de matière première végétale et le solvant d'extraction, c'est une extraction qui se fait à température ambiante.

Nous avons réalisé la macération avec deux types de solvant, éthanol à 70% (organique) et eau distillée (aqueux), avec un rapport de 1g pour 10 ml. Une masse de 50 g de poudres des échantillons végétaux sont placées dans un ballon à fond rond, puis 500 ml de solvant sont ajouté pour couvrir complètement les échantillons. On couvre le ballon avec du papier aluminium et on le met sur l'agitateur. L'agitateur est utilisé pour mélanger la solution d'extraction et les échantillons végétaux. L'agitation permet d'accélérer la diffusion des composés bioactifs dans le solvant. Une fois les échantillons agités, la solution est laissée en contact avec les matériaux végétaux pendant 24 heures à température ambiante.

b. Filtration

Après la macération, la solution est filtrée à l'aide d'un papier filtre Watchman pour éliminer les particules végétales insolubles. Une fois filtrée, la solution d'extraction est transférée dans un ballon à fond rond de l'évaporateur rotatif. L'évaporateur rotatif est équipé d'un flacon de récupération qui recueille les composés volatils évaporés. L'évaporateur rotatif utilise une combinaison de chaleur et de rotation pour évaporer le solvant de la solution, concentrant ainsi les composés d'intérêt. Après une évaporation complète du solvant, on récupère les composés extraits sous forme solide ou semi-solide et on les conserve dans un récipient opale.



Figure 6. Filtration à l'aide d'un papier filtre Watchman

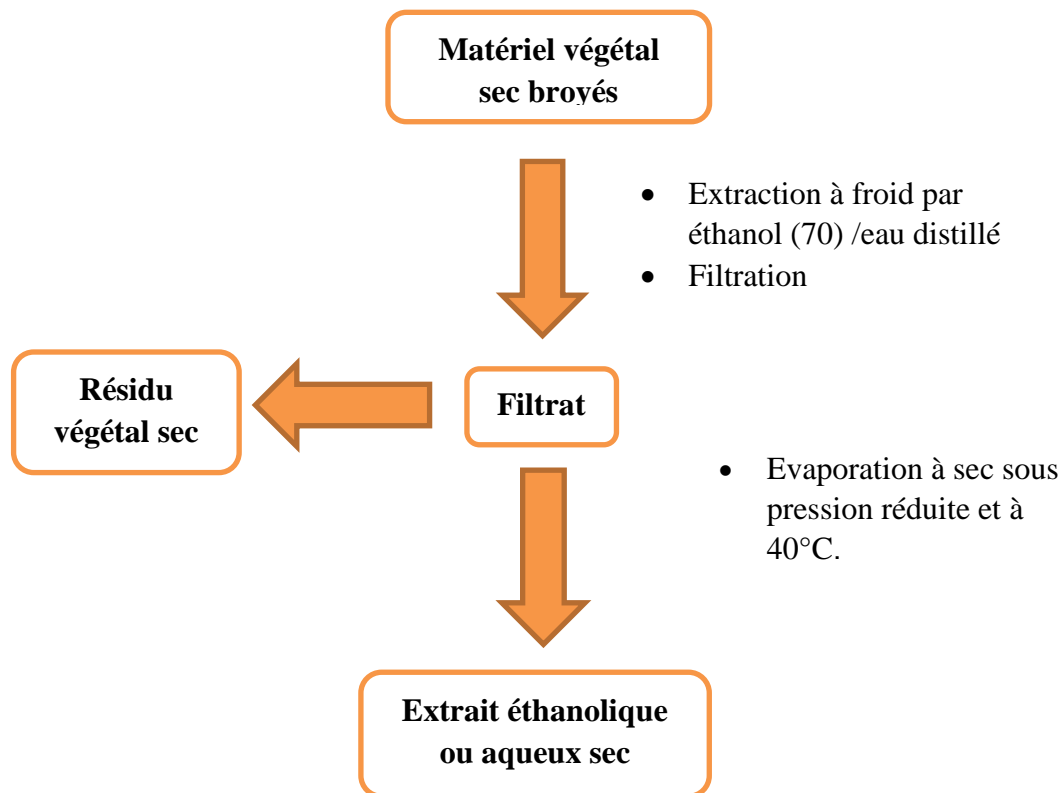


Figure 7. Etapes de préparation des extraits de *Zizyphus Lotus*.

Détermination de rendement

Le rendement en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de matériel végétal broyé à traiter, il calculé selon la formule suivante :

$$R\% = (m2/m1)*100$$

R : rendement d'extraction en pourcentage.

m2 : masse de l'extrait après évaporation du solvant en gramme.

m1 : masse de poudre végétale traitée en gramme

Caractérisation phytochimique

Afin de caractériser les extraits de *Zizyphus lotus*, des analyses quantitatives ont été réalisées dans le but d'évaluer leurs propriétés et compositions.

Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

Le réactif de folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Iaraba, 2016)

b. Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-ciocalteu (Singleton et al, 1999). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Pour obtenir la solution mère de chaque extrait (feuille et rameaux), on dissout 2 mg de poudre dans 1 ml de solvant, chaque solvant a son propre soluté, les extraits aqueux se dissolvent dans l'eau distillée et les extraits éthanoliques se dissolvent dans l'éthanol dilué à 10%. Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μ l de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Les tubes sont incubés pendant 5 mn à température ambiante et à l'abri de la lumière. Puis on ajoute à chaque tube 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 μ g/ml).

Les résultats sont exprimés en μ g équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.

Dosage des Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, **2005**).

- **Principe**

La quantité de flavonoïdes dans les extraits a été évaluée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Cette méthode repose sur la formation de complexes de couleur jaune résultant de la fixation des ions Al³⁺ aux atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*, 46(11), 1086-1089.)

- a. Mode opératoire**

Dans un tube à hémolyse en verre, 1 ml d'extrait a été ajouté à 1 ml d'AlCl₃ à 2 % méthanol. La solution est mélangée vigoureusement à l'aide d'un vortex, puis incubée pendant 15 mn à l'obscurité. L'absorbance est lue immédiatement à 430 nm contre le blanc. Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml, permettront de tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en µg équivalent quercétine par mg d'extrait.

Dosage des Tanins

- a. principe**

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Price et al., 1978). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins, n'implique que la première unité du polymère. Les quantités des tannins sont estimées, en utilisant la méthode de vanilline décrite par Julkunen-Titto (1985)

b. Mode opératoire

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthano à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

Tests des activités biologiques

Activité antioxydante

L'activité antioxydante est évaluée à l'aide de la méthode DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) en mesurant les variations d'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm.

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.

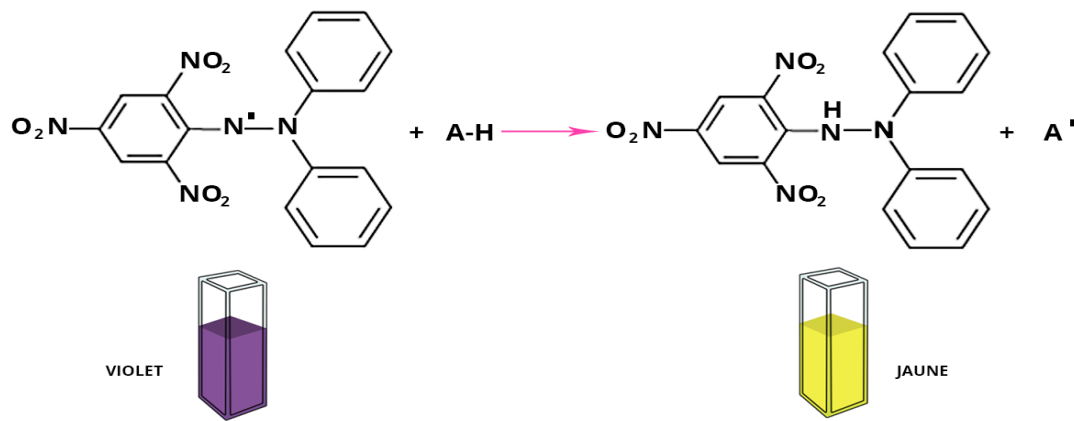


Figure 8. Forme libre et réduit de DPPH

- **Principe**

Le principe de l'essai DPPH (radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) repose sur la réduction du radical DPPH violet par un antioxydant, par un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène. Cela entraîne un changement de couleur du radical DPPH en molécules DPPH jaune pâle stables. L'intensité de couleur diminuée du radical DPPH violet est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis, généralement à une longueur d'onde d'environ 515 à 520 nm. Cette mesure permet de déterminer l'activité antioxydante de l'échantillon. (SIRIVIBULKOVIT et *al.*, 2018)

- a. Mode opératoire**

Préparation de la solution de DPPH : On prépare une solution de DPPH, en dissolvant 2mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et on les laisse sous agitation pendant 15 mn, puis on filtre la solution et on la conserve dans un flacon opale.

Préparation des échantillons : On prépare une solution mère des extraits de chaque échantillon de plante testée. A partir de ces solutions mères, on prépare au moins quatre dilutions dans des solvants appropriés.

Mélange des échantillons et de la solution de DPPH : On ajoute un volume de 1000 µl de solution DPPH à 200 µl de chaque échantillon dans des tubes eppendorf. On prépare trois répétitions pour chaque échantillon.

Incubation : les tubes eppendorf sont incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 mn.

Mesure de l'absorbance: Après l'incubation, l'absorbance de chaque échantillon est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc (contrôle) contenant uniquement le DPPH sans échantillon.

Calcul de l'activité antioxydante : Pour évaluer l'activité antioxydante, comparez l'absorbance des échantillons avec celle du contrôle. Plus l'absorbance est faible, plus l'activité antioxydante est élevée, car cela indique une plus grande capacité des échantillons à neutraliser le radical libre DPPH.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par :

$$I\% = ((Ac-At)/Ac)*100$$

Ac : absorbance du contrôle négatif (blanc).

At : absorbance de l'extrait testé

Activité hémolytique

L'activité hémolytique fait référence à la capacité d'une substance à provoquer la lyse (rupture) des globules rouges, également appelés érythrocytes. Cette activité peut être évaluée pour déterminer le potentiel cytotoxique des extraits de rameaux et de feuilles de *Zizyphus lotus* sur les globules rouges du sang humain in vitro.

a. Principe

Le principe de l'évaluation de l'effet hémolytique repose sur la détection de la lyse des globules rouges. Les extraits de rameaux et de feuilles de *Zizyphus lotus* sont dilués dans un tampon phosphate salin (PBS) et mélangés avec une suspension érythrocytaire préparée à partir du sang d'un donneur sain. Les tubes contenant les mélanges sont incubés à 37°C pendant une durée déterminée. À intervalles réguliers, des échantillons sont prélevés, mélangés avec du PBS et lus à une longueur d'onde spécifique à l'aide d'un spectrophotomètre. L'absorbance mesurée est utilisée pour calculer le taux d'hémolyse des extraits.

b. Mode opératoire

Préparation de la suspension érythrocytaire : Le sang est prélevé d'un donneur sain (O⁺) puis centrifugé pour séparer les globules rouges du plasma. On élimine le plasma, et on lave trois fois le culot qui renferme les globules rouges avec une solution de PBS. Le culot est resolubilisé avec un volume équivalent au plasma éliminé, puis la suspension érythrocytaire obtenue est diluée 15 fois avec du PBS.

Préparation des extraits : Les extraits de rameaux et de feuilles de *Zizyphus lotus* sont dilués dans du tampon phosphate salin (PBS) pour obtenir les différentes concentrations (5mg/ml, 2.5mg/ml, 1.25mg/ml).

Test d'hémolyse: Dans des tubes à hémolyse, 1000 µl de la suspension érythrocytaire préparée sont mélangés avec 1000 µl de chaque extrait à différentes concentrations, incubés à 37°C dans un incubateur pendant 30 minutes. L'absorbance de chaque tube est mesurée à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en le comparant à un blanc contenant du PBS après centrifugation.

Calcul du taux d'hémolyse : Un tube témoin négatif contenant uniquement la suspension érythrocytaire et du tampon phosphate (PBS) est préparé, ainsi qu'un tube d'hémolyse totale contenant de l'eau distillée en absence d'extrait. Le taux d'hémolyse des extraits est calculé en pourcentage par rapport à l'hémolyse totale après 30 minutes d'incubation, en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = \frac{\text{Abs (extrait 30min)} - \text{Abs (témoin négatif 30min)}}{\text{Abs (hémolyse total 30min)}} \times 100$$

Troisième partie :
Résultats et discussions

Résultats et discussion

1. Rendement en extraits

Le rendement a été déterminé par rapport aux 50 g du broyat de chaque partie de la plante étudiée, les résultats ont été exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse végétale sèche. Les rendements des différents extraits de *Ziziphus lotus*, sont renseignés sur le tableau ci-dessous. Le rendement le plus élevé est celui de l'extrait éthanolique des feuilles du site de prélèvement de Lardjem (21,8%), tandis que la valeur la plus faible en rendement a été observée chez l'extrait aqueux des rameaux provenant de Ami Moussa (3%) (Tableau 1).

Tableau 1. Rendements des différents extraits (en pourcentage).

Régions	Extrait aqueux	Extrait éthanol
Feuilles (Tissemsilt)	13,24	21,8
Feuilles (Ami Moussa)	3,6	10
Rameaux (Tissemsilt)	1,35	9,22
Rameaux (Ami Moussa)	3	4,4

Les résultats obtenus montrent des écarts importants entre les extraits éthanoliques qui enregistrent les plus hauts rendements et les extraits aqueux qui indiquent des faibles rendements.

Les rendements diffèrent suivant la partie de la plante testée. Les écarts de rendements sont frappants entre les feuilles et les rameaux, les meilleurs rendements sont indiqués par les feuilles pour les deux sites et pour les deux solvants.

Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux réalisés par d'autres études, car le rendement n'est que relatif. Il dépend de l'espèce végétale étudiée, de l'origine géographique, de la période de prélèvement du matériel végétal, de la partie de la plante prélevée, des conditions de séchage, du contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, de la nature du solvant utilisé dans l'extraction et de la méthode d'extraction (Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001 ; Mokhtari, 2021).

2. Caractérisation phytochimique

2.1. Teneur en Polyphénols

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre VU-visible, ont été utilisées pour l'évaluation de la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. La macération et le solvant utilisés sont les principaux critères à prendre en considération pour une extraction rentable (Turkmène et al., 2007).

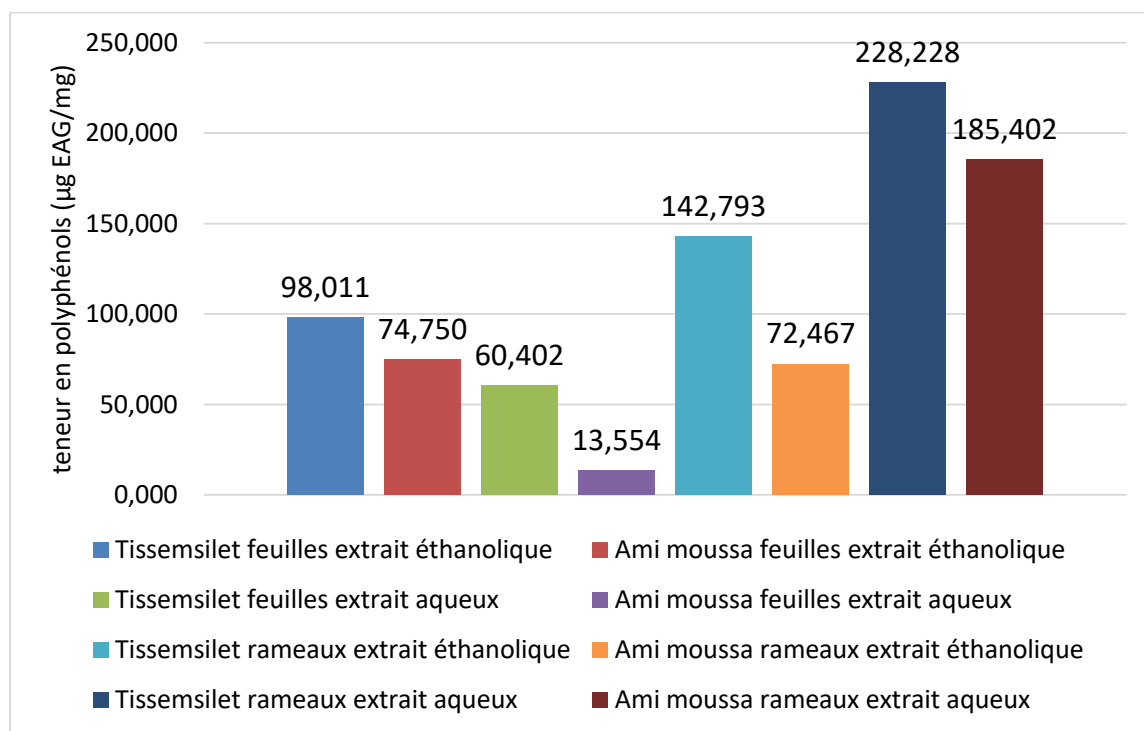


Figure 9. Teneurs en polyphénols des différents extraits de *Zizyphus lotus*.

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les valeurs obtenues sont exprimées en µg EAG/mg d'extrait (Figure 9).

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions varient entre 13.55 et 228.228 µg EAG/ mg. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée au niveau de l'extrait aqueux des rameaux provenant du Tissemsilt, alors que la teneur la plus faible pour ce même métabolite secondaire a été enregistrée par l'extrait aqueux des feuilles prélevées de Ami Moussa.

En outre, les extraits éthanoliques des feuilles renferment plus de polyphénols que les extraits aqueux, alors que cette règle est inversé pour les rameaux où on a constaté une teneur en polyphénols plus importantes pour les extraits aqueux. Il est à signaler que la présence des polyphénols est plus importante dans les rameaux par rapport à leur présence dans les feuilles.

La teneur en polyphénols varie considérablement avec la provenance du matériel végétal testé. Les parties aériennes collectées à Lardjem (Tissemsilt) expriment des teneurs plus élevées en polyphénols par rapport à celles collectées de la région de Ammi Moussa.

Les parties des plantes que nous avons testées présentent des teneurs moyennes en polyphénols dans les feuilles entre 88,61 (Lardjem) et 164,15 (Ammi Moussa) et entre 44,15 (Lardjem) et 128,93 (Ammi Moussa) dans les rameaux. Ces teneurs moyennes dépassent largement celles qui ont été obtenues par (H. Ghazghazi et *al.*, 2014) et (M. Ghalem et *al.*, 2014) sur les feuilles (6.64 μg EAG/mg) et les rameaux (20.09 μg EAG/mg) respectivement. D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend du type de solvant, de la partie de la plante et de la provenance du matériel végétal étudié.

2.2. Teneurs en flavonoïdes

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard, Ils sont exprimés en termes de mg EQ/g d'extrait (Figure 10).

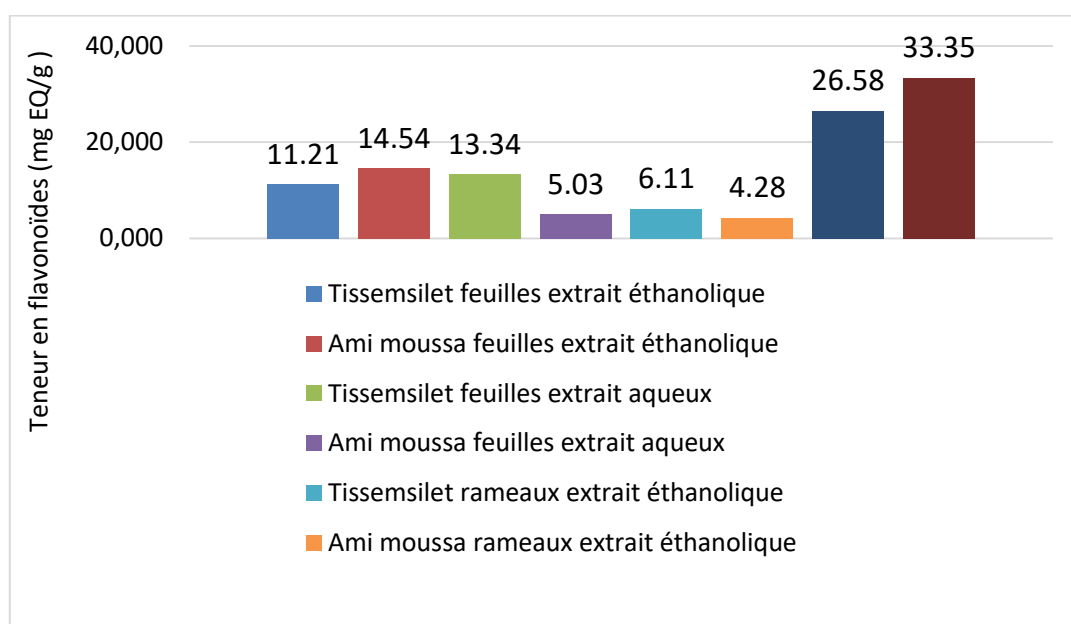


Figure 10. Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de *Zizyphus lotus*.

Les résultats présentés dans le graphique (figure10) montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient entre les différents extraits. L'extrait aqueux des rameaux échantillonnés de la région de Ami Moussa enregistre un maximum de flavonoïdes (33.35 mg Equ/g ES), suivi par l'extrait aqueux des rameaux collectés à Tissemsilt qui renferme une teneur de (26.58 Equ/g ES). Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait éthanolique des rameaux collectés à Ami Moussa (4.28 mg Equ/g ES).

La présence des flavonoïdes dans les extraits aqueux des rameaux dépasse largement celle qui est présente dans les extraits éthanoliques. D'après ces résultats, on déduit que le contenu en flavonoïdes dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé à la préparation des extraits. Ces constatations ont été déjà signalées par Ali-Rachedi, et al ; en 2018. Comme, elle dépend de la partie testée de la plante, généralement les rameaux renferment les concentrations les plus importantes avec une moyenne de 16,35 et 18,82 pour les région de Tissemsilt et Ammi Moussa respectivement et 12,28 et 9,78 pour les feuilles. De même, les teneurs en flavonoïdes sont influencées par les conditions écologiques de développement de la plante testée. Pour le cas des feuilles, les meilleures teneuses ont été observées chez les *Zizyphus lotus* de Tissemsilt avec une moyenne des deux extraits de (12,28 mg Equ/g ES), alors qu'au niveau des feuilles testées de Ami Moussa, on enregistre que (9,78 mg Equ/g ES). Par contre les rameaux échantillonnés de Ammi Moussa se caractérisent par une teneur moyenne (18,82 mg Equ/g ES) en flavonoïdes supérieure à celle de Tissemsilt (16,35 mg Equ/g ES).

Cependant ces concentrations en flavonoïdes restent faibles en comparaison à celles enregistrées par les plantes de *Zizyphus lotus* analysées par Borgi et al., 2008 avec un taux de 19.9 mg Equ/g ES. En revanche, les extraits aqueux des rameaux des plantes examinées ont montré des teneurs supérieures à celles indiquées par Borgi et al., 2008, avec 12,0 mg Equ/g ES.

2.3. Teneur en tanins

La teneur en tanins a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la catéchine comme standard. Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, et sont exprimés en Equ $\mu\text{g}/\text{mg}$ ES (Figure11).

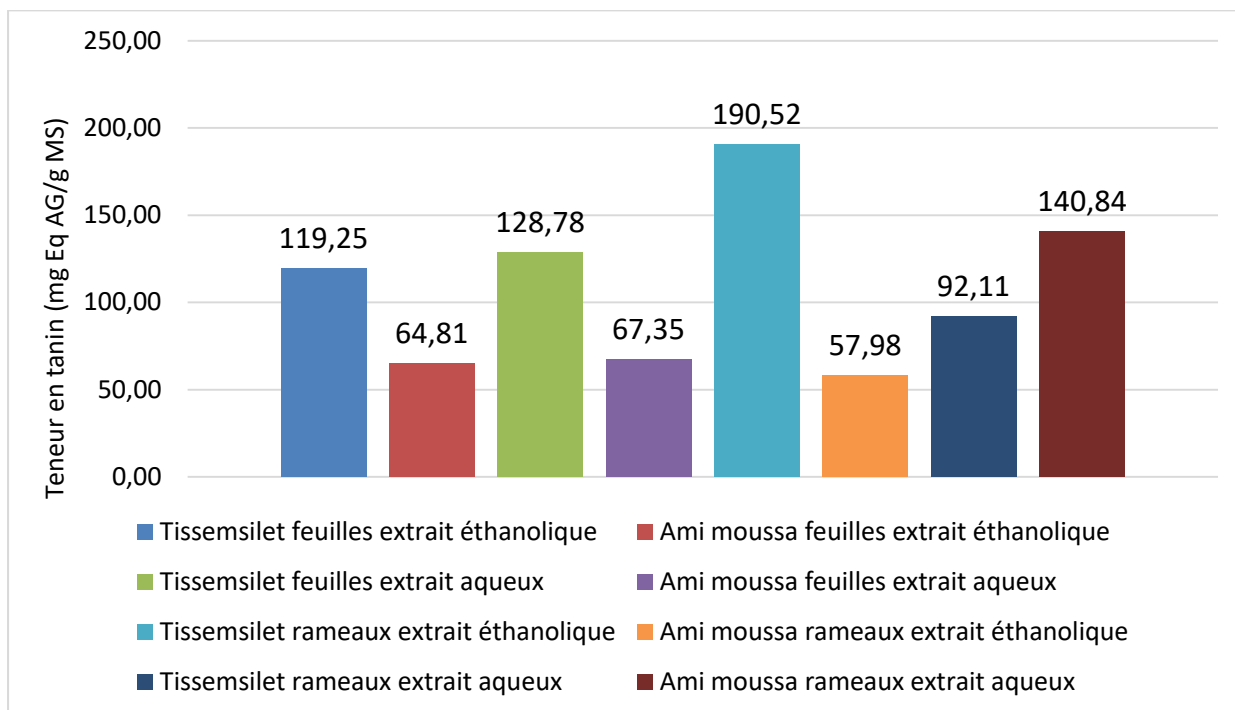


Figure 11. Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de *Zizyphus lotus*

Les résultats présentés sur la figure 11, montrent que les teneurs en tanins varient considérablement entre les différents extraits, elles oscillent entre 190,52 Equ $\mu\text{g}/\text{mg}$ ES (extrait éthanolique des rameaux de Tissemsilt) et 57,98 Equ $\mu\text{g}/\text{mg}$ ES (extrait éthanolique de Ammi Moussa). Le dosage révèle aussi que la fraction aqueuse renferme les plus importantes teneurs en tanins condensés. En revanche, les fractions éthanoliques ont enregistré les teneurs les plus faibles à l'exception des rameaux de Tissemsilt.

Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des tanins condensés, dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires (Deba et al ; 2008).

De même, les teneurs en tanins dépendent des sites de prélèvements du matériel végétal testé.

Les parties aériennes collectées de la région de Tissemsilt ont exprimé les teneurs les plus élevées en tanins, en comparaison avec celles de Ammi Moussa.

La comparaison des résultats obtenus par Hamza en 2015, sur la teneur en tanins (38.4 Equ $\mu\text{g}/\text{mg}$ ES) des extraits aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* ramassées de la région de Mila, et les résultats que nous avons observés sur les extraits aqueux testés de Tissemsilt et Ammi Moussi, montre des valeurs très élevées en tanins pour les plantes de ces deux régions (128,78 et 67, 35 Equ $\mu\text{g}/\text{mg}$ ES respectivement).

Les différences de teneur en tanins entre les régions étudiées peuvent être influencées par divers facteurs tels que les conditions climatiques, la composition chimique du sol et les variations génétiques entre les plantes de *Zizyphus lotus* présentes dans chaque région. Ces données suggèrent également qu'une attention particulière doit être accordée à la sélection de la région de récolte pour la production de *Zizyphus lotus* riche en tanins.

La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant (Tepe et al ; 2006).

3. Activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *Zizyphus lotus* a été évaluée in vitro par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivantes:

Extrait éthanolique des feuilles de Tissemsilt	$y = 156,81x + 2,3083$
Extrait éthanolique des feuilles de Ami moussa	$y = 156,81x + 2,3083$
Extrait aqueux des feuilles de Tissemsilt	$y = 111,06x + 16,796$
Extrait aqueux des feuilles de Ami moussa	$y = 60,247x + 21,32$
Extrait éthanolique des rameaux de Tissemsilt	$y = 123,15x + 18,246$
Extrait éthanolique des rameaux de Ami moussa	$y = 117,7x + 21,058$
Extrait aqueux des rameaux de Tissemsilt	$y = 22,521x + 13,668$
Extrait aqueux des rameaux de Ami moussa	$y = 17,134x + 11,511$

Détermination de la quantité d'IC₅₀ inhibiteur des radicaux libre DPPH

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition et en termes de valeurs IC₅₀ (µg/ml), qui est considéré comme un paramètre d'efficacité anti-radicalaire. L'IC₅₀ représente la quantité d'antioxydants nécessaire pour réduire la concentration de DPPH de 50%. Il est important de noter que plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Khoudali et al., 2014).

Tableau 2. IC₅₀ des différents extraits en (µg/ml)

Échantillon	IC ₅₀ (µg/ml)
extrait éthanolique des feuilles de Tissemsilt	0,059
extrait éthanolique des feuilles de Ami moussa	0,304
extrait aqueux des feuilles de Tissemsilt	0,298
extrait aqueux des feuilles de Ami moussa	0,476
extrait éthanolique des rameaux de Tissemsilt	0,257
extrait éthanolique des rameaux de Ami moussa	0,245
extrait aqueux des rameaux de Tissemsilt	1,613
extrait aqueux des rameaux de Ami moussa	2,246

Les résultats de l'étude indiquent que les extraits éthanoliques de *Zizyphus lotus* présentent une meilleure capacité d'inhibition des radicaux libres DPPH que les extraits aqueux, pour toutes les parties de la plante examinées et pour les deux régions de prélèvement. Par exemple, pour les feuilles, l'IC₅₀ inhibiteur des radicaux libres DPPH est de 0,059 µg/mL pour l'extrait éthanolique de Tissemsilt, comparé à 0,298 µg/mL pour l'extrait aqueux de Tissemsilt (Tableau 2).

De plus, les feuilles de *Zizyphus lotus* ont montré une activité antioxydante plus élevée que les rameaux de cette plante, quel que soit le solvant d'extraction utilisé et pour les deux régions. Par exemple, l'IC₅₀ inhibiteur des radicaux libres DPPH est de 0,059 µg/mL pour l'extrait éthanolique des feuilles de Tissemsilt, comparé à 0,257 µg/mL pour l'extrait éthanolique des rameaux de Tissemsilt.

En outre, l'activité antioxydante des extraits de *Zizyphus lotus* varie également en fonction de la région. Les extraits de Tissemsilt ont présenté une meilleure activité antioxydante, pour les deux solvants d'extraction et pour toutes les parties de la plante étudiées (feuilles et rameaux). Par exemple, l'IC₅₀ inhibiteur des radicaux libres DPPH est de 0,059 µg/mL pour l'extrait éthanolique de Tissemsilt de feuilles, comparé à 0,304 µg/mL pour l'extrait éthanolique d'Ami Moussa de feuilles.

Les résultats suggèrent que l'extrait éthanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* provenant de Tissemsilt présente la meilleure activité antioxydante, et que les feuilles sont les parties de la plante les plus riches en composés antioxydants. Enfin, la région de Tissemsilt semble être plus propice que la région d'Ammi Moussa pour la production de composés antioxydants à partir de *Zizyphus lotus*.

3.2. Activité Hémolytique

L'activité hémolytique du *Zizyphus lotus* révèle que les différents extraits ont des degrés de lyse de globules rouges variables (figure 12). Les extraits éthanoliques ont une activité hémolytique plus élevée (32,07%) que les extraits aqueux pour toutes les parties de la plantes testées et pour les deux sites d'échantillonnage (3,58%).

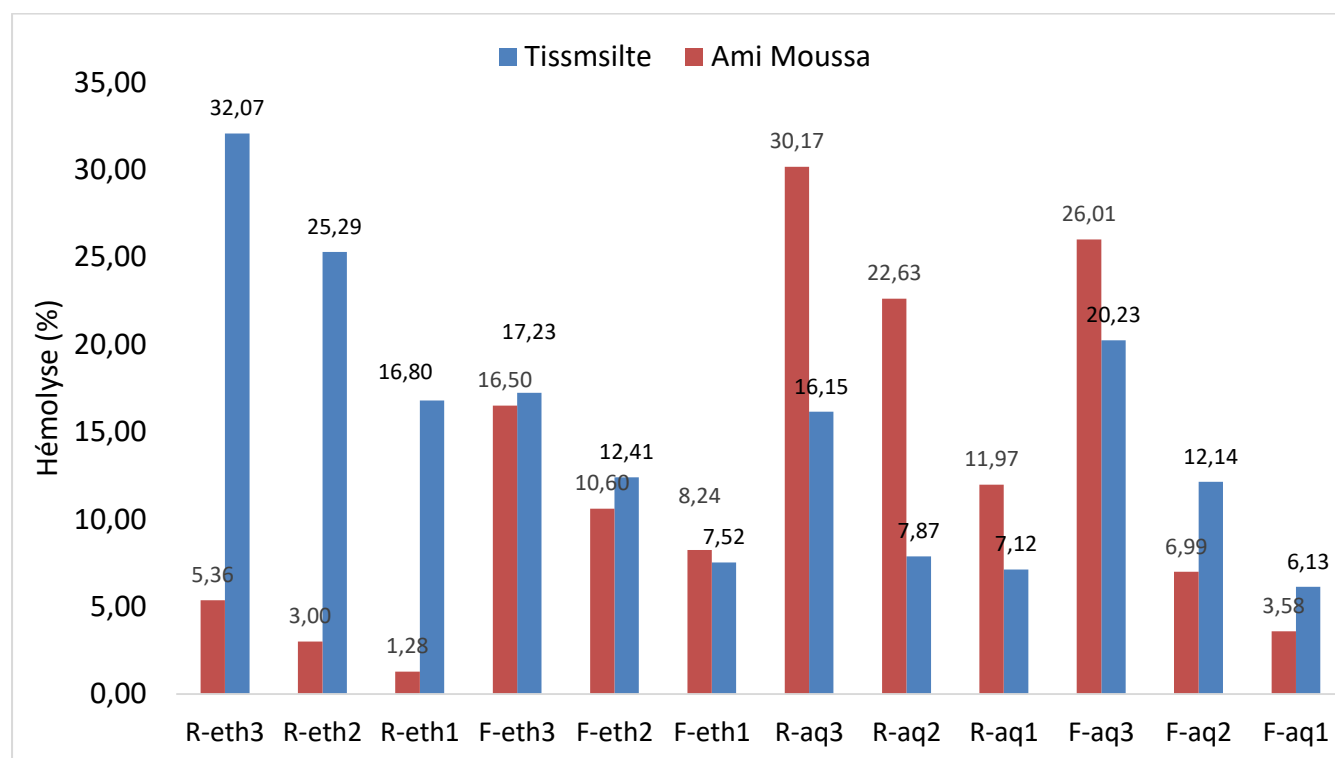


Figure 12. Evolution de taux d'hémolyse (par absorbance) dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'extrait éthanolique et aqueux des feuilles et des rameaux de *zizyphus lotus* de deux diffèrent région

Les rameaux ont des taux de lyse plus élevés, que les feuilles pour les extraits aqueux (30,17%) et éthanoliques (32,07%) pour les deux régions de prélèvement. Ce résultat peut s'expliquer par la plus grande quantité de composés bioactifs dans les rameaux par rapport aux feuilles. Cela peut être dû à une concentration accrue de certaines molécules dans les rameaux, tels que les tanins, ainsi qu'à une différence de composition et de quantité de métabolites dans les deux parties.

De plus, les extraits de *Zizyphus lotus* collectés à Ammi Moussa ont des taux de lyse inférieurs à ceux collectés à Tissemsilt pour les deux types d'extraits de feuilles aqueux et éthanoliques (16.50 % contre 17.23%) et (6.99 % contre 12.14%) respectivement.

Par contre les rameaux de Ammi Moussa ont des taux de lyse plus élevés pour les extraits aqueux (30.17%) par rapport à ceux de Tissemsilt (16.15%). Ce résultat pourrait être dû à des différences environnementales et géographiques, qui pourraient influencer la production de composés bioactifs dans les plantes.

Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux réalisés par d'autres études, car l'activité hémolytique n'est que relatif, elle dépend de l'espèce végétal étudiée, de l'origine géographique, de la période de prélèvement du matériel végétal, de la partie de la plante prélevée, des conditions de séchage, du contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, de la nature du solvant utilisé dans l'extraction et de la méthode d'extraction (Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001 ; Mokhtari, 2021).

Conclusion

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation d'une plante spontanée très répandue en Algérie et largement utilisées dans la médecine traditionnelle, le jujubier (*Ziziphus lotus*), à travers une caractérisation phytochimique et une évaluation de l'activité antioxydante.

Nous avons déterminé quantitativement, dans un premier temps, les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins renfermées aux niveaux des différentes parties aériennes de la plante de *Ziziphus lotus*, à savoir : feuilles et rameaux collectées sur deux sites de l'ouest algérien, via des extraits éthanoliques et aqueux.

Le dosage des trois métabolites secondaires à savoir, les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins au niveau du matériel végétal testé, nous a permis de constater la richesse de cette plante en ces trois métabolites secondaires. Les teneurs en ces métabolites varient considérablement entre les différents extraits. Elles dépendent du type de solvant, de la partie de la plante testée. Comme, elles sont influencées par les conditions écologiques de développement de la plante testée, c'est-à-dire dépendante aussi du site de prélèvement.

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions varient entre 13.55 et 228.228 µg EAG/mg. En outre, les extraits éthanolique des feuilles manifestent une concentration plus élevée en polyphénols que les extraits aqueux, alors que cette règle est inversé pour les rameaux où on a constaté une teneur en polyphénols plus importantes pour les extraits aqueux. Comme, il est à signaler que les rameaux renferment des teneurs en polyphénols est plus importantes par rapport à leur présence dans les feuilles. La teneur en polyphénols est influencée fortement par la provenance du matériel végétal testé.

La présence des flavonoïdes dans les extraits aqueux des rameaux dépasse largement celle qui est présente dans les extraits éthanoliques. Le contenu en flavonoïdes dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé à la préparation des extraits.

Comme, elle dépend de la partie testée de la plante, généralement les rameaux renferment les concentrations les plus importantes avec une moyenne de 16,35 et 18,82 pour les région de Tissemsilt et Ammi Moussa respectivement et 12,28 et 9,78 pour les feuilles.

De même, les teneurs en flavonoïdes sont influencées par les conditions écologiques de développement de la plante testée.

Les teneurs en tanins varient considérablement entre les différents extraits, et sont influencés à leur tour par le type de solvant, la partie de la plante étudiée et de la provenance.

L'évaluation de l'activité antioxydante révèle que l'extrait éthanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* provenant de Tissemsilt présente la meilleure activité antioxydante, et que les feuilles sont les parties de la plante les plus riches en composés antioxydants.

En outre, l'activité antioxydante des extraits de *Zizyphus lotus* varie également en fonction de la région. Les extraits de Tissemsilt ont présenté une meilleure activité antioxydante, pour les deux solvants d'extraction et pour toutes les parties de la plante étudiées.

Concernant l'activité hémolytique des différents extraits, nous avons constaté que les rameaux ont des taux de lyse plus élevés, que les feuilles pour les extraits aqueux (30,17%) et éthanoliques (32,07%) pour les deux régions de prélèvement. De plus, les extraits de *Zizyphus lotus* collectés à Ammi Moussa ont des taux de lyse inférieurs à ceux collectés à Tissemsilt pour les deux types d'extraits de feuilles aqueux et éthanoliques (16.50 % contre 17.23%) et (6.99 % contre 12.14%) respectivement.

En perspectives, il serait intéressant:

- De choisir et d'élargir les sites de prélèvement selon des critères écologiques ;
- Tester les différents stades des différentes parties de la plantes ;
- tester d'autres solvants pour la préparation des extraits ;
- D'isoler et de déterminer les molécules contenues dans les différentes fractions ;
- De tester ces molécules purifiées sur des modèles biologiques, in vivo, afin de concrétiser leur usage thérapeutique et/ou industriel ;
- D'étudier la cytotoxicité de ces molécules et de déterminer les doses d'administrations thérapeutiques optimales ;
- D'étudier la corrélation et la synergie entre les substances bioactives impliquées dans les différentes activités biologiques et prospecter le rôle possible que peuvent prendre des composés non-phénoliques dans ces activités

Références Bibliographiques

- Barlow J, Johnson JAP, Scofield L. Early life exposure to the phytoestrogen daidzein and breast cancer risk in later years. *Breast Cancer Environ Res Cent.* 2007; 38-46.
- E. Haslam, *J. Nat. Prod.*, 1996, 59, 205.
- Julkunen-Titto, R., 1985. Phenolic Constituents In The Leaves Of Northern Willows : Methods For The Analysis Of Certain Phenolics. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 33: 213-217.
- Price, M. L., Van Scoyoc, S. And Butler, L. G., 1978. A Critical Evaluation Of The Vanillin Reaction As An Assay For Tannin In Sorghum Grain, *J. Agric. Food Chem* 26: 1214-1218.
- Abdul-Aziz S. Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus L.*) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *J Nutr Metab.* 2016;2016:2867470. doi: 10.1155/2016/2867470. Epub 2016 Dec 7. PMID: 28053781; PMCID: PMC5174181.
- Ali, D., É, Sacchetto., E, Dumontet., D, carrer., J, Orsonneau., O, Delaroche., E, Bigot-corbel. (2014). Interférence de l'hémolyse sur le dosage de vingt-deux paramètres biochimiques. *Annales de biologie Clinique*
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. 2018. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L.* *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Volume 87. p. 13 -21.
- AMARA, M., & BENABDELI, K. (2020). Potentialités écologiques de *Zizyphus lotus* et possibilités de développement durable des espaces arides cas de la région de Naâma (Algérie). *Geo-Eco-Trop*, 44(2), 269-277.
- American Collège of Cardiology. Flavanols clés pour les bénéfices potentiels du chocolat. *Science Daily*. [mis à jour le 29 septembre 2005; cité le 12 février 2017]. <http://www.sciencedaily.com/releases/2005/09/050929081826.htm>
- Baba Aïssa F.(1999). *Encyclopédie Des Plantes Utilisées. Flore D'Algérie et du Maghreb Substance Végétale.* EDITION LIBRAIRIE MODERN. ROUIBA
- Bagchi D, Sen CK, Bagchi M, Atalay M. Antiangiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochem.* 2004; 69(1): 75-80.
- Barlow J, Johnson JAP, Scofield L. Early life exposure to the phytoestrogen daidzein and breast cancer risk in later yea
- Belkhiri, 2009)
- Benavente-Garcia et al., 2000).

- Benchalah A C. Bouziane H. Maka M.(2004). Fleur du Sahara. Arbres et Arbustes. Voyage au Coeur de Leurs Usages Avec Les Touaregs du Tassili. PHYTOTHERAPIE, 6: 191-197. DOI 10.1007/S10298-004-0052-Z
- Bendiar S El-Faqer O, Benjelloun N, Hsseini S, Bellaoui H, Rais S, Zaid Y, Mtairag E, Oudghiri M. (2022).
- Berkani, F., Dahmoune, F., Achat, S. et al. Response Surface Methodology Optimization of Microwave-Assisted Polysaccharide Extraction from Algerian Jujube (*Zizyphus lotus* L.) Pulp and Peel. *J Pharm Innov* 16, 630–642 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12247-020-09475-9>
- Berkani, Farida & Serralheiro, Maria Luisa & Dahmoune, Farid & Malik, Mahdjoub & Kadri, Nabil & Dairi, Sofiane & Sabiha, Achat & Remini, Hocine & Amina, Abbou & Adel, Khadidja & Madani, Khodir. (2021). (Berkani, Farida et al , 2021
- Borgi W. Bouraoui A. Chouchane N .(2007)a. Antiulcerogenic Activity of *Zizyphus lotus* L. Extracts. *JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY*, 112(2):228- 231 DOI: 10.1016/j.jep.2007.02.024
- Bouchouka, 2016
- Boussaid, Mohamed & Taïbi, Khaled & Ait Abderrahim, Leila & Ennajah, Amel. (2018). Genetic diversity of *Zizyphus lotus* natural populations from Algeria based on fruit morphological markers. *Arid Land Research and Management*. 32. 1-14. 10.1080/15324982.2018.1424742.
- Bruneton, 2009)
- Burt, S.A., « Des huiles essentielles, leurs propriétés antibactériennes et applications dans les aliments», *Journal internationale de Microbiologie des Aliments*, V.94, (2004), 85],
- C. Rais, C. Slimani, M. Benidir, L. Elhanafi, I. Zeouk, F. Errachidi, L. El Ghadraoui, S. Louahlia, "Seeds of *Zizyphus lotus*: In Vivo Healing Properties of the Vegetable Oil", *The Scientific World Journal*, vol. 2020, Article ID 1724543, 8 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1724543>.
- Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M.P., Hasselmann, M. et Lerverve. X., « *Traité de nutrition artificielle de l'adulte* », Springer Science Business Media, (2006) [91].
- Causse, C., « *Les secrets de santé des antioxydants* », Alpen Editions s.a.m, (2005), 95 p. [92].
- Chanet A, Milenkovic D, Manach C, Mazur A, Morand C. Citrus flavanones: what is their role in cardiovascular protection? *J Agric Food Chem*. 2012; 60: 8809-8822.

- Chen AY, Chen YC. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chem.* 2013; 138: 20992107.
- Cheynier, 2005
- Clark, A.M., « Natural products as source for new drugs », *Pharmacol*, V.13, (1996), [79],
- Claudine R. (2007). *Le Nom De L'arbre : Le Grenadier, Le Caroubier, Le Jujubier, Le Pistachier Et l'Arbousier*. ACTES SUD NATURE. 1ÈRE ÉDITION FRANCE.
- Clavel T, Fallani M, Lepage P, Levenez F, Mathey J, Rochet V, et al. Isoflavones and functional foods alter the dominant intestinal microbiota in postmenopausal women. *J Nutr.* 2005; 135(12): 2786-2792.
- Cohen, Y. et Jacquot, C., « Pharmacologie », Elsevier Masson, (2008), [100].
- Cowan, M.M., « Plant products as antimicrobial agents », *Clin. Microbiol*, V. 12, (1999), [83],
- D'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments », *Médecine Marc. Fr.*, Davin. A., Deglène-Benbrahim. L. et Ferrand C., « Méthodes Sciences, (2004), V.20, n°4, 458-463(88).
- Dahlia, F., Barouagui, S., Hemida, H., Bousaadia, D., & Rahmoune, B. (2020). Influence of environment variations on anti-glycaemic, anti-cholesterolemic, antioxidant and antimicrobial activities of natural wild fruits of *Ziziphus lotus* (L.). *South African Journal of Botany*, 132, 215–225. doi: 10.1016/j.sajb.2020.04.033
- Deba, F., Dang Xuan, T., Yasuda, M., Tawata, S. 2008. «Chemical composition and antioxidant,antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*» *Food Control*, Vol. (19), page : 346.
- Descheemaeker, K., « Nutri-et Phytotherapie: Développements Récents », Edition Garant, (2003), [82].
- Duclos, A., « Les aliments 100% santé », Dauphin, (2007), 158p. [95].
- E. Haslam 1989; L. J. Porter 1989
- E. Haslam, *J. Nat. Prod.*, 1996
- E. Haslam, *J. Nat. Prod.*, 1996)
- E. Haslam, *Plant Polyphenols – Vegetable Tannins Revisited – Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Cambridge University Press, Cambridge, 1989,
- E. Haslam, *Plant Polyphenols – Vegetable Tannins Revisited – Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Cambridge University Press, Cambridge, 1989, p. 9.)
- Edeas, M., « Les secrets de santé du thé », Alpen Editions s.a.m (2005 95 p. [94].

- Elaloui, M., Laamouri, A., Ennajah, A., Cerny, M Mathieu, C., Vilarem, G., Chaar, H., & Hasnaoui, B. (2016)..
- Elena Constantinou, Dimitrios Sarris, Ioannis N. Vogiatzakis. (2021).The possible role of Ziziphus lotus as an ecosystem engineer in semiarid landscapes. Journal of Arid Environments. Volume 195.
- Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. Nutr Res. 2004;24:851-874.
- Fiorucci, 2006 from the Integrated Taxonomic Information System (ITIS) online database, www.itis.gov, CC0 <https://doi.org/10.5066/F7KH0KBK>((Ziziphus lotus (L.) Lam. in GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-04-09.)
- G. Würdig and R. Woller, Chemie des Weines, Eugen Ulmer GmbH, Stuttgart, 1989.
- Galati G, O'Brien PJ. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. Free Radic Biol Med. 2004; 37: 287-303.
- Gao K, Henning S, Niu Y, Youssefian AA, Seeram NP, Xu A, et al. The citrus flavonoid naringenin stimulates DNA repair in prostate cancer cells. J Nutr Biochem. 2006; 17: 89-95
- Ghedira K. (2013). Zizyphus lotus (L.) Desf. (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. PHYTOTHERAPIE, 11(3):149-153. DOI 10.1007/s10298-013-0776-8
- Ghedira, 2008
- Glombitza et al., 1994). Glombitza K W. Mahran G H. Mirhom Y W. Michel K G. Motawi T K. (1994). Hypoglycemic and Antihyperglycemic Effects of Zizyphus spina-Christi In Rats. PLANTA MEDICA, 60(30) :244-247. DOI: 10.1055/s-2006-959468
- Goulas V, Manganaris GA. Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. Food Chem. 2012; 131: 39-47.
- Gramza A, Korczak J, Amarowicz R. Tea polyphenols - their antioxidant properties and biological activity - a review. Pol J Food Nutr Sci. 2005; 14/55(3): 219-235.
- H. Ghazghazi, C. Aouadhi, L. Riahi, A. Maaroufi, and B. Hasnaoui, "Fatty acids composition of Tunisian Ziziphus lotus L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts," Natural Product Research, vol. 28, no. 14, pp. 1106–1110, 2014.
- H. Ottiger and U. Reeb, Gerben, Eugen Ulmer GmbH, Stuttgart, Germany, 1991.

- Hennebelle et al, 2004
- Hollman PCH, Katan MB. Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. Arch Toxicol Suppl. 1998; 20: 237-248.
- Hostettmann, K. et Marston, A., « Twenty years of research into medicinal plants: Results and perspectives », Phytochem, V.1, (2002), (82)
- Houma, Imen & Belhadj, Safia & Arezki, Derridj & Mévy, Jean-Philippe & Roger, Notonnier & Tonetto, Alain & Gauquelin, Thierry. (2022). ZIZIPHUS LOTUS (L.) MORPHOLOGICAL DESCRIPTION FROM WILD POPULATIONS IN ALGERIA. 12. 2915-2931.
- Huang, D., Ou, B. et Prior, R. L., « The chemistry behind antioxidant capacity assays », Journal of Agricultural and Food Chemistry, V.53 (2005),1841-1856 (89)
- J. Falbe and M. Regitz, 1995).
- J. Falbe and M. Regitz, CD RÖMPP Chemie Lexikon, Version 1.0, Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York, 1995.
- Kaloustian, J. et Hadji-Minaglou, F., « La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée », Springer Science & Business Media, (2013), [97].
- Karp, G., Bouharmont, J. et Wissocq, J-C., « Biologie cellulaire et moléculaire», De Boeck Université, (2004), 850 p. [93].
- Khalil, N.M., Sperotto, S. et Manfron, M.P., «Anti-inflammatory activity and acute toxicity of Dodonaea viscosa», Fitoterapia, V.77, (2006), [103].
- Khan MK, Huma Z, Dangles O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. J Food Compos Anal. 2014; 33: 85-104.
- Khanbabae, K & van Ree, Teuns. (2002). Tannins: Classification and Définition. Natural Product reports. 18. 641-9. 10.1039/B101061L.
- Khanbabae, K & van Ree, Teuns. (2002). Tannins: Classification and Definition. Natural product reports. 18. 641-9. 10.1039/B101061L.
- Kim HK, Nelson-Dooley C, Della-Fera MA, Yang JY, Zhang W, Duan J, et al. Genistein decreases food intake, body weight, and fat pad weight and causes adipose tissue apoptosis in ovariectomized female mice. J Nutr. 2006; 136: 409-414.
- Kirby, G.C., « Medicinal plants and the control of protozoal disease , with particular reference to malaria ». Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, V. 90, (1996), [80]
- L. J. Porter, and J. B. Harborne 1989.).

- L. J. Porter, in *Methods in Plant Biochemistry-Plant Phenolics*, Series ed P. M. Dey and J. B. Harborne, Academic Press, London, 1989
- L. J. Porter, in *Methods in Plant Biochemistry-Plant Phenolics*, Series ed P. M. Dey and J. B. Harborne, Academic Press, London, 1989,
- Lahlou M, El Mahi M, Hamamouchi J. [Evaluation of antifungal and mollusucidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf] *Annales Pharmaceutiques Francaises*. 2002 Nov;60(6):410-414. PMID: 12514508.
- Letaief, Touka, Garzoli, Stefania, Ovidi, Elisa, Tiezzi, Antonio, Jeribi, Chokri, Abderrabba, Manef, & Mejri, Jamel. (2021). Organ dependency variation of the chemical composition of *Zizyphus lotus* volatile fractions. *European Journal of Biological Research*, 11(4), 501–508. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5552960>
- Levis S, Strickman-Stein N, Doerge DR, Krisher J. Design and baseline characteristics of the soy phytoestrogens as replacement estrogen (SPARE) study - a clinical trial of the effects of soy isoflavones in menopausal women. *Contemp Clin Trials*. 2010; 31: 293-302
- Li Y, Ding Y. Minireview: Therapeutic potential of myricetin in diabetes mellitus. *Food Sci Human Wellness*. 2012; 1: 19-25
- Lin Y, Shi R, Wang X, Shen HM. Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008
- Lin Y, Shi R, Wang X, Shen HM. Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008; 8(7): 634646
- M. Ghalem, S. Merghache, and M. Belarbi, “Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria,” *Pharmacognosy Journal*, vol. 6, no. 4, pp. 32–42, 2014.
- M., SAADOUDI & Hambaba, Leila & M, ABDEDDAIM. (2012). Study of glucidique fraction of *Celtis australis* L. *Crateagus azarolus* L., *Crateagus monogyna* L, *Elaeagnus angustifolia* L, and *Zizyphus lotus* L fruits..
- Maatta-Riihinen KR, Kahkonen MP, Torronen AR, Heinonen IM. Catechins and procyanidins in berries of *Vaccinium* species and their antioxidant activity. *J Agric Food Chem*. 2005; 53: 8485-8491.
- Majewska M, Cieczot H. Flavonoids in prevention and therapy [in Polish]. *Farm Pol*. 2009; 65(5): 369377.
- Makris DP, Kallithraka S, Kefalas P. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *J Food Compos Anal*. 2006; 19: 396-404

- Manthey JA, Grohmann K, Guthrie N. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Curr Med Chem.* 2001; 8: 135153
- Manthey JA, Guthrie N. Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 5837-5843.
- Marchand et al., 1980).
- Marin FR, Perez-Alvarez JA, Soler-Rivas C. Isoflavones as functional food components. *Bioact Natural Prod.* 2005; 32: 1177-1207.
- Martini, M.C., « Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie », Lavoisier, 3ème édition, Paris, (2011), [105].
- Mezzou, H., A, B, Khelifa., F, Neffati., W, Douki., A, Ben Amor., M, F, Najjar. (2006). "Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique." *Revue Francophone des Laboratoires* 2006
- Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, Gaudio A, Lasco A, Frisina N, et al. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res.* 2002; 17(10): 1904-1912.
- Munawar Abbas, Farhan Saeed, Faqir Muhammad Anjum, Muhammad Afzaal, Tabussam Tufail, Muhammad Shakeel Bashir, Adnan Ishtiaq, Shahzad Hussain & Hafiz Ansar Rasul Suleria (2017) Natural polyphenols: An overview, *International Journal of Food Properties*, 20:8, 1689-1699, DOI: 10.1080/10942912.2016.1220393
- Munawar et al ., 2017
- Muster, D., « Thérapeutique médicale buccodentaire : moyens et méthodes », Elsevier Masson, (2004), [101].
- Muster, D., « Thérapeutique médicale buccodentaire : moyens et méthodes », Elsevier Masson, (2004), [102].
- N. Kakiuchi, et al 1986
- Ortuno et al., 2006
- P. Grunwald 1998)
- P. Grunwald, *Nachr. Chem. Tech. Lab.*, 1998, 46, 853.) (5 N. Kakiuchi, M. Hattori, M. Nishizawa, T. Yamagishi, T. Okuda and T. Namba, *Chem. Pharm. Bull.*, 1986, 34, 720.) (E. Haslam, *J. Nat. Prod.*, 1996, 59, 205.
- Paris. R. et Moyse. M., « Précis de matière médicale », Masson édit, Paris, (1965), [104],
- Park et al., 2008

- Pascual-Teresa S, Moreno DA, Garcia-Viguera C. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int J Mol Sci.* 2010; 11: 1679-1703.
- Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas Gonzalo JC. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages. *J Agric Food Chem.* 2000; 48: 5331-5337
- Patel D, Shukla S, Gupta S. Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise. *Int J Oncol.* 2007; 30: 233-245.
- Peterson J, Dwyer J, Beecher G, Bhagwat SA, Gebhardt SE, Haytowitz DB, et al. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *J Food Compos Anal.* 2006; 19: S66-S73.
- Poirier, j., « L'indispensable pour vivre en santé », Merlin Éditeur, (2004). [96].
- Pong, K., «Oxidative stress in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for superoxide dismutase mimetics», *Expert Opin Biol Ther* V.3, (2003),127–139.(86)
- Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B., « Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH », *Revue de génie industriel*, V.4, (2009), 25-39 (90)
- Rais, C., Driouch, A., Slimani, C., Bessi, A., Balouiri, M., El Ghadraoui, L., Lazraq, A. and Al Figuigui, J. (2019), "Antimicrobial and antioxidant activity of pulp extracts from three populations of *Ziziphus lotus* L.", *Nutrition & Food Science*, Vol. 49 No. 6, pp. 1014-1028. <https://doi.org/10.1108/NFS-08-2018-0232>
- Rao et Vijaya Kumar, 2008
- Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, et al. Cocoa inhibits platelet activation and function. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(1): 30-35.
- Römpp, *Lexikon der Chemine*, CD-version, Thème, Stuttgart, 1997
- Roux et Catier, 2007.
- Roy HJ, Lundy S, Eriksen C, Kalicki B. Anthocyanins. *Pennigton Nutrition Series*, 2009.; de Pascual-Teresa S, Moreno DA, Garcia-Viguera C. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int J Mol Sci.* 2010; 11: 1679-1703.; de Pascual-Teresa S, Sanchez-Ballesta MT. Anthocyanins: from plant to health. *Phytochem Rev.* 2008; 7: 281-299.
- SIRIVIBULKOVIT, Kitima & NOUANTHAVONG, Souksanh & Sameenoi, Yupaporn. (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences.* 34. 795-800. 10.2116/analsci.18P014
- Saadoudi Mouni, Hamebaba Leila, & Abdeddaim Mohamed. (2012). Study of the Glucidic Fraction of *Celtis Australis* L, *Crataegus Azarolus* L, *Crataegus Monogyna* Jacq.,

Elaeagnus Angustifolia L. and Zizyphus Lotus L. Fruits.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.1057619> (Saadoudi et al., 2012)

- Salim Zerrouk, Olga Escuredo, María Shantal Rodríguez-Flores & María Carmen Seijo (2021) Palynological characterisation of sedra honeys (*Zizyphus lotus*) produced in Algeria, *Grana*, 60:1, 69-80, DOI:
- Sanchez-Moreno. C., « Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems », *Food Science and Technology International*, V. 8, n°3, (2002), 121-137 [87].
- Sanchez-Moreno. C., 2002 ; Marc. FR., et al., 2004 ; Huang, D., Ou, B. et Prior, R. L., 2005 ; Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B., 2009
- Souleymane Abdul-Aziz, "Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus L.*) Bioactive Compounds for Nutrition and Health", *Journal of Nutrition and Metabolism*, vol. 2016, Article ID 2867470, 13 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2867470>
- Souleymane Abdul-Aziz, "Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus L.*) Bioactive Compounds for Nutrition and Health", *Journal of Nutrition and Metabolism*, vol. 2016, Article ID 2867470, 13 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2867470>
- Stevens, A., Lowe, J-S. et Young, B., « Anatomie pathologies: Atlas de Wheater », De Boeck Université, (2004), [98].
- Symonowicz M, Kolanek M. Flavonoids and their properties to form chelate complexes. *Biotechnol Food Sci.* 2012; 76(1): 35-41.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, HA., Sokmen. A. 2006. "Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey" *Food Chem.*, Vol. (95), page : 200.
- Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).
- Ulanowska et al., 2006),
- Vigneau, C., « Plantes médicinales : Thérapeutique – Toxicité », Masson, Paris, (1985), [84)
- Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J Agric Food Chem.* 2001; 49(11): 5315-5321.
- W. Borgi; M.-C. Recio; J.L. Ríos; N. Chouchane (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus (L.) Lam.* , 74(2), 320–324. doi: 10.1016/j.sajb.2008.01.009
- Woo HD, Kim J. Dietary flavonoid intake and smoking-related cancer risk: a meta-analysis. *PLoS ONE.* 2013; 8(9): e75604.

- Wood CE, Register TC, Franke AA. Dietary soy isoflavones inhibit estrogen effects in the postmenopausal breast. *Cancer Res.* 2006; 66: 12411249.
- Yeung J, Yu T. Effects of isoflavones (soy phytoestrogens) on serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr J.* 2003; 2: 15
- Yeung J, Yu T. Effects of isoflavones (soy phytoestrogens) on serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr J.* 2003; 2: 15
- *Ziziphus lotus* (L.) Lam. In GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-04-09.