

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITE DE GHARDAÏA



INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Licence académique en Biochimie

Thème

Etude de l'activité biologique de *Zizyphus lotus.L*

Présenté par :

-AÏSSA Souad

-BABA OUYOUB Faffa

Encadreur : Mlle TELLI A.

Co-encadreur : Mme HAMID OUJANA A.

Examineur : Mr BELGHIT S.

Année universitaire : 2011/2012

Dédicace

À mon père, celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la science et la volonté forment les grands esprits.

À ma mère, celle qui m'a appris que la patience est la clé de la réussite.

Ce travail est le fruit de vos efforts et de vos sacrifices, qu'il soit pour vous un faible témoignage de ma profonde affection et gratitude.

À mes sœurs, pour leurs encouragements et leurs soutiens sans failles, même les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection et l'amour que j'éprouve pour vous.

À mes frères pour leurs soutiens permanents et leurs tendresses

À mes adorables nièces et neveux.

À toute ma famille.

À toutes mes amies : Faffa, Aziza, Aïcha A, Aïcha H, Faffa K, Hafsa, Mansoura, Hafida, Fatima, Sarah, Imen.

À tous ceux qui m'ont consacré temps, patience et conseils dans les moments les plus difficiles.

Souad

Dédicace

Je Dédie ce travail

Aux joyaux de ma vie "mes parents" qui sont la source de ma réussite

A mes frères : BALHADJ, SOULEYMENE, NOURADDINE et leurs petites familles
pour leurs soutiens et leurs amours

A mon petit frère AMINE

A mes sœurs chacune en son nom pour leur soutien moral, leurs amours et leurs
soins

A mes proches amies A. Souad, H. Aziza, T. Amina, T. Faffa , K. Ilham, K. Faffa,
A. Aicha, H. Aicha, H. Hafsa pour m'avoir toujours soutenue et encouragée même
dans les périodes les plus difficiles

A ma grande famille chacun en son nom pour leurs encouragements

A toutes les personnes que je connais pour leurs conseils précieux

Faffa

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre promotrice M^{elle} TELLI Alia, Maître assistante, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de diriger ce travail. Nous la remercions infiniment pour ses conseils judicieux et la confiance qu'elle nous a accordée.

Nos sincères remerciements iront également à Madame HAMID Oujana Aïcha, Co-promoteur de ce mémoire. Son aide et sa disponibilité ont été des atouts précieux,

Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à Monsieur BELGHIT Saïd pour nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail.

Nous remercions chaleureusement Mlle SAYED Ibtissem, et Monsieur HADJ SAID Abdelkader pour leurs soutiens et leurs aides.

Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à Monsieur Ammi Saïd Mustapha, et toute son équipe pour nous avoir accueillis dans son laboratoire.

Nous tenons à exprimer également nos reconnaissances à tous nos enseignants des différents niveaux d'étude qui nous ont formés.

Un grand merci à toutes les personnes qui nous ont soutenues de près ou de loin au cours de la réalisation de ce modeste travail.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, nous tenons à remercier de tout cœur nos parents.

Liste des abréviations

AMPC	Adénosine monophosphate cyclique
CO	Cyclooxygénase
CS	Chalcone synthase
Cu	Cuivre
DAMPP	Diméthylallyl diphosphate
Fe	Fer
FPP	Farnésyl diphosphate
GPP	Géranyl diphosphate
HHDP	Acide hexahydroxydiphénique
HIV	Human immunodeficiency virus
IPP	Isopentényl diphosphate
LDL	Low density lipoprotein
LO	Lipooxygénase
MEP	Methylerythritol phosphate
NO	Monoxyde d'azote
PAL	Phénylalanine-ammoniac lyase
PEP	Phosphoènoïl pyruvate
PM	Poids moléculaire

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Composition en métabolites primaires de la pulpe du fruit du <i>Zizyphus lotus</i>	7
II	Composition minérale du fruit de <i>Zizyphus lotus</i>	7
III	Teneur en vitamines dans les différentes parties du <i>Zizyphus lotus</i>	7
IV	Composition en métabolites secondaires des différentes parties du <i>Zizyphus lotus</i> .	8
V	Souches bactériennes testées	37
VI	Rendement de l'extraction dans les différentes zones d'étude	44
VII	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par les extraits de feuilles du <i>Zizyphus lotus</i> des trois zones	47

Liste des figures

N^o	Titre	Page
1	Représentation des différentes parties de <i>Zizyphus lotus</i>	4
2	Aire de répartition de <i>Zizyphus Lotus</i> en Algérie	5
3	Les polyphénols	13
4	La voie de shikimate	14
5	Les principaux acides phénoliques	15
6	Structure de base des flavonoïdes	16
7	Les structures des principales classes de flavonoïdes	16
8	Voie de biosynthèse des flavonoïdes	17
9	Pentagalloylglucose (l'une des structures de base des tanins hydrolysables)	19
10	Exemple de structure d'un tanin condensé	20
11	Les monomères constitutifs des lignines	21
12	Éléments essentiels pour l'activité antioxydant des flavonoïdes	23
13	Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes	23
14	Liste des principales classes de terpénoïdes	26
15	Voies de synthèse des composés isopréniques	27
16	Les principales classes d'alcaloïdes	30
17	Situation géographique de Ghardaïa	34
18	Situation géographique des trois zones d'étude	35
19	Etape de la démarche expérimentale	38
20	Principe de la lecture d'un antibiogramme	42
21	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (1er essai)	44
22	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (2ème essai)	45

Liste des photos

N⁰	Titre	Page
1	Disques imprégnés d'extraits foliaires de <i>Zizyphus lotus</i> des trois zones	46
2	Isolement de l'espèce <i>E coli</i>	46
3	Isolement de l'espèce <i>C albicans</i>	46
4	Isolement de l'espèce <i>K pneumonia</i>	46
5	Isolement de l'espèce <i>S aureus</i>	46
6	Zones d'inhibitions de l'extrait foliaire sur <i>E coli</i> , <i>S aureus</i> , <i>K pneumonia</i> , <i>C albicans</i> de la zone du Ghardaïa.	48
7	Zones d'inhibitions de l'extrait foliaire sur <i>E coli</i> , <i>S aureus</i> , <i>K pneumonia</i> , <i>C albicans</i> de la zone du Bounoura.	49
8	Zones d'inhibitions de l'extrait foliaire sur <i>E coli</i> , <i>S aureus</i> , <i>K pneumonia</i> , <i>C albicans</i> de la zone du Beni isguen.	49

Sommaire

Introduction

Partie bibliographique

	Page
Chapitre I : Généralités sur <i>Zizyphus lotus</i>	
I.1. Etymologie.....	3
I.2. Origine et historique.....	3
I.3. Description botanique.....	3
I.4. Répartition géographique.....	5
I.5. Biotope.....	6
I.6. Classification botanique.....	6
I.7. Classification biochimique du <i>Zizyphus lotus</i>	7
I.7.1. Composition en métabolites primaires.....	7
I.7.2. Composition minérale et vitaminique.....	7
I.7.3. Composition en métabolites secondaires	8
I.8. Activités biologiques et thérapeutiques du <i>Zizyphus lotus</i>	8
I.8.1. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....	8
I.8.2. Activité antifongique et anti-mollusque.....	8
I.8.3. Activité antispasmodique	9
I.8.4. Activité ulcérogénique.....	9
I.8.5. Autres activités.....	9
Chapitre II : Les métabolites secondaires	
II.1. Généralités.....	12
II.2. Les composés phénoliques.....	12
II.2.1. Acides phénoliques.....	14
II.2.1.1. Classification	14
II.2.1.1.1. Acides hydroxybenzoïques.....	15
II.2.1.1.2. Acides hydroxycinnamiques.....	15
II.2.2. Flavonoïdes.....	15
II.2.2.1. Distribution et localisation.....	15
II.2.2.2. Structure chimique et classification	16
II.2.2.3 Biosynthèse.....	17
II.2.2.4. Rôles biologiques.....	18

II.2.3. Tanins.....	18
II.2.3.1. Distribution et localisation.....	18
II.2.3.2. Structure et classification.....	19
II.2.3.3. Rôles biologiques.....	20
II.2.4. Lignine.....	20
II.2.4.1. Distribution et localisation.....	20
II.2.4.2. Structure chimique.....	20
II.2.5. Activités biologiques des composés phénoliques.....	21
II.2.5.1. Activité anti-inflammatoire.....	21
II.2.5.2. Activité comme inhibiteurs enzymatiques.....	21
II.2.5.3. Activité antioxydante.....	22
II.2.5.4. Activité antimicrobienne.....	23
II.2.5.5. Activité thérapeutique due à l'astringence.....	23
II.2.5.6. Flavonoïdes et maladies cardiovasculaires.....	24
II.2.5.7. Autres activités.....	24
II.3. Les terpènes.....	24
II.3.1. Distribution et localisation.....	25
II.3.2. Structure chimique et classification.....	25
II.3.3. Biosynthèse.....	27
II.3.4. Rôles biologiques.....	27
II.3.5. Activités biologiques des terpènes.....	27
II.3.5.1. Activité antimicrobienne et antiparasitaire.....	27
II.3.5.2. Activité antioxydante.....	28
II.3.6. Les saponosides.....	28
II.3.6.1. Localisation et structure.....	28
II.3.6.2. Propriétés pharmacologiques.....	28
II.4. Les alcaloïdes.....	28
II.4. 1. Distribution et localisation.....	29
II.4. 2. Structure chimique et classification.....	29
II.4.3. Rôles biologiques.....	31
II.4.4. Activités biologiques des alcaloïdes.....	31

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1.Présentation de la région d'étude.....	34
III.1.1.Situation géographique.....	34
III.1.2. Présentation des zones d'études.....	35
III.2.Matériel.....	36
III.2.1. Matériel végétal.....	36
III.2.2. Matériel biologique.....	36
III.3.Methodes.....	38
III.3.1. Extraction des composés phénoliques.....	38
III.3.2. Détermination du rendement de l'extraction.....	39
III.3.3.Analyse quantitative des polyphénols.....	39
III.3.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	39
III.3.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	40
III.3.4. Test de l'activité antimicrobienne	40

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1.Rendement de l'extraction.....	44
IV.2.Analyse quantitative des extraits de feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	44
IV.2.1.Teneur en polyphénols totaux.....	44
IV.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	45
IV.3.Activité anti microbienne de <i>Zizyphus lotus</i>	45
Conclusion	51
Références bibliographiques	53
Annexes	58

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (ABERKANE, 2006).

Récemment le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, a conduit de chercher des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne. Les propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (YANO et al, 2006).

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'étudier l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus* (Sedra), plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme adoucissant dans le traitement de la gorge et les irritations bronchopulmonaires, un émollient dans le traitement des furoncles. D'ailleurs, elle possède plusieurs activités thérapeutiques : anti-inflammatoire, analgésique, antiulcérogénique, antifongique et antidiabétique.

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Analyse quantitative du contenu en polyphénols totaux, et en flavonoïdes d'extrait de feuilles de *Zizyphus lotus* dans les différentes zones d'étude.
- Etude de l'activité antimicrobienne d'extrait de feuilles de *Zizyphus lotus* dans les différentes zones d'étude.

La présente étude comprendra donc deux volets principaux. Le premier volet comprend deux chapitres qui concernent d'abord une étude bibliographique, le premier chapitre où nous apportons des données générales sur l'espèce étudiée et le deuxième chapitre concernant des généralités sur les métabolites secondaires.

Le deuxième volet se compose aussi de deux chapitres, le premier consacré à la partie expérimentale comportant le matériel et les méthodes utilisées pour l'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes et sur l'activité antimicrobienne. Dans le deuxième chapitre, nous avons rassemblé tous les résultats obtenus que nous ayons discuté.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LE *ZIZYPHUS LOTUS*

I.1.-Etymologie

Le nom de *Zizyphus* paraît formé du mot arabe Zizouf, employé pour désigner le jujubier (JEHAN, 1851).

Le *Zizyphus lotus* est aussi appelé jujubier des Lotophages ou jujubier de Berbérie, communément appelé en Algérie « Sedra » (CATOIRE et *al.*, 1994)

I.2.-Origine et historique

L'espèce *Lotus* est d'origine méditerranéenne (SAHKI, 2004).

Dans l'antiquité, en Libye, les Lotophages d'Hérodote avaient une alimentation reposant principalement sur les jujubes (CATOIRE et *al.*, 1999). Enfin, la tradition que ces fruits servaient anciennement de nourriture aux hommes s'est conservée parmi ces peuples : c'est encore ce même *Lotos* dont Homère parle dans l'Odyssée et qui avait un goût si délicieux, qu'il faisait perdre aux étrangers le souvenir de leur patrie (JEHAN, 1851).

Le jujubier est un arbre cité dans plusieurs histoires légendaires :

- Le jujubier doit son nom latin à une légende d'après laquelle ses rameaux auraient servi à confectionner la couronne d'épines du Christ. Il est également évoqué dans le Coran et considéré par des musulmans comme arbre sacré, ou arbre du paradis.
- Selon une légende grecque, la nymphe *Lotus* qui voulait échapper aux assiduités de Priape « demanda à être changée en un arbuste épineux à fleurs rouges que l'on croit être le jujubier ».
- Une tradition arabe veut que le jujubier du Paradis ait autant de feuilles que d'êtres vivants au monde «chaque feuille portant le nom d'une personne et ceux de ses père et mère » (BENAMMAR, 2011).

I.3.-Description botanique:

Le *Zizyphus lotus* est un arbuste épineux, très ramifié, à grosse souche souterraine, de 2 à 4 mètres de haut. Tiges à longs rameaux flexueux, en zigzag, d'un blanc grisâtre (CHEHMA, 2006). Le long des rameaux en zigzag, des stipules épineuses inégales, l'une droite et l'autre recourbée vers le bas (OZENDA, 1977).

Ses feuilles sont caduques, alternées (RASAÏSSI et BOUHACHE, 2002), glabres, glauques en dessous, ovales 1,5 à 2 fois plus longue que large à marge entières ou finement

sinuées (QUEZEL et SANTA, 1963). Les feuilles présentent trois nervures marquées, la base du pétiole portant des épines (BURNIE et *al.*, 2006).

Inflorescences en grappes axillaires portant de petites fleurs jaunâtres (SAHKI, 2004). Calice étalé, à 5 lobes, ovales, aigus entiers. Corolle à 5 pétales, très petits, étalés, en forme de cuiller, pourvus d'un onglet allongé et droit. Etamines aux nombres de 5, insérés au pourtour d'un disque aplati, glanduleux, jaune, qui tapisse le fond du calice et forment un bourrelet autour du pistil. Les fruits sont rougeâtres, presque ronds (CONSTANTIN, 1895), gros comme un pois (GUBB, 1913), c'est une drupe à noyaux soudés entre eux, vert jaunâtre à l'état jeune et brun roux à maturité (SAHKI, 2004), la chair en est pulpeuse d'une saveur agréable. Le fruit est souvent comestible (CONSTANTIN, 1895).



Figure 1 : Représentation des différentes parties de *Zizyphus lotus* (feuilles, fleurs, fruits et rameaux) (www.Sahara.nature.com)

Graines dépourvues d'albumen ou pourvues d'un albumen très faible (CONSTANTIN, 1895).

Cycle végétatif : Ces fleurs paraissent au mois de mai, ses fruits sont mûrs au mois de août ou septembre (JEHAN, 1851).

I.4.-Répartition géographique

I.4.1.-Dans le monde

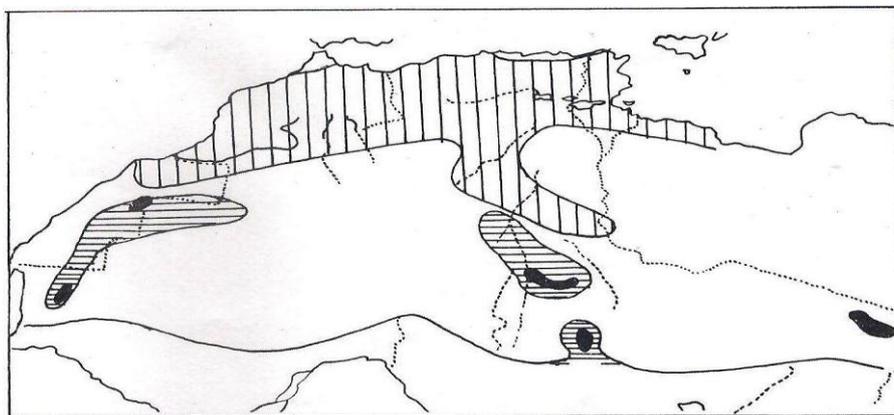
Ce genre comprend aujourd'hui environ soixante-cinq espèces d'arbres ou d'arbuste rustiques, d'orangerie ou de serre tempérée, souvent retombants ou sarmenteux et épineux, habitant l'Asie et l'Amérique tropicales ainsi que toutes les régions tempérées des deux hémisphères (CATOIRE et *al.*, 1994).

L'espèce lotus se trouve en Europe méridionale, en Afrique du Nord, en Afrique occidentale et en Arabie (SAHKI, 2004).

De Berbérie à l'Afghanistan. Il est cultivé dans le Sud du Portugal et de l'Espagne et en Sicile (CATOIRE et *al.*, 1994).

I.4.2.-En Algérie

Très commune dans toute l'Algérie sauf sur le Tell algéro-constantinois (QUEZEL et SANTA, 1963).



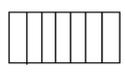
: Aire de *Zizyphus lotus*.L

Figure 2 : Aire de répartition de *Zizyphus Lotus* en Algérie (QUEZEL et SANTA, 1963).

I.5.-Biotope

Le *Zizyphus lotus* croît en abondance sur les roches et dans les lieux incultes (CONSTANTIN, 1895). C'est un arbuste des zones rocailleuses. On le rencontre dans les falaises, aux pieds des collines, et dans les lits d'oued à fond rocailleux (CHEHMA, 2006), et dans les steppes semi-désertiques (PARIS et DILLEMAN, 1960).

Le jujubier s'adapte à des conditions climatiques très diverses. Il supporte très bien la sécheresse et exige de grandes quantités de chaleur pour fructifier. Il résiste mieux au gel d'hiver, jusqu'à -15, qu'aux gelées printanières à cause de sa floraison tardive (mai- juillet). Le jujubier végète dans les zones à faible pluviométrie (moins de 500mm en régions méditerranéennes et moyen orientales et moins de 300mm au sud du Sahara). Il résiste bien au vent, d'où son emploi comme brise-vent en bordure de plantations particulièrement exposés à des vents secs et violents. Tous les types de sols conviennent au jujubier dont le système racinaire puissant explore les sols en profondeur. Il craint cependant les sols lourds et mal drainés. Le jujubier prospère particulièrement bien dans les sols sableux. Il tolère bien le calcaire actif et la salinité (WALALI et SKIREDJ, 2003).

I.6.-Classification botanique

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Famille : Rhamnacées

Ordre : Rhamnales

Genre : *Zizyphus*

Espèce : *Zizyphus lotus* (QUEZEL et SANTA, 1962)

I.7. -Composition biochimique du *Zizyphus lotus*

I.7.1.-Composition en métabolites primaires

Tableau I : Composition en métabolites primaires de la pulpe du fruit du *Zizyphus lotus* (CATOIRE et al., 1994).

La fraction de la pulpe du fruit	Le pourcentage
Sucres	20% à 32%
Lipides	0,1% à 0,3%
Protides	0,8% à 2,1%

La richesse en sucre du jujube, comparable à celle de la figue, constituait un aliment de grande valeur qui méritera d'être plus répandu (CATOIRE et al., 1994).

I.7.2.-Composition minérale et vitaminique

Tableau II : Composition minérale du fruit de *Zizyphus lotus* (HAMBABA, 2010).

Minéraux	La teneur en mg /100g
Calcium	490,84
Magnésium	397,91
Potassium	134,99
Sodium	11,45

Le fruit contient également des vitamines hydrosolubles comme l'acide ascorbique, la thiamine et aussi des vitamines liposolubles comme la tocophérol et β carotène (HAMBABA, 2010).

Tableau III : Teneur en vitamines dans les différentes parties du *Zizyphus lotus* (BEN-NAMAR, 2011).

Vitamines (mg /100mg)	Feuille	Racine	Pulpe	Tige	Noyau
Vitamine A	13,52	6,45	71,63	3,8	nd
Vitamine C	63,40	47,20	190,65	24,65	170,84
Vitamine E	155,71	4,7	11,23	4,5	9,2

nd : non déterminé

I.7.3.-Composition en métabolites secondaires**Tableau IV:** Composition en métabolites secondaires des différentes parties du *Zizyphus lotus*.

Organe végétal	Composition chimique	Références
Ecorce des racines	-Alcaloïdes cyclopeptidiques lutosine A-G -Saponines de type dammarane -Flavonoïdes et saponines -Tanins	(LE CREOUEUR et <i>al.</i> , 2002) (RENAULT et <i>al.</i> , 1997) (BORGI et <i>al.</i> , 2008) (BORGI et <i>al.</i> , 2007(a))
Feuilles	Saponine de type dammarane : -jujuboside B -jujubogenine glycoside -dérivé sulfaté de la jujubasaponine IV -flavonoïdes et saponines	(MACIUK, 2004). (BORGI et <i>al.</i> , 2008)
Fruit	-flavonoïdes, tanins, saponines, alcaloïdes	(BORGI et <i>al.</i> , 2007 (b))

I.8.-Activités biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus lotus***I.8.1.-Activités anti-inflammatoires et analgésiques**

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative. Le *Zizyphus lotus* inhibe la production de monoxyde d'azote (NO), cette activité apparaît potentiellement avec l'extrait méthanolique de l'écorce des racines qui est la source possible de l'agent anti-inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite par oxazolone. Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines. Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2009).

I.8.2.-Activités antifongiques et anti mollusques

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, acétate d'éthyle et méthanolique) se sont avérés in vitro actifs contre neufs souches de champignons pathogéniques et des mollusques *Bulinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose). En particulier, l'extrait chloroformique, riche en composés triterpéniques, s'est montré le plus

actif sur l'ensemble des fongis testés à faibles concentrations, suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle. Par contre, l'extrait méthanolique qui est riche en saponines provoque un effet « knock-down » rapide et puissant sur les mollusques (LAHLOU et *al.*, 2002).

I.8.3.-Activités anti-spasmodiques

Les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles et des racines du zizyphus lotus causent des relâchements des contractions spontanées. Ils contiennent des constituants antispasmodiques qui médient leurs effets à travers les récepteurs cholinergiques et bloquent l'influx du Ca^{++} . Ceci explique l'utilisation traditionnelle du *Zizyphus lotus* dans le traitement des maladies intestinales (BORGI et CHOUCHEM, 2002).

I.8.4.-Activités ulcérrogéniques

Les extraits aqueux des écorces de racine et de feuilles de *Zizyphus lotus* ont montré une inhibition significative de l'ulcère aigu (BORGI et *al.*, 2007). Cette activité est attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus pour leurs effets gastroprotecteurs (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2009).

I.8.5.-Autres activités

Plusieurs parties de *Zizyphus lotus* ont été utilisées par la médecine traditionnelle et ancestrale, à la fois en Afrique du Nord et Moyen-Orient, pour le traitement de plusieurs pathologies, y compris les troubles digestifs, faiblesse, problèmes de foie, de l'obésité, des troubles urinaires, diabète, infections cutanées, fièvre, diarrhée et insomnie. *Zizyphus lotus* L. est utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses activités antidiabétiques, sédatives et hypoglycémiques (BENAMMAR, 2010).

I.8.5.1.-Pharmacopée

Les feuilles, les fruits et les racines, sont utilisés en décoction, comme pectoral, sédatif et diurétique. Les feuilles et les fruits réduits en poudre et mélangés avec de l'eau ou du lait tiède sont appliqués comme emplâtre sur les furoncles (CHEHMA, 2006).

La farine des fruits (jujubes) est administrée aux enfants contre les diarrhées. Les racines sont administrées comme remède en cas des piqûres d'animaux vénimeux et pour les maux d'estomac (SAHKI, 2004).

I.8.5.2.-Alimentation

Ces fruits à pulpe sucrée ‘Nbag’ sont très appréciés par la population et font même l’objet d’un commerce (CHEHMA, 2006).

I.8.5.3.-Intérêt pastoral

La ‘Sedra’ est broutée par les dromadaires (CHEHMA, 2006).

CHAPITRE II
LES METABOLITES SECONDAIRES

II.1.-Généralités :

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire) : ce sont des métabolites secondaires (MERGHEM, 2009).

Les métabolites secondaires sont le fruit d'un métabolisme complexe. Ils sont synthétisés en réponse aux contraintes de l'environnement et permettent à la plante de se défendre contre les pathogènes ou des prédateurs, etc. (BOHN-COURSEAU, 2009). Certains assurent une protection contre les radiations solaires et d'autres encore facilitent la dispersion du pollen et des graines (RAVEN et al, 2007).

Les métabolites secondaires ne font pas sensu stricto, partie des matériaux de base de la cellule. Lorsque ces molécules sont présentes, elles ne se trouvent normalement que dans des tissus ou des organes particuliers ou à des stades précis du développement (HOPKINS, 2003).

Les métabolites secondaires sont en revanche très nombreux et variés (>100000) mais produits souvent en très faibles quantités (BOHN-COURSEAU, 2009).

Les composés du métabolisme secondaire sont classés en trois grandes classes :

- les composés aromatique ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins)
- les terpénoïdes et leurs dérivés
- et enfin les alcaloïdes (MERGHEM, 2009).

II.2.-Les composés phénoliques

La famille de métabolites secondaires issues des acides aminés aromatiques est habituellement connue sous le terme de composés phénoliques, polyphénols ou dérivés phénylpropanoïdes (HOPKINS, 2003) et représentent plus de 8000 espèces moléculaires connues. On classe dans cette vaste famille des substances de faible poids moléculaire comme les acides phénoliques, et des substances de poids moléculaire plus élevé qui sont, pour certaines d'entre elles, des polymères d'une molécule phénolique de base (BESANCON et al, 2000).

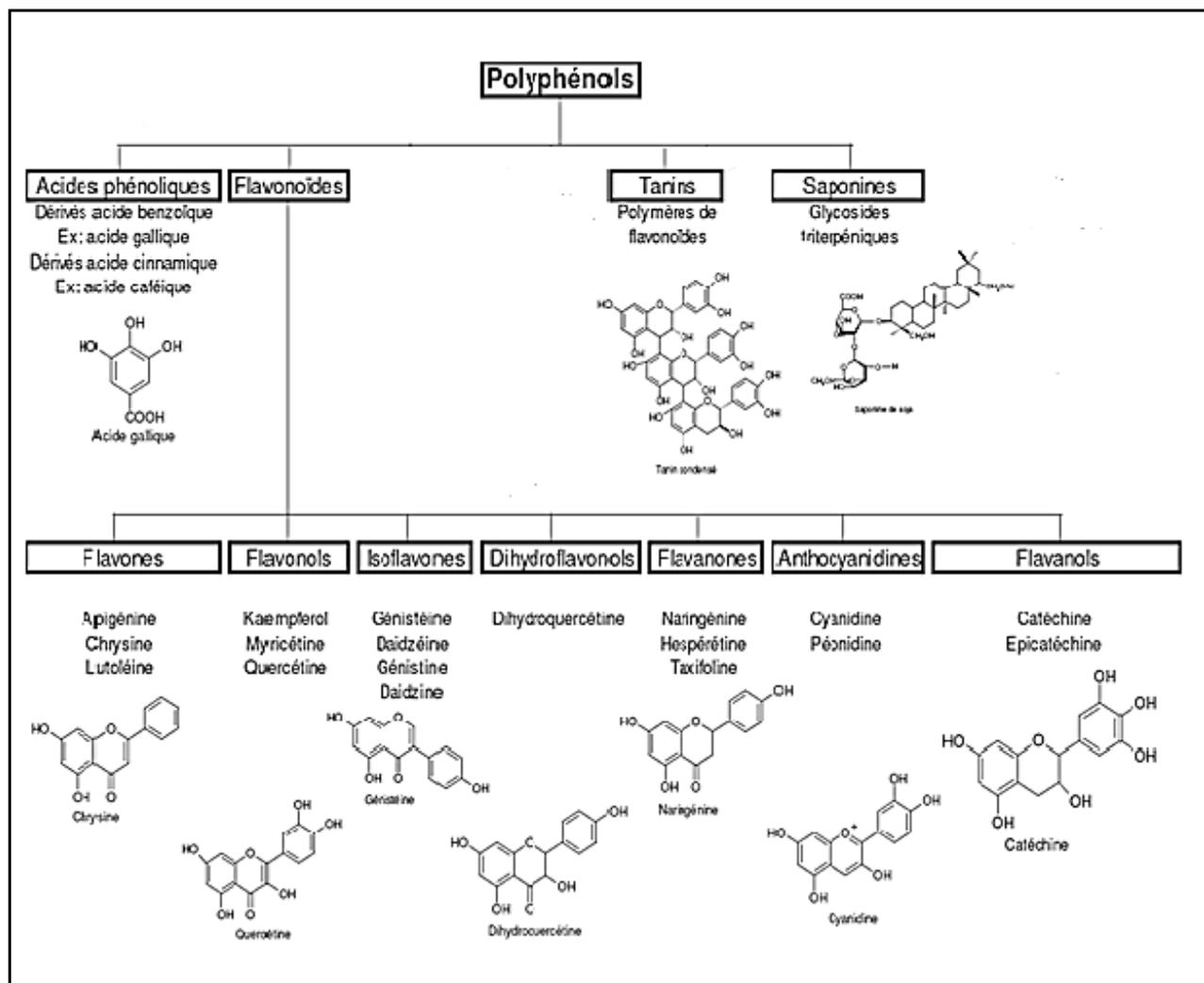


Figure 3 : Les polyphénols (GERVAISE, 2004).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

Les phénylpropanoïdes présentent une famille de composés végétaux importants qui sont synthétisés à partir de la phénylalanine, acide aminé aromatique, issu du shikimate (produit de condensation de l'érythrose 4-P et du PEP) (BOHN-COURSEAU et al., 2009).

Leur biosynthèse est basée sur l'action de la phénylalanine-ammoniac lyase (PAL), enzyme clé du métabolisme des composés aromatiques (HELLER et al., 1998).

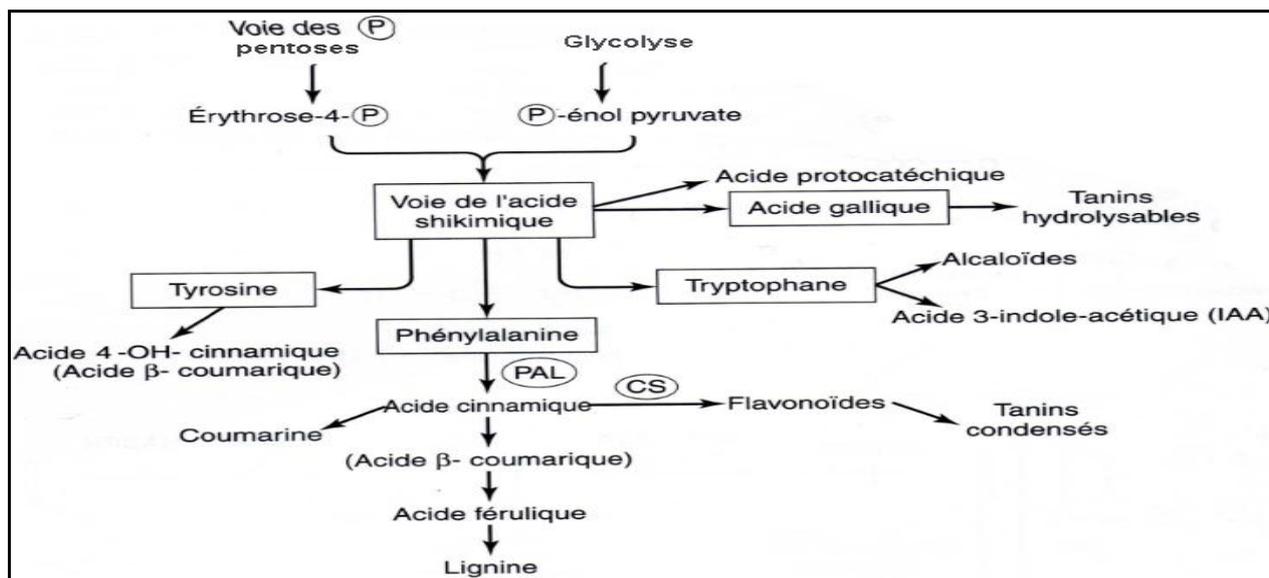


Figure 4 : La voie de shikimate et au centre de la synthèse de divers métabolites primaires et secondaires. PAL = phénylalanine ammonia lyase. CS = chalcone synthase (HOPKINS, 2003).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (BRUNETON, 1999).

II.2.1.-Acides phénoliques

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie conduit à réserver l'emploi de cette dénomination aux seuls dérivés d'acides benzoïques et cinnamiques (BRUNETON, 1999).

Ces acides phénoliques peuvent être libres mais sont très souvent sous formes conjugués. C'est-à-dire liés à des sucres libres ou pariétaux ou estérifiés à d'autres acides. Ces composés se rencontrent également sous formes de mono ou diphénols, molécules intervenant dans le processus de développement ou dans les interactions plantes/bactéries par exemple (BOHN-COURSEAU et *al.*, 2009).

Leur fonction principale serait de servir de précurseurs à des dérivés plus complexes comme les coumarines, les lignines, les tanins, les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (HOPKINS, 2003).

II.2.1.1.-Classification

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

II.2.1.1.1.-Acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆-C₁. Il existe fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans les structures complexes comme certains tanins (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

II.2.1.1.2.- Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante de la structure de base C₆-C₃ dérivée de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont l'acide *p*-coumarique (et ses isomères les acides *o*- et *m*-coumarique) et les acides caféïques, férulique et sinapique (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

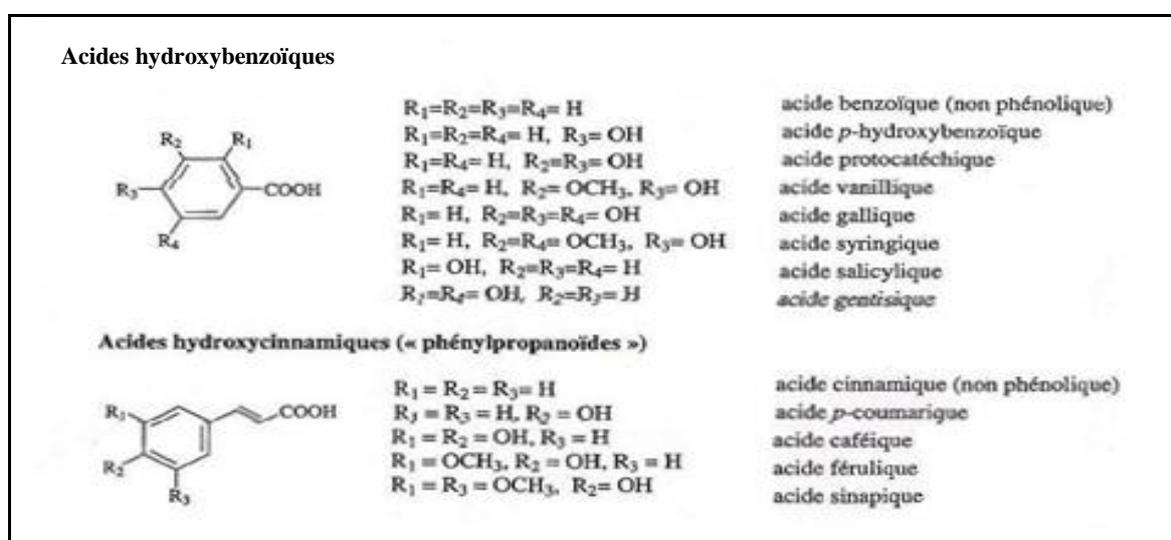


Figure 5 : Les principaux acides phénoliques (MACHEIX et al, 2005).

II.2.2.-Flavonoïdes

Les flavonoïdes lato sensu sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosoluble, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, auronés, flavonols jaunes), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets (BRUNETON, 1999).

II.2.2.1.-Distribution et localisation

Abondant chez les plantes supérieures, ils sont présents dans tous les organes aériens et surtout les organes jeunes, feuilles et boutons floraux (ROUX et CATIER, 2007).

Ces structures sont fréquemment rencontrées sous formes de glycosides (liaison avec un glucose ou d'autres oses), ce qui facilite leurs hydrosolubilités et permet ainsi leurs accumulations

dans les vacuoles (BOHN-COURSEAU et al, 2009), selon les espèces, elles sont concentrées dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (BRUNETON, 1999).

II.2.2.2.-Structure chimique et classification

Tous les flavonoïdes -plus de 4000- ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base (BRUNETON, 1999).

De structure générale en C15 (C6-C3-C6) (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006). Les flavonoïdes sont composés de trois cycles, nommés A, B et C (HOPKINS, 2003).

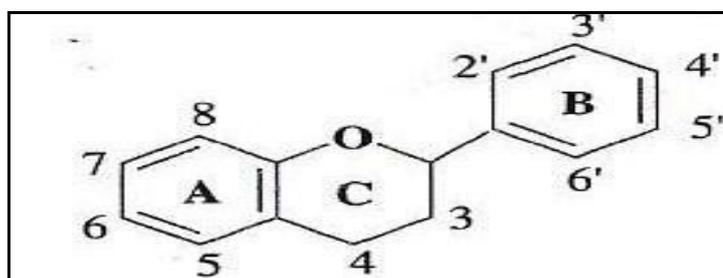


Figure 6: Structure de base des flavonoïdes (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006)

On les classe sous diverses rubriques, dont nous ne citerons que les principales : les chalcones, les flavonones, les flavones, les isoflavones et les anthocyanes (HELLER, 1998).

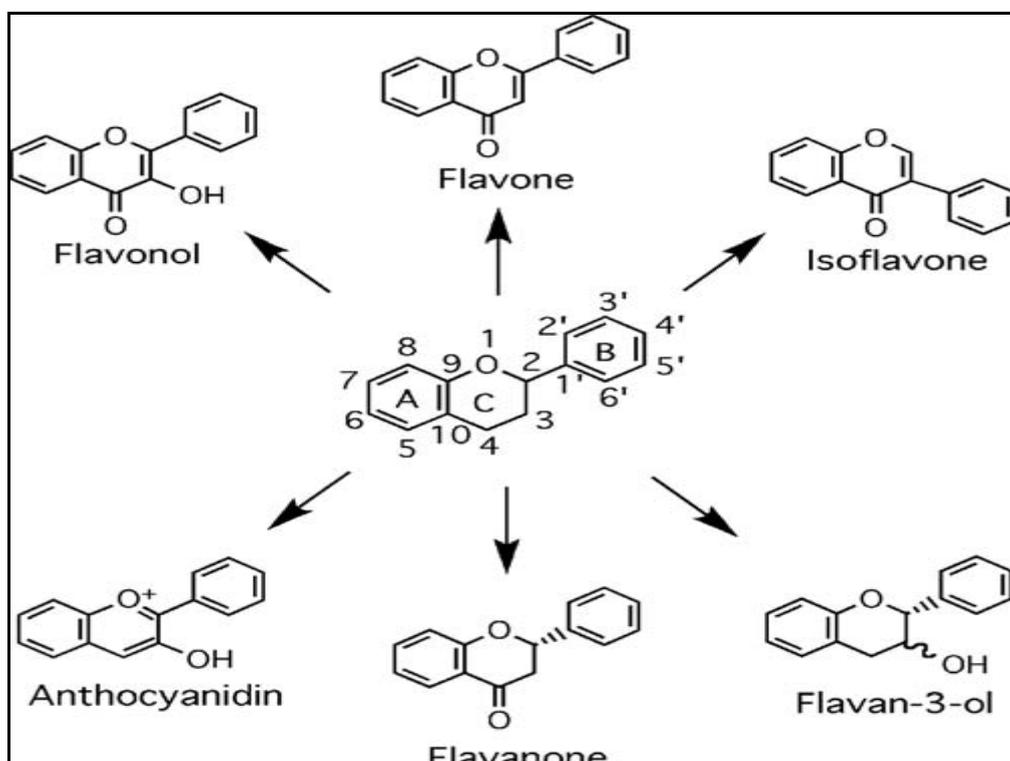


Figure 7 : Les structures des principales classes de flavonoïdes (MACHEIX et al., 2005)

II.2.2.3.-Biosynthèse

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone-synthase, de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4coumaroyl-coenzymeA. Le produit de la réaction est une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (BRUNETON, 1999).

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau des chloroplastes à partir du cinnamoyl-CoA (provenant du réticulum endoplasmique) (MERGHEM, 2009).

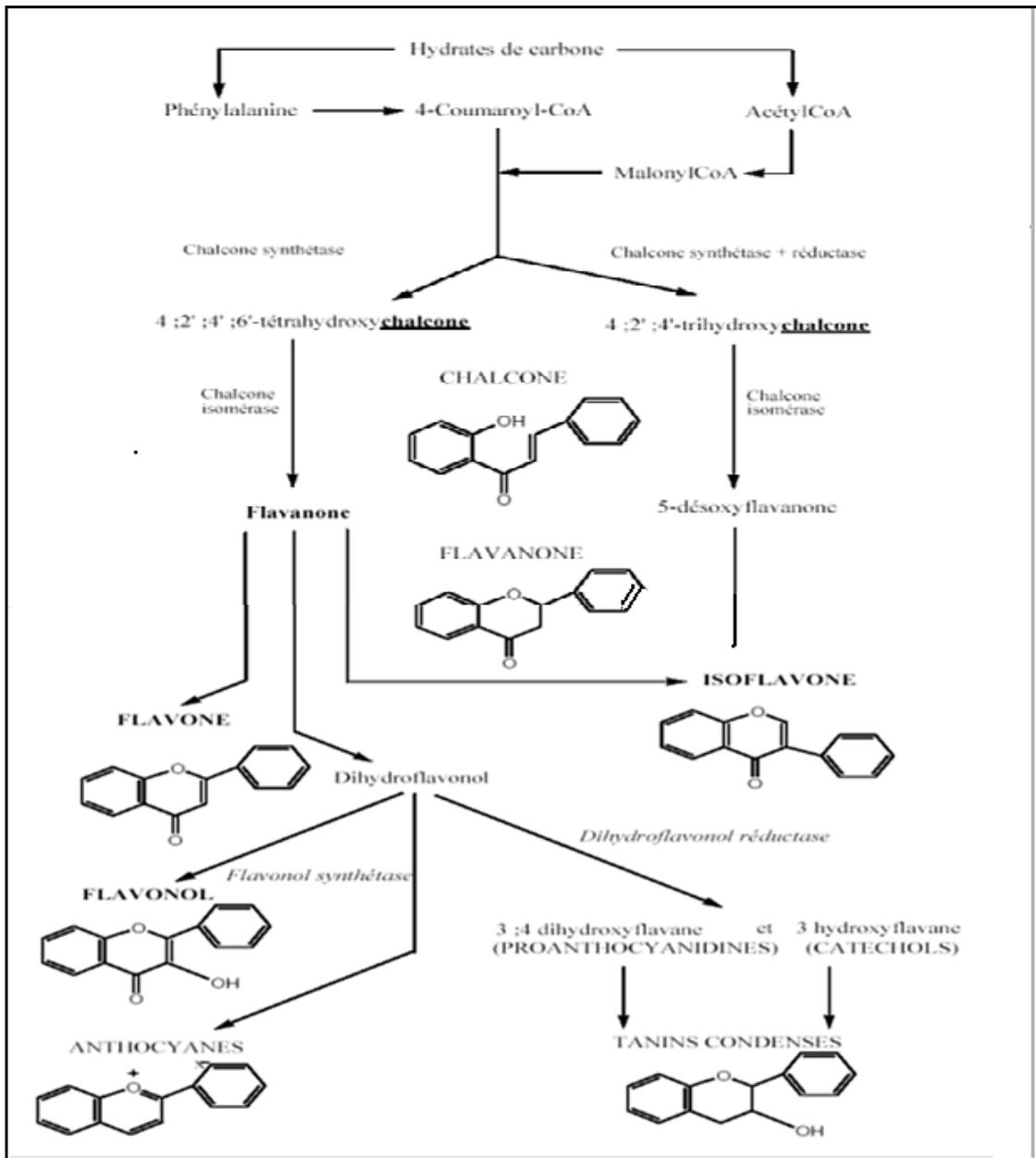


Figure 8 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (ATHAMENA, 2009).

II.2.2.4.-Rôles biologiques

Ces molécules colorées peuvent jouer un rôle prépondérant dans l'attraction des insectes par les plantes, améliorant ainsi la pollinisation. Les flavonoïdes sont impliqués également dans le dialogue chimique entre plantes et micro-organismes. Ces composés jouent souvent un rôle protecteur, dissuasif ou toxique vis-à-vis de micro-organismes pathogènes ou d'insectes ravageurs (BOHN-COURSEAU, 2009).

Les flavanoïdes peuvent aussi assurer une protection à l'égard des radiations ultraviolettes (RAVEN *et al.*, 2007).

II.2.3.-Tanins

Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (Merghem, 2009), qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (BRUNETON, 1999).

Le terme "tanin" provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour « tanner » les peaux d'animaux autrement dit pour transformer une peau en cuir. Ces extraits contiennent des dérivés phénolique qui se lient aux protéines et donc les dénaturent (HOPKINS, 2003).

II.2.3.1.-Distribution et localisation

Les tanins sont répandus dans tout le règne végétal et l'on en trouve des quantités importantes dans les arbres en général, dans les rosacées, les éricacées, les stéruliacées, les légumineuses, aussi bien dans les écorces que dans les racines, les feuilles et les fruits. Elles se localisent dans les vacuoles des cellules végétales, qu'elles sont souvent associées à des protéines, à des alcaloïdes ou à des oses, sous forme de tanoïde, ce qui fait penser qu'il s'agit plutôt de substances de déchet. Les tanins hydrolysables sont abondants dans le bois de nombreux arbres et arbustes qui peuvent en être une source industrielle : tanins de chêne, de châtaignier. Les tanins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre...) (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

Les proanthocyanidines constituent chez les légumineuses la majeure partie des tanins. Elles sont localisées essentiellement dans les téguments de la graine et leur présence est étroitement corrélée à la coloration de téguments (MERGHEM, 2009).

II.2.3.2.-Structure et Classification des tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (BRUNETON, 1999).

II.2.3.2.1.-Tanins hydrolysables

Ce sont des oligo- ou polyesters d'un sucre(ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide-phénol est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (BRUNETON, 1999). Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

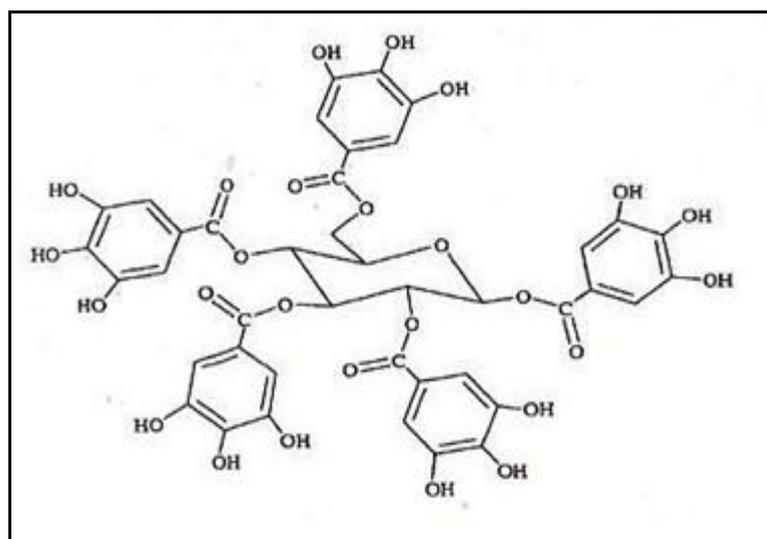


Figure 9: Pentagalloylglucose (l'une des structures de base des tanins hydrolysables)
(CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

II.2.3.2.2.-Tanins condensés

Ils résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavan-3-ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leuco-anthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tanins condensés sont également appelés proanthocyanidines (MERGHEM, 2009).

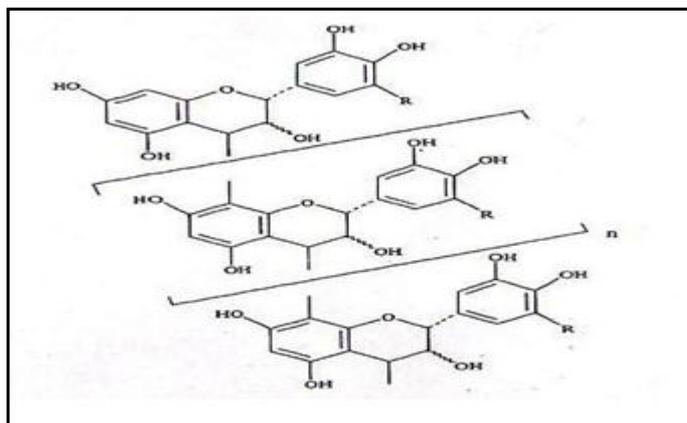


Figure 10 : Exemple de structure d'un tanin condensé (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

II.2.3.3.-Rôles biologiques

Les armes dissuasives les plus importantes à l'égard des herbivores qui se nourrissent d'angiospermes, sont probablement les tanins. Leur goût astringent repousse les insectes, reptiles, oiseaux et autres animaux (RAVEN et *al.*, 2007).

II.2.4.-Lignine

Les lignines sont des molécules complexes qui sont accumulées dans les parois végétales avec des polysaccharides comme la cellulose et les hémicelluloses. Les lignines sont les biopolymères les plus abondants après la cellulose et constituent 25% de la biomasse terrestre (BOHN-COURSEAU, 2009).

II.2.4.1.-Distribution et localisation

La lignine est localisée dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées (HOPKINS, 2003).

II.2.4.2.-Structure chimique

Malgré son abondance, sa structure n'est pas bien comprise (HOPKINS, 2003). Ce sont des polymères formés de trois types de monomères : le p-coumaryle, le coniféryle et les alcools sinapiques (RAVEN et *al.*, 2007).

De plus les trois monomères de base peuvent s'assembler de multiples façons, formant une structure tridimensionnelle très ramifiée. Sa complexité est telle que, comme les flocons de neige, chaque "molécule" de lignine pourrait être unique (HOPKINS, 2003).

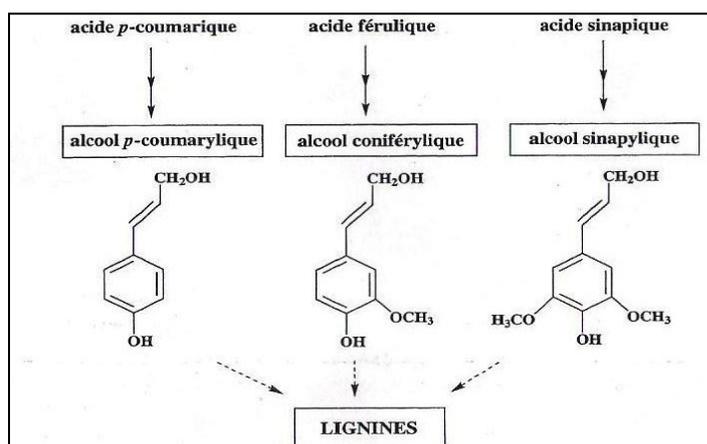


Figure 11: Les monomères constitutifs des lignines (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2006).

II.2.5.-Activités biologiques des composés phénoliques

II.2.5.1.-Activité anti-inflammatoire

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Sous l'action de la cyclooxygénase (CO) et la lipooxygénase (LO), l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines, et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2009).

II.2.5.2.-Activité comme inhibiteurs enzymatiques

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques, ils inhibent plusieurs enzymes intervenant dans divers mécanismes biologiques. Ils inhibent l'histidine décarboxylase, l'élastase, la hyaluronidase ce qui permettrait de conserver l'intégrité de la substance fondamentale de la gaine vasculaire ; ils inhibent aussi d'une manière non spécifique la catéchol-O-méthyl transférase, ce qui augmenterait la quantité de la catécholamine disponible et donc provoquerait une élévation de la résistance vasculaire. En plus, les flavonoïdes inhibent la phosphodiesterase de l'AMPC ce qui pourrait expliquer leur activité anti-agrégant plaquettaire ; aussi, ils inhibent l'aldose réductase qu'est impliquée dans la pathogénie de la cataracte (BRUNETON, 1999).

De façon assez générale, les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques : Le blocage de la 5-lipoxygénase par géraniine, corilagine, inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, de l'activation de la hyaluronidase, des glucosyltransferases des microorganismes impliqués dans la cariogénèse ; inhibition des topoisomérases par la sanguine H6 ou l'acide chébulagique ; inhibition de la protéine kinase C par les tanins éllagiques et les tanins complexes (BRUNETON, 1999).

II.2.5.3.-Activité antioxydante

La majorité des auteurs admis aujourd'hui, en l'absence de preuves absolues, l'hypothèse selon laquelle les radicaux libres ont une part de responsabilité dans la genèse des lésions athéromateuses, dans l'apparition de certains cancers ou dans les dégénérescences nerveuses (BRUNETON, 1999).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe. La présence d'un électron célibataire leur confère une grande réactivité (HALLIWELL et WHITEMAN, 2004).

D'après DA COSTA (2003), les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont :

- l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)
- le radical hydroxyle (OH^{\cdot})
- le radical alcoxyle (RO^{\cdot})
- l'oxyde nitrique (NO^{\cdot})
- le radical hydropéroxyde (HOO^{\cdot})

Les principaux agents oxydants sont les espèces réactives dont l'oxygène ($O_2^{\cdot-}$, O_2 , HO^{\cdot} , H_2O_2 , NO^{\cdot}), des enzymes (lipoxygénases, peroxydases), des ions métalliques (Cu, Fe) et les peroxydes lipidiques qui concourent tous à la formation en chaîne de radicaux libres (CHEYNIER et SARNI-MANCHADO, 2003).

De nombreux flavonoïdes réagissent avec les radicaux, empêchant ainsi les dégradations liées à leur intense réactivité, il semble que la capacité antioxydante d'un flavonoïde dépend de son affinité pour les radicaux et donc de sa structure (BRUNETON, 1999).

Des études faites sur la capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres ont montré que les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

- ◆ La structure ortho dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical favonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- ◆ La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo
- ◆ La présence du groupe 3OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

A titre d'exemple, la quercétine satisfait à tous ces critères et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2009).

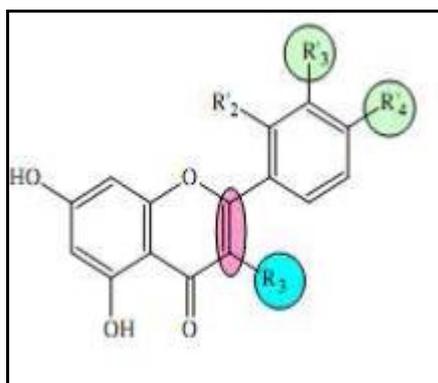


Figure 12: Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2009).

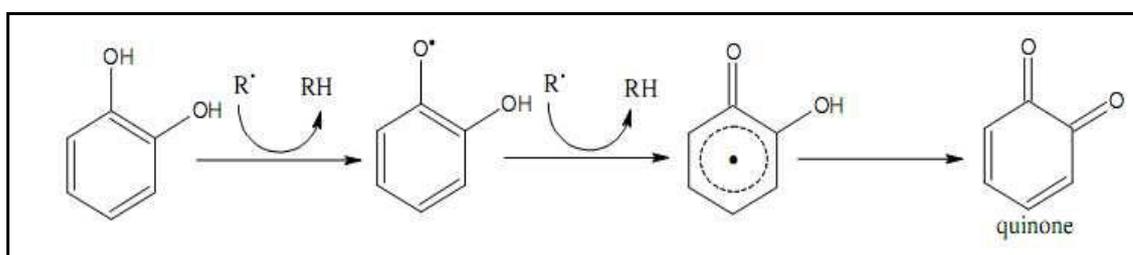


Figure 13 : Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2003)

Les tanins hydrolysables sont des piègeurs de radicaux libres et de l'ion superoxyde. Les tanins hydrolysables procyanidines présentent des propriétés antioxydantes remarquables. Ils inhibent également l'autooxydation de l'acide ascorbique et de linoléate ; et la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Ces tanins sont de très bons capteurs des radicaux libres, ils sont donneurs des protons aux radicaux lipidiques produits lors de la peroxydation d'où la formation des radicaux tanniques plus stables (BOUDJELLAL, 2009).

II.2.5.4.-Activité antimicrobienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (COWAN, 1999).

II.2.5.5.-Activité thérapeutique due à l'astringence

Les applications des drogues à tanins sont assez restreintes et découlent de leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie externe, elles imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; elles ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et empêchent les

agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas des blessures superficielles ou de brûlures. Par voie interne, ils exercent un effet anti diurétique certain.

Quelque soit la voie d'administration, l'effet antiseptique (antibactériens et antifongiques) clairement démontré de ces molécules est intéressant (diarrhées infectieuse, dermatite) (BRUNETON, 1993).

II.2.5.6.-Flavonoïdes et maladies cardiovasculaires

Les flavonoïdes sont des composés veinoactifs, ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (BRUNETON, 1999).

D'ailleurs, ils ont un effet protecteur des maladies cardiovasculaires. Ils induisent la vasodilatation et provoquent la relaxation des muscles lisses cardiovasculaires ce qui engendre une activité anti-hypertensive et des effets antiarrhythmiques. En plus les flavonoïdes protègent LDL de l'oxydation et par conséquent empêchent la formation des plaques athérosclerotiques (DJEMAI ZOUGHLANE, 2009).

II.2.5.7.-Autres activités

Les flavonoïdes peuvent être anti allergiques, hépato protecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiant, diurétiques, anti bactériens, antiviraux in vitro. Un petit nombre d'entre eux sont anticancérogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales in vitro (BRUNETON, 1999).

II.3.-Les terpènes

Avec les polyphénols, les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène d'où le nom isoprénoïde sous lequel ils sont parfois désignés (MERGHEM, 2009).

Les composés polyisopréniques, voisins des lipides (on les nommait naguère lipoides), dont ils partagent une des propriétés essentielles, l'hydrophobicité, ont pour caractéristiques de devoir être considéré d'un point de vue chimique, comme des polymères de l'isoprène. Ce sont les principaux constituants des inclusions huileuses que l'on trouve dans certains tissus sécréteurs. Ces huiles légères et réfringentes, sont souvent volatiles, donnant en se vaporisant les essences, auxquelles beaucoup de plantes doivent leur parfum : Lamiacées (menthe, thym, serpolet), Solanacées (tomate), Rutacées (agrumes), etc. D'où le nom d'huiles essentielles qu'on leur donne (HELLER et *al.*, 1998).

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils : mono et sesquiterpènes (BEKHECHI et ABDELWAHID, 2010).

II.3.1.-Distribution et localisation

Une même plante peut synthétiser beaucoup de terpénoïdes différents à différents endroits de l'organisme, dans des buts différents à des stades différents de son développement (RAVEN et *al.*, 2007).

II.3.2.-Structure chimique et classification

La caractéristique chimique commune aux terpènes réside dans leurs structures, ce sont des multiples d'une unité à cinq atomes de carbone ayant pour base un diène conjugué dont le nom commun est isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) (JOHNSON, 2003).

Les terpénoïdes appelés aussi terpènes existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits. Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène (C₅H₈) (RAVEN et *al.*, 2007). Les terpènes sont classés suivant leur degré de polymérisation (BOHN-COURSEAU, 2009).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue :

- Les monoterpènes en C₁₀ sont dérivés du géranyl diphosphate(GPP). On trouve le géraniol de la citronnelle, le menthol de la menthe, le limonène des agrumes, les α et β pinène du pin, le cinéol de l'essence d'eucalyptus, le camphre du camphrier ; ce sont souvent des alcools ou des aldéhydes.
- Les sesquiterpènes en C₁₅ qui sont des dérivés du farnésyl diphosphate (FPP). Ils sont représentés par le farnésol, l'essence de la camomille, et par l'acide abscissique.
- Les diterpènes en C₂₀ sont représentés en particulier par les gibbérellines, autres phytohormones, le phytol, constituant de la chlorophylle, la vitamine A (résultant du clivage du β -carotène).
- Les triterpènes en C₃₀ sont à l'origine de la β -amyrine et des brassinostéroïde, autres phytohormones.
- Les tétraterpènes en C₄₀ sont représentés par les caroténoïdes.
- Les polyterpènes, chaînes souvent linéaires qui peuvent compter des centaines de carbones (3000 à 6000 unités isoprènes) ; c'est le cas des latex des Euphorbes et de l'hévéa

(*Hevea brasiliensis*) dont on tire un produit très coagulé, élastique, le caoutchou (BOHN-COURSEAU et al., 2009).

La famille des terpènes comprend des hormones (gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (carotène et xanthophylle), des stérols (par exemple : ergostérol, itostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (par exemple : hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum ou leur goût (HOPKINS, 2003).

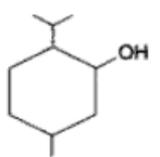
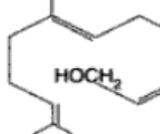
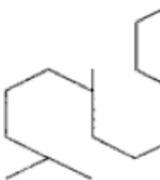
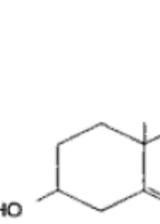
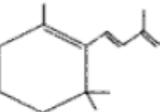
Nombre de Carbones	Classe	Exemple
5	Hémiterpénoïde	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 \end{array}$ Acide tiglique (<i>Geranium</i> sp.)
10	Monoterpénoïde	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ Géraniol (<i>Pelargonium</i>)
10	Monoterpénoïde cyclique	 Menthol (essence de menthe)
15	Sesquiterpénoïde	 Farnésol (très répandu)
20	Diterpénoïde	 Phytol (Chlorophylle)
30	Triterpénoïde	 Squalène (précurseur de stéroïde)
30	Triterpénoïde	 Stigmasterol (<i>Glycine max</i>) (Un stérol)
40	Tétraterpénoïde	 β-carotène

Figure 14 : Liste des principales classes de terpénoïdes (HOPKINS, 2003).

II.3.3.-Biosynthèse

Malgré leur diversité, tous les terpènes ainsi que leurs dérivés, possèdent en commun une voie de biosynthèse appelée, de par l'intervention d'un intermédiaire clé, la voie de l'acide mévalonique (HOPKINS, 2003).

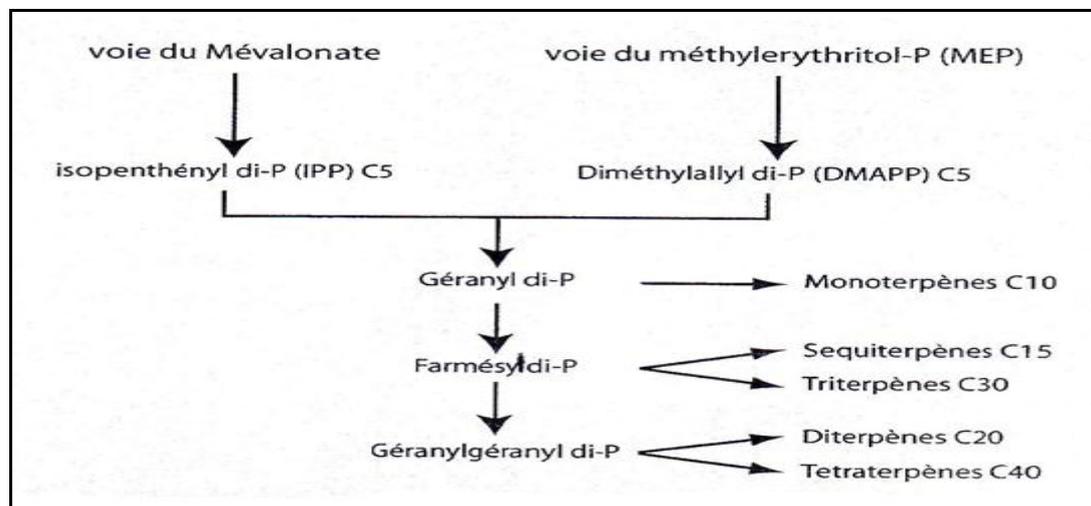


Figure 15 : Voies de synthèse des composés isopréniques (BOHN-COURSEAU *et al.*, 2009).

II.3.4.-Rôles biologiques

Les terpénoïdes jouent de multiples rôles chez les plantes. Certains sont des pigments photosynthétiques (les caroténoïdes) ou des hormones (les gibbérellines, l'acide abscissique), tandis que d'autres sont utilisés en tant que composants de la structure des membranes (les stérols) ou transporteurs d'électrons (l'ubiquinone, la plastoquinone). Les huiles essentielles produites par les feuilles de certaines plantes éloignent les herbivores ; certains les protègent des attaques par les champignons parasites et les bactéries ; on sait que d'autres sont allélopathiques. Les terpénoïdes des parfums floraux attirent les insectes pollinisateurs vers les fleurs (RAVEN *et al.*, 2007).

II.3.5.-Activités biologiques des terpènes

II.3.5.1.-Activité antimicrobienne et antiparasitaire

Terpènes ou terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977 a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinés jusqu'en 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acide bétulinique est de juste un de plusieurs terpénoïdes qui ont montré une action inhibitrice envers HIV. Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (MOHAMED, 2006).

II.3.5.2.-Activité antioxydante

La capacité de l'huile volatile est étroitement liée à tout le contenu phénol (MOHAMEDI, 2006).

II.3.6.-Les saponosides

Le terme de saponoside est dérivé de la saponaria « saponaria » qui était jadis utilisée comme substitut de savon. Les saponosides sont des terpènes glycosylés. Ils peuvent être des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes, alcaloïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques (HOPKINS, 2003).

II.3.6.1.-Localisation et structure

Présents dans tous les organes, ce sont des hétérosides de PM élevé qui libèrent par hydrolyse un ou plusieurs oses et une génine appelée sapogénine (CATIER et ROUX, 2007).

II.3.6.2.-Propriétés pharmacologiques

La combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confèrent aux saponosides des propriétés tensioactives ou de détergents qui, lorsqu'ils sont agités avec de l'eau, produisent une mousse savonneuse. Les saponosides ont également une action veino-trope et même des propriétés analgésiques, anti inflammatoires et anti œdémateuses ce qui justifie leur emploi dans les manifestations de l'insuffisance veineuse, le traitement des signes fonctionnels de la crise hémorroïdaire et dans les troubles de la fragilité des troubles capillaires (CATIER et ROUX, 2007).

II.4.-Les alcaloïdes

A la différence des composés terpéniques et des polyphénols, les alcaloïdes forment une grande famille de molécules chimiquement hétérogènes. Le mot « alcaloïde » est pratiquement synonyme de mot « drogue » ; 10 des 12 drogues qui ont pour origine une plante et qui sont commercialement les plus importantes sont des alcaloïdes (HOPKINS, 2003). Ces composés renferment tous de l'azote (amine secondaire ou tertiaire) provenant d'un acide aminé et présente une réaction alcaline, d'où leur nom (BOHN-COURSEAU et *al.*, 2009).

Certains alcaloïdes renferment des noyaux hétérocycliques déjà rencontrés dans des composés fondamentaux : cycle pyridine dans la nicotine, cycle purine dans la caféine, la théophylline et la théobromine. Les alcaloïdes sont des molécules aux structures chimiques souvent très complexes et aux voies de biosynthèse parfois encore mal connues. Ils possèdent souvent des propriétés

pharmacodynamiques remarquables qui les font utiliser comme médicament ou produit de base de l'industrie pharmaceutique (HELLER et *al.*, 1998).

II.4.1.-Distribution et localisation

Comme pour les autres métabolites secondaires, un alcaloïde donné peut être confiné dans des organes particuliers comme par exemple les racines, les feuilles ou les jeunes fruits (Hopkins, 2003), mais le plus souvent, les organes en voie de croissance ou en formation en renferment le plus (MERGHEM, 2009).

Une plante renferme rarement un seul alcaloïde, en général on a un mélange d'alcaloïdes de constitution plus ou moins apparentée où l'un d'entre eux domine. Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (CATIER et ROUX, 2007). Ils sont souvent stockés dans des territoires cellulaires particuliers (vacuoles, laticifères), à l'écart des réactions du métabolisme général qui pourrait perturber (HELLER et *al.*, 1998).

II.4.2.-Structure chimique et classification

Cependant malgré leur structure extrêmement variée, les alcaloïdes proviennent d'un petit nombre de précurseurs simples. La plupart des alcaloïdes sont synthétisés à partir d'un petit nombre d'acides aminés ordinaires (tyrosine, tryptophane, ornithine ou arginine et lysine) (HOPKINS, 2003).

Les alcaloïdes vrais, sont classés suivant la nature de leur cycle (MERGHEM, 2009). Globalement on a recensé quelque 10.000 alcaloïdes dans à peu près 20% des plantes à fleurs, essentiellement des dicotylédones herbacées (HOPKINS, 2003).

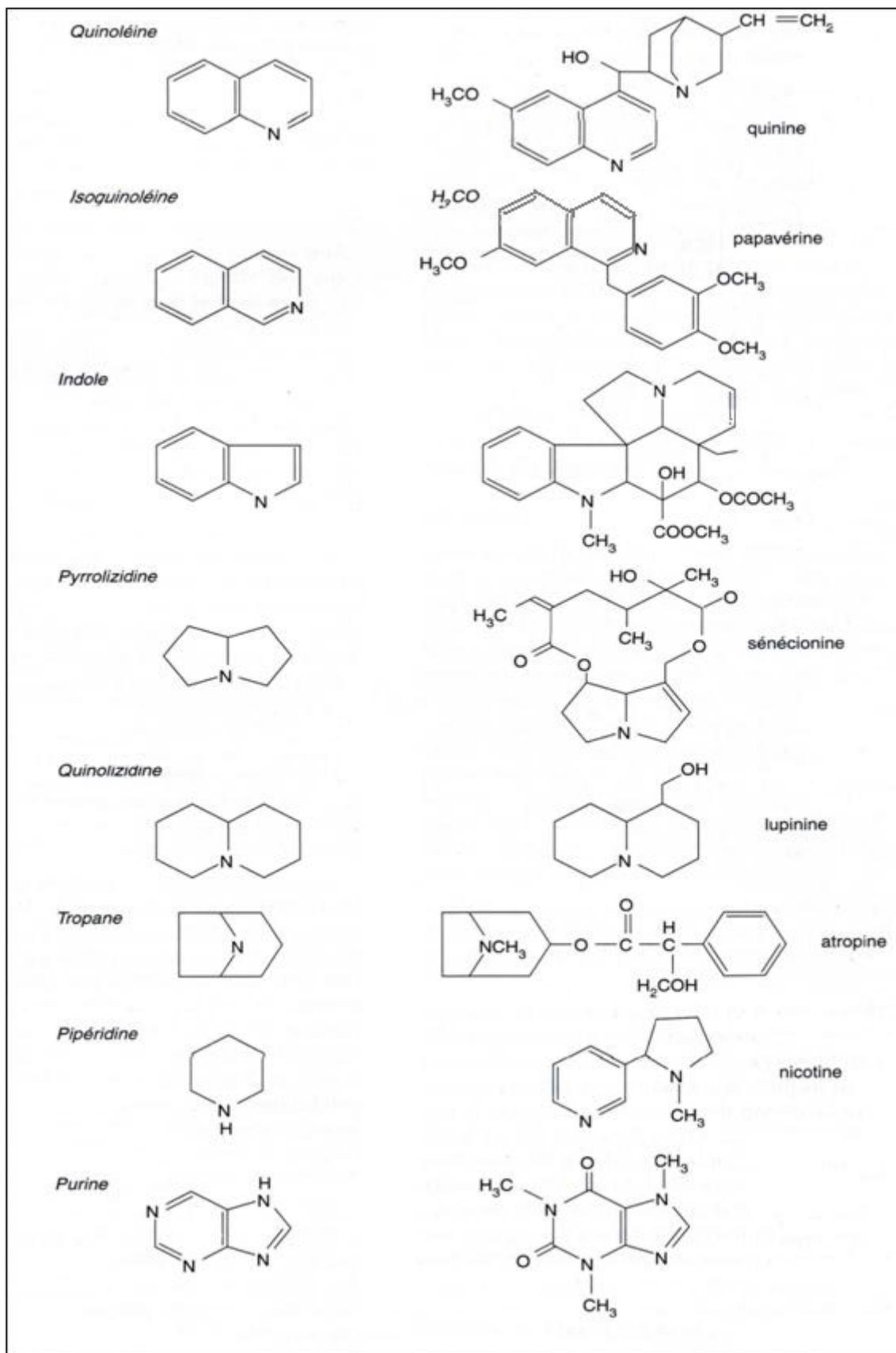


Figure 16: Les principales classes d'alcaloïdes. La structure de base du cycle ainsi que des exemples représentatifs de chaque classe sont figurés (HOPKINS, 2003).

II.4.3.-Rôles biologiques

Le rôle biologique des alcaloïdes réside essentiellement dans leur amertume et leur toxicité, ils pourraient jouer un rôle de protection vis-à-vis des prédateurs et des herbivores (MERGHEM, 2009).

Chez les végétaux, les alcaloïdes sont vraisemblablement des produits d'excrétion du métabolisme azoté, jouant un rôle analogue à celui de l'urée ou de l'acide urique chez les animaux (HELLER *et al.*, 1998).

II.4.4.-Activités biologiques des alcaloïdes

En médecine, les alcaloïdes sont utilisés comme des anesthésiques locaux, des narcotiques, des analgésiques, comme des stimulants cardiaques, utérins et respiratoires, pour soulever la tension artérielle, ou pour dilater les pupilles, ainsi que pour détendre les muscles squelettiques. L'utilisation des alcaloïdes comme narcotiques et hallucinogènes pose des principaux problèmes sociaux.

Leurs propriétés sont généralement variées et dépendent de leurs composantes chimiques par exemple :

- Action sur le système nerveux central comme anti dépresseur : Codéine, Morphine....
- Action sur le système nerveux autonome : excitant du sympathique : Hordéine, Ephédrine
- Action sur les vaisseaux : hypertenseur : Hydrastine
- Action sur la circulation sanguine : Vincamine : améliore la circulation cérébrale.
- Action antibiotique, antiparasitaire, antihelminthiques à des doses variées : Quinine toxique pour l'hématozoaire du paludisme.
- Action anti tumorale : Vincalécoblastine de la Pervenche (WINK, 2003).

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE III

Matériel et méthodes

III.1.-Présentation de la région d'étude

III.1.1.-Situation géographique

La wilaya de Ghardaïa, se situe à 600 Km au sud d'Alger dans la partie centrale du nord du Sahara algérien aux portes du désert à 32° 30 de latitude Nord et à 3° 45 de longitude.

Le territoire de la wilaya couvre une superficie de 86,560 Km², comptant 8 daïras et 11 communes (BEN SAMOUNE, 2004). Elle est limitée :

- ❖ Au Nord par la Wilaya de Laghouat (200 Km) ;
- ❖ Au Nord Est par la Wilaya de Djelfa (300 Km) ;
- ❖ A l'Est par la Wilaya d'Ouargla (200 Km) ;
- ❖ Au Sud par la Wilaya de Tamanrasset (1.470 Km) ;
- ❖ Au Sud- Ouest par la Wilaya d'Adrar (400 Km) ;
- ❖ A l'Ouest par la Wilaya d'El-Bayad (350 Km).

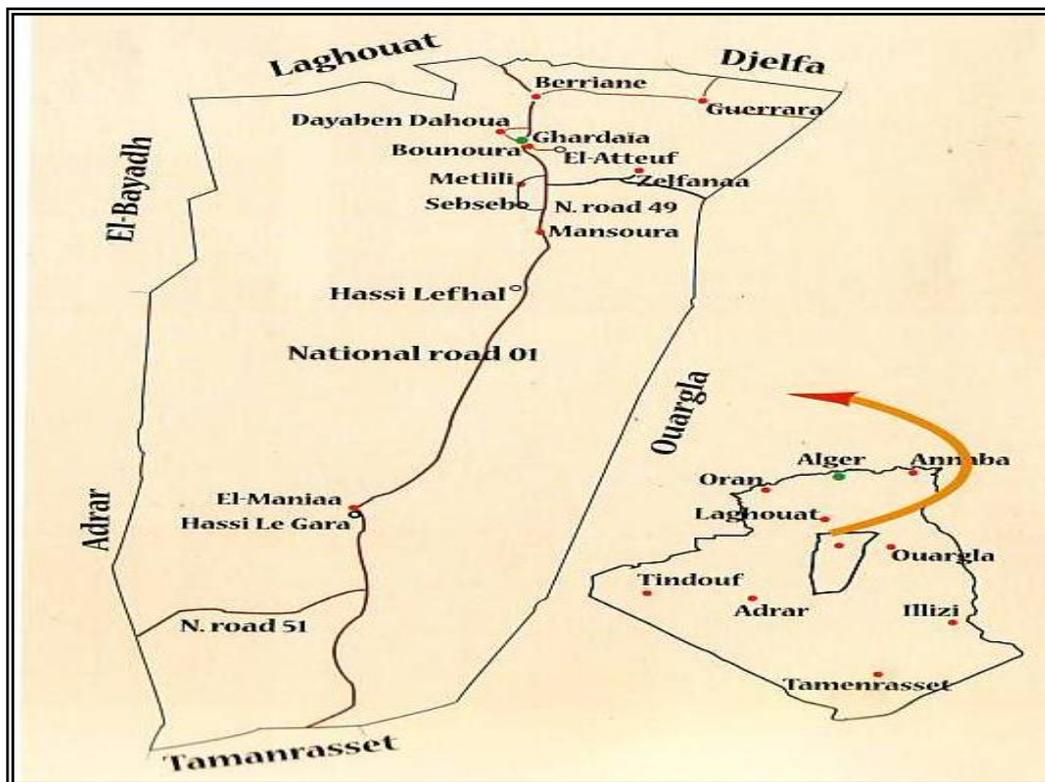


Figure 17 : Situation géographique de Ghardaïa (D.P.A.T ,2002).

III.1.2.-Présentation des zones d'étude

Les feuilles *du Zizyphus lotus* ont été cueillies dans la région de Ghardaïa dans trois zones distinctes : Bounoura, Beni isguen et Ghardaïa.

- Bounoura est une commune de la wilaya de Ghardaïa en Algérie, située à 2 km à l'est du centre-ville de Ghardaïa dont elle constitue la « banlieue » est.
- Beni isguen est situé à 1km au sud est du centre-ville de Ghardaïa et fait partie de la commune de Bounoura.
- Ghardaïa est une commune de la wilaya de Ghardaïa, dont elle est le chef-lieu, le territoire de cette commune est situé au Nord de la wilaya (MARTIN *et al.*, 2004).

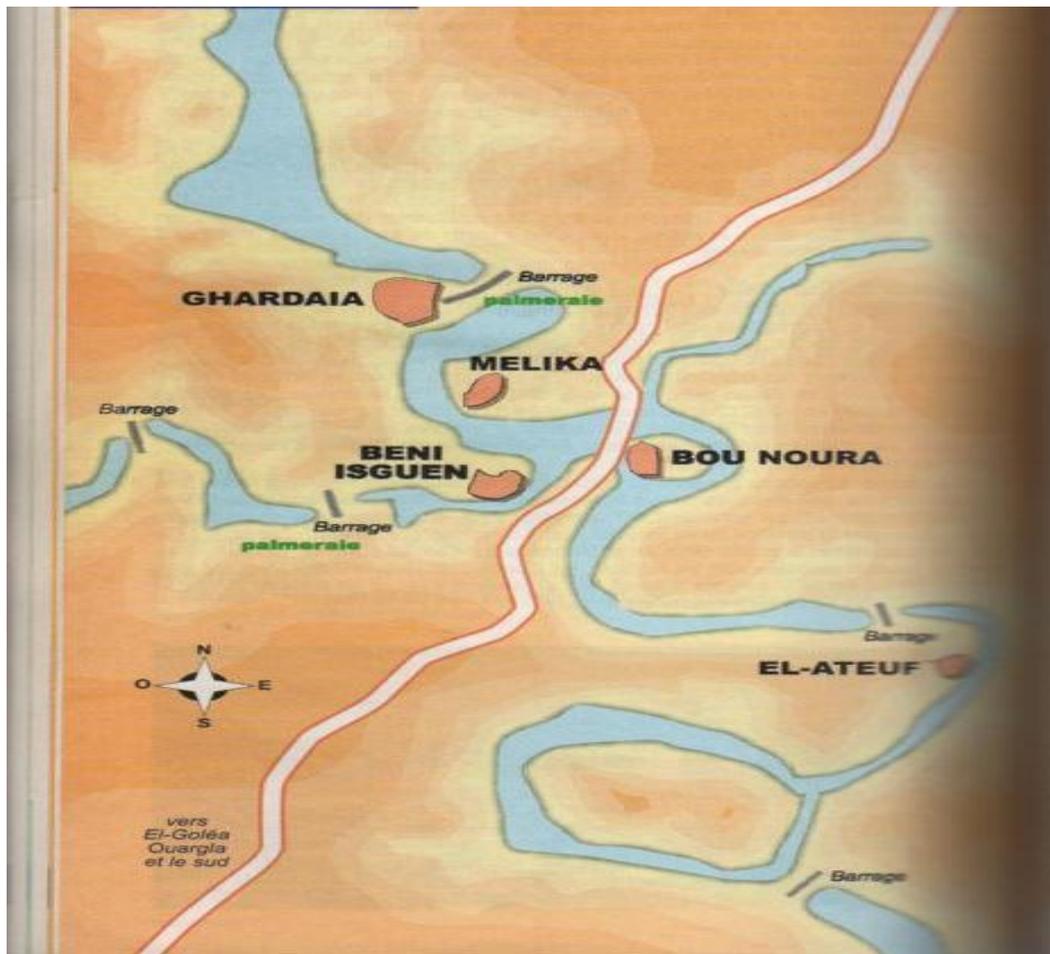


Figure 18 : Situation géographique des trois zones d'étude (MARTIN *et al.*, 2004)

Nous avons choisi Bounoura, Beni isguen et Ghardaïa pour l'abondance de *Zizyphus lotus* au niveau des oueds de ces trois zones.

III.2.-Matériel

III.2.1.-Matériel végétal

III.2.1.1.-Echantillonnage

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Zizyphus lotus* récolté en avril 2012 dans les trois zones et transporté vers le lieu de séchage dans des sacs en papier.

III.2.1.2.-Séchage

Les feuilles sont séchées à l'ombre, à l'abri de la lumière, à température ambiante, dans un endroit aéré pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière.

Après séchage, la partie utilisée a été broyée pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation des extraits.

III.2.2.-Matériel biologique

Nous avons testés trois souches bactériennes et une souche fongique définies ci-dessous :

III.2.2.1.-*Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas irrégulier à la façon d'une grappe de raisin (AVRIL, 2000).

Staphylococcus aureus est un germe aérobie - anaérobie facultatif (AVRIL, 2000), doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de *staphylocoques* (NAUCIEL, 2000).

III.2.2.2.-*Escherichia coli* :

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (NAUCIEL, 2000).

Le groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, dit K.E.S, sont rassemblés des *enterobacteriaceae* qui ont en commun les caractères suivants :

- La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive
- Ce sont des bactéries pathogènes
- Ces espèces sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques (AVRIL, 2000).

III.2.2.3.-*Klebsiella pneumonia*

Les espèces du genre *Klebsiella* sont fréquemment présentes dans le sol et l'eau. Nombre de ces bactéries sont capable de fixer l'azote atmosphérique, ce que certains considèrent comme un avantage sur le plan nutritif pour les populations isolées dont le milieu environnemental comprend peu d'azote protéique. L'espèce *Klebsiella pneumonia* cause parfois une forme grave de pneumonie chez les humains (TORTORA et al., 2003).

III.2.2.4.-*Candida albicans*

Levure non pigmentée, non capsulée, à bourgeonnement multiple et formant un pseudomycélium et du mycélium vrai. Saprophyte endogène de la lumière intestinale humaine et des cavités génitales par contiguïté (femme) (MOULINIER, 2003).

Tableau V : Souches bactériennes testées

Famille	Souches	Gram
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	-
Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella pneumonia</i>	-

Les souches faisant l'objet de notre étude nous ont été fournies par le laboratoire d'analyses médicales Ibn Rochd de Ghardaïa.

Pour notre étude deux milieux de culture ont été utilisés :

- La gélose Mueller Hinton (pour les bactéries)
- La gélose Sabouraud (pour la levure)

III.3.-Méthodes

Notre démarche expérimentale est résumée ci-dessous :

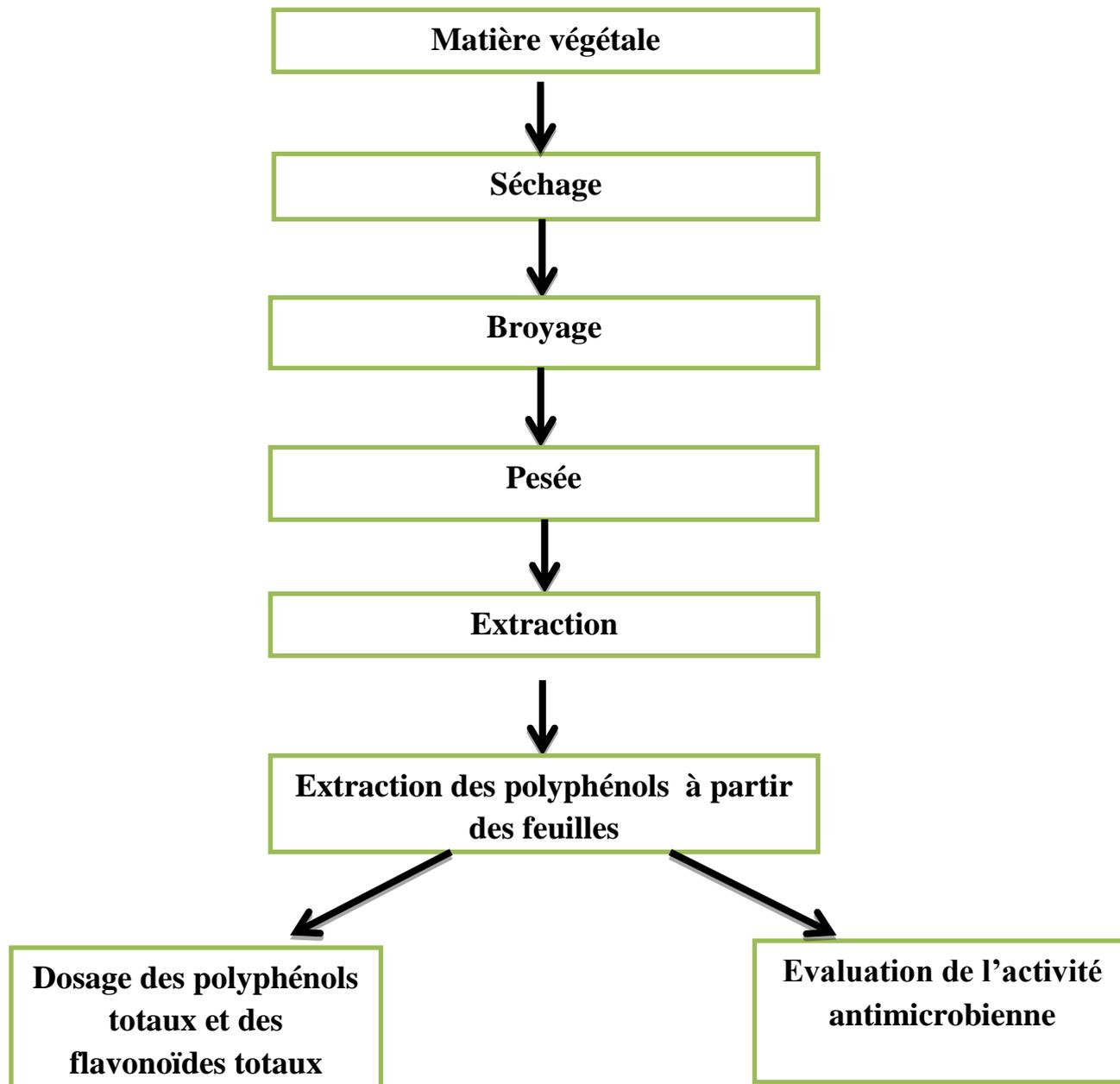


Figure 19 : Etape de la démarche expérimentale

III.3.1.-Extraction des composés phénoliques

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenant dans les parties aériennes de la plante, à savoir les feuilles; en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction, c'est une extraction liquide solide.

III.3.1.1.-Pour le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les composés phénoliques sont extraits des feuilles du *Zizyphus lotus*. Les feuilles sont broyées (1g) est soumise à une extraction dans un mélange hydro-alcoolique éthanol /eau (8/2 ; v/v), à température ambiante. Cette opération est renouvelée deux fois toutes les 24 heures avec renouvellement de solvant. Les deux macéras sont filtrés sur un papier filtre et réunis.

III.3.1.2.-Pour l'activité anti-microbienne

Les feuilles sont broyées (10g) est soumise à une extraction dans un mélange éthanol /eau (80/20 ; v/v), à température ambiante. Cette opération est renouvelée deux fois toutes les 24 heures avec renouvellement de solvant. Les deux macéras sont filtrés sur un papier filtre, réunis dans des béchers et laissés à l'air libre pour l'évaporation de l'éthanol.

III.3.2.-Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction pour chaque extrait est déterminé selon la relation suivante :

$$R = \frac{PS_e \times 100}{PS_{mv}}$$

R : Rendement d'extraction

PS_e : Poids sec d'extrait

PS_{mv} : Poids sec de matériel végétal.

III.3. 3.-Analyse quantitative des polyphénols

III.3.3.1.-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par le réactif de Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme standard (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

III.3.3.1.1.-Principe

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

III.3.3.1.2.-Procédure expérimentale

40 μ l d'extrait brut ou d'acide gallique sont mélangés avec 1,8 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué 1/10 dans de l'eau distillée), après 5 min on ajoute 1,2 ml de Na_2CO_3 (7,5%). La mesure de l'absorbance est effectuée à 765 nm par un spectrophotomètre après une heure de repos à l'obscurité. Une courbe étalon est effectuée en prenant l'acide gallique comme référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de feuilles en poudre (mg Eq AG/g de poids sec du matériel végétal).

III.3.3.2.-Dosage des flavonoïdes

III.3.3.2.1.-Principe : La méthode du trichlorure d'aluminium (BAHORUN et *al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits, en utilisant la rutine comme standard. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes.

III.3.3.2.2.-Procédure expérimentale : A 1ml d'extrait dilué par 4ml d'eau distillée, et ajouté 0,3ml d'une solution de $NaNO_2$ (5%), suivi après 5min par 0,3ml d'une solution de $AlCl_3$ (10%). 2ml de $NaOH$ (1M) sont additionnés au mélange. Le volume est complété à 10ml par l'eau distillée. L'absorbance de développement de la couleur rose est déterminé à 510 nm par spectrophotomètre. La préparation de la courbe d'étalonnage est faite avec la rutine et les résultats sont exprimés en mg équivalent en rutine par gramme de poids sec d'échantillon (mg EQ/g d'extrait).

III.3.4.-Test de l'activité antimicrobienne

D'après la littérature, les composés phénoliques sont doués d'un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne. À partir de là, on a testé nos extraits en présence de différentes souches bactériennes pathogènes et une souche fongique, pour mettre en évidence et évaluer cette propriété.

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par (PAREKH et CHANDA, 2006).

III.3.4.1.-Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

III.3.4.2.-Préparation des disques

Des disques de papier Wathman n°1 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés de méthanol sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

III.3.4.3.-Préparation des milieux de culture

La gélose de Mueller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

III.3.4.4.-Ensemencement

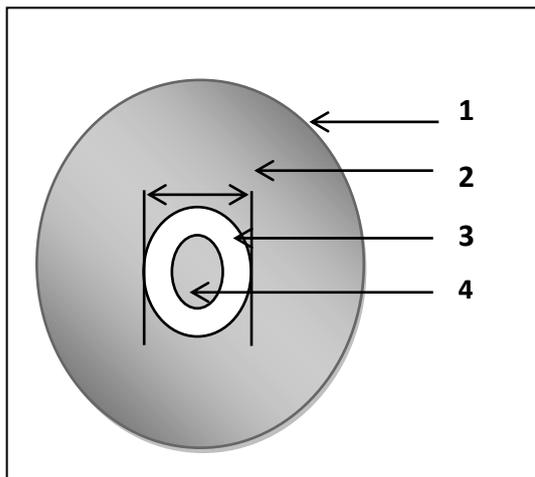
Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râtelier stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries. A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

III.3.4.5.-Incubation

Les durées et les températures d'incubation ont été de 24h à 37° C pour les souches bactériennes et de 48 h à 37° C pour la souche fongique *Candida albicans*.

III.3.4.6.-Lecture

L'activité antimicrobienne est observée par la présence d'une zone d'inhibition en terme de diamètre autour des disques imprégnés d'extrait.



1. Boite de pétrie.
2. Nappe microbienne
3. Zone d'inhibition en mm.
4. Disque imprégné par l'extrait.

Figure 20 : Principe de la lecture d'un antibiogramme.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1.-Rendement de l'extraction

Tableau VI : Rendement de l'extraction dans les différentes zones d'étude

Zones d'étude	Rendement (%)
Zone 1 : Ghardaïa	27,6
Zone 2 : Bounoura	29
Zone 3 : Beni- isguen	27,4

Les résultats obtenus ont montré qu'il y a une différence dans le rendement en fonction de la zone (tableau VI). Nous constatons que l'extrait de la zone de Bounoura présente le rendement le plus élevé en comparaison avec les deux autres zones.

IV.2.-Analyse quantitative des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus*

IV.2.1.-Teneur en polyphénols totaux

Pour effectuer notre dosage, nous avons procédé à l'établissement d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, faite de la même manière que sera fait le dosage des polyphénols totaux.

Nous avons préparé la courbe selon le protocole énoncé dans le chapitre précédent six fois mais en vain.

La 1^{ère} courbe d'étalonnage, malgré que le graphe soit linéaire mais la coloration des étalons est autre que bleu (allant du jaune au vert foncé), due à la délicate utilisation du Folin-Ciocalteu lors de la manipulation qui n'a pas été respecté.

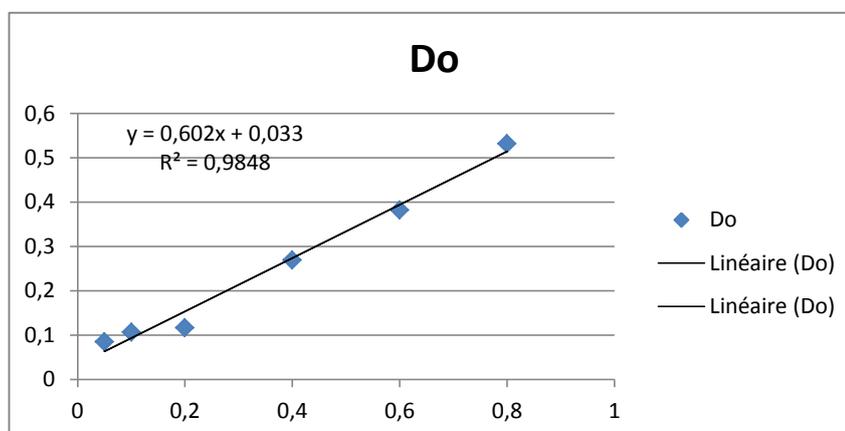


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (1^{er} essai).

Pour la 2^{ème} courbe d'étalonnage, la couleur des étalons est bleue foncée mais les concentrations de ces derniers n'ont pas été lues par le spectrophotomètre parce que à cette coloration l'absorbance est supérieure à 1,5.

A partir de la troisième courbe, la coloration allait du transparent (50 µg/ml) et devenait foncée bleu (800 µg/ml) donc proportionnelle à la concentration, mais le problème était dû aux différentes concentrations des étalons ou bien une faute de manipulation dans le laboratoire, soit les conditions de travail n'ont pas été respectées (température au niveau du laboratoire et l'obscurité totale pour nos tubes étalons), soit les concentrations de l'acide gallique utilisées ne sont pas exactes.

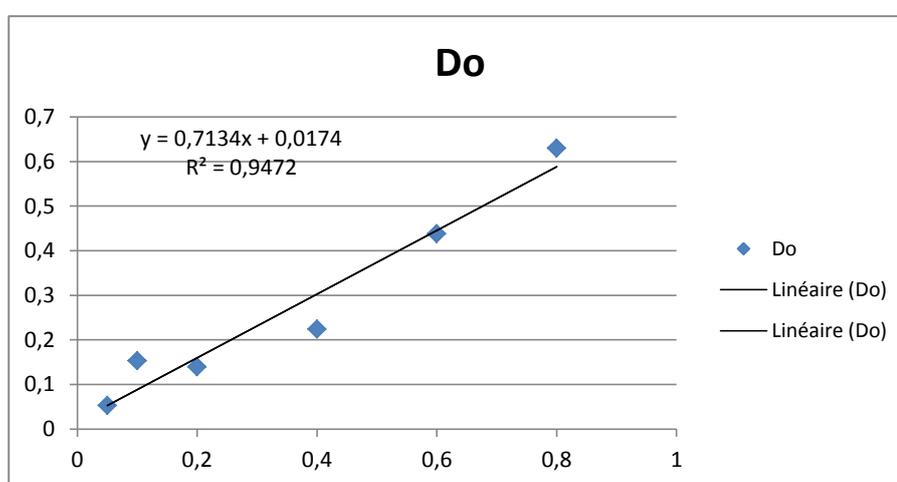


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (3^{ème} essai).

La courbe ci-dessus n'a pas pu être utilisée car la marge d'erreur est très grande.

Puisque la courbe d'étalonnage n'a pas pu être effectuée correctement donc le dosage des polyphénols totaux n'a pas pu être possible à faire.

IV.2.2.-Teneur en flavonoïdes

Nous n'avons pas pu effectuer notre dosage car le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) n'est pas disponible au niveau du laboratoire de notre université.

IV.3.-Activité antimicrobienne de *Zizyphus lotus*

Après la préparation des disques et l'isolement des souches, l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles du *Zizyphus lotus* des différentes zones a été évaluée par la méthode de

diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne.



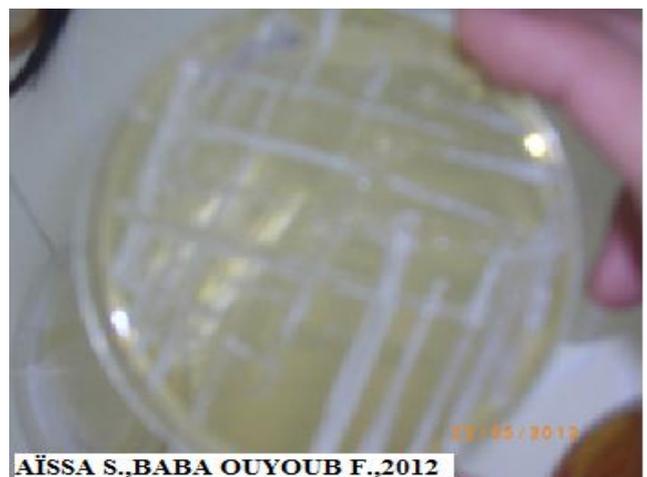
AÏSSA S.,BABA OUYOUB F.,2012

Photo 1 : Disques imprégnés d'extraits foliaires de *Zizyphus lotus* des trois zones



AÏSSA S.,BABA OUYOUB F.,2012

Photo 2 : Isolement de l'espèce *E coli*



AÏSSA S.,BABA OUYOUB F.,2012

Photo 3 : Isolement de l'espèce *C albicans*



AÏSSA S.,BABA OUYOUB F.,2012

Photo 4 : Isolement de l'espèce *K pneumoniae*



AÏSSA S.,BABA OUYOUB F.,2012

Photo 5 : Isolement de l'espèce *S aureus*

Tableau VII : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par les extraits de feuilles du *Zizyphus lotus* des trois zones

Souches testées	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Candida albicans</i>
Zone 1 : Ghardaïa	7,00 ± 0,81	3,75 ± 1,70	3,00 ± 3,16	-
Zone 2 : Bounoura	6,50 ± 4,79	-	-	-
Zone 3 : Beni- isguen	7,70 ± 2,58	-	1,75 ± 1,52	-

Les valeurs sont une moyenne de 4 essais ± SD (les zones sont mesurées en mm)

Les extraits des trois zones se sont révélés actifs envers les souches bactériennes avec un degré différent, lié au contenu des extraits aux substances à activité antimicrobienne.

Les diamètres d'inhibition pour les extraits des trois zones avec la souche *E coli* sont assez considérable avec des diamètres qui varient entre 6,50 et 7,70 mm ce qui la rend la souche la plus sensible, donc l'extrait foliaire de *Zizyphus lotus* inhibe considérablement la croissance de la bactérie *E coli*.

Pour la bactérie *K pneumonia* l'inhibition est faible par rapport à *E coli* dans deux zones Ghardaïa et Beni isguen donc la souche est peu sensible, les diamètres d'inhibition varient de 1,75 à 3 mm, mais pour la troisième zone Bounoura la souche est résistante.

Concernant l'espèce *S aureus* l'inhibition est très faible par rapport aux deux souches précédentes, aucune inhibition dans les zones de Bounoura et Beni isguen n'a été relevée, donc *S aureus* est très résistante dans ces deux zones à l'extrait foliaire de *Zizyphus lotus*. Pour la troisième zone Ghardaïa la souche est peu sensible avec un diamètre d'inhibition de 3,75 mm.

Pour la souche fongique *C albicans*, aucune zone d'inhibition n'a été constatée autour des disques, ce qui montre la résistance de cette souche avec l'extrait foliaire des trois zones.

L'extrait foliaire de la zone de Ghardaïa a montré une importante inhibition envers les trois souches bactériennes ceci est dû au fait que notre plante pousse dans un endroit pollué ce

qui fait que la concentration en métabolites secondaires est très élevée, car ces métabolites ont un rôle de défense (cité dans la partie bibliographique). L'extrait de la zone de Beni-isguen a la plus grande inhibition avec *E coli* et une très faible inhibition avec *K pneumonia*. Enfin l'extrait de la zone de Bounoura a été le moins efficace avec l'inhibition de *E coli* seulement.

Cela est dû à notre cueillette faite en avril, les feuilles de notre espèce était à cette période très petite (moins de 2 cm, qui est la longueur normale des feuilles de *Zizyphus lotus*). Ou bien cela est causé par la longue conservation de nos extraits car il a fallu évaporer tout l'éthanol, aussi l'éthanol n'a peut-être pas totalement extrait tous les composés actifs présent dans les feuilles ce qui a fait que l'inhibition relevée a été faible.

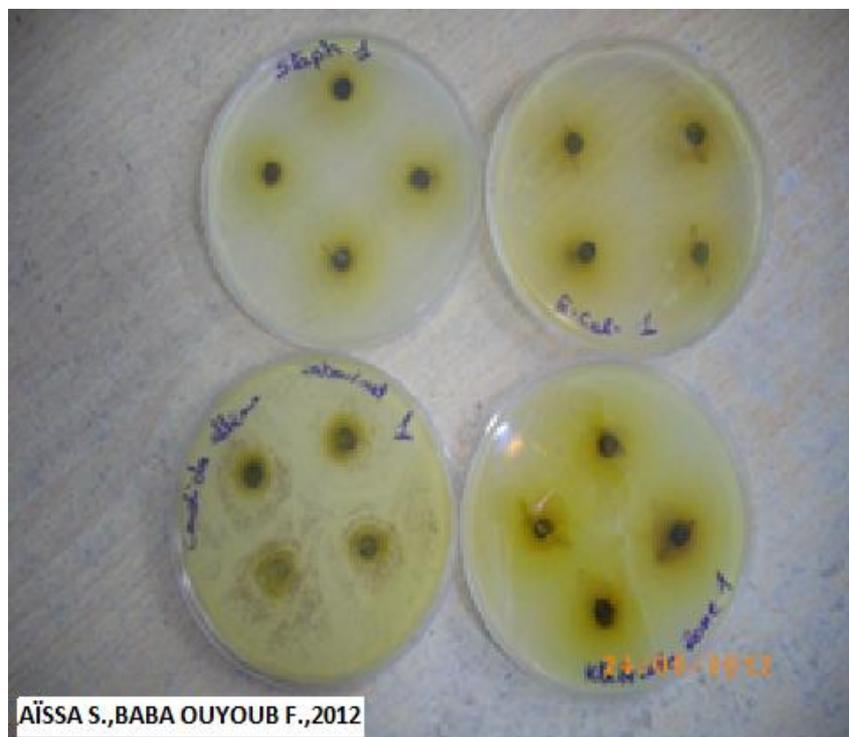


Photo 6 : Zones d'inhibitions de l'extrait foliaire sur *E coli*, *S aureus*, *K pneumonia*, *C albicans* de la zone du Ghardaïa.



Photo 7 : Zones d'inhibitions de l'extrait foliaire sur *E coli*, *S aureus*, *K pneumonia*, *C albicans* de la zone du Bounoura



Photo 8 : Zones d'inhibitions de l'extrait foliaire sur *E coli*, *S aureus*, *K pneumonia*, *C albicans* de la zone du Beni-Isghuen

Conclusion

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de métabolites secondaires auxquels on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antimicrobiens des extraits foliaires de *Zizyphus lotus*, plante largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne, dans trois zones distinctes de la région de Ghardaïa.

Dans un premier temps, l'analyse quantitative des extraits de *Zizyphus lotus* est représentée par le dosage spectral de deux substances bioactives : les polyphénols et les flavonoïdes. Vu les contraintes auxquelles nous avons été confrontées lors de notre travail au niveau du laboratoire et citées dans le chapitre résultats et discussion le dosage n'a pas pu être fait correctement.

L'étude des propriétés microbiologiques des extraits foliaires du *Zizyphus lotus* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants. Les extraits ont été testés *in vitro*, par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide, pour leur pouvoir inhibiteur contre un ensemble de bactéries pathogènes et contre une levure. Les extraits ont révélé des activités antimicrobiennes variables contre les différentes souches microbiennes testées. D'ailleurs toutes les souches bactériennes testées sont inhibées au moins par l'un des extraits dont l'extrait de la zone de Beni isguen qui a plus d'activité (une zone d'inhibition de 7,70 mm) avec *E coli*, par contre l'extrait foliaire de la zone de Ghardaïa est actif envers les trois espèces bactériennes. La souche fongique est résistante dans les trois zones.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et source naturelle biologiquement active dans notre espèce *Zizyphus lotus*.

Références

Bibliographiques

1. **ABERKANE M.C., 2006** - Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Batna, 163p.
2. **ATHAMENA S., 2009** - Etude quantitative des flavonoïdes de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique-Thèse de magister. Université EL Hadj Lakhdar. Batna. 24p
3. **AVRIL J-L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H., 2000** -Bactériologie clinique. 3^{ème} édition Ellipses (Ed) Paris, 602 p.
4. **BAHORUN T., GRINIER B., TROTIN F., BRUNET G., PIN T., LUNCKY M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN C et PINKAS M.,1996** - Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations *.Arzneimittel-Forschung*, **46**(11):1086-1089.
5. **BEKHECHI C. et ABDELOUAHID D., 2010** - Les huiles essentielles. Office des publications universitaires. Alger, 18p
6. **BENAMMAR C-E., 2011-** Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale nord-africaine, *Zizyphus Lotus* L. (Sedra) Etude des différents extraits. Thèse de doctorat. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen.
7. **BOHN-COURSEAU I., JULLIEN M., PARAY F., PERROT-RECHENMANN C., REISDORF-CREN M., RICHARD L. et SAVOURE A., 2009** - Biologie végétale Croissance et développement. Dunod (Ed).Paris, 134p
8. **BOIZOT N et CHARPENTIER 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, p79-82.
9. **BORGI W. et CHOUCANE N., 2006** - Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.).Revue des Régions Arides .p283-286.
10. **BORGI W., GHEDIRA K., CHOUCANE N., 2007(a)** - Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks . *Fitoterapia*.**78**:16-19.
11. **BORGI W., BOURAOUI A., CHOUCANE N., 2007(b)** -Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, **12**:228-231.
12. **BORGI W., RECIO M-C., RIOS J-L., CHOUCANE N., 2008** - Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, **14**:320-324.
13. **BOUDRAA S., 2008** - Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de : *Celtis australis.*, *Crataegus azarolus.*, *Crataegus monogyna Jacq.* , *Elaeagnus angustifolia L* et *Zizyphus lotus*. thèse de Magister .Université de Batna, 156p
14. **BOUHADJRA K., 2011** - Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse de magister. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

- 15. BURNIE G., FORRESTER S. et GREIG D., 2006** - BOTANICA Encyclopédie de botanique et d'horticulture. Place des victoires (Ed). Paris, 944p
- 16. BRUNETON J., 1999** - Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3^{ème} Ed Tec & Doc. Paris, 1136p
- 17. BRUNETON J., 1993** - Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3^{ème} Ed Tec & Doc. Paris, 915p
- 18. CATIER O. et ROUX D., 2007**- Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3^{ème} Ed Wolters Kluwer. Paris, 141p
- 19. CATOIRE C., ZWANG H. et BOUET C., 1994** - Les jujubiers et le genre *Zizyphus*. Fruits oubliés article n°19.
- 20. CHEHMA A., 2006**- Catalogue des plantes spontanées du Sahara Septentrional Algérien. Labo Eco Sys Université d'Ouargla. 123p
- 21. CONSTANTIN P., 1895**- La terre. Le monde des plantes. Tome I. J.B Baillière (Ed). Paris. 368p
- 22. DACOSTA Y., 2003** - Les phytonutriments bioactifs. (Ed)Paris.317p
- 23. DJEMAI ZOUGHLANE S., 2009**-Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Thèse de magister. Université El Hadj Lakhder. Batna.
- 24. D.P.A.T., 2002** - Monographie de la wilaya de Ghardaïa. Ed. Direction de Planification et de l'Aménagement du Territoire, (D.P.A.T.), Ghardaïa, 211p
- 25. GERVAISE Y., 2004** - Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. Polyphénols. Paris. 33 p.
- 26. HALLIWELL B., WHITEMAN M., 2004** - Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture. *British Journal of pharmacology* .142:31-2.
- 27. HELLER R., ESNAULT R. et LANCE C., 1998** -Physiologie végétale. 6^{ème} Ed Dunod. Paris, 366p
- 28. HOPKINS W., 2003** - Physiologie végétale. 2^{ème} Ed De boeck. Bruxelles, 495p
- 29. JEHAN L-F., 1851** - Dictionnaire de Botanique. J.P Migne(Editeur).Paris, 1516p
- 30. LAHLOU M., EL MAHI M., HAMAMOUCHE J., 2002** - Evaluation des activités antifongiques et molluscide de *Zizyphus lotus*.L Desf.du Maroc. Journal des annales pharmaceutiques française ,**60** :410-414.
- 31. LE CROUEOUR G., THEPENIER P., RICHARD B., PETERMANN C., GHEDIRA K., ZECHES-HANROT M., 2002** - Lotusine G :a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*.*Fitoterapia*,**73**:63-68.

- 32. MACHEIX J-J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C., 2005** - Les composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.185p
- 33. MACIUK A., LAVAUD C., THEPENTIER P., JACQUIER M-J., GHEDIRA K., ZECHES-HANROT M., 2004** -Four New Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, **67** :1639-1643.
- 34. MERGHEM R., 2009** - Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine (Ed). Constantine, 172p
- 35. MOHAMEDI Z., 2006** - Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister .Tlemcen.
- 36. MOULINIER C., 2003** - Parasitologie et mycologie médicales Eléments de morphologie et de biologie. Ed. Médicale Internationale. Val de Marne, 796p.
- 37. NAUCIEL C., 2000** - Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris, 276p
- 38. OZENDA P., 1977-** Flore du Sahara. 2^{ème} Ed CNRS. 336p
- 39. PAREKH J., CHANDA S., 2006** - In-vitro Antimicrobial Activities of Extracts of *Launaea procumbens* Roxb. (Labiatae), *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) and *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae). African Journal of Biomedical Research, Vol. 9; 89 -93
- 40. PARIS R. et DILLEMAN G., 1960-** Les plantes médicinales des régions arides .Unesco (Ed).Paris.99p
- . MARTIN M., PONS A. et TORCHE M., 2004** - LE PETIT FUTE DE L'ALGERIE. Nouvelles éditions de l'université (Ed). Paris, 268
- 41. QUEZEL P., SANTA S., 1963-** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. TomeII. CNRS (Ed).620p
- 42. RSAISSI N. et BOUHACHE M., 2002-** La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed).n° 94.Rabat ,4p.
- 43. Lavaud C., Zéches-Hanrot M., Le Men Olivier L., 1997** - Dammarane saponins **EICHBORN. 2007-**Biologie végétale. 2^{ème} Ed De boeck.
- 44. RENAULT J-H., GHEDIRA K. , Therpenier** from *Zizyphus lotus* .*Phytochemistry*, **44**:1321-1327p.
- 45. SAHKI A. et SAHKI R., 2004** -Le Hoggar Promenade botanique. Esope(Ed).128p
- 46. SARNI-MANCHADO P. et CHEYNIER V., 2006** - Les polyphénols en agroalimentaire. Tec&Doc (Ed). Paris, 398p

47. SAADOUDI M., 2008- Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis L.*, *Crataegus azarolus L.*, *Crataegus monogyna Jacq.*, *Elaeagnus angustifolia L.* et *Zizyphus lotus L.* Thèse de magister. Université EL Hadj Lakhdar. Batna. 42p

48. TORTORA G-J., FUNKE B-R. et CASE C-L. 2003 - Introduction à la microbiologie. Ed du renouveau pédagogique ERPI. Saint Laurent, 339p

49. WALALI L. et SKIREDJ A., 2003 - Transfert de technologie en agriculture. DERD (Ed). Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Rabat. N°108.4p

50. WINK M., 2003 - Alkaloids/Properties and Determination. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*: 126-134p.

51. YANO Y., SATOMI M. et OIKAWA H., 2006 - Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International J Food Microbiology*. **111**: 6-11.

Web graphie

1. www.Sahara-nature.com

Annexes

Annexe 1 : Matériels de laboratoire

Appareil

- Spectrophotomètre (JENWAY 6315)
- Balance électronique
- Plaque chauffante
- Etuve
- Autoclave

Verreries

- Bécher 200 ml
- Fiole jaugée 100 ml
- Eprouvette 10 ml et 25 ml
- Verre de montre
- Tube à vis
- Entonnoir
- Pipettes graduées

Produits utilisés

- Folin ciocalteau
- Na_2CO_3
- Acide gallique
- AlCl_3
- .Rutine
- Eau physiologique
- Eau distillée

I.2.3.4. Autres matériels

- Anses de platine
- Boîtes de Pétrie
- Disques de papier filtre
- Papier aluminium

- Pince de bois
- Pissettes
- Portoir
- Spatules

Annexe 2 : Etalons des deux essais de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

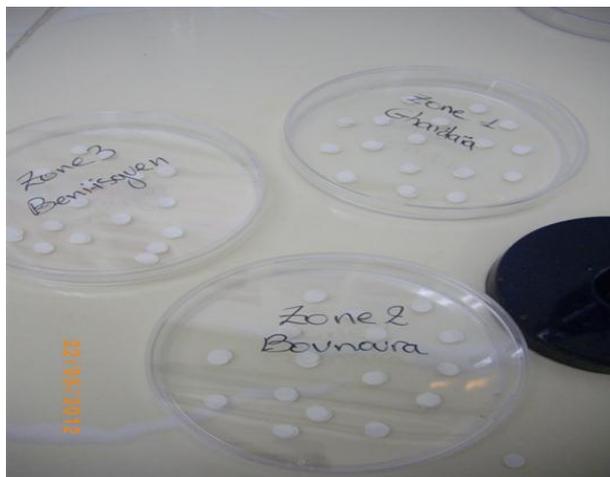


Essai de la 3^{ème} courbe d'étalonnage



Essai de la 4^{ème} courbe d'étalonnage

Annexe 3 : Préparation des disques pour l'activité antimicrobienne



Annexe 4 : Composition des milieux de culture utilisés

Composition de la gélose Mueller Hinton :

- Infusion de viande de bœuf:300,0 ml
- Peptone de caséine:17,5 g
- Amidon de maïs:1,5 g
- Agar: 17,0 g
- pH = 7,4

Composition de la gélose Sabouraud :

- Peptone..... 10 g
- Glucose massé..... 20 g
- Agar 15g
- pH = 6,0

RESUME

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits préparés à partir des feuilles de *Zizyphus lotus*. L'analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques et des flavonoïdes n'a pas pu être réalisée à cause des contraintes citées dans la partie expérimentale. L'effet antimicrobien des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus* est réalisé par la méthode de diffusion sur gélose. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits foliaires des trois zones a révélé une activité considérable avec les souches bactériennes, en particulier l'extrait de la zone de Beni-isguen qui est responsable d'une grande zone d'inhibition de la souche bactérienne *E. coli* (>7,70mm), ainsi que l'extrait de la zone de Ghardaïa qui est actif sur les trois souches bactériennes testées (*E. coli*, *K pneumonia*, *S aureus*) à des zones d'inhibition différentes. La levure *C albicans* est résistante avec l'extrait foliaire des trois zones.

Mots clés : *Zizyphus lotus*, métabolites secondaires, activité antimicrobienne.

ABSTRACT

The natural extracts of plants contain a variety of bioactive molecules. In this context, we tried to evaluate the antimicrobial activity of extracts prepared from the leaves of *Zizyphus lotus*. The quantitative analysis based on the measurement of phenolic compounds and flavonoids has not been realised because of the constraints mentioned in the experimental part.

The antimicrobial effect of leaves extracts of *Zizyphus lotus* is made by the agar diffusion method. The evaluation of the antimicrobial activity of leaves extracts of three areas revealed considerable activity with bacterial strains, especially the extract of the Beni Isguen area which is responsible for a large inhibition zone of the bacterial strain *E. coli* (> 7.70 mm), and the extract from the Ghardaïa area which is active on the three bacterial strains tested (*E. coli*, *K pneumonia*, *S aureus*) in different diameters of inhibition. The yeast *C. albicans* is resistant with the leaves extracts of the three areas.

Keywords: *Zizyphus lotus*, secondary metabolites, antimicrobial activity