

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

## Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

# Screening phytochimique et propriétés thérapeutiques (antioxydant ; antimicrobienne) des extraits de ziziphus spina christi.de la région de Saïda

Présenté par :

- Melle : KADDOURI Fatna
- Melle : MERABET Chifaa

Soutenu le :22/06/2025

Devant le jury composé de :

Président  
Examineur  
Rapporteur

Mme. CHALANE Fatiha  
Mme. BELGACEM habiba  
Mme. Dr GHOUTI Dalila

Université de SAIDA  
Université de SAIDA  
Université de SAIDA

Année universitaire 2024/2025

## Dédicaces

Avant tout, je rends grâce à Dieu, infiniment et humblement, pour la force, la patience et la persévérance qu'Il m'a accordées tout au long de ce travail.

À ma précieuse famille, qui fut pour moi un refuge et un appui inébranlable dans toutes les circonstances.

À mon cher père **Moussa**, mon modèle et source de courage, pour son amour constant, son soutien silencieux et sa patience sans fin.

À ma tendre mère *Hafida*, source d'affection et de prières sincères, dont la chaleur et la bienveillance ont toujours été un baume pour mon cœur.

À mon frère *Bouziane*, dont la discrète présence a toujours été pour moi une force rassurante. À mes frères et sœurs : *Hanaa, Safaa, Maroua et Mohamed*, compagnons de cœur et d'âme, qui ont su, par leurs sourires, leur affection et leur présence lumineuse, alléger mon chemin et apaiser mes jours les plus lourds.

J'adresse également ma gratitude sincère à ma camarade et collaboratrice *Chifaa*, pour son honnêteté, son esprit positif et son implication généreuse dans chaque étape de ce travail.

Je remercie aussi du fond du cœur mes chères amies *Amiraa, fifi, Hanane, radjaa, Fatima, belkise, aya, hadjer, hafsaa, feriel, honaida, aya*, pour leur encouragement constant, leur écoute bienveillante et leur présence si précieuse tout au long de ce parcours.

À toutes celles et ceux qui m'ont soutenue, par un mot, une prière, un regard ou un simple silence...

Je vous dédie humblement ce travail, comme un témoignage de mon amour, de ma reconnaissance et de ma fidélité.

Avec toute ma gratitude et mon affection.

*Fatna Kaddouri*



## Dédicaces

*Ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour  
ma*

*réussite, que dieu la garde*

*Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que dieu le  
garde*

*et le protège*

*Mes frères Ayoub, Oussama et Abdelmalek*

*La fleur de la maison, ma seule sœur Rouda Merabet*

*Mes très chères amies Amira, fifi, Hanane, radjaa, Fatima, belkise,  
aya,*

*hadjer, hafsaa, feriel, honaida.*

*Merabet chifaa*



## Remerciements

En rendant cette dissertation publique, je ressens le devoir et le besoin d'exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail qui en quelque sorte m'a aidé à surmonter les difficultés que je ressentais pendant cette période de ma formation et de ma vie. Il est sensible que je reconnais:

Madame **GHOUTI Dalila**, MCA au département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Saida. J'adresse le plus spécial des remerciements. Pour leur orientation de cette thèse, son motivation et les conseils fournis au cours de ce travail. Pour la grande autonomie qu'il nous a accordée et Pour sa disponibilité. Mes plus sincères remerciements. Merci beaucoup.

Mes remerciements vont également à Madame **CHALANE Fatiha**, MCA au département d'agronomie, faculté SNV-STU à l'université de Saida, de me faire l'honneur de présider ce jury. Mes plus sincères remerciements. Merci beaucoup.

Je suis également très redevable à Madame **Belgacem Habiba**, MCB au département de Biologie, faculté SNV-STU à l'université de Saida, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail. Je suis très heureuse de bénéficier de vos observations et je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements. Merci beaucoup.

Je ne pouvais finir sans remercier très fortement ma mère pour leur soutien et encouragement, pour l'inquiétude quant à l'avancée de mes travaux. Merci à mes frères, ma sœur, mes enfants. Merci beaucoup. En rendant cette dissertation publique, je ressens le devoir et le besoin d'exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail qui en quelque sorte m'a aidé à surmonter les difficultés que je ressentais pendant cette période de ma formation et de ma vie. Il est sensible que je reconnais:

Madame **GHOUTI Dalila**, MCA au département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Saida. J'adresse le plus spécial des remerciements. Pour leur orientation de cette thèse, son motivation et les conseils fournis au cours de ce travail. Pour la grande autonomie qu'il nous a accordée et Pour sa disponibilité. Mes plus sincères remerciements. Merci beaucoup.

Mes remerciements vont également à Madame **CHALANE Fatiha**, MCA au département d'agronomie, faculté SNV-STU à l'université de Saida, de me faire l'honneur de présider ce jury. Mes plus sincères remerciements. Merci beaucoup.

Je suis également très redevable à Madame Belgacem Habiba, MCB au département de Biologie, faculté SNV-STU à l'université de Saida, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail. Je suis très heureuse de bénéficier de vos observations et je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements. Merci beaucoup.

Je ne pouvais finir sans remercier très fortement ma mère pour leur soutien et encouragement, pour l'inquiétude quant à l'avancée de mes travaux. Merci à mes frères, ma sœur, mes enfants. Merci beaucoup

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**µl** : Microlitre

**AC** : Acide

**BN** : bouillon nutritive

**Cm** : Centimètre

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DPPH** : Diphényl pycrylhydrazyl

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

**FRAP** : ferrique réduisant le pouvoir antioxydant

**G** : Gramme

**GN** Gélose nutritive

**H** : Heurs

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**HCl** : Acide chlorhydrique

**L** : Litre

**MH** : Mueller Hinton

**Min** : Minutes

**ml** : millilitre

**mm** : Millimètre

**NaCl** : Chlorure de sodium UV : ultra-violet

**NaOH** : Hydroxyde de sodium UFC : Unité formant colonie

**IC<sub>50</sub>** La concentration inhibitrice médiane

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                       |                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Tableau 1 : Principales classes des composés phénoliques .....                                                                        | 36                                 |
| Tableau 2 : Souches microbiennes utilisées lors des tests microbiologiques                                                            | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| Tableau 3 : Résultats des tests phytochimiques des extraits .....                                                                     | 62                                 |
| Tableau 4 : Résultats des tests de screening phytochimique des extraits .....                                                         | 64                                 |
| <b>Tableau 5</b> : la capacité antioxydante totale CAT des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> , seules et en combinaison ..... | 69                                 |
| Tableau 6 : comparatif des valeurs IC <sub>50</sub> des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> et d'autres références .....        | 72                                 |
| Tableau 7: Valeurs de IC <sub>50</sub> des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> .....                                            | 74                                 |
| Tableau 8 : diamètre d'inhibition des souches testées vis-à-vis les différents extraits en mm .....                                   |                                    |
| Tableau 9 ; les résultats de la CMI des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> .....                                               | 85                                 |

## Liste des figures

|                                                                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figure 1 : Photo de Zizyphus Spina-Christi.....                                                                          | 26        |
| Figure 2 : Les feuilles de Zizyphus Spina-Christi .....                                                                  | 27        |
| Figure 3 : Fleur de Zizyphus Spina-Christi .....                                                                         | 27        |
| Figure 4 : Les fruits de Zizyphus spina christi.....                                                                     | 27        |
| Figure 5 : Structure chimique de Ziziphine .....                                                                         | 29        |
| Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes. ....                                                                       | 39        |
| Figure 7 : Structures chimiques de différentes classes de flavonoïdes .....                                              | 39        |
| Figure 8: Structure d'un tanin hydrolysable .....                                                                        | 42        |
| Figure 9 : Structure d'un tanin condensé .....                                                                           | 43        |
| Figure 10: Situation de la région de la récolte .....                                                                    | 45        |
| Figure 11 : Infusion aqueuse du matériel végétal(a) ; Décoction du matériel végétal(b) .....                             | 48        |
| Figure 12 : les dosages de l'activités antioxydant totale.....                                                           | 51        |
| Figure 13 : Réaction d'un donneur d'hydrogène(antioxydant)avec le radical DPPH° .....                                    | 51        |
| Figure 14 : Réduction de radical DPPH (de couleur violette au diphényl picryl-hydrazine (de couleur jaune).....          | 52        |
| Figure 15 : Réduction du fer ferrique en fer ferreux.....                                                                | 53        |
| Figure 16: Schéma représentant l'ensemencement en milieu liquide de la CMI .....                                         | 59        |
| Figure 17 : Détermination de la concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....                                            | 60        |
| Figure 18 : comparaison entre les rendements en extraits sélectif.....                                                   | 68        |
| <b>Figure 19 : Courbes D'étalonnage D'acide Ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante otale .....</b> | <b>70</b> |
| Figure 20 : Courbes linéaires de l'inhibition du radical DPPH par les extraits de Zizyphus spina-christi,.....           | 71        |
| Figure 21 : Courbes linéaires représentant les résultats du test FRAP pour les extraits de Zizyphus spina-christi .....  | 75        |



|                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 22 : Les résultats des souches bactériennes <i>E coli</i> testé contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....                 | 80 |
| Figure 23 : Les résultats des souches bactériennes <i>Klebsiella</i> testé contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....             | 80 |
| Figure 24 : Les resultats des souches bactériennes <i>Staphylococcus aureus</i> teste contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> )..... | 81 |
| Figure 25 : Les résultats des souches bactériennes <i>Bacillus cereus</i> teste contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....        | 81 |
| Figure 26 : Les résultats des souches bactériennes <i>Bacillus subtilis</i> teste contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....      | 82 |
| Figure 27 : Les résultats des souches fongiques <i>candida</i> teste contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....                   | 82 |
| Figure 28 : Les résultats des souches fongiques <i>fusarium</i> teste contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....                  | 82 |
| Figure 29 : Les résultats des souches <i>Phytophthora infestans</i> fongiques teste contre les extr82                                             |    |
| Figure 30 :Les résultats des souches <i>Aspergillus Niger</i> fongiques teste contre les extraits de <i>ziziphus spina christi</i> .....          | 84 |
| Figure 31 : les Résultats de la CMB des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> contre la souche bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 86 |
| Figure 32 : les Résultats de la CMB des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> contre la souche bactérienne <i>Bacillus subtilis</i> . ....    | 87 |
| Figure 33 : les Résultats de la CMB des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> contre la souche bactérienne <i>Klebsiella</i> .....            | 87 |
| Figure 34: les Résultats de la CMB des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> contre la souche bactérienne <i>Escherichia coli</i> .....       | 87 |
| Figure 35 : les Résultats de la CMB des extraits de <i>Ziziphus spina-christi</i> contre la souche bactérienne <i>Bacillus cereus</i> .....       | 88 |

## Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la plante *Ziziphus spina-christi*, connu localement sous le nom de "sidr" toute on évaluant leur potentiel thérapeutique à savoir les activités antioxydants, antimicrobienne et antifongique ainsi que leur corrélation avec les composés phénoliques identifiés dans les extrais des cette plante.

Les différents testes ont été réalisés sur les extraits (infusion aqueuse, extrait aqueux, extrait éthanolique) préparés à partir des feuilles de *Ziziphus spina-christi*. Le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu avec l'extrait aqueux (41,5%), suivi de l'éthanolique (18,5 %) et de l'infusion (13,2 %) traduisant l'influence déterminante du solvant utilisé.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les coumarines avec une présence modérée d'alcaloïdes, tandis que les anthocyanes, l'amidon, les stérols et les triterpènes étaient absents.

L'évaluation des propriétés antioxydants a mis en évidence l'efficacité remarquable de l'extrait éthanolique qui a présenté la meilleure capacité de piégeage des radicaux libres (avec un IC<sub>50</sub> de 0,405 mg/ml) ainsi qu'une absorbance élevée au test CAT (3,244 à 1 mg EAA/g MS) témoignant de sa richesse en composés phénoliques. L'extrait aqueux a montré des résultats similaires, tandis que l'infusion s'est distinguée par son pouvoir réducteur au test FRAP, malgré une activité inférieure au test DPPH.

Concernant l'activité antimicrobienne, l'extrait éthanolique a montré une bonne activité contre *Bacillus cereus* avec une CMI= (6,25 mg/ml) , tandis que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* on montré une sensibilité envers l'infusion aqueuse avec des CMI de Concernant l'activité antimicrobienne, l'extrait éthanolique a montré une bonne activité contre *Bacillus cereus* avec une CMI= (6,25 mg/ml) , tandis que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* on montré une sensibilité envers l'infusion aqueuse avec des CMI de (6,25 mg/mL) et (12,5 mg/ml) respectivement. Nos extraits montrent une activité antifongique modérée contre *Candida albicans* et *Aspergillus niger* avec des CMI de (6,25 mg/ml) et (0,78 mg/ml) dans cette ordre.

Tout les souches testées on montré un effet bactériostatique. La présence contemporaine de bioactivités suggère que *Ziziphus spina-christi* peuve être une source de tels nouveaux conservateurs dans les industries alimentaires et pharmaceutiques.

**Mots-clés :** *Ziziphus spina-christi* ; screening phytochimique ; Métabolites secondaires ; Activité antioxydante ; Activité antimicrobienne

## Abstract

This study is part of the valorization of the plant *Ziziphus spina-christi*, locally known as "sidr", by evaluating its therapeutic potential, including antioxidant, antimicrobial, and antifungal activities, as well as their correlation with the phenolic compounds identified in the plant extracts. The various tests were conducted on three types of extracts (aqueous infusion, aqueous extract, and ethanolic extract) prepared from the leaves of *Ziziphus spina-christi*. The highest extraction yield was obtained with the aqueous extract (41.5%), followed by the ethanolic extract (18.5%) and the infusion (13.2%), highlighting the determining influence of the solvent used.

Phytochemical screening revealed the presence of several secondary metabolites in the plant tissues, such as flavonoids, tannins, saponins, and coumarins, along with a moderate presence of alkaloids. In contrast, anthocyanins, starch, sterols, and triterpenes were absent.

The evaluation of antioxidant activity demonstrated the remarkable efficacy of the ethanolic extract, which showed the highest radical scavenging capacity ( $IC_{50} = 0.405$  mg/ml) and strong absorbance in the CAT assay (3.244 at 1 mg/ml), indicating a high content of phenolic compounds. The aqueous extract showed comparable results, while the infusion stood out in the FRAP assay due to its reducing power, despite a lower DPPH scavenging activity.

In terms of antimicrobial activity, the ethanolic extract exhibited good inhibitory action against *Bacillus cereus* (CMI = 6.25 mg/ml), while *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* showed sensitivity to the aqueous infusion, with MIC values of 6.25 mg/ml and 12.5 mg/ml, respectively. The extracts also showed moderate antifungal activity against *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, with MICs of 6.25 mg/ml and 0.78 mg/ml, respectively.

All tested strains exhibited a bacteriostatic effect. The coexistence of these biological activities suggests that *Ziziphus spina-christi* could be a promising natural source of new preservatives for use in food and pharmaceutical industries.

**Keywords:** *Ziziphus spina-christi*; phytochemical screening; secondary metabolites; antioxidant activity; antimicrobial activity.

## ملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار تبيين نبات *Ziziphus spina-christi*، المعروف محلياً باسم "السدرة"، من خلال تقييم إمكاناته العلاجية، بما في ذلك الأنشطة المضادة للأكسدة، والمضادة للميكروبات، والمضادة للفطريات، وكذلك ارتباط هذه الأنشطة بالمرکبات الفينولية المحددة في مستخلصات هذا النبات. وقد أجريت التجارب المختلفة على ثلاثة أنواع من المستخلصات (النقوع المائي، المستخلص المائي، والمستخلص الإيثانولي) المحضرة من أوراق *Ziziphus spina-christi*. وقد تم تسجيل أعلى مردود استخلاص مع المستخلص المائي (41.5%)، يليه المستخلص الإيثانولي (18.5%)، ثم النقوع (13.2%)، مما يعكس التأثير الحاسم لنوع المذيب المستخدم.

وقد كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود العديد من المركبات الثانوية في أنسجة النبات، مثل الفلافونويدات، الثانينات، الصابونينات، والكومارينات، إلى جانب وجود معتدل للقلويدات، في حين غابت الأنتوسيانينات، والنشاء، والستيرولات، والتربينات.

أما فيما يخص النشاط المضاد للأكسدة، فقد أظهر المستخلص الإيثانولي فعالية ملحوظة، حيث سجل أفضل قدرة على التخلص من الجذور الحرة ( $IC_{50} = 0.405$  ملغ/مل)، بالإضافة إلى امتصاصية عالية في اختبار CAT (3.244 عند 1 ملغ/مل)، مما يشير إلى غناه بالمرکبات الفينولية. وقد أظهر المستخلص المائي نتائج متقاربة، بينما تميز النقوع المائي بقوة اختزاله في اختبار FRAP، رغم فعاليته الضعيفة في اختبار DPPH.

وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات، أظهر المستخلص الإيثانولي فعالية جيدة ضد *Bacillus cereus* (التركيز المثبط الأدنى  $CMI = 6.25$  ملغ/مل)، بينما أبدت كل من *Escherichia coli* و *Klebsiella*

*pneumoniae* حساسية تجاه النقوع المائي، بتركيزات مثبطة دنيا بلغت 6.25 و 12.5 ملغ/مل على التوالي. كما أظهرت المستخلصات فعالية فطرية معتدلة ضد *Candida albicans* و *Aspergillus niger*، حيث بلغت  $CMI$  لكل منهما 6.25 و 0.78 ملغ/مل على التوالي.

جميع السلالات المدروسة أظهرت تأثيراً باكتيرياً مثبطاً للنمو (bactériostatique) وتشير هذه الأنشطة البيولوجية المتزامنة إلى أن *Ziziphus spina-christi* يمكن أن يشكل مصدراً واعداً لمواد حافظة طبيعية جديدة في صناعات الأغذية والأدوية. **الكلمات المفتاحية:** *Ziziphus spina-christi*؛ التحري الكيميائي النباتي، المركبات الثانوية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات.

## Table des matières

### Contents

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| introduction .....                                                            | 15 |
| 1. Définition de la Phytothérapie : .....                                     | 19 |
| 2. Différents types de la Phytothérapie .....                                 | 19 |
| 3. Les avantages de la phytothérapie.....                                     | 21 |
| 4. Les inconvénients et les risques de la phytothérapie.....                  | 21 |
| 5. Les plantes médicinales .....                                              | 21 |
| 6. Efficacité des plantes entières.....                                       | 22 |
| 7. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie .....               | 22 |
| 8. Les éléments actifs des plantes .....                                      | 23 |
| 1. La famille des Rhamnaceae .....                                            | 26 |
| 2. Le genre Zizyphus .....                                                    | 26 |
| 2.1. L'importance du genre dans le domaine de biologie .....                  | 26 |
| 3. Description botanique .....                                                | 26 |
| 4. Systématique de la plante .....                                            | 28 |
| 5. Nomenclature.....                                                          | 29 |
| 6. Répartition géographique .....                                             | 29 |
| 7. Compositions chimiques .....                                               | 30 |
| 8. Propriétés et usages thérapeutique-Propriétés et usages thérapeutique..... | 31 |
| 9. Les activités biologiques de la plante.....                                | 31 |
| 9.1. Activité antioxydant .....                                               | 32 |
| 9.2. Activité antidiabétique .....                                            | 32 |
| 9.3. Activité antibactérienne .....                                           | 33 |
| 9.4. Activité antitumorale.....                                               | 33 |
| 9.5. Activité anticonvulsivant .....                                          | 33 |
| 9.6. Activité antiplasmodiale.....                                            | 33 |
| 9.7. Activité antidiarrhéiques .....                                          | 34 |
| 1. Les polyphénols .....                                                      | 36 |
| 1.2. Distribution .....                                                       | 36 |
| 1.3. Classification.....                                                      | 37 |
| 1.4. Rôle, intérêt et propriétés .....                                        | 38 |

|                                      |                                                                      |    |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----|
| 2.                                   | Les flavonoïdes .....                                                | 39 |
| 2.2.                                 | Classification.....                                                  | 40 |
| 2.3.                                 | Activités et propriétés biologiques.....                             | 41 |
| 2.3.2.                               | Activité anti-inflammatoire et effet sur le système immunitaire..... | 41 |
| 2.3.3.                               | Propriété antivirale et antibactérienne.....                         | 41 |
| 2.3.4.                               | Propriété anti-cancérogène.....                                      | 42 |
| 2.3.5.                               | Autres activités.....                                                | 42 |
| 3.                                   | Les tanins .....                                                     | 43 |
| 3.2.                                 | Classification.....                                                  | 43 |
| 3.3.                                 | Propriétés biologiques.....                                          | 44 |
| Partie II Matériel et méthodes ..... |                                                                      | 45 |
| Introduction :.....                  |                                                                      | 46 |
| 1.                                   | Matériel végétal .....                                               | 46 |
| 2.                                   | Matériel microbiologique.....                                        | 47 |
| 3.                                   | Screening photochimique.....                                         | 47 |
| 4.                                   | Préparation des extraits :.....                                      | 48 |
| A.                                   | Infusion aqueuse : .....                                             | 48 |
| B.                                   | Extrait aqueux :.....                                                | 48 |
| C.                                   | Extrait éthanolique :.....                                           | 48 |
| (A)                                  | (B).....                                                             | 49 |
| 5.                                   | Différentes classes recherchées.....                                 | 49 |
| 5.2.                                 | Les anthocyanes :.....                                               | 49 |
| 5.3.                                 | L'amidon :.....                                                      | 49 |
| 5.4.                                 | Les coumarines : .....                                               | 50 |
| 5.5.                                 | Les alcaloïdes :.....                                                | 50 |
| 5.6.                                 | Les flavonoïdes :.....                                               | 50 |
| 5.7.                                 | Les tannins :.....                                                   | 50 |
| 5.8.                                 | Les composés réducteurs : .....                                      | 50 |
| 5.9.                                 | Stérols et triterpènes :.....                                        | 51 |
| 6.                                   | Étude de l'activité antioxydant.....                                 | 51 |
| 6.2.                                 | Activité de piégeage des radicaux libres DPPH :.....                 | 52 |
| ❖                                    | Mise en œuvre pratique.....                                          | 53 |
| 6.3.                                 | Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power) :.....   | 54 |

|        |                                                                               |    |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| ❖      | Mise en œuvre pratique : .....                                                | 55 |
| 7.     | Etude de l'activité antimicrobienne : .....                                   | 55 |
| •      | Repiquage des souches bactériennes.....                                       | 55 |
| •      | Préparation de l'inoculum .....                                               | 56 |
| •      | Préparation des milieux de cultures .....                                     | 56 |
| •      | Ensemencement .....                                                           | 56 |
| •      | Préparation des puits .....                                                   | 56 |
| 7.2.   | L'activité antifongique par la méthode de diffusion en puits.....             | 56 |
| •      | Préparation des souches fongiques.....                                        | 56 |
| •      | Préparation de l'inoculum fongique.....                                       | 57 |
| •      | Préparation du milieu de culture .....                                        | 57 |
| •      | Ensemencement .....                                                           | 57 |
| •      | Réalisation des puits.....                                                    | 57 |
| •      | Incubation et lecture des résultats .....                                     | 57 |
| 7.2.1. | Expression des résultats .....                                                | 57 |
| a.     | Activité antibactérienne .....                                                | 57 |
| b.     | Activité antifongique.....                                                    | 58 |
| 7.3.   | Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....             | 58 |
|        | Principe : .....                                                              | 59 |
|        | Préparation des dilutions .....                                               | 59 |
|        | Réaliser :.....                                                               | 59 |
| 7.3.1. | Méthodes alternatives de confirmation :.....                                  | 59 |
| 7.4.   | Détermination de la concentration bactéricide minimale (CMB) .....            | 60 |
| 1.     | Screening phytochimique des plantes :.....                                    | 63 |
| 2.     | Rendement des extraits .....                                                  | 68 |
| 3.     | Étude de l'activité antioxydant.....                                          | 70 |
| 3.1.   | Activité de capacité Antioxydant total (CAT) :.....                           | 70 |
| 3.2.   | Le test de piégeage du radical DPPH.....                                      | 71 |
| 3.3.   | Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)..... | 75 |
| 4.     | Les activités biologiques .....                                               | 78 |
| 5.1.   | Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....             | 84 |
| 5.2.   | Détermination de la concentration bactéricide minimale (CMB).....             | 86 |
|        | Conclusion .....                                                              | 89 |

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| Références bibliographiques..... | 91  |
| 5.2.1. Annexe .....              | 105 |



---

# Introduction

## introduction

Depuis les temps anciens, les plantes médicinales représentent une source précieuse de remèdes naturels, utilisées par les différentes civilisations pour soulager les maux et améliorer la qualité de vie. La médecine traditionnelle, transmise de génération en génération, a su exploiter les vertus curatives des plantes grâce à leur richesse en composés bioactifs. Ces composés, en particulier les métabolites secondaires tels que les polyphénols et les huiles essentielles, ont attiré l'attention croissante de la communauté scientifique en raison de leurs diverses propriétés thérapeutiques (**Fraga, 2007 ; et al Halliwell, 2006**).

Les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins et les stilbènes, sont connus pour leurs effets antioxydants puissants, leur capacité à neutraliser les radicaux libres, à inhiber certaines enzymes pro-oxydantes et à protéger les structures cellulaires contre les dommages oxydatifs (**Halliwell, 2009 ; et al Martins et al., 2016**). En parallèle, plusieurs études ont démontré les propriétés antimicrobiennes de nombreuses espèces végétales riches en ces composés, ouvrant la voie à de nouvelles alternatives naturelles face à la résistance croissante aux **antibiotiques** (**Cushnie et Lamb, 2011 ; Ben Sassi et al., 2008**).

Parmi les plantes d'intérêt médicinal croissant, *Ziziphus spina-christi* (appelée localement "*Sidr*") occupe une place importante dans la pharmacopée traditionnelle de plusieurs régions du monde, y compris l'Algérie. Cette plante, appartenant à la famille des *Rhamnaceae*, est largement répandue dans les zones arides et semi-arides, et elle est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes, voire cicatrisantes (**Dahiru et al., 2006 ; Sabir et Rocha, 2008 ; Alqasoumi, 2011**). Ses feuilles, fruits, écorces et racines contiennent une variété de métabolites secondaires d'intérêt pharmacologique (**Orhan et al., 2019**).

La région de Saïda, située dans l'ouest algérien, offre un environnement écologique favorable à la croissance de *Ziziphus spina-christi*. Cependant, peu d'études ont été menées localement pour valoriser cette espèce et explorer ses propriétés thérapeutiques sur le plan scientifique. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, dont le but principal est d'évaluer les propriétés phytochimiques et biologiques des extraits de cette plante récoltée dans la région de Saïda.

Notre étude se propose d'effectuer un screening phytochimique qualitatif des extraits de *Ziziphus spina-christi* et d'évaluer leur activité antioxydante et antimicrobienne à travers des tests in

---

vitro. Cette démarche vise à valoriser une espèce locale au potentiel thérapeutique prometteur, dans une optique de développement de produits naturels sûrs et efficaces.

Le présent travail est structuré comme suit :

- Une introduction générale qui expose le contexte et la problématique de l'étude.
- Une première partie bibliographique consacrée aux plantes médicinales, aux composés phytochimiques et aux propriétés biologiques des extraits naturels.
- Une deuxième partie expérimentale présentant les matériels et méthodes utilisés pour la réalisation des analyses phytochimiques et biologiques.
- Une troisième partie dans laquelle les résultats obtenus sont présentés, interprétés et discutés.

Enfin, une conclusion générale récapitule les principaux résultats et ouvre des perspectives pour des études futures.

---

# Partie I Synthèse bibliographique

---

# **Chapitre I**

# **La Phytothérapie et les Plantes**

# **Médicinales**

---

Depuis l'aube de l'humanité, les hommes ont utilisé les plantes à leur disposition pour se soigner. Qu'est-ce qui les a conduits à choisir une plante plutôt qu'une autre ? Était-ce le hasard, la religion, la superstition ou, plus certainement, l'expérience (**Iserin *et al.*, 2001**) ? Aujourd'hui, les principes actifs des plantes constituent des éléments essentiels dans la composition d'une grande partie de nos médicaments et produits de soin (**Hans, 2007**). En effet, parmi les 300 000 espèces végétales recensées à travers le monde, plus de 200 000 espèces, vivant principalement dans les régions tropicales d'Afrique, possèdent des propriétés médicinales (**Millogo *et al.*, 2005**).

## **1. Définition de la Phytothérapie :**

Le mot "phytothérapie" provient de deux racines grecques : "phuton", qui signifie "plante" ou "végétal", et "therapeia", qui signifie "traitement", ce qui donne « soigner par les plantes » (**IESV, 2015/2016**)

La phytothérapie est une science à la fois ancienne et moderne (**IESV, 2015/2016**), désignant une approche thérapeutique qui utilise les plantes médicinales dans leur totalité pour leurs propriétés curatives (**Bach *et al.*, 2006**). Il s'agit d'une méthode de soins qui utilise les plantes pour traiter les causes et les symptômes de diverses maladies (**Caroline *et al.*, Michel, 2013**). Elle peut être définie comme une discipline allopathique visant à prévenir et traiter certains troubles fonctionnels et/ou états pathologiques au moyen de plantes, de leurs parties ou de préparations à base de plantes (**Wichtel *et al.*, 2003**)

La phytothérapie fait partie des premières et des plus anciennes méthodes de traitement. Depuis des siècles, voire des millénaires, les êtres humains utilisent les plantes à des fins thérapeutiques à travers le monde (**Beatrix *et al.*, 2013**). Une phytothérapie efficace repose sur la qualité de la plante utilisée : qu'elle soit fraîche ou sèche, ainsi que sur son extrait et sa richesse en principes actifs. De plus, un produit à base de plantes doit, pour être pleinement efficace, restaurer la complexité moléculaire qui est à l'origine de son activité thérapeutique (**IESV, 2015/2016**).

## **2. Différents types de la Phytothérapie**

Tout d'abord se place la phytothérapie traditionnelle. C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une infection qui se base sur l'utilisation de plantes selon les capacités découvertes expérimentalement

---

Le type de phytothérapie est encore largement pratiqué dans de nombreux pays, mais il n'est pas considéré comme conventionnel, car il ne repose pas, dans la plupart des cas, sur des études cliniques. La seconde forme de phytothérapie est la phytothérapie clinique, qui se caractérise par une médecine de terrain où le patient prime sur la maladie. Cette approche globale du patient et de son environnement est essentielle pour déterminer le traitement, et elle nécessite un examen clinique complet (**Moreau, 2003**). Elle s'appuie sur les avancées de la recherche, des preuves scientifiques reconnues et des extraits actifs de plantes.

Il est important de souligner qu'il ne suffit pas de connaître une plante, il est également nécessaire d'être conscient de ses limites et de ses dangers, car la phytothérapie n'est en aucun cas une technique douce. Son utilisation thérapeutique demande une solide connaissance de la matière médicale (**Chabrier, 2010**). Il est donc crucial que la médecine traditionnelle et la médecine moderne collaborent :

- Pour permettre la validation et l'amélioration des remèdes traditionnels,
- Afin qu'elles puissent apprendre l'une de l'autre et se compléter, en faisant progresser la recherche (**CTA, 2007**).

Quelques termes scientifiques concernant la phytothérapie traditionnelle et moderne :

- **Aromathérapie** : C'est l'art et la science d'utiliser les essences de plantes ou les huiles essentielles, qui mettent les arômes et les bienfaits des plantes au service de la santé et de la beauté (**Colette, 2007**).
- **Gemmothérapie** : Une thérapie utilisant des bourgeons végétaux et d'autres tissus embryonnaires vivants sous forme buvable. Son objectif est de réaliser un drainage profond de l'organisme (**Halfon, 2011**).
- **Herboristerie** : Méthode de phytothérapie la plus ancienne. L'herboristerie utilise la plante fraîche ou séchée, dans son intégralité ou sous forme de certaines parties de la plante (écorce, fruits, fleurs) (**Besançon, 2012**).

#### **Phytothérapie pharmaceutique :**

Utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action rapide et soutenue. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats, etc. (**Strang, 2006**).

---

### 3. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les avancées considérables de la médecine moderne, la phytothérapie présente de nombreux avantages. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes connaissent un regain d'intérêt, car l'efficacité de certains médicaments diminue. De plus, les effets secondaires des médicaments suscitent de plus en plus d'inquiétude chez les utilisateurs (**Iserin *et al.*, 2001**).

L'un des grands atouts de la phytothérapie est la bonne tolérance des plantes, lorsqu'elles sont utilisées aux doses appropriées. Les effets secondaires des plantes médicinales sont généralement mieux connus que ceux des molécules de synthèse (**Arnal-Schnebelen, 2004**).

En règle générale, les plantes médicinales couramment utilisées provoquent peu d'effets indésirables. De plus, leur utilisation est simple, se fait à domicile et l'effet recherché est quasiment immédiat (**Robert, 2010**).

### 4. Les inconvénients et les risques de la phytothérapie

Certaines plantes peuvent s'avérer dangereuses (allant jusqu'à provoquer la mort) mais elles ne seront jamais prescrites, même à de faibles doses. Parmi les risques rencontrés face à cette discipline, on peut citer :

- Surdosage ;
  - Allergie ;
  - Contaminations par des toxiques divers (métaux lourds, micro-organismes) ;
  - Présence d'une substance allopathique dans la préparation ;
  - Interaction avec d'autres plantes ou traitements en particulier allopathique ;
- Modification des doses absorbées (**Cavalier *et al.*, 2015**)

### 5. Les plantes médicinales

Une plante médicinale est une drogue végétale dont l'un des organes possède des propriétés curatives et parfois toxiques, selon le dosage. Au Moyen Âge, on parlait de "simples". Il s'agit en réalité de plantes utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Debuigne, 1974 ; Farnsworth *et al.*, 1986**). Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées à travers le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité exploité par les êtres humains (**Elqaj *et al.*, 2007**).



---

## 6. Efficacité des plantes entières

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants (Iserin *et al*, 2001).

## 7. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie

Il existe plusieurs modes de préparation des plantes en phytothérapie, en fonction de l'usage que l'on souhaite en faire. Les modes de préparation les plus courants sont :

- **L'infusion** : Elle est généralement réalisée avec les fleurs et les feuilles des plantes, mais il est aussi possible d'infuser des racines et des écorces. Pour l'obtenir, il suffit de plonger une cuillerée à café de plante dans de l'eau bouillante et de laisser infuser entre 10 et 20 minutes dans un récipient couvert. Une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum. En principe, il est préférable de ne pas sucrer les tisanes (Nogaret-Ehrhart, 2003).
- **La décoction** : Elle consiste à mélanger le macérât et le solvant à température ambiante, puis à faire bouillir le mélange à feu doux. Il est important de noter qu'une décoction ne peut pas être préparée lorsque la chaleur détruit les ingrédients actifs. D'autre part, la chaleur peut accentuer leurs effets (Sean et Timothy, 2005).
- **La macération** : Cette méthode consiste à maintenir la drogue en contact avec un solvant à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 48 heures. Elle permet une extraction douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles (Chabrier, 2010).
- **Les extraits** : Ce terme désigne généralement la plante avec tous ses principes actifs, c'est-à-dire la plante entière dont les parties fibreuses et l'eau sont retirées. Il existe plusieurs types d'extraits : l'extrait sec, l'extrait liquide, les extraits standardisés et les lyophilisats (Caroline et Michel, 2013).
- **La poudre** : Elle est obtenue en pulvérisant la plante, soit au moulin à café, soit au mortier et au pilon. La plante peut aussi être séchée en la passant au four à feu très doux pendant quelques instants (Morigane, 2007).

---

## 8. Les éléments actifs des plantes

Les effets de certaines plantes sont bien connus. Par exemple, la camomille allemande est utilisée depuis des milliers d'années pour traiter les troubles digestifs. Cependant, ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est essentiel de connaître la composition des plantes pour comprendre leur mode d'action sur l'organisme. Les principes actifs majeurs des plantes sont :

- **Les phénols**
- **Les flavonoïdes**
- **Les tanins.**
- **Les huiles essentielles :** Ce sont des mélanges complexes de substances chimiques naturelles, volatiles et odorantes, contenues dans une plante aromatique. Elles sont habituellement extraites par hydrodistillation ou par expression. Les huiles essentielles sont volatiles, car elles sont uniquement constituées de molécules de très faible masse moléculaire. Elles sont solubles dans des solvants organiques tels que l'alcool et les huiles végétales ou minérales. Les huiles essentielles sont utilisées en parfumerie, en cosmétique, en phytothérapie, en aromathérapie, etc. **(Khodjet El Khil, 2015).**
- **Les alcaloïdes :** Ce sont des substances azotées d'origine végétale, ayant des réactions alcalines ( $\text{Alcaloïde} + \text{Acide} \rightarrow \text{Sels}$ ). Elles contiennent toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent de l'oxygène, parfois du soufre. Les alcaloïdes sont des produits aminés naturels ayant des effets physiologiques sur l'organisme humain **(Badiaga, 2011).**
- **Les anthocyanines :** Elles constituent le groupe de pigments solubles dans l'eau le plus important. Faisant partie de la famille des flavonoïdes, ces molécules sont capables d'absorber la lumière visible. Elles sont dissoutes dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs et des tissus, leur donnant des couleurs rose, rouge, bleu et violet **(Mazza et al., 1993).**
- **Les coumarines :** Elles proviennent du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique. Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques, où elles peuvent être extraites. Elles possèdent un spectre UV caractéristique et présentent des effets cytotoxiques, antiviraux, immunostimulants, tranquillisants, vasodilatateurs, etc. **(González-Gallego et al., 2007).**

- 
- **Les vitamines :** Des substances organiques, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser. Elles doivent être fournies par l'alimentation. Il s'agit d'un groupe de molécules chimiquement très hétérogènes. Certaines d'entre elles ont des structures proches de celles d'autres composés organiques (**Les vitamines, 2010/2011**).
  - **Les minéraux :** De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux. Les plantes, notamment celles issues de l'agriculture biologique, tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme. Dans de nombreux cas, les minéraux contenus dans une plante, participent activement à son activité thérapeutique dans l'organisme (**Iserin *et al*, 2001**).

---

# **CHAPITRE II**

## **Généralités sur la plante.**

---

## 1. La famille des Rhamnaceae

La famille des *Rhamnaceae*, ou *Rhamnacées*, regroupe entre 50 et 60 genres et environ 870 à 900 espèces. Ces plantes à fleurs se présentent principalement sous forme d'arbres ou d'arbustes et sont particulièrement répandues dans les régions subtropicales et tropicales. Parmi elles, le genre *Zizyphus* comprend plus de 40 espèces d'arbustes épineux (**Jafarian et al., 2014**).

## 2. Le genre *Zizyphus*

Le genre *Zizyphus* appartient à la famille des *Rhamnaceae* qui contient 900 espèces dans le monde (**Fard et al., 2020**), est répandu dans les régions tropicales et subtropicales : Asie, Afrique, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Océanie et Europe, avec un centre de diversité en Asie (**El Maaiden et al., 2018**).

### 2.1. L'importance du genre dans le domaine de biologie et pharmacologie

Les études phytochimiques et pharmacologiques ont mis en évidence que les espèces du genre *Zizyphus* sont des plantes médicinales d'une grande importance, dotées de puissantes bio activités. Les recherches menées sur ces plantes ont permis d'identifier environ 431 composés chimiques, parmi lesquels les alcaloïdes, les flavonoïdes et les cyclo peptides constituent les groupes prédominants.

Les extraits bruts ainsi que les composés isolés présentent une large gamme d'effets pharmacologiques, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, incluant des propriétés antimicrobiennes, antitumorales, antidiabétiques, antidiarrhéiques, anti-inflammatoires, antipyrétiques, antioxydantes et hépatoprotectrices. Par ailleurs, les études de toxicité suggèrent que les espèces de *Zizyphus* ne présentent pas de toxicité notable aux doses thérapeutiques habituelles (**El Maaiden et al., 2020**).

## 3. Description botanique

*Zizyphus spina-Christi* est un arbuste sauvage épineux, commun dans les terrains incultes, à proximité des lits d'oueds et dans les ravins. Cette espèce est particulièrement bien adaptée aux conditions sèches et chaudes. Elle possède des branches tortueuses, hérissées de brindilles portant plusieurs petites épines. Son écorce, de couleur brun blanchâtre ou gris pâle, est profondément fissurée.

---

**Les épines**, de teinte brun clair, apparaissent par paires : l'une, droite et dirigée vers l'avant, mesure environ 8 mm de long, tandis que l'autre est plus courte et légèrement incurvée. Les feuilles sont petites, elliptiques, alternes et courtement pétiolées ; elles apparaissent au printemps et tombent à l'automne. La floraison a lieu au mois de mai (**Sirag Saied *et al.*, 2007 ; Keddem, 1990**).

**Les fruits**, sphériques ou ovoïdes, possèdent un noyau et ont la taille d'une petite olive. Leur pulpe est douce, farineuse et prend une teinte rouge ou brun rougeâtre à maturité. Dans certaines variétés cultivées en Inde et en Égypte, les fruits peuvent atteindre la taille d'une grosse cerise ou d'une olive (**Chevalie, 1947 ; Massaoudi, 2005**).

**Les fleurs** sont solitaires ou groupées et portent un court pédicelle. Elles se caractérisent par un calice en forme d'entonnoir, pentamère, une petite corolle à cinq pétales, cinq étamines épipétales et deux styles courts (**Ghedira, 2013**).

**Etude botanique :**

**Nom scientifique :** *Zizyphus*

**Noms vernaculaires :** *Sidr*



**Figure 1 :** Photo de *Zizyphus Spina-Christi*



**Figure 2 :** Les feuilles de *Zizyphus Spina-Christi* (Jinous et Elaheh, 2012).



**Figure 3 :** Fleur de *Zizyphus Spina-Christi* ( Jinous et Elaheh, 2012).



**Figure 4 :** Les fruits de *Zizyphus Spina-Christi*

#### **4. Systématique de la plante**

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** *Spermatophytes*

**Sous-embranchement :** *Angiospermes*

---

**Sous classe :** *Dicotylédone*

**Ordre :** *Celastrales*

**Famille :** *Rhamnacées*

**Genre :** *Zizyphus*

**Espèce :** *Spina. Christi*

**(Quezel et Santa, 1962).**

## **5. Nomenclature**

*Zizyphus spina-christi*, communément appelé "épine du Christ" en anglais, est connu en arabe sous les noms *sedra*, *sidr*, *sidr barri*, *Zizouf* ou *N9begue*(**Alhakmani et al., 2014 ; Ghedira, 2013**).

Un problème dans la compréhension d'une taxonomie assez complexe réside dans le fait que divers auteurs ont utilisé des noms similaires pour désigner différentes espèces. Au total, 276 noms ont été attribués aux espèces du genre *Zizyphus*, dont 58 sont officiellement acceptés, 59 sont considérés comme des synonymes et 159 restent non résolus.

Voici quelques synonymes du nom latin *Zizyphus spina-christi* :

*Rhamnus divaricata*Forssk.

*Rhamnus heterogenea*Burm.f.

*Rhamnus recta* Forssk.

*Rhamnus spina-christi* L.

*Moulin Ziziphusafricana* .

*Ziziphus amphibia* A. Chev.

*Ziziphusheterogenea*Poir.

*Ziziphus sphaerocarpa*Tul(**El Maaiden et al., 2020**).

## **6. Répartition géographique**

Le genre *Zizyphus* occupe une vaste aire de répartition, s'étendant du continent asiatique au bassin méditerranéen, jusqu'à atteindre le continent américain. Il est connu pour sa grande tolérance à la sécheresse et sa résistance remarquable à la chaleur. On le retrouve notamment dans les zones désertiques où les précipitations sont extrêmement faibles.



Les importantes réserves de glucides présentes dans ses racines contribuent à son fort potentiel de régénération. *Zizyphus spina-christi* est répandu à travers tout le Sahel, du Sénégal au Soudan, ainsi que dans une vaste région englobant l'Afrique du Nord, le Moyen-Orient, l'est de l'Afghanistan et le nord-ouest de l'Inde.

Cette espèce est originaire du Soudan, où elle se développe abondamment dans le nord et le centre du pays, ainsi que le long des rives du Nil à Khartoum (SiragSaied *et al.*, 2008 ; Laamouri *et al.*, 2008).

## 7. Compositions chimiques

Les fruits de *Zizyphus spina-christi* sont nutritifs et contiennent des protéines, des glucides ainsi que des vitamines (Owolaraf *et al.*, 2019). La chair de ces fruits est particulièrement riche en glucides (80,6 % en matière sèche), notamment en amidon (21,8 %), en saccharose (21,8 %), en glucose (9,6 %), en fructose (16 %) et en fer (SiragSaied *et al.*, 2007).

Une revue de la littérature a révélé que plusieurs alcaloïdes, flavonoïdes, terpénoïdes de type cyclopeptide, isoquinoléines et leurs glycosides sont présents en quantités variables dans la plupart des espèces du genre *Zizyphus* (Abalaka *et al.*, 2010).

Dans une étude menée par Abalaka et ses collaborateurs (2010) sur l'extrait méthanolique de *Zizyphus spina-christi*, il a été constaté que cet extrait contient des flavonoïdes, des saponines, ainsi que de l'acide bétulinique et de l'acide céanothique (Abalaka *et al.*, 2010). Selon Asgarpanah et Haghighat (2012), les feuilles de cette plante renferment divers flavonoïdes, tanins, saponines, acides bétulinique et céanothique, ainsi que des stérols et des triterpènes (Asgarpanah et Haghighat, 2012).

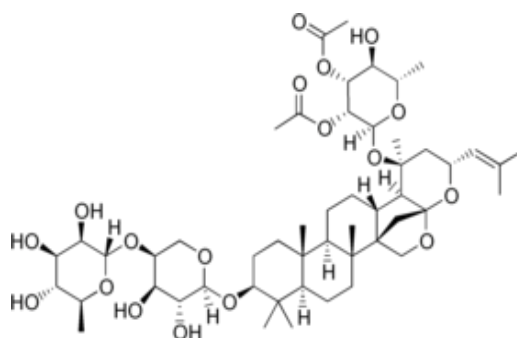


Figure 5 : Structure chimique de Ziziphine

---

## 8. Propriétés et usages thérapeutique-Propriétés et usages thérapeutique

*Zizyphus Spina-Christi* a été utilisé pour le traitement de la fièvre, de la douleur, des pellicules, des plaies et des ulcères, des affections inflammatoires, de l'asthme et pour guérir les maladies oculaires (Asgarpanah et Haghighat, 2012).

Les feuilles sont appliquées localement sur les plaies comme cataplasmes et sont utiles dans les troubles hépatiques, l'asthme et fièvre et pour le traitement de la morsure de serpent et pour réduire l'inflammation oculaire, et les racines sont utilisées pour soigner et prévenir les maladies de la peau. L'infusion du parc racinaire de la plante est utilisée traditionnellement dans certains pays africains comme remède contre les maux d'estomac et autres affections du tractus gastro-intestinal, Il a été utilisé en médecine populaire comme demulecent, dépuratif, émollient, stomacal, pour les maux de dents, astringent et comme rince-bouche. Les fruits sont utilisés pour favoriser la cicatrisation des plaies fraîches, pour la dysenteric, la bronchite, la toux et la tuberculose et Les graines sont sédatifs et sont parfois pris avec du babeurre pour arrêter les nausées, vomissements et les douleurs abdominales associés à la grossesse (Abalaka *et al.*, 2010 ; Mosaad *et al.*, 2007 ; Dangoggo *et al.*, 2012).

## 9. Les activités biologiques de la plante

*Zizyphus Spina-Christi* a été utilisé pour le traitement de la fièvre, de la douleur, des pellicules, des plaies et des ulcères, des affections inflammatoires, de l'asthme et pour guérir les maladies oculaires (Asgarpanah et Haghighat, 2012).

**Les feuilles** sont appliquées localement sur les plaies comme cataplasmes et sont utiles dans les troubles hépatiques, l'asthme et fièvre et pour le traitement de la morsure de serpent et pour réduire l'inflammation oculaire, et les racines sont utilisées pour soigner et prévenir les maladies de la peau.

**L'infusion du parc racinaire de la plante** est utilisée traditionnellement dans certains pays africains Comme Remède contre les maux d'estomac et autres affections du tractus gastro-intestinal, Il a été utilisé en médecine populaire comme demulecent, dépuratif, émollient, stomacal, pour les maux de dents, astringent et comme rince-bouche.

**Les fruits** sont utilisés pour favoriser la cicatrisation des plaies fraîches, pour la dysenterie, la bronchite, la toux et la tuberculose et Les graines sont sédatifs et sont parfois pris avec du babeurre pour arrêter les nausées, vomissements et les douleurs abdominales associés à la grossesse (Abalaka *et al.*, 2010 ; Mosaad *et al.*, 2007 ; Dangoggo *et al.*, 2012).

---

## 9.1. Activité antioxydant

Ont étudié l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait méthanolique des fruits de *Zizyphus spina-christi* à l'aide des tests DPPH, FRAP, TRPA, ABTS et SRSA, réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Les résultats ont révélé une forte capacité antioxydante ainsi que des teneurs élevées en composés phénoliques.

La puissante activité antioxydante observée dans les fruits de *Zizyphus spina-christi* pourrait être attribuée à leur richesse en composés phénoliques et à leur forte capacité à donner des électrons pour neutraliser les radicaux libres (Singh *et al.*, 2012).

## 9.2. Activité antidiabétique

D'après l'étude réalisée par Abdel-Zaher *et al.* (2005), les feuilles de *Zizyphus spina-christi* réduisent le taux de glucose sérique chez les rats diabétiques de type II. Cet effet est médié par la libération d'insuline, probablement due au blocage des canaux KATP\_{ATP} dans les membranes des cellules bêta du pancréas. Ainsi, les feuilles de *Zizyphus spina-christi* pourraient être utilisées comme agent antidiabétique sans danger (Abdel-Zaher *et al.*, 2005).

Avizeh et ses collaborateurs (2010) ont étudié l'activité antidiabétique de l'extrait hydroalcoolique des fruits de *Zizyphus spina-christi* *in vivo*, par administration orale d'une dose de 500 mg/kg de cet extrait pendant 10 jours chez des chiens rendus diabétiques par l'alloxane. Les résultats de cette étude ont montré que l'administration thérapeutique de l'extrait de *Zizyphus* réduit significativement la concentration de glucose sanguin au fil du temps. La présence de saponines dans les fruits pourrait expliquer cet effet, car elles sont connues pour inhiber la sécrétion de glucagon, améliorer l'utilisation du glucose et réduire la glycémie. Il a également été rapporté que les saponines stimulent la libération d'insuline par le pancréas (Avizeh *et al.*, 2010).

De leur côté, Hussein et ses collaborateurs (2006) ont testé les effets de l'extrait méthanolique des racines de *Zizyphus spina-christi* sur des rats diabétiques induits par l'alloxane. Ils ont observé que cet extrait a des effets bénéfiques en réduisant le taux de glucose sérique à jeun tout en augmentant de manière significative le taux d'insuline sérique (Hussein *et al.*, 2006).

---

### 9.3. Activité antibactérienne

Les différentes parties de la plante contiennent un composé bioactif majeur capable d'inhiber la croissance de plusieurs micro-organismes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Shigella* spp. De plus, cette plante constitue une source alternative prometteuse d'antibiotiques. Ces résultats sont en accord avec les observations rapportant que les feuilles de *Zizyphus spina-christi* sont utilisées pour éliminer les parasites internes et possèdent des propriétés antihelminthiques ainsi qu'antidiarrhéiques (**Dangoggoet et al., 2012**).

### 9.4. Activité antitumorale

**Salah El-Din et al. (2010)** ont étudié l'activité antitumorale des feuilles de *Zizyphus spina-christi* contre l'hépatocarcinogénèse induite par la diéthylnitrosamine (DEN). L'expérience a été menée sur des rats Wistar mâles, et un examen histologique des tissus hépatiques a été réalisé. Les résultats ont révélé que l'extrait méthanolique de *Zizyphus spina-christi* possède une excellente activité thérapeutique contre le carcinome hépatocellulaire induit par la diéthylnitrosamine, grâce à l'amélioration du statut oxydant/antioxydant et à la modulation de l'expression des oncogènes (**Salah El-Din et al., 2019**).

### 9.5. Activité anticonvulsivant

Les effets protecteurs et thérapeutiques de l'extrait de feuilles de *Zizyphus spina-christi* contre les crises induites par le pentylentétrazol (PTZ), un convulsivant agissant comme un antagoniste du récepteur GABAA<sub>AA</sub>, ont été clairement mis en évidence dans les expériences menées par (**Waggas et al. 2010**) sur des rats albinos mâles.

L'étude a mesuré les variations des concentrations de norépinéphrine (NE), de dopamine (DA) et de sérotonine (5-HT) dans différentes régions du cerveau. Les résultats ont montré qu'une administration de PTZ après un traitement de trois semaines avec l'extrait de feuilles de *Zizyphus spina-christi* entraîne une augmentation significative des niveaux de NE, DA et 5-HT dans toutes les régions cérébrales analysées. Cet effet pourrait être attribué à la présence d'alcaloïdes peptidiques et cyclopeptidiques dans l'extrait de la plante (**Waggas et al., 2010**).

### 9.6. Activité antiplasmodiale

*Zizyphus spina-christi* a été étudié afin de confirmer ses activités anti plasmodiales. Dans une étude menée par **Mishra et Bhatia (2014)**, l'extrait de feuilles de *Zizyphus spina-*

---

*christi* a significativement réduit le niveau de parasitémie chez les souris infectées traitées avec cet extrait.

De plus, ces résultats concordent avec ceux obtenus par Hafiz et **Moubarak (2016)**, qui ont également observé une réduction marquée de la parasitémie lors d'une infection induite par *Plasmodium berghei*. L'action anti plasmodiale de l'extrait de feuilles de *Zizyphus spina-christi* serait attribuée à la présence de plusieurs composés bioactifs, notamment des huiles essentielles, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des composés phénoliques (**Hafiz et al., 2017**).

### **9.7. Activité antidiarrhéiques**

Les effets antidiarrhéiques de l'extrait méthanolique de l'écorce de tige de *Zizyphus spina-christi* ont été évalués par Adzu et ses collaborateurs (2003) chez des rongeurs de laboratoire.

Des études ont été menées sur la diarrhée induite par l'huile de ricin, l'accumulation de liquide intraluminal et le temps de transit gastro-intestinal. Les résultats ont montré que l'extrait offrait une protection dose-dépendante contre la diarrhée induite par l'huile de ricin, réduisait l'accumulation de liquide intraluminal et ralentissait le transit gastro-intestinal (**Adzu et al., 2003**).

---

# **Chapitre III**

## **Les Composés Phénoliques**

---

---

## 1. Les polyphénols

### 1.1. Définition

Les polyphénols sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire (**Walton et Brown, 1999**). Elles ont toutes un point commun : la présence, dans leur structure, d'au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbone (cycles benzéniques) portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Hennebelle *et al.*, 2004**). Les polyphénols constituent un groupe de substances variées et ubiquistes (**Marouf, 2000 ; Hopkins, 2003 ; Georgé *et al.*, 2005**) et correspondent à une très large gamme de structures chimiques (**Ferguson, 2001**).

Les polyphénols constituent une famille importante de métabolites secondaires du règne végétal (**Akowah *et al.*, 2004**). À ce jour, plus de 8000 molécules ont été isolées et identifiées (**Mompon *et al.*, 1998**).

Ils sont divisés en plusieurs catégories :

Les acides phénoliques ;

Les flavonoïdes ;

Les tanins condensés et hydrolysables (**SFA, 2005**).

### 1.2. Distribution

En phytochimie, les polyphénols sont des dérivés des acides benzoïques et cinnamiques (**Belyagoubi, 2011**). On les trouve dans toutes les parties des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (racines, tiges, bois et cellules épidermiques des feuilles) (**Marfak, 2003 ; Hadi, 2004**).

La couleur, l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des polyphénols. Ces composés représentent de 2 à 3 % de la matière organique des plantes, et dans certains cas, jusqu'à 10 % (**Walton et Brown, 1999**).

À l'échelle cellulaire, ils s'accumulent principalement dans deux sites : la paroi cellulaire et la vacuole.

À l'échelle tissulaire, la répartition des différents composés phénoliques est très inégale. Par exemple, les anthocyanines et les flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes, telles que l'épiderme des fruits et des feuilles (**Sarni et Cheynier, 2006**).

---

### 1.3. Classification

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes, qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette et les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres (glucides, lipides, protéines...etc.) (Herbert,1989 ; Betaetal.,2005 ; Macheixetal.,2005).

**Tableau 01 : Principales classes des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005 ; Daayf et Lattanzio, 2008).**

| Nombre de Carbone |  | Structure de base | Classe                                                    | Origine<br>« Exemple »                                |
|-------------------|--|-------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 6                 |  | C6                | Phénols simples.<br>Benzoquinones                         | Busseroles.                                           |
| 7                 |  | C6-C1             | Acides phénoliques                                        | Épices, fraises                                       |
| 8                 |  | C6-C2             | Acétophénones.<br>Acides benzoïques.                      | /                                                     |
| 9                 |  | C6-C3             | Acides hydroxycinamiques.<br>Coumarines.<br>Polypropènes. | Pomme de terre.<br>Pommes.Les fruits du genre Citrus. |
| 10                |  | C6-C4             | Naphtoquinones.                                           | Noix.                                                 |
| 13                |  | C6-C]1-C6         | Xanthones.                                                | Racinesde Gentiane.                                   |



|    |    |                                                                      |                                             |                                               |
|----|----|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 14 |    | C6-C2-C6                                                             | Stilbéneset<br>anthraquinones.              | Vignes.                                       |
| 15 |    | C6-C3-C6                                                             | Flavonoïdes.<br>Isoflavonoïdes.             | Fruit et légume.<br>Soja et pois.             |
|    | 18 | (C6-C3) <sub>2</sub>                                                 | Lignanes<br>Néolignana                      | Pin                                           |
|    | 30 | (C6-C3-C2) <sub>2</sub>                                              | Biflavonoïdes.                              | Carcinia<br>hyperic.                          |
|    | N  | (C6-C3) <sub>n</sub><br>(C6) <sub>n</sub><br>(C6-C3-C6) <sub>n</sub> | Lignines.<br>Catéchols.<br>Tanins condensés | Bois.Noyaux<br>des fruits.<br>Raisins rouges. |

#### 1.4. Rôle, intérêt et propriétés

- Le rôle des composés phénoliques est désormais reconnu, tant dans l'évolution de la vie des plantes que dans l'utilisation des végétaux par l'Homme (**Maury et Legrand, 2000 ; Macheix *et al.*, 2005**). Les techniques modernes d'isolement des molécules et d'exploration médicale montrent que ces composés possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques :
- La pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques (**Brouillard *et al.*, 1997 ; Maury et Legrand, 2000 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Stalikas, 2007**).
- Ils sont associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, floraison et tubérisation (**Nitsch et Nitsch, 1961 ; Misirli *et al.*, 2001**).
- Ils exercent un effet majeur sur les caractères organoleptiques des produits (**Sarni et Cheynier, 2006**).
- Ils diminuent la perméabilité des vaisseaux capillaires en renforçant leur résistance (**Nissiotis et Tasioula-Margari, 2002 ; Lahouel, 2004**).

- 
- Ils possèdent des propriétés thérapeutiques, telles que : anti-cancéreuses (Li et al., 2008), anti-ulcéreuses (**Martin *et al.*, 2007**), anti-inflammatoires (**Nowakowska, 2007**), et analgésiques (**Borsato *et al.*, 2000**).
  - Ils sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additifs, colorants, arômes ou agents de conservation (**Bruneton, 1999**).
  - **L'activité antioxydante des polyphénols**

Les propriétés antioxydantes des polyphénols jouent un rôle clé dans la prévention de diverses pathologies liées au stress oxydatif, au vieillissement cellulaire, ainsi qu'aux maladies cardiovasculaires et dégénératives (**Wang et Mazza, 2002 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Sarni *et al.*, 2006**).

Les antioxydants naturels, tels que les composés phénoliques — en particulier les acides phénoliques et les flavonoïdes — peuvent empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant plus rapidement que ce dernier.

Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogène ou d'électron souvent aromatiques (**Vansant, 2004**).

## **2. Les flavonoïdes**

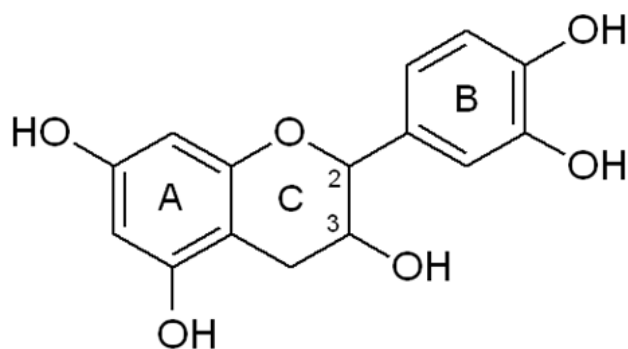
### **2.1. Définition et structure**

Le nom "flavonoïde" proviendrait du terme "flavedo", désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), bien que d'autres hypothèses suggèrent que ce terme soit plutôt dérivé de "flavus", signifiant jaune (**Karaali *et al.*, 2004**).

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus représentatif des composés phénoliques (**Yao *et al.*, 2004**). Ils sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles (**Rice-Evans et Packer, 1998**).

Ces molécules possèdent toutes un squelette de base composé de quinze atomes de carbone, disposés selon une configuration C6-C3-C6 (Yao et al., 2004). Ce squelette est caractérisé par un enchaînement de deux noyaux aromatiques A et B, liés à une unité de trois atomes de carbone (C), avec une grande diversité structurale (**Walsh, 2003 ; Erdman *et al.*, 2007 ; Alothmane *et al.*, 2009**). Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments jaunes quasi universels des végétaux. Actuellement, environ 4000 composés flavoniques sont connus (**Marouf, 2000 ; Edenharder et Grünhage, 2003 ; Alothmane *et al.*, 2009**).

---

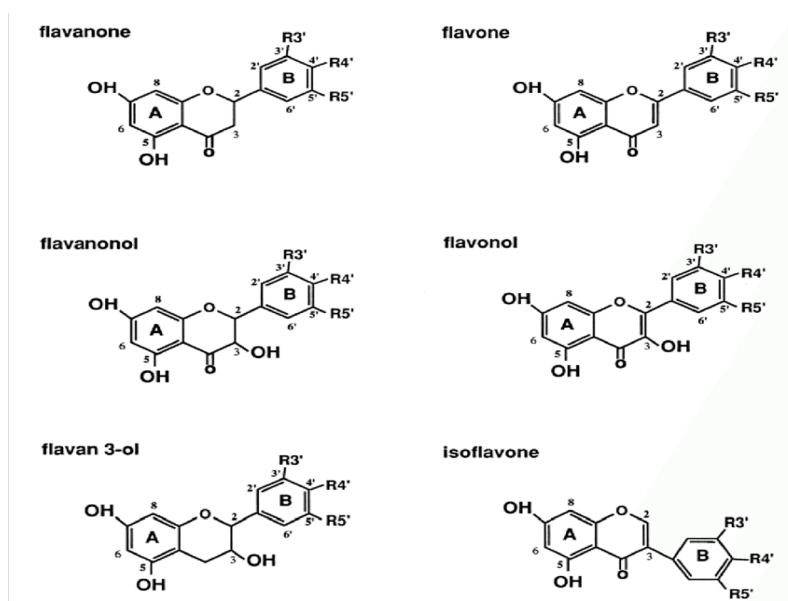


**Figure 6 :** Structure de base des flavonoïdes (Bruneton,1999).

Dans la nature, les flavonoïdes sont généralement glycosylés, les sucres ainsi que les groupes hydroxyles augmentent leur solubilité dans l'eau, d'autres substitutions tels que les méthyles et les isopentyls, rendent les flavonoïdes lipophiles (Crozier *et al.*, 2006).

## 2.2. Classification

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes, qui sont déterminées par l'état d'oxydation de l'unité de liaison (C), et la position du noyau benzénique (B) (Bruneton, 1993 ; Narayana *et al.*, 2001), tandis que les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution du noyau A ou B (OH, OCH<sub>3</sub> et/ou glycosyl) (Verpoorte et Alfermann, 2000 ; Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003).



**Figure 7 :** Structures chimiques de différentes classes de flavonoïdes

---

## **2.3. Activités et propriétés biologiques**

### **2.3.1. Activité antioxydante**

Plusieurs études ont montré que les flavonoïdes provenant de différentes sources botaniques agissent comme de puissants antioxydants, parfois même plus efficaces que la vitamine C (**Alothmane *et al.*, 2009**). Ces composés peuvent prévenir les dommages oxydatifs par divers mécanismes d'action : soit en capturant les radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (**Hodek *et al.*, 2002**), soit par chélation des métaux (tels que le fer et le cuivre), qui jouent un rôle majeur dans l'initiation des réactions radicalaires, soit en inhibant les enzymes responsables de la génération des radicaux libres, telles que la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipooxygénase (**Dicarolo *et al.*, 1999 ; Sarni et Cheynier, 2006**).

### **2.3.2. Activité anti-inflammatoire et effet sur le système immunitaire**

De nombreuses études suggèrent que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires (**Huck *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2008**) et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Raffaelli *et al.*, 1997**). Ces composés agissent comme de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (**Loo *et al.*, 1989 ; Waridel *et al.*, 2001**). Certains flavonoïdes, tels que la quercétine, la myricétine, l'apigénine et la chrysine, exercent des effets anti-inflammatoires en inhibant les enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique (**Tringali, 2001**), tout en bloquant la lipoxygénase, la phospholipase et la cyclo-oxygénase (**Cowan, 1999 ; Yao *et al.*, 2004**).

### **2.3.3. Propriété antivirale et antibactérienne**

Les flavonoïdes se sont montrés comme de bons inhibiteurs de la « transcriptase reverse ». Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la transcriptase reverse virale (**Langewald et Schmutterer, 1992 ; Wilps *et al.*, 1992**). Autres chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du VIH (la Gp 120), empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte (**Tail, 1998**).

---

---

#### 2.3.4. Propriété anti-cancérogène

Des études ont montré les effets protecteurs des flavonoïdes contre les promoteurs de tumeurs (**Kato *et al.*, 1983**). L'action antitumorale de la quercétine, par exemple, pourrait être expliquée par son interaction avec le complexe calcium-calmoduline, qui joue également un rôle dans le mécanisme d'action de nombreux promoteurs de tumeurs (**Nishino *et al.*, 1996**).

Les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes impliquées dans l'activation des pro-carcinogènes en intermédiaires mutagènes (**Obermeier *et al.*, 1995**). Cette inhibition empêche la conversion de composés non-toxiques en substances cancérigènes actives, ce qui renforce l'effet protecteur des flavonoïdes contre le développement de certains types de cancers.

De plus, les flavonoïdes pourraient également induire des mécanismes de réparation de l'ADN ou stimuler l'apoptose (mort cellulaire programmée) dans les cellules endommagées, contribuant ainsi à la réduction du risque de formation de tumeurs. Ces effets combinés renforcent l'intérêt croissant pour les flavonoïdes en tant qu'agents potentiels dans la prévention du cancer.

#### 2.3.5. Autres activités

Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans le traitement de diverses affections telles que le diabète (en inhibant l'aldose réductase), la goutte (en inhibant la xanthine oxydase), l'hypertension (par l'action de la quercétine), les thromboses (par les flavonols) et les allergies (**Cowan, 1999 ; Yao *et al.*, 2004**).

L'effet antiallergique des flavonoïdes se manifeste par leur action sur la production d'histamine, en inhibant les enzymes (AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase calcium-dépendante) responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (**Tringali, 2001**). D'autres flavonoïdes, comme la rutine et le kaempférol, ont montré une action inhibitrice sur le PAF (Facteur d'Activation Plaquettaire), qui est un agent ulcérogène potentiel (**Tringali, 2001**). La tangérétine, la rutine et l'héspéridine augmentent la résistance des vaisseaux sanguins et influencent la fluidité du sang (**Oakes *et al.*, 2001**).

---

### 3. Les tanins

#### 3.1. Définition

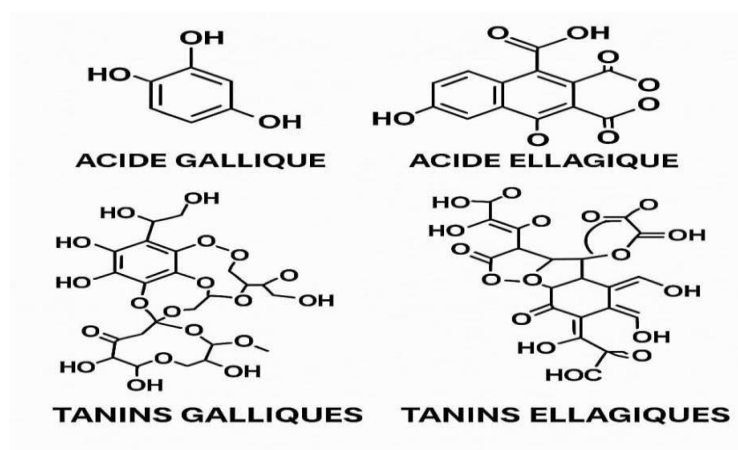
Le terme "tanin" provient d'une pratique ancienne qui consistait à utiliser des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (**Hopkins, 2003**). Ce sont des métabolites hydrosolubles, dont la masse molaire varie entre 500 et 2000 Da, présents dans toutes les plantes à des degrés divers (**Zimmer et Cordesse, 1996 ; Bruneton, 1999**).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est principalement lié à sa protection contre les affections, les insectes et les animaux herbivores (**Khanbabaee et Ree, 2001**), ainsi qu'à sa défense contre les attaques fongiques et bactériennes. Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (**Peronny, 2005**).

#### 3.2. Classification

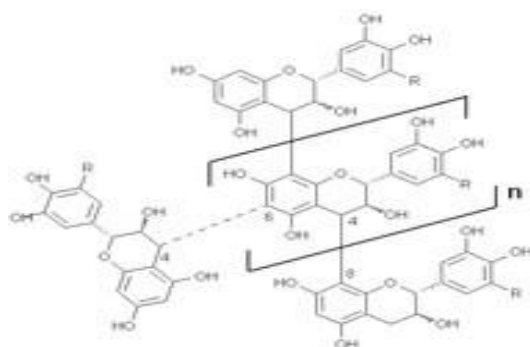
On distingue deux grands groupes de tanins, qui diffèrent tant par leur réactivité chimique que par leur composition (**Haslam, 1989**).

- **Les tanins hydrolysables** : Ce sont des esters de glucose et d'acide gallique, caractérisés par leur capacité à être dégradés par hydrolyse chimique. Cette dégradation libère une partie non phénolique, généralement du glucose, ainsi qu'une partie phénolique, qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de cet acide, l'acide ellagique (**Guignard, 2000**).



**Figure 8:** Structure d'un tanin hydrolysable (**Peronny, 2005**).

**Les tanins condensés :** Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ol, dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères (Awika et Rooney, 2004). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, ce qui explique leur utilisation dans le tannage des peaux (Guignard, 2000 ; Hopkins, 2003).



**Figure 9 :** Structure d'un tanin condensé (Peronny, 2005).

### 3.3. Propriétés biologiques

Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments en raison de leurs effets nuisibles, tels que la réduction de la digestion des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages au foie (Chung *et al.*, 1998).

Ils possèdent un certain pouvoir astringent, ce qui explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (Hennebelle *et al.*, 2004).

Les tanins sont également des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables se forment alors, ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation des lipides (Smythies, 1998).

Les tanins catéchiques présentent un pouvoir antioxydant très notable, en raison de leurs noyaux phénoliques et de la présence de groupes di- ou tri-hydroxyles sur le cycle B ainsi que des groupes méta-5,7-dihydroxyles sur le cycle A (Rahman *et al.*, 2006).

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Smythies, 1998). Elles permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Smythies, 1998 ; Bruneton, 1999).

# **Partie II**

## **Matériel et méthodes**

---



---

## Introduction :

*Ziziphus spina-christi*, connue sous le nom de *jujubier* ou "*sidr*", est une plante médicinale d'une grande importance dans la médecine traditionnelle des régions arides et semi-arides, notamment en Afrique du Nord et au Moyen-Orient. Grâce à sa richesse en composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les saponines et les polyphénols, elle suscite un intérêt croissant dans le domaine de la recherche scientifique pour l'étude de ses propriétés thérapeutiques. Ce travail pratique vise à évaluer certaines activités biologiques des feuilles de *Ziziphus spina-christi*, notamment l'activité antioxydante et les effets antimicrobiens, à travers des tests en laboratoire permettant une meilleure compréhension du potentiel pharmacologique et médicinal de cette plante.

### 1. Matériel végétal

Il s'agit des feuilles de *Ziziphus spina-christi*, récoltés en janvier 2025 de la région de Sidi Ahmed wilaya de Saïda de (34° 33' 00" nord, 0° 15' 35" est).

Le matériel végétal ainsi récolté a été trié, lavé, puis séché à l'air libre, à l'obscurité et loin des rayons du soleil pendant environ quinze jours. Il a ensuite été broyé en une poudre fine pour être soumis à des tests phytochimiques et à différentes extractions.



**Figure 10:** Situation de la région de la récolte

---

---

## 2. Matériel microbiologique

Le matériel microbiologique utilisé est représenté par cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumonia*) et quatre souche fongiques (*Aspergillus Niger*, *Candida albicans*, *Fusarium* , *Phytophthora infestans*).

**Tableau02 :** Souches microbiennes utilisées lors des tests microbiologiques

| Microorganismes                                                 | Coloration de Gram | Origine           |
|-----------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------|
| 1. <i>Staphylococcus aureus</i><br>( MRSA)                      | Gram positif       | ATCC 33591        |
| 2. <i>Bacillus cereus</i>                                       |                    | ATCC 11778        |
| 3. <i>Bacillus subtilis</i>                                     |                    | ATCC6633          |
| 4. <i>Escherichia coli</i>                                      | Gram Négatif       | ATCC 25922        |
| 5. <i>Klebsiella pneumoniae</i>                                 |                    |                   |
| 6. <i>Aspergillus niger</i><br>7. <i>Phytophthora infestans</i> | Champignon         | Souches Cliniques |
| 8. <i>Fusarium</i>                                              |                    |                   |
| 9. <i>Candida albicans</i>                                      | Levures            | ATCC 10231        |

## 3. Screening photochimique

Pour connaître la composition chimique du matériel végétal, nous avons fait un dépistage phytochimique. Celui-ci est basé sur des essais de solubilité, sur des réactions de coloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette. La coloration observée est généralement due à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration

---

---

dans une molécule. Dans de tels tests de caractérisation, nous provoquons cette insaturation en utilisant un réactif approprié.

Nous avons caractérisé les différents groupes chimiques (tanins, flavonoïdes, anthocyanes, coumarines, composés réducteurs, amidon stérols et stéroïdes, alcaloïdes etsaponines) en faisant référence aux techniques décrites par (**Paris *et al.*, 1969, Trease et Evans, 1996**) avec quelques modifications.

#### **4. Préparation des extraits :**

Les extractions solide / liquide de ces plantes ont été réalisées selon trois modes de préparation : infusion aqueuse, extrait aqueux et extrait éthanolique, décrits **par Paris *et al.*, en (1969)**.

##### **A. Infusion aqueuse :**

- Verser 100 ml d'eau distillée bouillante sur 5g du matériel végétal.
- Laisser le mélange 15-20 min
- Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

##### **B. Extrait aqueux :**

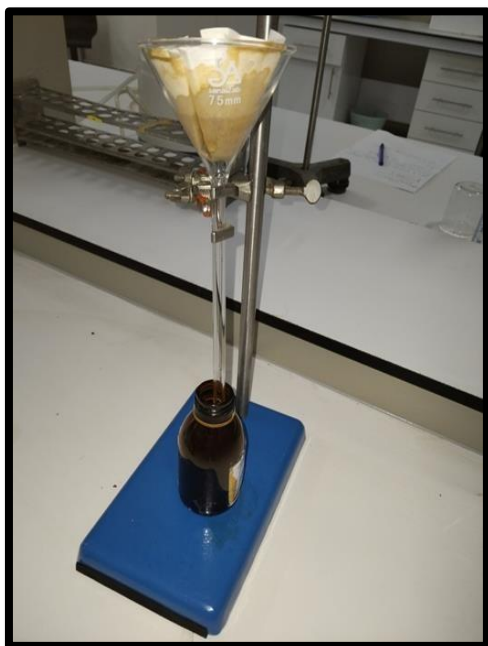
Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et porter sur une chauffe ballon :

- Mélanger 5g de matériel végétal avec 100 ml de l'eau distillée.
- Chauffer à une température minimum pendant 1 heure.
- Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

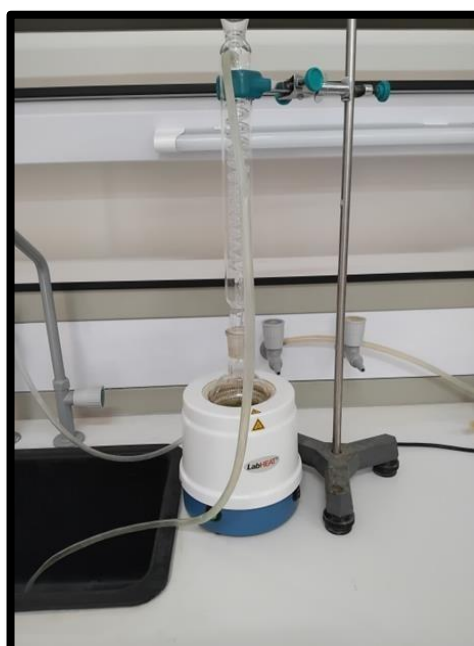
##### **C. Extrait éthanolique :**

Cet extrait est préparé de la même manière que l'extrait aqueux en utilisant l'éthanol à la place du l'eau distillée,

- Mélanger 5g de matériel végétal dans 100 ml de l'éthanol.
  - Chauffer à une température minimum pendant 1 heure.
  - Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.
-



(A)



(B)

**Figure 11 :** Infusion aqueuse du matériel végétal(a) ; Décoction du matériel végétal(b).

## 5. Différentes classes recherchées

### 5.1. Les saponosides :

2ml de l'infusion aqueux avec 2 ml d'eau distillé sont bien agiter pendant 2mn La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides. (Karumi *et al* ; 2004)

### 5.2. Les anthocyanes :

Un volume de 2ml d'infusé aqueux est additionné à 2ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray *et al.*, 1971 ; Paris *et al.*, 1969).

### 5.3. L'amidon :

Traiter 5ml de l'extrait aqueux avec 10ml NaOH et le réactif d'Amidon. L'apparition d'une coloration bleu violacé indique la présence d'amidon. (Ben Mehdi ; 2000)

---

#### **5.4. Les coumarines :**

Une quantité de 1g de poudre végétale est solubilisée dans quelques gouttes d'eau chaude, la solution obtenue est recouverte avec du papier imbibé de NaOH dilué et est portée à ébullition. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence révèle la présence de coumarines. **(Ben Mehdi ; 2000)**

#### **5.5. Les alcaloïdes :**

Nous avons procédé à une macération de 24 heures de 2 grammes de poudre végétale mélangés à 50ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué au demi et à de l'eau distillée. Nous avons filtré le mélange et rincé à l'eau de manière à obtenir 50ml de filtrat. Ensuite nous avons pris deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit 1ml du macérat. Nous avons ajouté dans le tube n° 1, 5 gouttes de réactif de Mayer et dans le tube n° 2, 5 gouttes de réactif de Wagner. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes. **(Paris *et al.*, 1969).**

#### **5.6. Les flavonoïdes :**

On prend 5ml de l'extrait éthanolique et on ajoute, 1ml d'HCl concentré et 1g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge-rose (+) présence des flavonoïdes, l'absence des flavonoïdes. **(Karumi *et al* ; 2004)**

#### **5.7. Les tannins :**

Un volume de 1ml de l'extrait éthanolique, est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Après quelques minutes d'incubation, la coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catécholiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques. **(Karumi *et al* ; 2004)**

#### **5.8. Les composés réducteurs :**

On ajoute 20 gouttes de liqueur de Fehling à 1ml de l'extrait éthanolique avec l'eau distillé puis chauffer, un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité rouge brique.

---

---

## 5.9. Stérols et triterpènes :

Deux essais ont été effectués :

► Essai 1 : Test pour les stérols et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C) (**Trease et Evans, 1987**).

► Essai 2 : Test pour les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydride acétique/ chloroforme (5/5 : V/V) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Liebermann-Burchardt).

Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques (**Trease et Evans, 1987**).

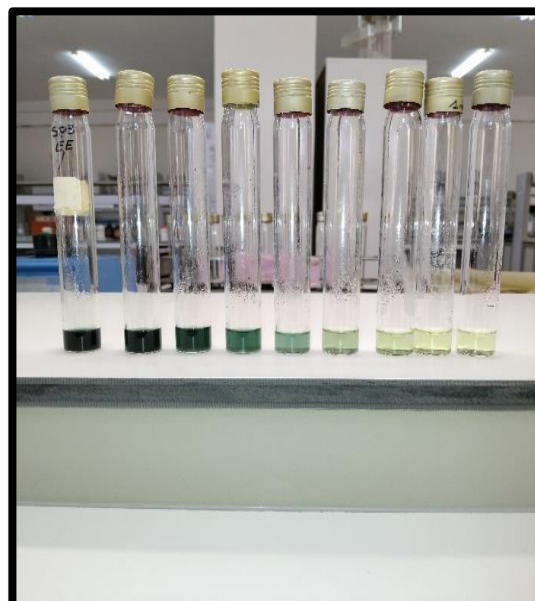
## 6. Étude de l'activité antioxydant

### 6.1. Activité de capacité Antioxydant total (CAT) :

Ce test est basé sur la réduction du molybdène ( $\text{Mo}^{6+}$ ) en molybdène ( $\text{Mo}^{5+}$ ) par les huiles essentielles. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/ $\text{Mo}^{5+}$  de couleur verte (**Prieto *et al.*, 1999**).

Une prise de 0.1 ml d'extrait convenablement dilué est combinée dans un tube avec 1ml de solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ , 28 mM) et de molybdate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après un repos de 6 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'HE. L'activité antioxydante totale est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG.g<sup>-1</sup> MS).

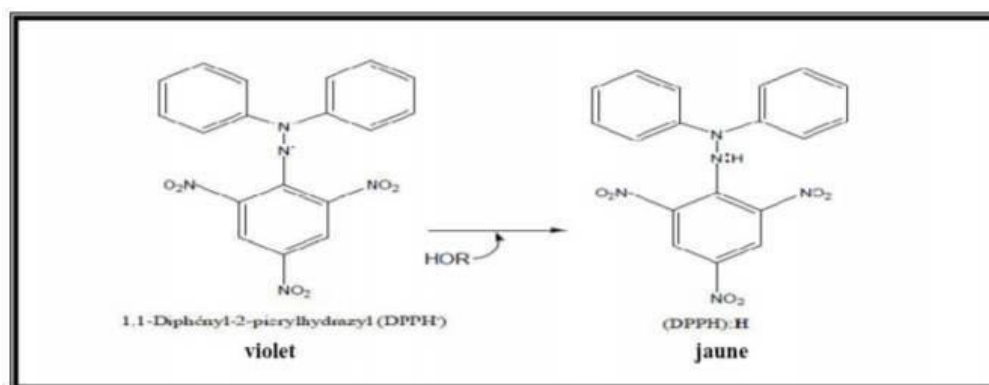
---



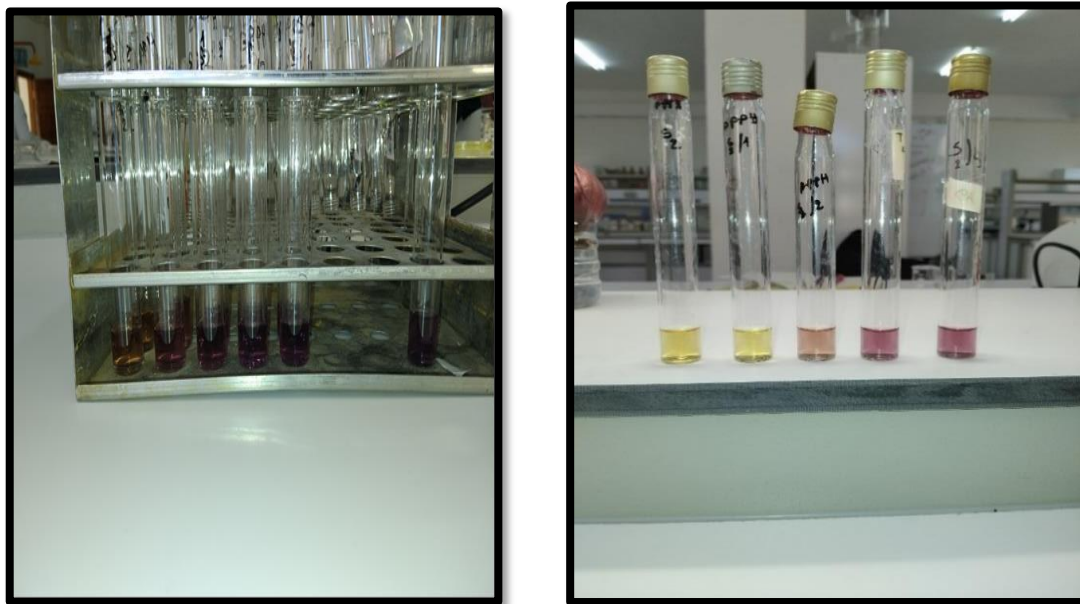
**Figure12** : les dosages de l'activités antioxydant totale

## 6.2. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH :

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme de radical libre et de la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (**Bozin *et al.*, 2008**). Cette méthodologie est réalisée en utilisant un lecteur de microplaque.



**Figure 13** : Réaction d'un donneur d'hydrogène(antioxydant)avec le radical DPPH°  
(**Ancerewicetal., 1998**).



**Figure 14 :** Réduction de radical DPPH (de couleur violette au diphényl picryl-hydrazine  
(De couleur jaune).

#### ❖ Mise en œuvre pratique

On prépare des dilutions à différentes concentrations à partir d'une concentration de solution mère à 5mg/ml des extraits aqueux et éthanoliques (les dilutions se font dans l'eau distillée déionisée des extraits aqueux et les autres par de l'éthanol.

Dans une microplaque (96puits) on dépose 30  $\mu$ L des extraits a différentes concentrations et on ajoute 270  $\mu$ L de la solution méthanolique de DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl ;  $p_m=394.32$  g/mol ;  $6 \cdot 10^{-5}$ ). Ensuite, Le mélange réactionnel a été incubé à température ambiante pendant une heure dans l'obscurité, et l'absorbance a été mesurée à 515 nm avec trois répétitions et trois lectures. Pour le blanc, le méthanol est le contrôle négatif (en remplaçant l'extrait par l'eau ou le méthanol).LeTrolox et l'acide ascorbique, hydroxyanisolebutylé (BHA) sont utilisé comme un contrôle positif pour les extraits et les huiles essentielles respectivement. L'activité de piégeage des radicaux (RSA) est calculée en pourcentage de décoloration de DPPH en utilisant l'équation :

$$\text{RSA}\% = [(\text{ADPPH}-\text{AS}) / \text{ADPPH}] \times 100$$



---

AS est l'absorbance de la solution contenant l'échantillon ADPPH est l'absorbance de la solution de DPPH.

La concentration inhibitrice de 50 % (appelée aussi  $EC_{50}$  « Efficient Concentration 50 ») est la dose d'extrait nécessaire pour provoquer une diminution de 50% de l'absorbance à 515 nm. Elle est calculée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés (pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés) (Bertoncelj *et al.*, 2007 ; Marxenet *et al.*, 2007 ; Scherer *et al.*, 2009 ; Fabri *et al.*, 2009).

L'activité antiradicalaire est exprimée en  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) en calculant l'inverse des valeurs des  $IC_{50}$  trouvées (Maisuthisakul *et al.*, 2007).<sup>3</sup>

$$AAR=1/IC_{50}$$

### 6.3. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power) :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par Pan *et al.*, en (2008), basée sur la réaction chimique de réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en  $\text{Fe}^{2+}$ . La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm.



**Figure 15 :** Réduction du fer ferrique en fer ferreux.

---

---

### ❖ Mise en œuvre pratique :

Un volume égal à 1ml de l'échantillon à différentes concentrations (0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2M (pH = 6.6) et 2,5 millilitres d'une solution de  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à la température ambiante. Ensuite, 2,5ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tpm pendant 10 minutes. 2,5ml du surnageant sont ajoutés à 2,5ml d'eau distillée et 500µl d'une solution de  $(FeCl_3, 6H_2O)$  à 0.1% sont ajoutés également au mélange. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type (BIBBY, Anadéo). L'acide ascorbique et le BHT sont utilisés comme contrôles positifs dans cette expérience aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales.

Expression des résultats : Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

## 7. Etude de l'activité antimicrobienne :

### 7.1. Activités antibactériennes par la méthode de diffusion en puits

Décrite par **Cooper et Woodman (1946)** reprise par Shroder et Messing (1949). Principe Elle consiste à découper la gélose en formant des trous circulaires (puits) pour verser l'extrait de différentes concentrations.

L'extrait diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surfa

- **Repiquage des souches bactériennes**

Les souches bactériennes à tester se préparent par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive, puis incubées pendant 24H à 37°C pour obtenir des colonies isolées.

---

---

- **Préparation de l'inoculum**

Prélever à l'aide d'une pipette pasteur des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées pour les homogénéiser dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

- **Préparation des milieux de cultures**

La gélose de Mueller-Hinton est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles, ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

- **Ensemencement**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries, en tournant la boîte d'environ 60°, il s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boîtes.

- **Préparation des puits**

- Découper des trous circulaires dans la gélose de chaque boîte de pétri pour former des puits.
- Remplir les puits avec 20 microlitres de l'extrait à tester à des concentrations différentes.

Des puits imprégnés de diméthylsulfoxyde (DMSO) vont servir comme témoin négatif.

- Incuber les boîtes pendant 24H à 37°C.

## **7.2. L'activité antifongique par la méthode de diffusion en puits**

La méthode de diffusion en puits constitue une technique simple, reproductible et largement utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique *in vitro*. Elle est adaptée à partir des travaux de **Cooper et Woodman (1946)**, complétés par ceux de **Shroder et Messing (1949)**, et est couramment employée dans les études modernes selon les recommandations de **Ríos et al. (1988)** et **Balouiriet al. (2016)**.

- **Préparation des souches fongiques**

Les souches de champignons filamenteux ou levuriformes (ex. *Aspergillus niger*, *Candida albicans*) sont cultivées sur gélose Sabouraud additionnée de chloramphénicol ou sur PDA (Potato Dextrose Agar), puis incubées à 28–30 °C pendant 5 à 7 jours afin de favoriser la sporulation ou la croissance.

---

---

- **Préparation de l'inoculum fongique**

Les spores ou cellules fongiques sont prélevées avec une solution saline stérile contenant 0,05 % de Tween 80, puis homogénéisées par vortex. La suspension est ajustée à une turbidité équivalente à 0,5 de l'échelle de Mc Farland (soit environ  $1 \times 10^6$  UFC/mL).

- **Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture (gélose Sabouraud ou PDA) est coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Une fois solidifié, il est laissé à sécher à température ambiante pendant environ 30 minutes afin d'éliminer l'humidité en excès.

- **Ensemencement**

L'inoculation est réalisée par étalement de la suspension fongique sur toute la surface de la gélose à l'aide d'un écouvillon stérile, pour assurer une couverture homogène du milieu.

- **Réalisation des puits**

Des puits circulaires de 6 mm de diamètre sont creusés dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Chaque puits est rempli avec 20 à 100  $\mu$ L de l'extrait à tester, à différentes concentrations. Un puits avec le solvant seul (ex. : DMSO) est utilisé comme témoin négatif, et un antifongique connu (ex. : amphotéricine B ou kétoconazole) comme témoin positif.

- **Incubation et lecture des résultats**

Les boîtes sont incubées à 28–30 °C pendant 48 à 72 heures. La formation d'un halo d'inhibition clair autour du puits indique une activité antifongique. Le diamètre de la zone d'inhibition (en mm) est mesuré à l'aide d'une règle ou d'un pied à coulisse.

### **7.2.1. Expression des résultats**

#### **a. Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne des extraits est évaluée par la méthode de diffusion en puits ou par disques. Elle se manifeste par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits ou des disques contenant la substance testée (**Boumaza, 2011**). La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (en mm) à l'aide d'une règle.

Selon **Benkiki (2006)**, l'interprétation des résultats se fait selon les critères suivants :

---

---

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm

Sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm

De plus, d'après **Arora et Kaur (2007)**, les bactéries présentant une zone claire d'inhibition supérieure à 12 mm sont considérées comme sensibles.

Les étapes pratiques comprennent :

Le dépôt soigneux des disques ou extraits à la surface de la gélose.

Une pré-incubation des boîtes pendant 2 heures à 4 °C pour favoriser la diffusion.

Une incubation pendant 24 heures à 37 °C.

### **b. Activité antifongique**

L'activité antifongique est également évaluée par la méthode de diffusion en puits ou par la méthode du milieu empoisonné, selon la nature de l'étude. L'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits ou du disque indique une activité antifongique potentielle (**Boumaza, 2011**).

Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle, et les critères d'interprétation sont similaires à ceux utilisés pour les bactéries (**Benkiki, 2006**) :

Non sensible (-) : < 8 mm

Sensible (+) : 9–14 mm

Très sensible (++) : 15–19 mm

Extrêmement sensible (+++) : > 20 mm

Les conditions expérimentales typiques incluent une incubation des boîtes à température ambiante ou à 28 °C pendant 48 à 72 heures, en fonction de la croissance du champignon testé.

### **7.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Un test de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) a été réalisé afin de préciser le caractère bactériostatique de *Zizyphus spina-christi* de vis-à-vis des souches

---

---

Étudiées. Selon **CHAUHAN *et al*, (2010)** la détermination de la CMI se fait par la technique de dilution en milieu liquide

### **Principe :**

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de Concentration décroissante en miel, en propolis et pollen. Après incubation à 37°C pendant 24h, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI, qui correspond à la plus faible Concentration en échantillon capable d'inhiber la croissance bactérienne.

### **Préparation des dilutions**

- ❖ Dilution en série de échantillant dans le milieu Mueller-Hinton (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%).

Mélanger 100 µL de échantillant avec 100 µL de milieu pour obtenir 50%, puis diluer Successivement.

### **Réaliser :**

- ❖ **Un Contrôle positif** : remplir une seule ligne de puits d'une microplaque avec Bactéries sans échantillant
- ❖ **Contrôle négatif** : remplir une seule ligne de puits d'une microplaque avec milieu de culture Mueller-Hinton sans bactéries

Ajouter 100 µL de chaque dilution dans les puits restants de la microplaque.

- ❖ Ajout de l'inoculum bactérien
- ❖ Préparer les suspensions bactériennes standardisées (0,5 McFarlane).
- ❖ Ajouter 100 µL de chaque suspension bactérienne à chaque ligne de puits

Contenant le échantillant dilué. Total par puits : 200 µL (100 µL miel propolis et pollen dilué + 100 µL Bactéries).

- ❖ Incubation
- ❖ Incuber à 37°C pendant 18-24h
- ❖ Lecture de la CMI (méthode visuelle)

### **7.3.1. Méthodes alternatives de confirmation :**

Bleu de bromothymol (BBT) (colorant pH-dépendant)

---

---

**Principe :**

BBT change de couleur en fonction de l'acidité produite par le métabolisme bactérien.

Avantages : Peu coûteux et facile à utiliser.

**Procédure :**

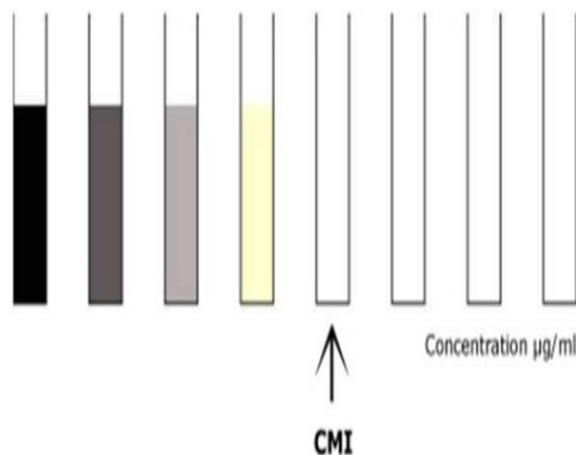
Ajouter 10  $\mu$ L de bleu de bromothymol (0,04% w/v) dans chaque puits.

Incuber 1-2 heures à 37°C.

**Observer :**

Bleu/vert = pas de croissance (pH neutre/basique).

Jaune = croissance bactérienne (acidification du milieu).

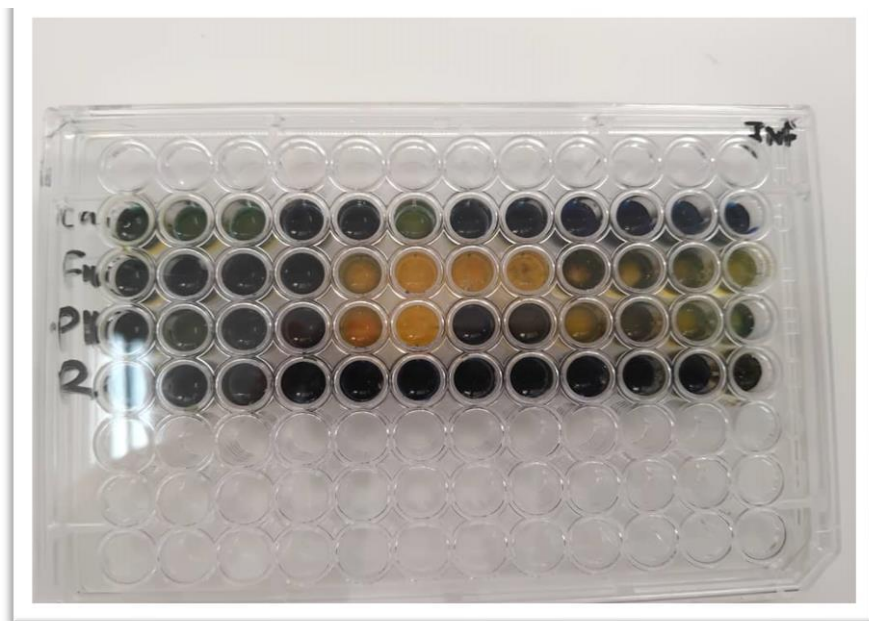


**Figure 16 :** Schéma représentant l'ensemencement en milieu liquide de la CMI

#### **7.4. Détermination de la concentration bactéricide minimale (CMB)**

Les concentrations bactéricides minimales (CMB) sont calculées en ajoutant 10  $\mu$ L de la CMI à des concentrations plus élevées au milieu de culture frais pour voir si les bactéries sont capables de croître et ce, après 24 heures d'incubation à 37 °C. La plus faible concentration sans croissance visible est définie comme CMB indiquant 99,5% de la mort de l'inoculum original. Le DMSO à (5%) est utilisé comme contrôle négatif.

---



**Figure 17 :** Détermination de la concentration Minimale Inhibitrice (CMI)



---

# **Partie III**

## **Résultats et discussion**

---

## 1. Screening phytochimique des plantes :

Les plantes médicinales sont considérées comme une riche source d'ingrédients qui peuvent être utilisés dans le développement et la synthèse de médicaments. En outre, ces plantes jouent un rôle essentiel dans le développement des cultures humaines dans le monde entier (Singh, 2015). Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux constituent une étape préliminaire de grande importance, car elles permettent de révéler la présence de constituants connus pour leurs activités physiologiques et leurs vertus médicinales

Les tests phytochimiques des feuilles de la plante saharienne *Ziziphus spina-christi* ont été réalisés sur différents extraits préparés à l'aide de solvants de polarités variées. La détection de ces composés chimiques repose sur des essais de solubilité, des réactions de précipitation ou de turbidité, des changements de couleur spécifiques ou encore un examen sous lumière ultraviolette. Les résultats du screening phytochimique sont présentés dans le **tableau 03** et **tableau 04**.

**Tableau 03** : Résultats des tests phytochimiques des extraits de *Ziziphus spina-christi*.

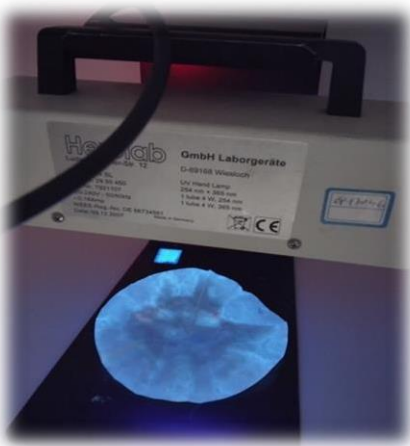
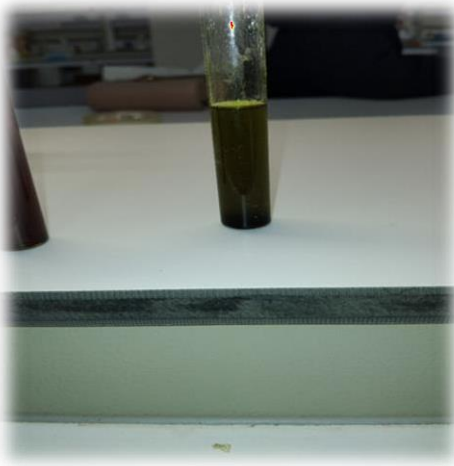
| Extrait         | Les tests           | Résultats |
|-----------------|---------------------|-----------|
| Infusion aqueux | Saponoside          | +++       |
|                 | Anthocyane          | —         |
| Aqueux          | Amidon              | —         |
|                 | Coumarine           | +++       |
| Poudre végétale | Alcaloïdes          |           |
|                 | Mayer               | +         |
|                 | Wagner              | ++        |
|                 | Tannis              | +++       |
|                 | Flavonoïdes         | +++       |
|                 | Composés réducteurs | —         |
|                 |                     |           |
| Éthanolique     |                     |           |
|                 |                     |           |



|             |   |
|-------------|---|
| Stérols     | — |
| Triterpènes | — |

(+) : Présence faible ; (+++) : Présence forte ; (++) : Présence moyenne ; (-) : Absence

**Tableau 04 :** photos des Résultats des tests de screening phytochimique des extraits.

|           |                                                                                     |                                                                                      |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Coumarine |   |   |
| Amidon    |  |  |

LES Composés  
réducteurs



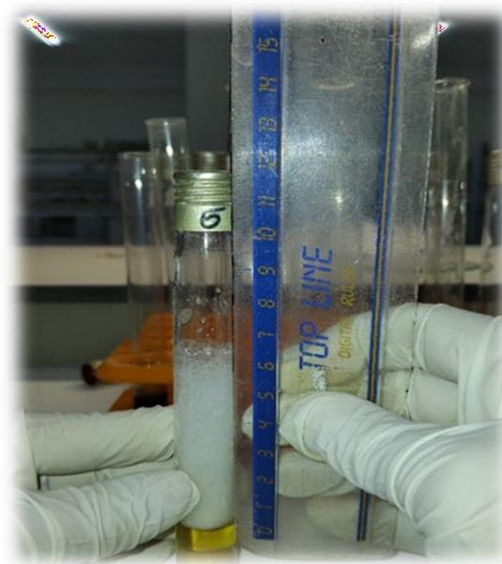
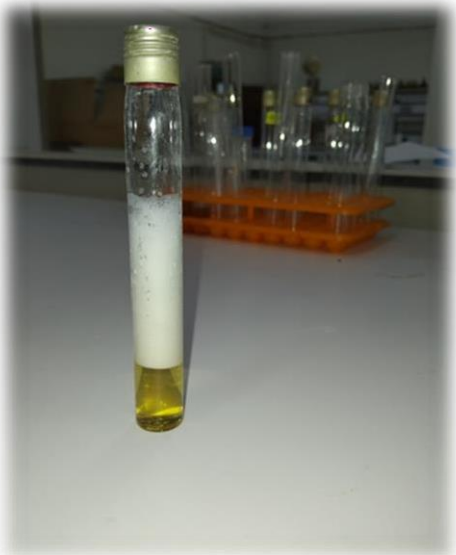
Les flavonoïdes



Les tanines



Les saponosides :



|                              |                                                                                    |                                                                                     |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Les<br/>anthocyanes :</p> |   |  |
| <p>Les alcaloïdes :</p>      |  |  |

Les analyses phytochimiques préliminaires des différentes parties étudiées de *Ziziphus spina-christi* ont révélé une richesse qualitative et quantitative en métabolites secondaires présentant un intérêt biologique et pharmacologique. Une forte présence de saponosides, flavonoïdes, tanins, coumarines ainsi que des alcaloïdes détectés par les réactifs de Mayer et de Wagner a été mise en évidence, témoignant de la diversité chimique de l'extrait végétal.

La forte teneur en saponosides reflète le potentiel thérapeutique de cette plante, notamment en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (Cheok *et al.*, 2014). Par ailleurs, les flavonoïdes sont des composés polyvalents largement documentés pour leurs activités antioxydantes puissantes, ainsi que pour leurs effets anti-inflammatoires, antiviraux et antibactériens (Panche *et al.*, 2016).

---

La richesse en tanins suggère un rôle important dans les activités astringentes et antiseptiques, car ces composés sont capables de précipiter les protéines et de perturber les membranes cellulaires bactériennes (Scalbert, 1991). Quant aux coumarines, leur présence abondante appuie leur implication dans divers effets biologiques, notamment une activité anticoagulante, antibactérienne et antioxydante (Venugopala et al., 2013). De même, la détection d'alcaloïdes, bien que variable selon les réactifs utilisés, souligne leur importance pharmacologique, en particulier pour leurs effets analgésiques, anticancéreux et antimicrobiens (Cushnie et al., 2014).

En revanche, aucun résultat positif n'a été observé pour les anthocyanes, l'amidon, les composés réducteurs, les stérols ni les triterpènes. Cette absence pourrait être liée à plusieurs facteurs, notamment le type de tissu végétal analysé (feuilles, fruits, etc.), la nature du solvant d'extraction, ou encore la sensibilité des réactifs utilisés (Harborne, 1998). Néanmoins, l'absence de ces groupes chimiques ne diminue pas la valeur biologique de l'extrait, mais oriente plutôt son potentiel thérapeutique vers des usages spécifiques.

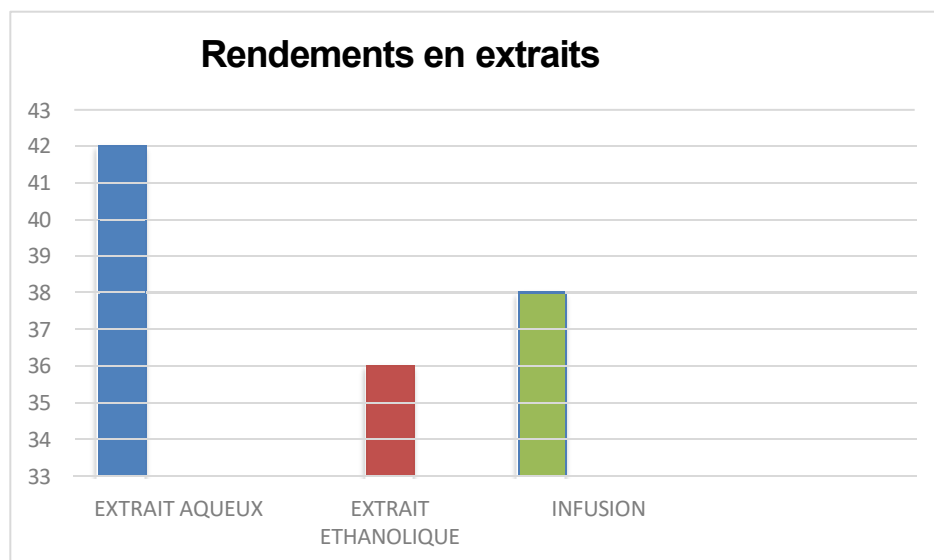
Ces résultats confirment que *Ziziphus spina-christi* constitue une source prometteuse de métabolites bioactifs naturels, soutenant ainsi ses utilisations traditionnelles en médecine populaire, notamment dans le traitement des infections, des affections cutanées et des troubles digestifs. Ces données ouvrent également la voie à des recherches approfondies pour l'isolement et la caractérisation des composés actifs ainsi que l'évaluation de leur potentiel pharmacologique.

## **2. Rendement des extraits**

L'extraction des principes actifs, à partir de la matière végétale, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leurs pouvoirs biologiques. Les rendements massiques de nos extraits sont représentés dans la **figure 18**.

---

---



**Figure 18 :** comparaison entre les rendements en extraits sélectif de *Ziziphus spina-christi*

L'analyse comparative des rendements en extraits issus des feuilles de *Ziziphus spina-christi* a révélé des différences significatives selon le type de solvant utilisé. L'extrait aqueux a présenté le rendement le plus élevé avec un taux d'extraction de 41,5 %, suivi par l'extrait éthanolique (18,5 %) et enfin l'infusion aqueuse (13,2 %).

Ce résultat peut s'expliquer par la polarité élevée de l'eau, qui permet d'extraire un large éventail de composés hydrosolubles, notamment les sucres, flavonoïdes glycosylés, tanins et autres métabolites secondaires polaires. En revanche, l'éthanol, étant un solvant à polarité intermédiaire, favorise l'extraction de composés légèrement moins polaires, ce qui se traduit par un rendement inférieur mais potentiellement plus concentré en principes actifs (Dai et Mumper, 2010).

Quant à l'infusion, bien que reposant sur une extraction à chaud, elle peut entraîner la dégradation thermique de certains composés sensibles, ce qui expliquerait son rendement relativement faible. Par conséquent, le choix du solvant et de la méthode d'extraction est déterminant pour optimiser à la fois la quantité et la qualité des composés extraits.

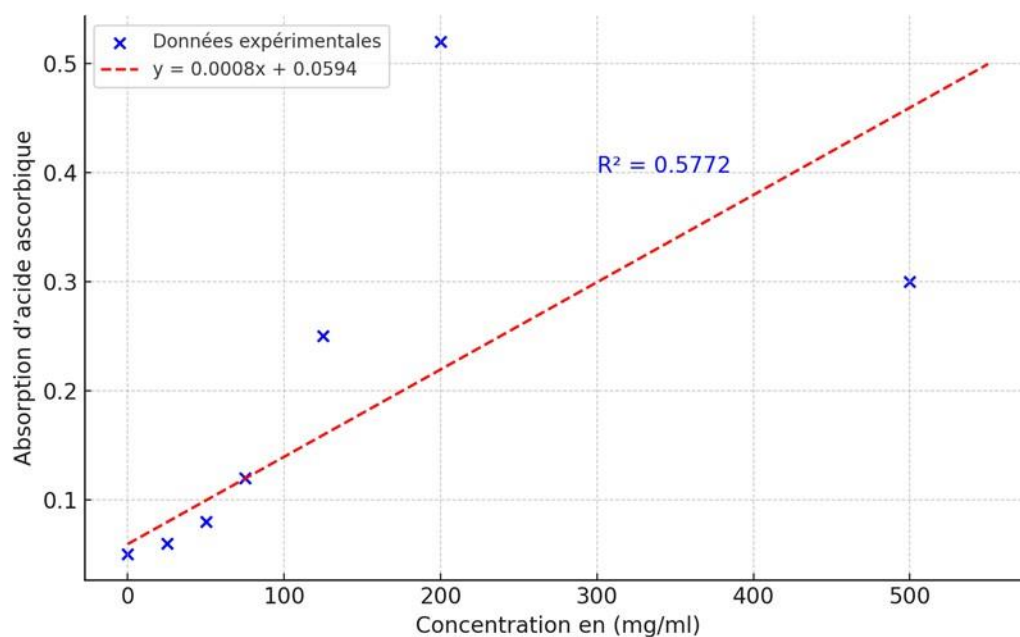


### 3. Étude de l'activité antioxydant

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de plantes a été réalisée à l'aide de trois techniques chimiques : la réduction du fer (FRAP), le piégeage du radical libre DPPH, et l'évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT).

#### 3.1. Activité de capacité Antioxydant total (CAT) :

Capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de *Ziziphus spina-christi* est exprimé en mg équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS), à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide gallique comme référence ( $y = 0,0008x + 0,0594$ ,  $R^2 = 0,5772$ ) (**Figure 19**). Les résultats, qui montrent la capacité antioxydante de des extraits de *Ziziphus spina-christi*, et leur mélange, sont présentés dans le **Tableau 05**.



**Figure 19 :** Courbes D'étalonnage D'acide Ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante totale

**Tableau 05 :**la capacité antioxydante totale CAT des extraits de *Ziziphus spina-christi*, seules et en combinaison

| Extrait             | En mg EAA/g MS |
|---------------------|----------------|
| Extrait aqueux      | 1253.25        |
| Extrait éthanolique | 3980.75        |
| Infusion            | 2728.25        |

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de *Ziziphus spina-christi*, exprimée en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS), a montré des variations notables en fonction du type d'extrait utilisé. L'extrait éthanolique a présenté la valeur la plus élevée (3980,75 mg EAA/g MS), suivi de l'infusion (2728,25 mg EAA/g MS), tandis que l'extrait aqueux a affiché la plus faible activité antioxydante (1253,25 mg EAA/g MS).

Ces différences peuvent être attribuées à la polarité des solvants utilisés lors de l'extraction. En effet, l'éthanol permet l'extraction de composés phénoliques lipophiles tels que les flavonoïdes et les triterpènes, reconnus pour leur fort pouvoir antioxydant (**Cowan, 1999**). L'infusion, réalisée à chaud, favorise quant à elle l'extraction de composés hydrosolubles comme les tanins condensés, ce qui explique sa performance intermédiaire.

Ces résultats confirment la richesse en métabolites secondaires antioxydants de cette plante, et corroborent les données de la littérature sur son potentiel thérapeutique naturel.

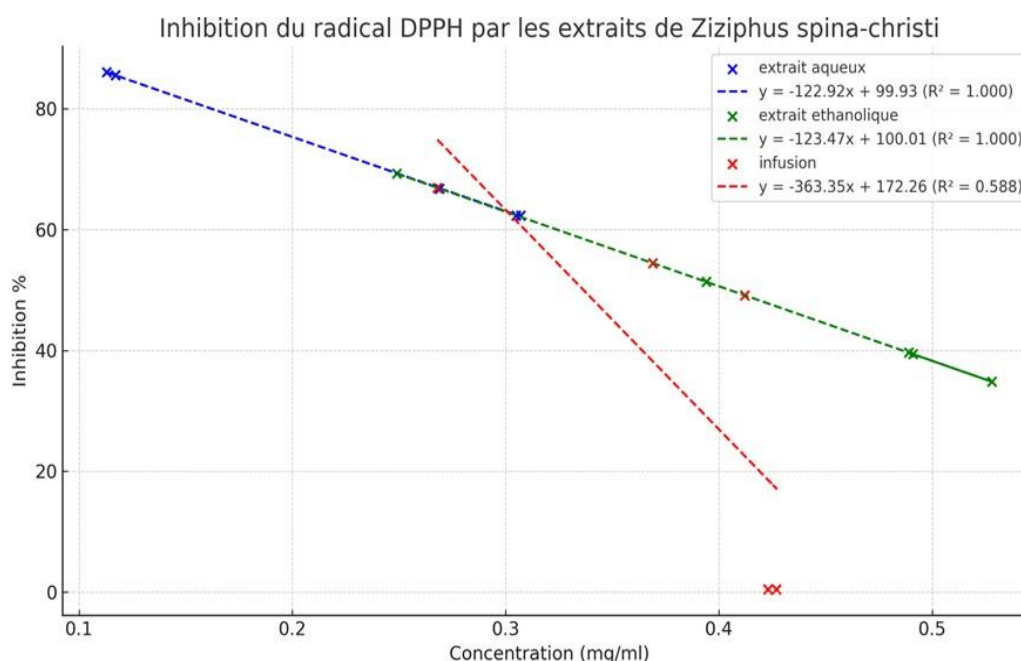
### **3.2. Le test de piégeage du radical DPPH**

Nous avons testé le pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical libre DPPH des trois extraits : aqueux, éthanolique et par infusion. Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités antioxydantes. Ce radical, de couleur violette, accepte un électron ou un atome d'hydrogène pour devenir une molécule stable de couleur jaune. La diminution de l'absorbance, liée à cette réduction, a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm.

Les résultats expérimentaux ont permis de tracer les courbes linéaires représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations testées (**Figure 20**).

Ces profils graphiques nous ont permis de déterminer les valeurs de  $IC_{50}$  pour chaque extrait (**Tableau 06**), en vue de comparer leur efficacité antioxydante respective.

L'analyse de ces profils a permis d'identifier l'extrait présentant la meilleure capacité de piégeage des radicaux libres.



**Figure 20:** Courbes linéaires de l'inhibition du radical DPPH par les extraits de *Ziziphus spina-christi*.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux, éthanoliques et par infusion de *Ziziphus spina-christi* par le test DPPH a permis de mettre en évidence une capacité variable de neutralisation des radicaux libres selon le solvant d'extraction utilisé. L'extrait aqueux a montré la plus forte activité antioxydante, avec un pourcentage d'inhibition dépassant 85 % à faible concentration et une valeur d' $IC_{50}$  estimée à 0.406 mg/ml. Ce résultat suggère une richesse en composés phénoliques hydrosolubles, tels que les flavonoïdes et les tanins condensés, qui sont connus pour leur fort pouvoir antioxydant. L'efficacité de cet extrait peut également s'expliquer par la préservation de molécules actives thermosensibles lors de l'extraction à température modérée.

L'extrait éthanolique a présenté une activité intermédiaire ( $IC_{50} \approx 0.405$  mg/ml), ce qui indique également une présence importante de métabolites secondaires bioactifs, mais peut-être moins polaires que ceux extraits à l'eau. L'éthanol étant un solvant à polarité modérée, il permet d'extraire aussi bien les flavonoïdes que certains alcaloïdes et composés phénoliques aux structures complexes.

L'extrait obtenu par infusion a, quant à lui, révélé une activité nettement plus faible, avec une inhibition très réduite et un comportement irrégulier sur le graphe. Cette diminution peut être due à la dégradation thermique des composés actifs sous l'effet de la chaleur prolongée pendant l'infusion, comme cela a été suggéré dans plusieurs études antérieures.

Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux de la littérature. Par exemple, **Al-Reza et al. (2010)** et **Abdoul-Latif et al. (2014)** ont rapporté une forte activité antioxydante pour les extraits aqueux de *Ziziphus spina-christi*, mettant en avant leur richesse en polyphénols. De même, une étude menée par **El Ghazali et al. (2012)** a montré que l'activité antioxydante diminue significativement après exposition à la chaleur, ce qui corrobore la faible performance de l'infusion dans notre étude.

Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique de *Ziziphus spina-christi* en tant que source naturelle d'antioxydants. Parmi les extraits testés, l'extrait aqueux apparaît comme le plus prometteur pour une utilisation pharmaceutique ou nutraceutique. Ces données encouragent une valorisation de cette plante dans la formulation de produits naturels de prévention du stress oxydatif, à condition de choisir un procédé d'extraction respectueux de l'intégrité des molécules actives.

**Tableau06** : comparatif des valeurs  $IC_{50}$  des extraits de *Zizyphus spina-christi* et d'autre références

| Type d'extrait / Référence        | $IC_{50}$ (mg/ml) | Remarque                                                     |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------|
| Extrait aqueux (cette étude)      | 0,406             | Bonne activité antioxydante, meilleure que plusieurs études  |
| Extrait éthanolique (cette étude) | 0,405             | Activité comparable à l'extrait aqueux, supérieure au témoin |
| Infusion (cette étude)            | > 0,5             | Faible activité, $IC_{50}$ non atteinte                      |

|                                                   |       |                                                  |
|---------------------------------------------------|-------|--------------------------------------------------|
| <b>Témoin (référence)</b>                         | 0,81  | Moins actif que les extraits de <i>Ziziphus</i>  |
| <b>Abdoul-Latif <i>et al.</i> (2014) – Aqueux</b> | 0,55  | Activité modérée                                 |
| <b>Al-Reza <i>et al.</i> (2010) – Éthanolique</b> | 0,61  | Moins efficace que notre extrait éthanolique     |
| <b>El Ghazali <i>et al.</i> (2012) – Infusion</b> | > 0,5 | Faible activité liée à la dégradation thermique  |
| <b>Thé vert (Zhang <i>et al.</i> 2009)</b>        | 0,21  | Très forte activité antioxydante                 |
| <b>Thym (Bouaziz <i>et al.</i> 2010)</b>          | 0,39  | Activité similaire à celle du <i>Ziziphus</i>    |
| <b>Grenade (Elfalleh <i>et al.</i> 2011)</b>      | 0,43  | Comparable à l'extrait aqueux du <i>Ziziphus</i> |

Les résultats obtenus montrent une forte capacité antioxydante des extraits de *Ziziphus spina-christi*, en particulier les extraits aqueux et éthanoliques, qui ont présenté des valeurs  $IC_{50}$  de 0,406 et 0,405 mg/ml respectivement. Ces valeurs sont nettement inférieures à celle du témoin utilisé (0,81 mg/ml), soulignant l'efficacité remarquable de ces extraits dans la neutralisation du radical libre DPPH.

Comparées aux études antérieures, nos valeurs sont meilleures. L'extrait aqueux présente une  $IC_{50}$  plus faible que celle rapportée par **Abdoul-Latif *et al.* (2014)** (0,55 mg/ml), tandis que l'extrait éthanolique est plus actif que celui de **Al-Reza *et al.* (2010)** (0,61 mg/ml). Cette amélioration peut être attribuée à la qualité de la plante, à la méthode d'extraction ou aux conditions environnementales.

En revanche, l'extrait par infusion a montré une faible activité antioxydante, n'atteignant pas 50 % d'inhibition, ce qui suggère une  $IC_{50} > 0,5$  mg/ml. Ce résultat est cohérent avec celui rapporté par **El Ghazali *et al.* (2012)**, qui ont expliqué cette faible activité par la dégradation thermique des composés phénoliques sensibles.

En comparaison avec d'autres plantes médicinales comme le thé vert (0,21 mg/ml), le thym (0,39 mg/ml) et la grenade (0,43 mg/ml), le *Ziziphus spina-christi* se positionne comme une source prometteuse de composés antioxydants naturels. Bien qu'il ne rivalise pas avec les

---

antioxydants de référence purs comme l'acide ascorbique, sa richesse en flavonoïdes et en composés phénoliques le rend utile et biologiquement sûr.

Donc, les extraits de *Ziziphus spina-christi*, notamment les extraits aqueux et éthanoliques, démontrent un fort potentiel dans les applications pharmaceutiques et nutritionnelles pour combattre le stress oxydatif, en valorisant les approches naturelles de la médecine traditionnelle.

### 3.3. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)

C'est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide, reproductible et facile à exécuter. Cette méthode est basée sur la capacité des composés phénoliques à réduire le fer ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  en fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$ . Cette puissance de réduction constitue l'un des mécanismes majeurs de l'activité antioxydante.

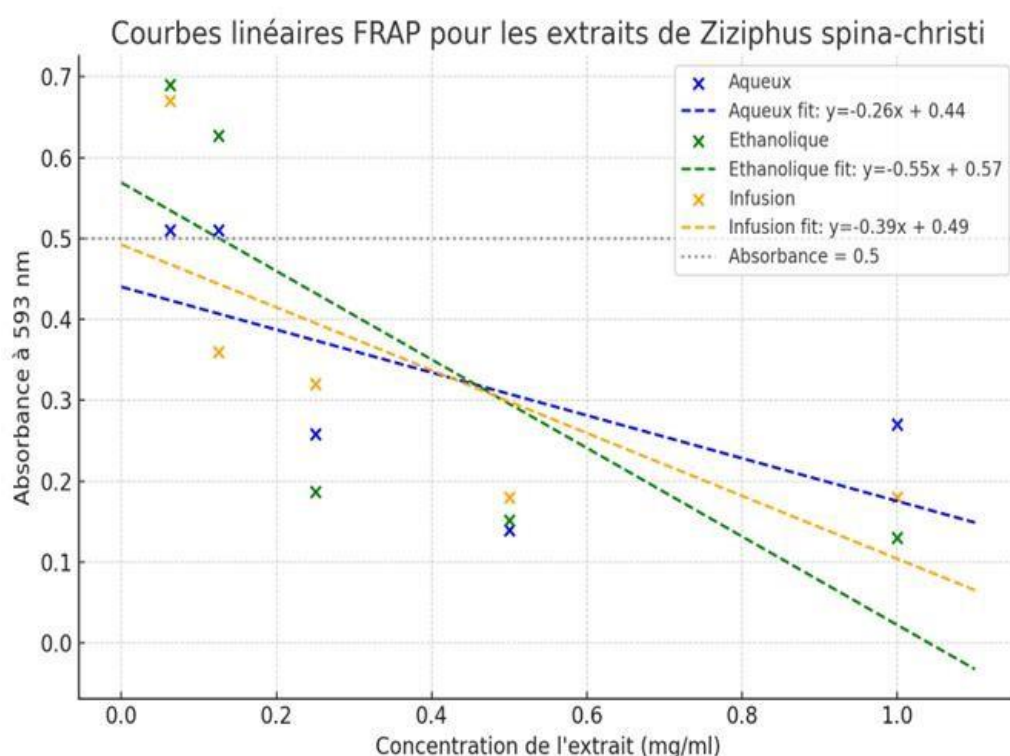
Dans notre travail, nous avons choisi d'appliquer cette méthode (FRAP) sur les trois extraits de *Ziziphus spina-christi* : aqueux, éthanolique et par infusion. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes linéaires pour chaque extrait, illustrant leur pouvoir réducteur respectif.

Les résultats représentés dans les **figures (21)** nous ont montré que la capacité de réduction du fer ferrique est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

Ces observations sont cohérentes avec les valeurs de  $\text{IC}_{50}$  obtenues (**Tableau 07**), qui soulignent l'efficacité antioxydante variable selon le type de solvant utilisé.

**Tableau 07 :** Valeurs de  $\text{IC}_{50}$  des extraits de *Ziziphus spina-christi*

| Extrait             | $\text{IC}_{50}$ (mg/ml) |
|---------------------|--------------------------|
| Extrait aqueux      | 1.88                     |
| Extrait éthanolique | 1.11                     |
| Infusion            | 1.08                     |



**Figure 21 :** Courbes linéaires représentant les résultats du test FRAP pour les extraits de *Ziziphus spina-christi* .

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ziziphus spina-christi* à l'aide du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) a révélé une capacité réductrice notable pour les trois extraits testés (aqueux, éthanolique et infusion), bien que leurs efficacités varient. Les valeurs de  $IC_{50}$  obtenues sont respectivement de 1.88 mg/ml pour l'extrait aqueux, 1.11 mg/ml pour l'extrait éthanolique et 1.08 mg/ml pour l'infusion, ce qui indique que l'infusion présente la meilleure activité antioxydante, suivie de près par l'extrait éthanolique. Ces résultats suggèrent que l'infusion permet une extraction optimale des composés antioxydants hydrosolubles comme les flavonoïdes et les polyphénols, tandis que l'extrait éthanolique révèle la présence de composés phénoliques et semi-polaires bioactifs. En revanche, l'extrait aqueux présente une efficacité moindre, probablement en raison de la faible solubilité de certains composés actifs dans l'eau à température ambiante. Les courbes linéaires obtenues entre la concentration des extraits et l'absorbance à 593 nm montrent une corrélation claire dose-réponse, ce qui confirme la fiabilité des données expérimentales. Par comparaison avec des études antérieures, telles que celle de **El-Bagir *et al.* (2019)** qui rapportent des  $IC_{50}$  entre 1.2 et 1.6 mg/ml, ou celle de **Al-Farsi *et al.* (2021)** avec une  $IC_{50}$  de 1.5 mg/ml pour un extrait aqueux,

---

les résultats actuels sont cohérents et témoignent de l'activité antioxydante significative du *Ziziphus spina-christi*. Cependant, ces extraits restent moins puissants que le Trolox ( $IC_{50} \approx 0.81$  mg/ml), un antioxydant de référence pur.

les extraits de *Ziziphus spina-christi* montrent un potentiel antioxydant prometteur, particulièrement en infusion, ce qui soutient leur usage traditionnel contre le stress oxydatif. Ces résultats ouvrent la voie à l'exploitation de cette plante dans les industries pharmaceutiques et alimentaires, tout en soulignant la nécessité de poursuivre l'analyse phytochimique pour identifier les composés bioactifs responsables de cette activité



---

## 4. Les activités biologiques

### 4.1. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits de *Ziziphus spina-christi* a été évaluée par la méthode de diffusion par les puits ; de différents extraits de la plante (aqueux, éthanolique et infusion) ont été testés contre 5 souches pathogènes, comprenant (*Staphylococcus aureus* et, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumonia* et, *Escherichia coli*), ainsi que 4 souches fongiques (*Candida Albicans*, *Aspergillus Niger* et *Fusarium* et *Phytophthora infestans*). L'objectif était d'évaluer le potentiel antimicrobien des extraits de la plante par la présence ou l'absence de zones d'inhibition autour des disques et la mesure de leur diamètre (en mm). Ces résultats permettent de déterminer l'efficacité relative de chaque type d'extrait contre les micro-organismes testés, et sont résumés dans le **(tableau 08)**.

**Tableau 08 :** diamètre d'inhibition des souches testés vis-à-vis les différents extraits en mm

---

|  |
|--|
|  |
|--|

---

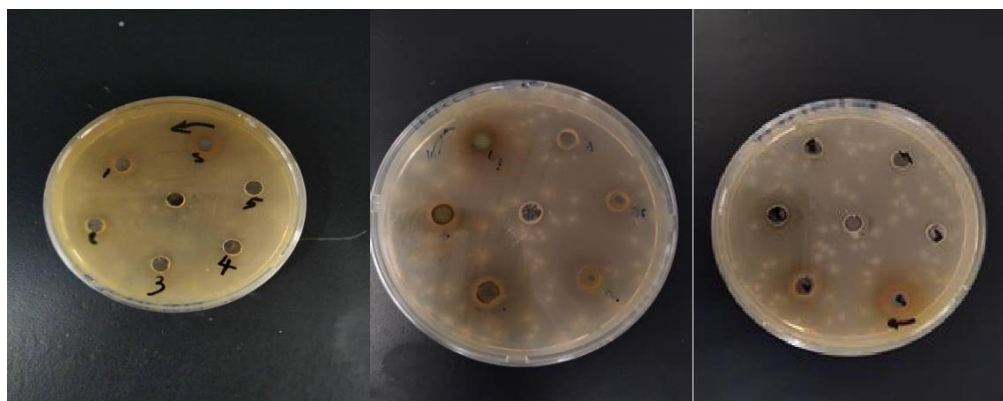
| Activité antimicrobienne     |                                               |    |     |      |       |      |                     |    |     |      |       |      |          |    |     |      |       |      |
|------------------------------|-----------------------------------------------|----|-----|------|-------|------|---------------------|----|-----|------|-------|------|----------|----|-----|------|-------|------|
|                              | Les extraits de <i>Ziziphus spina christi</i> |    |     |      |       |      |                     |    |     |      |       |      |          |    |     |      |       |      |
|                              | Extrait aqueux                                |    |     |      |       |      | Extrait éthanolique |    |     |      |       |      | Infusion |    |     |      |       |      |
|                              | Mg/ml                                         |    |     |      |       |      | Mg/ml               |    |     |      |       |      | Mg/ml    |    |     |      |       |      |
| Bactéries                    | P                                             | 1  | 0.5 | 0.25 | 0.125 | 0.06 | P                   | 1  | 0.5 | 0.25 | 0.125 | 0.06 | P        | 1  | 0.5 | 0.25 | 0.125 | 0.06 |
| Gram -                       |                                               |    |     |      |       |      |                     |    |     |      |       |      |          |    |     |      |       |      |
| <i>E coli</i>                | 28                                            | 20 | 15  | /    | /     | /    | 17                  |    | 15  | 18   | 13    | /    | 13       | 10 | 20  | 10   | 18    | /    |
| <i>Klebsiella</i>            | 14                                            | 14 | 9   | 8    |       |      | 17                  | 20 | 19  | /    | /     | /    | 12       | 17 | 10  | 16   | 17    | 9    |
| <i>Gram +</i>                |                                               |    |     |      |       |      |                     |    |     |      |       |      |          |    |     |      |       |      |
|                              |                                               |    |     |      |       |      |                     |    |     |      |       |      |          |    |     |      |       |      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 15                                            | 14 | 12  | 9    | 8     | /    | 19                  | 14 | 15  | 10   | 15    | 17   | 12       | 10 | 9   | 11   | 10    | 9    |
| <i>Bacillus subtilis</i>     | /                                             | /  | /   | /    | /     | /    | 16                  | 15 | 13  | 12   | 10    | 9    | 24       | 23 | 20  | 17   | 11    | 9    |
| <i>Bacillus cereus</i>       | 25                                            | 21 | 18  | 17   | 19    | 13   | 30                  | 28 | 26  | 29   | 25    | 25   | 15       | 12 | 10  | 8    | 10    | 20   |

---

|                                   |   |    |    |    |    |    |    |   |   |   |   |    |    |    |   |   |   |    |
|-----------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|---|---|---|---|----|----|----|---|---|---|----|
| <i>Candida albicans</i>           | / | /  | /  | /  | /  | /  | /  | / | / | / | / | /  | /  | /  | / | / | 6 | 15 |
| <i>Aspergillus Niger</i>          | / | /  | /  | 15 | 15 | 20 | /  | / | / | / | / | /  | /  | /  | / | / | / | /  |
| <i>Fusarium</i>                   | / | /  | /  | /  | /  | /  | /  | / | / | / | / | /  | 22 | 22 | / | / | / | /  |
| <i>Phytophthora<br/>infestans</i> | / | 15 | 16 | /  | 2  | 20 | 12 | 8 | / | / | / | 10 | /  | /  | / | / | / | /  |

---

Les diamètres des zones d'inhibition moins de 7 mm ont été enregistrées comme inactifs entre 7 et 10 mm ont été enregistrés comme faiblement active, de 10 mm et moins de 15 mm, ont été enregistrés comme modérément actif et beaucoup active quand un diamètre d'inhibition de la croissance a été de plus de 16 mm



(A)

(B)

(C)

**Figure 22 :** Les résultats des souches bactériennes *E coli* testé contre les extraits de *ziziphus spina christi*.

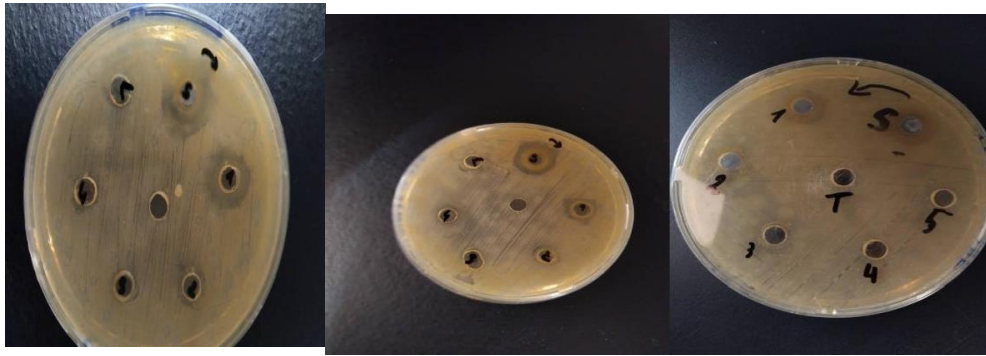


(A)

(B)

(C)

**Figure 23 :** Les résultats des souches bactériennes *Klebsiella* testé contre les extraits de *Ziziphus spina christi*

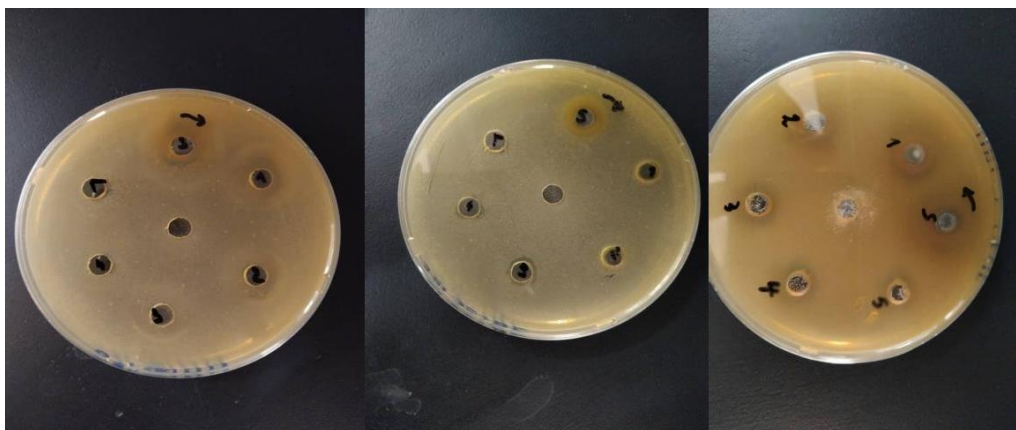


(A)

(B)

(C)

**Figure 24 :** Les résultats des souches bactériennes *Staphylococcus aureus* teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*.

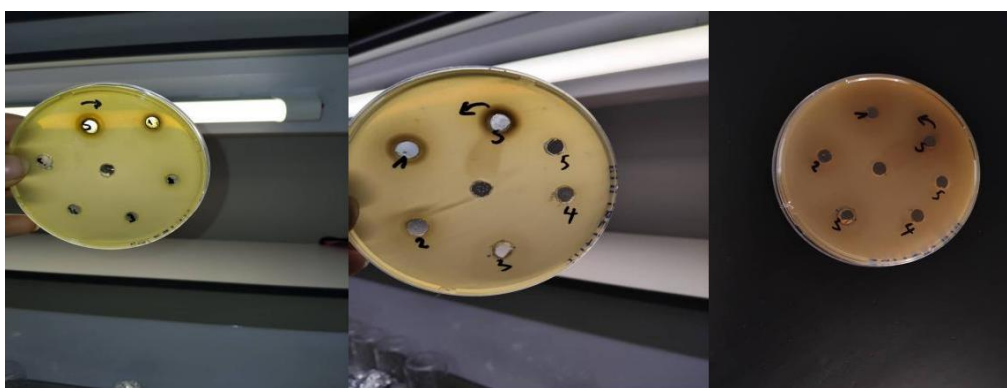


(A)

(B)

(C)

**Figure 25:** Les résultats des souches bactériennes *Bacillus cereus* teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*



(A)

(B)

(C)

**Figure 26 :** Les résultats des souches bactériennes *Bacillus subtilis* teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*



(A)

(B)

(C)

**Figure 27 :** Les résultats des souches fongiques *candida albicans* teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*



(A)

(B)

(C)

**Figure 28 :** Les résultats des souches fongiques *fusarium* teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*

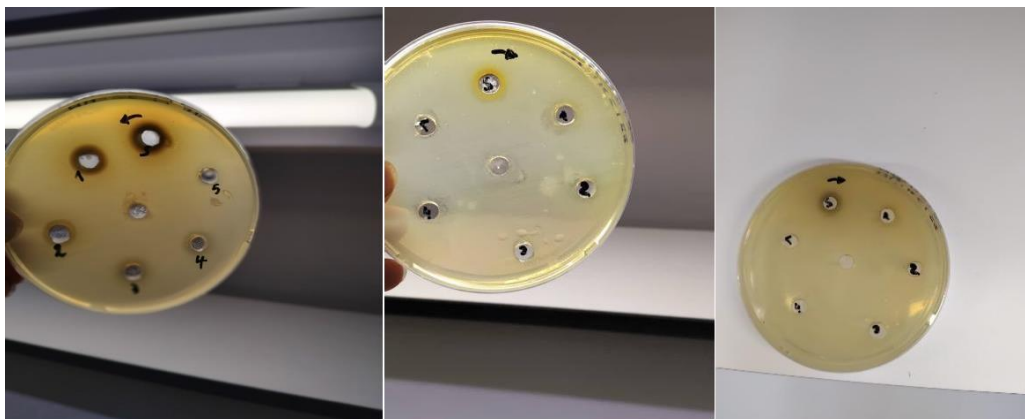


(A)

(B)

(C)

**Figure 29 :** Les résultats des souches *Phytophthora infestans* fongiques teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*



**Figure 30 :** Les résultats des souches *Aspergillus Niger* fongiques teste contre les extraits de *ziziphus spina christi*

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et éthanolique de *Ziziphus spina-christi* ont révélé une efficacité variable selon le type d'extrait, sa concentration et la souche microbienne testée. L'extrait éthanolique a montré une activité antibactérienne plus marquée, notamment contre les bactéries à Gram positif telles que *Bacillus cereus*, avec une zone d'inhibition atteignant 30 mm à la concentration la plus élevée, suivie de *Staphylococcus aureus*. Cette efficacité peut être attribuée à la richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et saponosides, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Alzoreky *et al* ; Nakahara, 2003). En revanche, certaines bactéries à Gram négatif, comme *Klebsiella pneumoniae*, ont montré une sensibilité modérée, tandis que *E. coli* s'est avérée relativement résistante, probablement en raison de la structure de sa membrane externe riche en lipopolysaccharides, qui limite la perméabilité aux composés actifs (Nikaido, 2003).

Concernant les champignons, les deux extraits ont présenté une activité antifongique limitée. Aucune inhibition n'a été observée contre *Candida albicans* et *Fusarium*, tandis qu'une faible sensibilité a été notée chez *Aspergillus niger* et *Phytophthora infestans* uniquement à des concentrations élevées. Cette faible efficacité pourrait s'expliquer par la complexité de la paroi cellulaire fongique. Une corrélation claire a été observée entre la concentration des extraits et l'effet antimicrobien, les plus fortes concentrations produisant les plus grandes zones d'inhibition, ce qui concorde avec les études antérieures mettant en évidence un effet dose-dépendant des extraits végétaux (Recio ,2005).



---

Ces résultats mettent en évidence le potentiel de *Ziziphus spina-christi* comme source de composés antibactériens, notamment lorsqu'ils sont extraits à l'aide de l'éthanol, tandis que son efficacité antifongique reste limitée et nécessite des investigations supplémentaires.

## **5. Détermination de la CMI et CMB des extraits de *ziziphus spina-christi* :**

L'évaluation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB) des extraits de *ziziphus spina-christi*, notamment les extraits aqueux, éthanoliques et l'infusion, a permis de déterminer les plus faibles concentrations capables d'inhiber ou d'éliminer totalement les microorganismes testés. Les résultats obtenus révèlent que l'extrait éthanolique présente une activité antimicrobienne marquée, avec des cmi faibles, notamment contre les bactéries gram positives comme *Bacillus cereus* et *staphylococcus aureus*. Les extraits aqueux et les infusions ont également montré des effets significatifs mais à des concentrations légèrement plus élevées. Pour certaines souches comme *e. Coli* ou *Klebsiella pneumoniae*, la sensibilité est modérée, ce qui pourrait être lié à la structure de leur paroi cellulaire plus résistante. D'un point de vue global, les valeurs de CMB obtenues sont proches des cmi pour certaines souches, suggérant un effet bactéricide des extraits à de faibles concentrations. Ces résultats confirment l'intérêt pharmacologique de *ziziphus spina-christi* comme source naturelle de composés antimicrobiens et soutiennent son usage traditionnel dans le traitement des infections bactériennes.

### **5.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Ziziphus spina-christi*, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée comme indicateur quantitatif permettant d'estimer la plus faible concentration capable d'inhiber visiblement la croissance des microorganismes. Trois types d'extraits aqueux, éthanolique et par infusion ont été testés sur un ensemble de souches bactériennes et fongiques d'importance clinique, incluant des bactéries à Gram positif et négatif, ainsi que des champignons filamenteux et levuriformes. Les résultats obtenus sont présentés dans le (tableau 09) ci-dessous, illustrant la variation de l'activité antimicrobienne selon le type d'extrait utilisé et la souche microbienne ciblée, ce qui reflète les différences de composition chimique entre les extraits.

---

---



**Tableau 09;** les résultats de la CMI des extraits de *Ziziphus spina-christi*

| Souches<br>bactériennes       | CMI (mg /l)             |                              |                   |
|-------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------|
|                               | Extrait aqueux<br>Mg/ml | Extrait<br>éthanolique Mg/ml | Infusion<br>Mg/ml |
| <i>Escherichia coli</i>       | 1.562                   | 3.125                        | 6.25              |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 3.125                   | 3.125                        | 6.25              |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | 6.25                    | 3.125                        | 12.5              |
| <i>Bacillus cereus</i>        | 6.25                    | 6.25                         | 6.25              |
| <i>Klebsiella</i>             | 12.5                    | 6.25                         | 12.5              |
| Souches fongique              |                         |                              |                   |
| <i>Candida albicans</i>       | 50                      | 6.25                         | 25                |
| <i>Aspergillus Niger</i>      | 25                      | 0.78                         | 0.012             |
| <i>Fusarium</i>               | 50                      | 6.25                         | 3.125             |
| <i>Phytophthora infestans</i> | 1.562                   | 12.5                         | 3.125             |

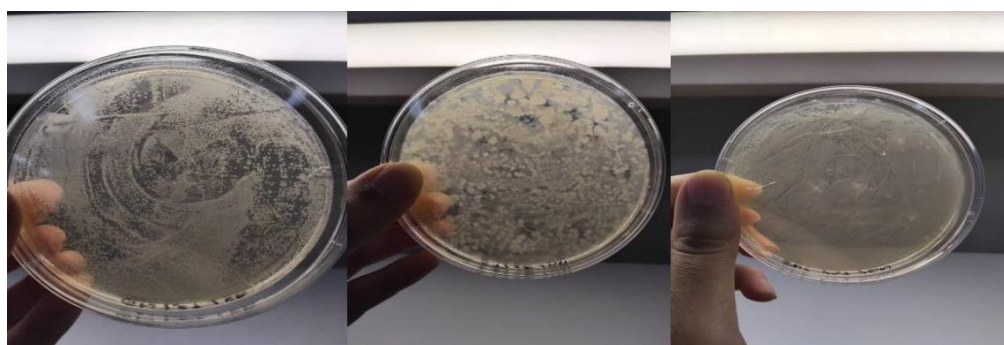
Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de *Ziziphus spina-christi* (aqueux, éthanolique et infusion) ont révélé une activité antimicrobienne variable selon les souches testées. Chez les bactéries, l'extrait éthanolique a montré une forte efficacité, notamment contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (CMI = 3,125 mg/mL), tandis que *Escherichia coli* a présenté une sensibilité remarquable à l'extrait aqueux (1,562 mg/mL). En revanche, *Klebsiella* s'est montrée plus résistante, nécessitant des concentrations plus élevées

(12,5 mg/mL). Concernant les champignons, l'infusion s'est distinguée par une forte activité antifongique, en particulier contre *Aspergillus niger* (0,012 mg/mL) et *Fusarium* (3,125 mg/mL), suggérant que certains composés hydrosolubles extraits à chaud possèdent un effet fongicide marqué.

Ces résultats confirment que l'efficacité des extraits dépend à la fois du type de solvant utilisé et de la nature du microorganisme ciblé, et mettent en évidence le potentiel thérapeutique de *Ziziphus spina-christi* comme source naturelle d'agents antimicrobiens (Cowan, 1999).

## 5.2. Détermination de la concentration bactéricide minimale (CMB)

Le test de la concentration bactéricide minimale (CMB) des extraits de *Ziziphus spina-christi* a été réalisé afin de déterminer leur effet létal sur les souches bactériennes étudiées. Cette évaluation vise à identifier la plus faible concentration de l'extrait capable d'éliminer complètement les bactéries, en complément du test de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats obtenus sont présentés dans les photos ci-dessous.



(A)

(B)

(C)

**Figure 31:** les Résultats de la CMB des extraits de *Ziziphus spina-christi* contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.

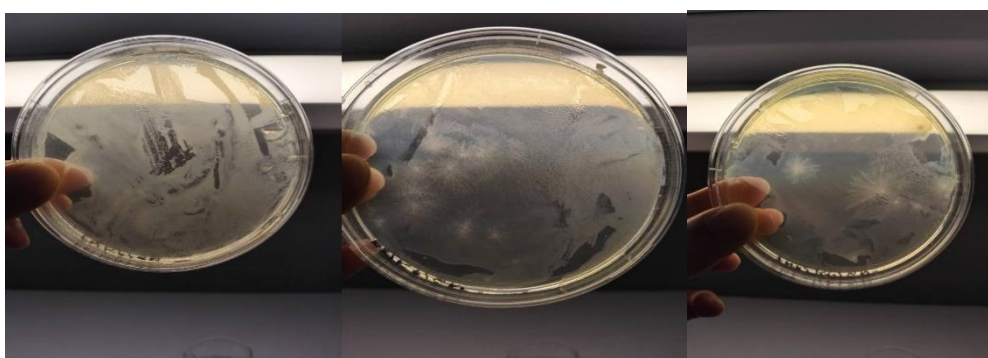


(A)

(B)

(C)

**Figure 32:** les Résultats de la CMB des extraits de *Ziziphus spina-christi* contre la souche bactérienne *Bacillus subtilis*.



(A)

(B)

(C)

**Figure 33 :** les Résultats de la CMB des extraits de *Ziziphus spina-christi* contre la souche bactérienne *Klebsiella*.



(A)

(B)

(C)

**Figure 34 :** les Résultats de la CMB des extraits de *Ziziphus spina-christi* contre la souche bactérienne *Escherichia coli*.



(A)

(B)

(C)

**Figure35** : les Résultats de la CMB des extraits de *Ziziphus spina-christi* contre la souche bactérienne *Bacillus cereus*.

(A) Extrait aqueux / (B) Extrait éthanolique / (C) Infusion

A partir des résultats de la détermination de la CMB, nous notons que les extraits inhibent seulement la croissance des bactéries sans les tuer. Donc les s extraits ont un rôle bactériostatique.

---

## Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail met en évidence le potentiel Pharmacologique prometteur de *Ziziphus spina-christi*, en particulier les extraits aqueux et éthanoliques préparés à partir des feuilles récoltées dans la région de Saïda (Algérie).

Les analyses phytochimiques ont confirmé la richesse de cette plante en métabolites Secondaires bioactifs, notamment les flavonoïdes, tanins, saponines, alcaloïdes et coumarines, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

L'évaluation de l'activité antioxydante à travers les tests DPPH, FRAP et CAT a révélé des capacités inhibitrices significatives, notamment pour l'extrait éthanolique ( $IC_{50} = 0,405$  mg/ml) et aqueux ( $IC_{50} = 0,406$  mg/ml), surpassant même le témoin Trolox ( $IC_{50} \approx 0,81$  mg/ml). Le test FRAP a également montré une excellente capacité réductrice pour

L'infusion ( $IC_{50} = 1,08$  mg/ml), soulignant l'importance de la méthode d'extraction dans L'efficacité des composés actifs. Sur le plan antimicrobien, les extraits ont montré une activité variable selon la nature du pathogène et du solvant utilisé. L'extrait éthanolique s'est distingué par son efficacité marquée contre les bactéries Gram positives (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*), avec des diamètres d'inhibition atteignant jusqu'à 30 mm à la concentration maximale. Les extraits ont également démontré des effets antifongiques modérés contre *Candida albicans* et *Fusarium*, en particulier via l'infusion.

Ainsi, cette étude soutient l'utilisation traditionnelle de *Ziziphus spina-christi* et ouvre des perspectives intéressantes pour sa valorisation dans les industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour isoler, caractériser et valoriser les principes actifs spécifiques responsables des activités observées.

---

---

---

# **Références bibliographiques**

---

---

---

### Références bibliographiques

1. **Abalaka, M. E., Daniyan, S. Y., & Mann, A. (2010).** Evaluation of the antimicrobial activities of two *Ziziphus species* (*Ziziphus mauritiana* L. and *Ziziphus spina-christi* L.) on some microbial pathogens. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(4), 135–139.
  2. **Abalaka, M. E., Daniyan, S. Y., & Mann, A. (2010).** Evaluation of the antimicrobial activity of two *Ziziphus species*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*.
  3. **Abdel-ZahAer, A. O., Salim, S. Y., Assaf, M. H., & Abdel-Hady, R. H. (2005).** Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3),129/138.
  4. **Adzu, B., Amos, S., Amizan, M. B., &Gamaniel, K. (2003).** Evaluation of the antidiarrhoea l effects of *Zizyphus spina-christi* stem bark in rats. *Acta Tropica*, 87(2), 245/250.
  5. **Akowuah G.A., Zhari I., Norhayati I., Sadikun A., et Khamsah S. M. (2004).** Sinensetin, eu- patorin, 3'-hydroxyl-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinicacid contents and antioxida- tiveeffect of *Orthosiphonstamineus*from Malaysia. *Food Chemistry*86
  6. **Al-Fatimi, M., Wurster, M., Schröder, G., & Lindequist, U. (2007).** Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(3), 657–666.
  7. **Alhakmani, F., Khan, S. A., & Ahmad, A. (2014).** Determination of total phenol, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of seeds and fruits of *Zizyphus spina-christi* grown in Oman. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomédecine*, 4 : S656/S660.
  8. **Ali, A. M., El-Taweel, G. E., & El-Masry, K. A. (2014).** Antimicrobial activity of extracts of *Ziziphus spina-christi* (L.) against some pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 8(23), 2329–2337.
  9. **Alothman M., Bhat R., et Karim A. A. (2009).** Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extractedwithdifferentsolvents. *Food Chemistry*
-



- 
10. **Alqasoumi, S. (2011).** Anti-inflammatory and wound healing activities of a traditional herbal ointment containing *Ziziphus spina-christi*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(6), 713–720.
  11. **Alzoreky, N. S., & Nakahara, K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International Journal of Food Microbiology, 80(3), 223–230.
  12. **Arnal-Schnebelen B. (2004).** La place de la phytothérapie dans l'arsenal des traitements mis en œuvre par les médecins généralistes. Paris : Pierre Fabre.
  13. **Arora, D. S., & Kaur, G. J. (2007).** Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. Journal of Natural Medicines, 61(3), 313–317. <https://doi.org/10.1007/s11418-007-0136-1>
  14. **Asgarpanah, J. (2012).** Phytochemistry and pharmacologic properties of *Ziziphus spina christi* (L.) Willd. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6(31): pp. 2332-2339
  15. **Asgarpanah, J., & Haghighat, E. (2012).** Phytochemistry and pharmacologic properties of *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. African Journal of Pharmacy and Pharmacology.
  16. **Avizeh, R., Najafzadeh, H., Pour Mahdi M., Mirzaee, M. (2010).** Effect of Glibenclamide and Fruit extract of *Zizyphus spina-christi* on Alloxan- induced Diabetic Dogs. Internal J ApplResVeterinaryMedicine 8(2).
  17. **Awika J. M., et Rooney L. W. (2004).** Sorghum phytochemicals and their impact on human health. Phytochemistry,
  18. **Bach S., Piotton S., Vilarino R. et Waelti F. (2006).** Les médecines parallèles. Immersion en communauté. .
  19. **Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S.K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), 71–79.
  20. **Belyagoubi N., et Benhammou N. (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phé- noliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, université Aboubakr Belkaïd.
- 
-

- 
21. **Ben Sassi, A., et al. (2008).** Antibacterial and antifungal activities of essential oils. African Journal of Biotechnology, 7(25).
  22. **Benkiki, N. (2006).** Étude phytochimique et activité biologique de quelques extraits de plantes médicinales utilisées traditionnellement en Algérie. Mémoire de Magister, Université d'Oran.
  23. **Besançon. (2012).** Progrès en dermato-allergologie. Groupe d'étude et de recherche en dermato- allergologie. Edition John libbeyeurotext.
  24. **Borsato M. L. C., et Souza G. E. P. (2000).** Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora acicoides*. Phytochemistry.
  25. **Boumaza, N. (2011).** Étude de l'activité antimicrobienne d'extraits de plantes médicinales. Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Algérie.
  26. **Brouillard R., Figvire P., El habiri M., et Dangles O. (1997).** Molecular interaction of phenolic compounds in relation to the color of fruit and vegetables. In : Sarni-Manchado P., et Cheynier V. (2006). les polyphénols en agroalimentaire. Edition TEC et DOC
  27. **Bruneton J. (1999).** Flavonoïdes, Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. 3ème Edition : TEC et DOC. Paris
  28. **Caroline G et Michel P. (2013).** Guide de poche de phytothérapie acné, migraine, ballonnements... Soignez-vous avec les plantes. Edition Quotidien malin.
  29. **Caroline, H., & Michel, D. (2013).** Phytothérapie clinique. Maloine.
  30. **Cavalier C., Dupriez C., Huret J. M., Louisar L., Nebon D., Mence L., et al. (2015).** La phytothérapie ou « l'art de soigner par les plantes... ». La Phytothérapie parmi les autres moyens thérapeutiques. Unité d'enseignement 2.11 semestre 5 « pharmacologie et thérapeutiques ».
  31. **Chabrier J. Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Université Henri Poincaré, Nancy 1 faculté de pharmacie Année universitaire 2009-2010.
  32. **Cheok, C. Y., Salman, H. A. K., & Sulaiman, R. (2014).** Extraction and quantification of saponins: A review. Food Research International, 59, 16-40.
- 
-

- 
33. **Chevalier A. (1947).** Les Jujubiers ou Ziziphus de l'Ancien monde et l'utilisation de leurs fruits. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique, 301-302 : pp. 470-483.
  34. **Chung K., Wong T. Y., Wei C., Huang Y., et Lin Y. (1998).** Tannins and human health. Crit.Rev. Food Sci. Nutr,
  35. **Colette C. (2007).** Aromathérapie et les huiles essentielles. Edition Masso/Réflexo.
  36. **Cooper, K.E., & Woodman, D.D. (1946).** The diffusion of antibacterial substances through agar gel. Journal of Pathology and Bacteriology, 58(1), 95-102.
  37. **Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564–582.
  38. **Crozie A., Clifford., M. N., et Ashihara H. (2006).** Plant Secondary Metabolites
  39. **Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2011).** Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. \*International journal of antimicrobial agents\*, 38(2), 99-107.
  40. **Cushnie, T. P., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014).** Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. International Journal of Antimicrobial Agents, 44(5), 377-386.
  41. **Dahiru, D., Onubiyi, J. A., & Umaru, H. A. (2006).** Phytochemical screening and hepatoprotective properties of *Ziziphus spina-christi* leaf extract. African Journal of Biotechnology, 5(10), 976–979.
  42. **Dangoggo, S. M., Hassan, L. G., Manga, S. B., & Ahmad, H. B. (2012).** Antimicrobial activity of extracts of *Ziziphus spina-christi*. Journal of Medicinal Plants Research.
  43. **Dangoggo, S. M., Hassan, L. G., Sadiq, I. S., & Manga, S. B. (2012).** Phytochemical analysis and antibacterial screening of leaves of *Diospyros mespiliformis* and *Ziziphus spina-christi*. Journal of Chemical Engineering, 1(1).
  44. **Debuigne G. (1974).** Larousse des plantes qui guérissent, Edition Larousse. depsides. Thèse de doctorat. Limoges.
  45. **Di carlo G., Mascolo N., Izzo A. A., et Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Review Life Science,
- 
-

- 
46. **El Maaiden, E., El Kharrassi, Y., Lamaoui, M., Allai, L., Essamadi, A. K., Nasser, B., & Moustaid, K. (2020).** Variation in minerals, polyphenolics and antioxidant activity of pulp, seed and almond of different *Ziziphus* species grown in Morocco. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23: 1981-6723.
  47. **El Maaiden, E., El Kharrassi, Y., Moustaid, K., Essamadi, A. K., & Nasser, B. (2018).** Comparative study of phytochemical profile between *Ziziphus spina-christi* and *Ziziphus lotus* from Morocco. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 121–130.
  48. **Elqaj M., Ahami A., et Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et anti- biotiques". Maroc.
  49. **Fard, M. P. M., Ketabchi, S., & Farjam, M. H. (2020).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant potential of essential oil of *Ziziphus spina-christi* var. *aucheri* grown wild in Iran. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 9, 67–71.
  50. **Ferguson L. R., Chavan R. R., et Harris P. J. (2001).** Changing concepts of dietary fiber : implication for carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, fluorescens (*Pseudomonasaceae*) sur quelques aspects physiologiques du criquet pèlerin. Thèse magister. Sci agro. INA. El harrach-Alger.
  51. **Fraga, C. G. (2007).** Plant polyphenols: how to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB life*, 59(4-5), 308-315.
  52. **Ghedira K. (2013).** *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (*Rhamnaceae*) : jujubier sauvage. *Phytothérapie*, 11:149-153.
  53. **Ghedira, K. (2013).** Dictionnaire des plantes médicinales. Lavoisier.
  54. **González-Gallego J., Sánchez-Campos S., et Tuñón M. J. (2007).** Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricinohospitalaria*,
  55. **Guignard J. L. (2000).** *Biochimie vegetal*. 2ème Edition: Dunod
  56. **Hafiz, T. A., Mubarak, M. A., Diab, M. S. M., Dkhil, M. A., & Al-Quraishy, S. (2017).** Ameliorative role of *Ziziphus spina-christi* leaf extracts against the patcin jury induced by *Plasmodium chabaudi* infected erythrocytes, 26(3): P. 490-494.
- 
-

- 
57. **Halliwell, B. (2006).** Oxidative stress and neurodegeneration: Journal of neurochemistry, 97(6), 1634-1658.
58. **Halliwell, B. (2009).** The wanderings of a free radical. Free Radical Biology and Medicine, 46(5), 531–542.
59. **Hans W. K. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.
60. **Harborne, J. B. (1998).** Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Springer Science & Business Media.
61. **Haslam E. (1989).** Plant polyphenols. vegetale tannins revisited cambridge University Pres,Combridge
62. **Hennebelle T., Sahpaz S., et Bailleul F. (2004).**Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie
63. **Hennebelle T., Sahpaz S., et Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie
64. **Herbert R. B. (1989).** The Biosynthesis of secondary metabolites. 2ème Edition: Chapman and Halle
65. **Hodek P., Trefil P., et Stiborová M. (2002).**Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromesChemico-Biological Interactions
66. **Hopkins W. G. (2003).** Physiologie végétale. 2ème Edition américaine : Boeck et Lancier S A, Paris.
67. **Hussein, H. M., El-Sayed, E. M., & Said, A. A. (2006).** Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Zizyphus spina-christi* and *Zizyphus jujuba* in alloxan diabetic rats. International Journal of Pharmacology, 2(5), 563-570.
68. **IESV Institut européen des substances végétales. (2015/2016).** Les plantes médicinales. Association loi 1901. Document réservé à l'usage des professionnels de la santé. .
69. **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., et al. (2001).** Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.
- 
-

- 
70. **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., et al. (2001).** Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.
71. **Iserin, P. et al. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse.
72. **Jafarian, A., Shirani, K., & Zolfaghari, B. (2014).** Cytotoxicity of different extracts of aerial parts of *Ziziphus spina-christi* on HeLa and MDA-MB-468 tumor cells. *Advanced Biomedical Research*, 3(1), 38.
73. **Karaali A., Boyacioğlu D., Günez G., et Özçelik B. (2004).** Flavonoids in fruit and vegetables: their impact on food quality, nutrition and health—STREP or CA. European commission's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey
74. **Kato R., Nakadate T., Yamamoto S., et Sugimura T. (1983).** Inhibition of 12-Otet Radeca- noylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by querce- tin: possible involvement of lipoxygenase inhibition. *Carcinogenesis*
75. **Khanbaba K., et Ree T. R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*,
76. **Khodjet El Khil M. (2015).** Étude de marché : consommation d'huiles essentielles en Guyane française. Réseau rurale Guyane. L'Europe s'engage en Guyane avec le Feader. Union européenne. Edition Guyarômes..
77. **Laamouri, A., Ammari, Y., Albouchi, A., Sghaier, T., Mguiz, K., & Akrimi, N. (2008).** Étude comparative de la croissance et du développement du système racinaire de trois espèces de jujubier en Tunisie – Comparative study of the root system growth and développent of three Tunisian jujube species. *Géo-Eco-Trop*, 32, 37–46.
78. **Langewld. J., et Schmutterer H. (1992).** Effets du traitement à l'huile de neem sur la phase du criquet pèlerin. . In : Lomer C. J et Priorc. La lutte biologique contre les acridiens. CAB International, Wallingford
79. **L'article de Salah El-Din et al. (2019)** est intitulé "*Ziziphus spina-christi* leaves methanolic extract alleviates diethylnitrosamine-induced hépatocellulaire carcinoma in rats". Il a été publié dans la revue *Bio Chemistry and Cell Biology*, volume 97, numéro 4, pages 437-445. Les auteurs de cette étude sont Manar Salah El-Din, AlShaimaa Mohamed Taha, Ahmed Abdel-Aziz Sayed et Ahmed Mohamed Salem.
-

- 
80. **Les vitamines. (2010/2011).** Collège des Enseignants de Nutrition. Support de Cours (Version PDF).
81. **Maarouf A. (2000).** Dictionnaire botanique.
82. **Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools : formation de
83. **Martin M. J., Motilva B., et Lastra C. A. (2007).**Quercetin and Naringenin Effects on Ulcer. *PhytotherapyResearch*
84. **Martins, N., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R. (2016).** Antioxidant and antimicrobial properties of *Ziziphus* species: a review. *\*Food and Chemical Toxicology\**, 92, 84–94.
85. **Maury S., et Legrand M. (2000).** Étude des O-méthyltransferases de la voie des phénylpropa- noïdes dans le tabac et modulation de leur expression dans les tabacs transgénique : conséquences sur la synthèse de la lignine et d'autres composés phénoliques et sur la résistance aux agents pa- thogènes. INIST-CNRS, cote INVIST: T 127548. Université de Strasbourg. France.
86. **Maury S., et Legrand M. (2000).**Étude des O-méthyltransferases de la voie des phénylpropa- noïdes dans le tabac et modulation de leur expression dans les tabacs transgénique : conséquences sur la synthèse de la lignine et d'autres composés phénoliques et sur la résistance aux agents pa- thogènes. INIST-CNRS, cote INVIST: T 127548. Université de Strasbourg. France.
87. **Mazza G., et E., Miniati. (1993).** Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. *Food / Nahrung*, 38 (3)
88. **Mazza, G., et al. (1993).** Antioxidant activity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
89. **Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. (2005).** Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.
90. **Mohamed, T. K., El-Maksoud, A. I. A., & Ahmed, A. S. (2020).** Antimicrobial and antioxidant activities of different extracts of *Ziziphus spina-christi* leaves. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 19(2), 135–143.
- 
-

- 
91. **Mompon B., Lemaire B., Mengal P., et Surbled M. (1998).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Edition INRA. Paris
  92. **Moreau B. (2003).** Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.
  93. **Morigane. (2007).** Grimoire des plantes. Ce livre est publié sous la licence libre Creative Commons BYNCND. .
  94. **Nikaido, H. (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67(4), 593–656.
  95. **Nissiotis M., et Tasioula-Margari M. (2002).** Changes in antioxidant concentration of virginoliveoil during thermal oxidation. Food chemistry. 77 : 371-376. Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales. In : Nassif D. (2004). Mémoire (DEA). Edition INRA France
  96. **Nitsch J. P., et Nitsch C. (1961).** Synergistes naturels des auxines et des giberellines. Bulletin de la société chimique de France
  97. **Nowakowska Z. (2007).** A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. Eur. J. Med. Chem,
  98. **Obermeier M.T., White R. E., et Yang C. S. (1995).** Effects of bioflavonoids on hepatic activities. Pharm. Res
  99. **Orhan, I. E., et al. (2019).** Insights into *Ziziphus spina-christi*: Botanical, phytochemical and pharmacological perspectives. \*Fitoterapia\*, 135, 104-121.
  100. **Panche, A. N., Diwan, A. D., et al Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids: an overview. Journal of Nutritional Science, 5, e47.
  101. **Peronny S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie.
  102. **Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 2). Paris : Centre National de la Recherche Scientifique. 565 p.
  103. **Raffaelli A., Moneti G., Mercati V., et Toja E. (1997).** J. Chromatogr.
- 
-



- 
104. **Rahman I., Biswas S. K., et Kirkham P. A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*
105. **Rice-Evans C. A., et Packer L. (1998).** Flavonoids in Health and Disease. Edition marcel dekker.
106. **Ríos, J.L., Recio, M.C., & Villar, A. (1988).** Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 23(2-3), 127–149.
107. **Robert P., Rey-Debove J. et Rey A. 2010.** Le nouveau Petit Robert de la langue française, dictionnaire alphabétique et analogique de la langue française. Edition Le Robert : Paris, France
108. **Sabir, S. M., & Rocha, J. B. T. (2008).** Antioxidant and hepatoprotective activity of *Ziziphus mauritiana* Lam leaves. *\*Food and Chemical Toxicology\**, 46(1), 303–308.
109. **Saied, A. S., Gebauer, J., Hammer, K., & Buerkert, A. (2007).** *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd.: a multipurpose fruit tree. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(7) : 929 /937.
110. **Salah El-Din, R. A. et al. (2019).** Protective effect of *Ziziphus spina-christi* against hepatocarcinogenesis. *Toxicology Reports*.
111. **Sarni-Manchado P., et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Edition Lavoisier
112. **Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011).** Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.
113. **Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883.
114. **Sean H., et Timothy R. (2005).** Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Réseau canadien d'info traitements sida (CATIE). Edition révisée. Canada. Paul R., Saunders, PhD.
115. **SFA. Société Française des Antioxydants. (2005).** Compte rendu de la conférence polyphenols (23/24 NOV2005). Institut des corps gras. ITERG
116. **Shroder, J., & Messing, R. (1949).** Diffusion techniques in the assay of antibiotics. *Applied Microbiology*, 12(5), 355–361.
-

- 
117. **Singh, R., et al. (2012).** In vitro antioxidant activity of methanolic extract of *Ziziphus* fruits. *Pharmacognosy Journal*.
118. **Singh, V., Guizani, N., Essa, M. M., Rahman, M. S., & Selvaraju, S. (2012).** In vitro antioxidant activities of *Ziziphus spina-christi* fruits (red date) grown in Oman. *Biotechnology*, 11(4), 209–216.
119. **Smythies J. R. (1998).** Every Person's Guide to Antioxidants. Edition British cataloging
120. **Stagos, D. (2019).** Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts. *Antioxidants*, 9(1), 19.
121. **Strang C. 2006.** Larousse medical. Edition Larousse.
122. **Tail G. (1998).** Action de quelques substrats alimentaires sur quelques acrididae. Efficacité en- tomopathogène de *Pseudomonas*
123. **Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011).** Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
124. **Tringali C. (2001).** Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation Characterisation and Biological Properties. 1ere Edition: taylor&francis
125. **Vansant-Greet I. R. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Département nutrition, kuleuven et departementdietetique, gasthuisberg.
126. **Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013).** Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed research international*, 2013.
127. **Verpoorte R., et Alfermann A.W. (2000).** Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabo- lism. Edition Kluwer Academic
128. **Waggas, A. M., & Al-Hasani, R. H. (2010).** Neuro physiological study on possible protective and therapeutic effects of Sidr (*Zizyphus spina-christi L.*) leaf extract in male albino rats treated with pentylenetetrazol. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(4), 269/274.
129. **Walsh C. (2003).** *Nat. Rev, Microbiol*
130. **Walton N. J., et Brown D. E. (1999).** Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products. Edition World Scientific
- 
-

- 
131. **Wang J., et Mazza G. (2002).**Effect of Anthocyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ -Activated RAW.264.7. Macrophages. J.Agric.Food.Chem
132. **WHO (2002).** Traditional medicine strategy 2002–2005. World Health Organization.
133. **Wichtl M et Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2ème édition. Edition TEC & DOC.
134. **Yao L. H., Jiang Y. M., SHI J., Tomas-Barberan F. A., Datta N., Singanusong R., et Chen S. S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. Plant Food Human Nutrition
135. **Zimmer N., et Cordesse R. (1996).** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. Edition INRA. Prod Anim,
- 
-

---

# Annexes

---

---

# Conclusion générale et Perspectives

---

---

---

### 5.2.1. Annexe

#### **Annexe 01 : Epuisement du matériel végétal**

L'épuisement est réalisé dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant contenant 50g de poudre de matériel végétal en présence de 300ml de solvant: éthanol ou eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Le mélange est filtré et soumis à différents tests.

#### **Annexe 02 : Préparation de l'infusé aqueux**

Une masse de 5g de poudre végétale est mise dans 100ml d'eau bouillante pendant 15 minutes.

Nous avons filtré les extraits sur du papier filtre et rincé avec de l'eau chaude de manière à obtenir 100ml (Paris et al., 1969).

#### **Annexe 03: Réactifs et réaction de caractérisation**

Les réactifs utilisés lors des tests sont les suivants :

- Réactif de Wagner : Dissoudre 2g de KI et 1,27g d'I<sub>2</sub> dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100ml d'eau.
  - Réactif de Mayer : Dissoudre 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> dans 60ml d'eau et également 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml d'eau.
  - Réactif d'amidon : Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5g d'iodure de potassium. Chauffer dans un bain marie 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée jusqu'à ébullition.
-

### Tests phytochimiques

