

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*وزارة التعليم العالي والبحث العلمي*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة*  
*Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana*  
*Faculté des Sciences et de la Technologie*  
*Département des Sciences de la Matière*



*Mémoire de fin d'étude*  
*En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en Chimie*  
***Spécialité:** Chimie Pharmaceutique*

**Thème :**

*Caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'écorce  
de Zizyphus Spina-Christi.*

*Devant le jury composé de :*

- R. Moumen & M. Hammoudi : **Encadreur**
- A. Itatahine : **Examinatrice**
- L. Bouhouf : **Examinatrice**

*Réalisé par :*

- M<sup>elle</sup> MEHALI Kaouthar
- M<sup>elle</sup> CHEBAHI Sabrina

*Année universitaire 2019/2020*

*« ..... quand on veut vraiment quelque chose, on peut l'obtenir. Il faudra peut-être être patient, travailler très dur, lutter de toutes ses forces, et cela peut durer très longtemps, mais c'est possible. Cette conviction est le prérequis de toute entreprise ... ». Margo Jones*

## *Je dédie ce travail à .....*

*Mes très chers parents (BOUALEM, DJOUHER), aucun mot ne serait suffisant pour vous exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect envers vous. C'est surtout grâce à vous qui ne vous lassiez jamais, vos sacrifices, votre soutien et votre courage qui ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui.*

*À mes chers frères : MHAMED, AYOUBE et RACHIDE pour leurs appui et leurs encouragements.*

*À mes chères sœurs SOUHILA, SAFIA, CHERIFA et BELKISSE et leurs maris M. RATTIA, M. OUAÏLLE, J. AZONE et A. DAHMANI pour leurs encouragements permanents, et leurs soutien moral.*

*A mes chers neveux et nièces, RACHA, MERIEME, ROKIA, AYA, LINA, YAAQOUB, ABD EL GAFOURE, ABD EL LAHE, ISHAQUE et GHOFRANE.*

*À ma cousine et ma petite sœur RAHIL*

*À mes cousines HADJER, NAÏMA, TOUTA et KHAOULA.*

*À mes Cousins MOHAMED, ABOUBAKRE, KHALED, NAÏME et YASSER.*

*À tous les membres de ma famille MEHALI et BACHENINE.*

*A Madame BENDJEDA pour son intérêt et sa confiance.*

*À mon binôme CHEBAHI SABRINA.*

*A mes meilleurs amis SALMA.*

*Aussi, mes fortes dédicaces pour ma tante A. KECIR, Merci pour toutes ses aides.*

*Et à tous ceux que j'aime et ceux que je respecte.*

*A tous les membres de la promotion 2019-2020 master chimie pharmaceutique.*

**KAOUTHAR MEHALI**

# *Dédicaces*

*Avant tout, je tiens à remercier Dieu le tout puissant qui m'a donné la santé, la volonté la patience et m'a guidé à réaliser ce modeste travail.*

*A mes parents (BELKASSEM et AICHA) que j'aime beaucoup qui m'ont soutenue et encouragée durant mes études par leur dévouement et les énormes sacrifices qu'ils ont faits leur témoigne mon grand respect, toute mon affection et ma profonde gratitude.*

*A mes frères : Mohammed et Abdelmalek,*

*A ma famille ainsi qu'à toutes mes amies.*

*A mon binôme « KAOUTHAR » que j'aime beaucoup, ainsi que pour sa disponibilité, sa patience tout au long de ce travail. J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail avec elle.*

*A Toutes les personnes qui me connaissent et qui m'aiment.*

*Merci.*

**CHABRINA CHEBAHI**

## Remerciements

*Ce travail est le résultat d'un effort non négligeable, qui a nécessité le soutien et l'encouragement d'un certain nombre de personnes envers lesquels nous tenons à exprimer notre gratitude.*

*Nous remercions tout d'abord ALLAH, qui nous a permis d'aboutir à cette fin tant souhaitée, en nous dotant de la patience et du courage nécessaires pour surmonter les difficultés que nous avons rencontrées au cours de notre cursus.*

*Nous tenons à remercier nos encadreurs :*

*Mr R. MOUMEN et M. HAMMOUDI pour avoir accepté de diriger notre mémoire de Master. Nous tenons principalement à les remercier pour le temps qu'ils nous ont accordé pour la finalisation de ce projet.*

*Nous remercions les membres du Jury A. ITATAHINE Et L. BOUHOUF pour avoir accepté de juger ce travail et apporter leurs remarques positives et constructives.*

*Nous adressons un très grand et sincère remerciement à tous les enseignants de la filière chimie de l'université de Djilali BOUNAAMA de Khemis Miliana.*

*Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*A tous merci*

*KAOUTHAR et SABRINA*

## ملخص:

في هذه العمل، قمنا بدراسة التحليل النوعي لمستخلصات لحاء *Z. Spina-Christi* عن طريق الاختبارات الأولية و بواسطة طرق كروماتوغرافيا **HPLC** و **TLC**، وهذا ما أكده التحليل الكمي القائم على الفحص. تم إجراء التفسير الإنشائي للمركبات المعزولة بواسطة طرق اقتران مختلفة وهي **HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR**، و **CG-MS** وطريقة قياس الطيف الضوئي **FTIR**. كشفت هذه العمليات عن وجود عدة مجموعات كيميائية معترف بها جميعها لخصائصها الدوائية: المركبات الفينولية، الفلافونويد، التانينات والصابونين... إلخ. كلها قابلة للاستخراج بمذيبات مختلفة، هذه المركبات ومعظمها من الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة، الفيتامينات (أ، هـ، ج) والمعادن (الحديد والبوتاسيوم والكالسيوم).

أظهر اختبار النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات، باستعمال طريقة الانتشار في وسط جيلوز أن المستخلصات المختبرة فعالة ضد سلالات بكتيرية معينة (*Proteus vulgaris* و *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis*). على العكس من ذلك، كان غير فعال ضد الفطرين المختبرين (*Aspergillus niger* و *Candida albicans*). من ناحية أخرى، فقد تم اعتبار هذه المستخلصات مصدرًا جيدًا للمركبات المضادة للأوكسدة وبالتالي إثبات خصائصه المضادة للإسهال والمضادة للسرطان.

**الكلمات المفتاحية: *Zizyphus Spina-Christi*، اللحاء، الزيوت الأساسية، نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط مضاد للجراثيم.**

## Résumé :

Dans ce présent mémoire, nous avons étudié une analyse qualitative des extraits d'écorce de *Z. Spina-Christi* par des tests préliminaires et par des méthodes chromatographiques **HPLC** et **la CCM**, ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage. L'élucidation structurale des composés isolés a été effectuée par différentes méthodes de couplage, à savoir, **HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR** et **CG-MS** et par la méthode spectrophotométrique **FTIR**. Ces opérations ont révélé la présence de plusieurs groupes chimiques reconnus pour leurs propriétés pharmacologiques : les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les saponines...etc., tous extractibles par différents solvants. Ces composés sont majoritairement des acides gras saturés et insaturés, des vitamines (**A, E** et **C**) et des minéraux (fer, potassium et calcium).

Le test de l'activité antimicrobienne des extraits par la méthode de diffusion en milieu gélosé a montré que les extraits testés sont actifs vis-à-vis de certaines souches bactériennes (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*). Par ailleurs, ils sont inactifs contre les deux champignons testés (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*). D'autre part, ces extraits ont été considérés comme une bonne source de composés antioxydants prouvant ainsi leurs propriétés anti-diarrhéiques et anticancéreuses.

**Mots clés :** *Zizyphus Spina-Christi*, écorce, huiles essentielles, activité antioxydante, activité antibactérienne.

## Summary:

In the present study, we investigated a qualitative analysis of the bark extracts of *Z. Spina-Christi* by preliminary tests, by **HPLC** chromatographic methods and **TLC**, this is confirmed by quantitative analysis based on assay, the structural elucidation of the isolated compounds was carried out by different coupling methods, namely, **HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR** and **CG-MS**, and by **FTIR** spectrophotometric method. These operations revealed the presence of several chemical groups all recognized for their pharmacological properties: phenolic compounds, flavonoids, tannins and saponins...etc., all extractable by different solvents. Most of these compounds are saturated and unsaturated fatty acids, vitamins (**A, E** and **C**) and minerals (iron, potassium and calcium).

Testing the antimicrobial activity of the extracts by the agar medium diffusion method showed that the extracts tested are active against certain bacterial strains (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*). Otherwise, they are inactive against the two fungi tested (*Aspergillus niger* and *Candida albicans*). On the other hand, these extracts have been regarded as a good source of antioxidant compounds thus proving their anti-diarrheal and anti-cancer properties.

**Key words:** *Zizyphus Spina-Christi*, bark, essential oils, antioxidant activity, antibacterial activity.

# Table de Matière

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## Chapitre I

### Généralités sur le *Zizyphus Spina-Christi*

I.1.	La Phytothérapie.....	3
I.1.1.	Définition de la Phytothérapie.....	3
I.1.2.	Différents types de la Phytothérapie.....	4
I.1.3.	Les avantages de la phytothérapie .....	5
I.1.4.	Inconvénients de la phytothérapie.....	5
I.1.5.	Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie.....	6
I.1.6.	Les plantes médicinales.....	7
I.1.7.	Efficacité des plantes entières .....	7
I.2.	La famille de Rhamnacées .....	7
I.3.	Le genre <i>Zizyphus</i> .....	9
I.3.1.	Description de genre <i>Zizyphus</i> .....	9
I.3.2.	Histoire et origine de la plante <i>Zizyphus</i> .....	9
I.3.3.	Autres espèces de <i>Zizyphus</i> à travers le monde.....	10
I.4.	<i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	11
I.4.1.	Description botanique de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> (Sidr).....	11
I.4.2.	Taxonomie de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	13
I.4.3.	Echantillonnage sur le terrain .....	13
I.4.4.	Composition chimique et biochimique du <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	14
I.4.4.1.	Métabolites primaires.....	14
I.4.4.2.	Métabolites secondaires.....	14
I.4.5.	Etude de la composition chimique de l'écorce de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	15
I.4.5.1.	Métabolites primaires.....	16
I.4.5.2.	Métabolites secondaires.....	17
I.4.6.	Répartition géographique de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	18
I.4.7.	Exigence climatiques de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	19
I.4.8.	Sources islamiques.....	19
I.4.9.	Utilisation traditionnelle de <i>Zizyphus</i> .....	20
I.4.10.	Différentes utilisations de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	21
I.4.11.	Propriétés, Effets et Indication.....	23

## Chapitre II

### Applications Biologiques

<b>II.1.</b>	Ethnopharmacologie: pratiques traditionnelles.....	25
<b>II.2.</b>	Activités pharmacologiques.....	25
<b>II.2.1.</b>	Activité antioxydant.....	26
<b>II.2.1.1.</b>	Vitamine C.....	26
<b>II.2.1.2.</b>	La vitamine A.....	27
<b>II.2.1.3.</b>	Vitamine A et le système immunitaire.....	28
<b>II.2.1.4.</b>	Vitamine E.....	29
<b>II.2.1.5.</b>	Vitamine E et système immunitaire.....	30
<b>II.2.2.</b>	Acides gras polyinsaturées et système immunitaire.....	30
<b>II.2.3.</b>	Activité antidiarrhéiques.....	32
<b>II.2.4.</b>	Activité antiplasmodiale et cytotoxique.....	35
<b>II.2.5.</b>	Activité antimicrobienne des extraits de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	37
<b>II.2.6.</b>	Test toxicologiques.....	40
<b>II.2.7.</b>	Activité anticancéreuse.....	41

## Chapitre III

### Résultats des Travaux Antérieurs

<b>I.</b>	Matériels et méthodes.....	44
<b>I.1.</b>	Dosage.....	44
<b>I.1.1.</b>	Teneur en eau.....	44
<b>I.1.2.</b>	Cendres.....	45
<b>I.1.2.1.</b>	Teneur en cendres totales.....	45
<b>I.1.2.2.</b>	Teneur en cendres sulfuriques.....	45
<b>I.1.2.3.</b>	Teneur en cendres chlorhydriques.....	46
<b>I.1.3.</b>	Criblage phytochimique préliminaire des extraits de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	46
<b>I.1.3.1.</b>	Test des alcaloïdes.....	46
<b>I.1.3.2.</b>	Test des flavonoïdes.....	47
<b>I.1.3.3.</b>	Test des Triterpènes et des stérols.....	47
<b>I.1.3.4.</b>	Test des tanins.....	47
<b>I.1.3.5.</b>	Test des saponines.....	47
<b>I.1.3.6.</b>	Test des coumarines.....	47
<b>I.1.3.7.</b>	Test des Glycosides.....	48
<b>I.1.3.8.</b>	Test des glycosides cardiaques.....	48

<b>I.1.3.9.</b>	Test des anthraquinones.....	48
<b>I.1.3.10.</b>	Test des stéroïdes.....	48
<b>I.1.3.11.</b>	Test des phlobatannins.....	48
<b>I.2.</b>	Analyse CG-SM.....	49
<b>I.3.</b>	Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) .....	49
<b>I.4.</b>	HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR.....	50
<b>I.5.</b>	La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) .....	50
<b>I.6.</b>	Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	51
<b>I.7.</b>	Analyse de fluorescence des rayons X (FRX) .....	51
<b>II.</b>	Résultats et discussions.....	52
<b>II.1.</b>	Extractions.....	52
<b>II.2.</b>	Tests préliminaires.....	52
<b>II.2.1.</b>	Dosages.....	52
<b>II.2.2.</b>	Criblage phytochimique des plantes.....	53
<b>II.3.</b>	Analyse CG-SM.....	53
<b>II.4.</b>	Détermination des groupes fonctionnels par FTIR.....	56
<b>II.5.</b>	HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR.....	56
<b>II.6.</b>	La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) .....	59
<b>II.7.</b>	Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	60
<b>II.8.</b>	Analyse de fluorescence des rayons X (FRX) .....	60
<b>Conclusion générale &amp; Perspectives.....</b>		<b>62</b>

## **Références bibliographiques**

### **Liste des tableaux**

### **Liste des figures**

### **Liste des abréviations**

*Introduction*

*Générale*

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 81% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire. Les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international <sup>[1]</sup>.

Les plantes constituent la base du système de médecine traditionnelle qui existe depuis des milliers d'années et continuent de fournir à l'humanité de nouveaux remèdes. Au cours des dernières années, l'intérêt de la recherche des médicaments naturels a été augmenté et les plantes médicinales ont émergé comme alternative aux produits synthétiques. En effet, les statistiques montrent que les produits naturels et leurs dérivés représentent plus de 50% des médicaments utilisés dans le monde, ainsi que la formulation d'un quart des prescriptions médicinales est fondée sur les substances extraites des plantes ou leurs analogues synthétiques dérivés <sup>[2]</sup>.

Dans le monde, le continent Africain est doté d'une biodiversité immense avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. Ces plantes représentent un important réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique, et elles possèdent un très large éventail d'activités biologiques <sup>[1]</sup>.

En Algérie, le traitement par les plantes médicinales fait partie intégrante de la culture locale, il constitue la source thérapeutique la plus importante et parfois la seule pour près de 50% des citoyens et plus de 70% des peuples ruraux. La population indigène a une connaissance importante acquise empiriquement à travers les générations. De par sa situation géographique et sa diversité climatique, l'Algérie est l'un des pays arabes les plus riches avec 3164 espèces végétales. Cette grande biodiversité floristique a contribué au développement de la recherche scientifique en Algérie dans plusieurs domaines tels que : l'ethnomédecine, la pharmacopée traditionnelle et la valorisation des substances naturelles <sup>[2]</sup>.

Malgré la nature hétérogène du continent Africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques des plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier le *Zizyphus Spina-Christi*. Appartenant à la famille des *Rhamnacees*, *Zizyphus* a un nom commun de « Nabka ». Il se trouve sur tout le nord du Maghreb et est très répandu dans les régions arides d'Algérie du Sud, les pâturages arides, les steppes et en général dans toute l'Algérie à l'exception du tell algéro-constantinois <sup>[3,4]</sup>.

Dans ce contexte, le travail présenté dans ce mémoire vise une caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi*.

L'objectif de ce travail est de rappeler les propriétés thérapeutiques et l'usage traditionnel de cette plante médicinale ainsi que ses caractéristiques biologiques, morphologiques et phytogéographiques.

Ce travail s'articule sur trois chapitres :

✓ Le premier chapitre reporte le concept des plantes médicinales, les principes actifs, les modes de préparation et les données bibliographiques sur la famille *Rhamnaceae*, le genre *Zizyphus* et l'espèce *Zizyphus Spina-Christi*.

✓ Le deuxième chapitre expose l'évaluation de l'activité biologique comme antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse des huiles fixes provenant de l'écorce de la plante *Zizyphus Spina-Christi* qui a été effectuée par plusieurs chercheurs à travers le monde.

✓ Le troisième chapitre comprend la description des travaux antérieurs et la discussion des résultats de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi*.

Enfin, une conclusion générale récapitule l'essentiel de notre travail réalisé et des perspectives utiles pour la continuation de cette étude.

## Chapitre I

# *Généralités sur le Zizyphus Spina- Christi*

**D**epuis l'existence, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Qu'est-ce qui les a guidés à employer une plante plutôt qu'une autre ? Le hasard ? La religion ? La superstition ? L'expérience, certainement.

Aujourd'hui, les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins. En effet sur les 300 000 espèces végétales dénombrées sur la planète, plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des propriétés médicinales <sup>[1]</sup>.

## I.1. La Phytothérapie

### I.1.1. Définition de la Phytothérapie

Le mot "Phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : "*phuton*" et "*therapeia*" qui désignent respectivement "plante" ou "végétale" et "traitement" et qui veut dire «*Soigner par les plantes*» <sup>[5]</sup>.

La phytothérapie est une science à la fois ancestrale et moderne <sup>[5]</sup>, qui signifie approche thérapeutique utilisant des plantes médicinales dans leur intégralité pour leurs propriétés thérapeutiques <sup>[6]</sup>. C'est donc une technique de soins qui utilise les plantes pour venir à bout des causes et symptômes de diverses maladies. Elle peut se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes <sup>[1]</sup>.

La Phytothérapie compte parmi les premières et les plus anciennes méthodes curatives. C'est ainsi que les êtres humains utilisent des plantes depuis des siècles voire des millénaires à des fins thérapeutiques sur l'ensemble de notre planète <sup>[1]</sup>.

Une phytothérapie efficace repose sur la qualité de la plante utilisée :

- ✓ plante fraîche,
- ✓ plante sèche, sur
- ✓ extrait de plante, et aussi sur
- ✓ sa teneur et sa richesse en actifs.

De plus, un produit à base de plante, doit – pour avoir une efficacité optimale – rétablir toute la complexité moléculaire qui est à l'origine de son activité thérapeutique<sup>[5]</sup>.

### I.1.2. Différents types de Phytothérapies

#### a) *la phytothérapie traditionnelle*

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques<sup>[7]</sup>.

#### b) *la phytothérapie clinique*

C'est une approche globale du patient et de son environnement qui est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Dans ce type les indications sont liées à une thérapie de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies<sup>[7]</sup>.

Il est important de préciser que connaître une plante, c'est aussi être conscient de ses limites et de ses dangers car la phytothérapie n'est en aucun cas une technique douce. Son utilisation thérapeutique nécessite une bonne connaissance de la matière médicale. Il est donc très important que la médecine traditionnelle et la médecine moderne collaborent<sup>[1]</sup> Afin de:

- ✓ permettre la validation et l'amélioration des remèdes traditionnels.
- ✓ pouvoir apprendre l'une de l'autre et se compléter, en faisant évoluer la recherche.

#### c) **Quelques termes scientifiques concernant la phytothérapie traditionnelle et moderne**

- ✓ **La gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radiceles<sup>[8]</sup>.
- ✓ **L'herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboriste se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau: décoction, infusion, macération. Ces

préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélules de poudre de plante sèche que le sujet avale <sup>[8]</sup>.

- ✓ **L'aromathérapie** : Thérapie utilisant des huiles essentielles végétales qui influencent les humeurs, diminuent la douleur, augmentent le bien-être, tonifient ou relaxent le corps, etc. Le but étant d'augmenter la santé mentale, émotionnelle, physique et spirituelle <sup>[6]</sup>.
- ✓ **La phytothérapie** : Approche thérapeutique utilisant des plantes médicinales dans leur intégralité pour leurs propriétés thérapeutiques <sup>[6]</sup>.

### **I.1.3. Les avantages de la phytothérapie**

- ✓ Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable.
- ✓ La phytothérapie est rentable et moins coûteuse que les médicaments achetés dans une pharmacie allopathique.
- ✓ L'achat est sans ordonnance et ils sont disponibles dans n'importe quel magasin de la santé.
- ✓ La phytothérapie est plus efficace que la médecine allopathique pour certains maux.
- ✓ La médecine chimique prescrite par un médecin pourrait avoir certains effets secondaires négatifs. Cependant, la plupart des herbes médicinales et les remèdes n'ont pas d'effets secondaires négatifs. Le cas échéant, ils sont plus doux que la médecine allopathique.
- ✓ La phytothérapie, qui inclut des herbes telles que le gingembre, le poivron, l'ail et agripaume aide à contrôler les maladies liées à la circulation du sang telles que, l'hypertension artérielle et les ulcères variqueux. Beaucoup de plantes médicinales sont utilisées pour traiter les maladies coronariennes et de réduire le niveau de cholestérol dans le sang.
- ✓ L'obésité est la cause de nombreux problèmes de santé. La phytothérapie peut aider à réduire l'excès de poids et de réguler l'appétit <sup>[9]</sup>.

### **I.1.4. Inconvénients de la phytothérapie**

- ✓ La cure utilisant une phytothérapie et compléments prendrait un certain temps. Vous devez posséder une immense patience.
- ✓ La phytothérapie contient divers ingrédients et vous devez être sûr que votre corps n'est pas allergique.

- ✓ Un point à noter ici est, la phytothérapie et la médecine pour certaines affections peuvent avoir des effets secondaires négatifs. Ces effets secondaires ne peuvent être révélés immédiatement, mais cela prendrait des mois voire des années. Dans les premières étapes, si la phytothérapie ne vous convient pas, il est sage de cesser de l'utiliser.
- ✓ l'industrie des herbes médicinales n'est pas réglementée, par conséquent, il n'y a pas d'assurance qualité pour les produits à base d'herbes.
- ✓ Il y a très peu de bons praticiens de la médecine de fines herbes, et il serait sage de vous assurer que vous consultez un bon praticien avant de commencer la phytothérapie <sup>[9]</sup>.

### I.1.5. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie

Il y a plusieurs modes de préparation des plantes en phytothérapie, et cela selon l'usage que l'on veut en faire. Les modes de préparation les plus courants sont :

- a) **L'infusion** : C'est la méthode la plus utilisée principalement pour les parties molles de la plante (feuille, fleurs, sommités ...),

L'infusion consiste à verser sur la drogue de l'eau potable bouillante et à la laisser refroidir, elle convient aux produits fragiles et à ceux riches en huiles essentielles. Elle consiste également à recouvrir d'eau bouillante la drogue fragmentée. Le temps d'infusion doit être de 5 à 10 minutes dans un récipient couvert ce qui augmente le rendement d'extraction <sup>[10]</sup>.



Figure I.1. Infusion des feuilles <sup>[7]</sup>



Figure I.2. Préparation des macérats <sup>[7]</sup> 6

- b) **La macération** : Cette méthode est utilisée pour les différentes parties de la plante.

La macération consiste à maintenir en contact la drogue avec de l'eau potable à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 4 heures » <sup>[10]</sup>.

- c) **La décoction** : C'est une méthode utilisée pour les parties dures de la plantes (tige, écorce et racines, rameaux...). Il est préférable d'utiliser des ustensiles et des récipients en verre.

« La décoction consiste à maintenir la drogue avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes ».

L'infusion se prépare et se consomme le jour même, tandis que la décoction peut être consommée 48h après et chaude ou froide <sup>[10]</sup>.



Figure I.3. Décoction des tiges et feuilles <sup>[7]</sup>

### I.1.6. Les plantes médicinales

Selon la définition de la Pharmacopée Française (11ème édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques » <sup>[11]</sup>.

Une plante médicinale, contrairement à une plante « classique » possède donc des principes actifs responsables d'une action thérapeutique mais aussi responsables d'effets indésirables appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques <sup>[11]</sup>.

### I.1.7. 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 <sup>[12]</sup>.

## I.2. La famille de Rhamnaceae

La famille des *Rhamnaceae* inclut plus de 900 espèces répartis dans 54 genres, dont les principaux sont : *Phylica* (150 espèces), *Rhamnus* (100 espèces), *Zizyphus* (100 espèces) et *Ceanothus* (55 espèces) <sup>[2]</sup>.

Cette famille est divisée en 11 tribus répartis en trois sous-familles : les *Ziziphoides*, les *Rhamnoides* et les *Ampeloziziphoides*.

Les *Rhamnaceae* sont presque toutes arbustives, quelquefois épineuses (*Rhamnus*, *Paliurus*) ou lianescentes (*Berchemia*), certaines espèces s'agrippant au moyen de crochets (*Ventilago*) ou de vrilles (*Gouania*). Les herbes sont très rares (*Crumenaria*). Les feuilles, alternées ou subopposées, stipulées, sauf chez les *Phyllica* ou elles sont simples. Le limbe a une nervation pennée ou réduite à 3-5 veines longitudinales, et des marges entières à dentées <sup>[2]</sup>.

Le *Colletia* est singulier par ses deux bourgeons à chaque aisselle de feuille, le supérieur se développant en épine, l'inférieur en rameau.

Les *Paliurus* du sud de l'Europe et de l'Asie sont des arbrisseaux épineux du fait de la transformation des stipules.

Chez *Z. Spina-Christi*, les deux épines d'une même feuille sont dissemblables, l'une est droite et l'autre courbe. Beaucoup de *Zizyphus* des pays chauds, montrent aussi des stipules épineuses dimorphes <sup>[2]</sup>.

- ✓ Les inflorescences sont de type cymeux, en épis paniculés, cymes racèmeuses ou cymes paniculées, généralement axillaires et elles sont parfois réduites à des fleurs solitaires ou fasciculées.
- ✓ Les Actinomorphes sont bisexuées ou unisexuées, rarement polygames, et généralement protandres.
- ✓ Le réceptacle est cupuliforme ou tubulaire.
- ✓ Les 4 ou plus rarement 5 sépales valvaires sont libres ou connés, et forment un calice campanulé.
- ✓ Les 4 ou plus rarement 5 pétales, parfois absents, indupliqués valvaires, sont spatulés et souvent onguiculés, et presque toujours plus petits que les sépales.
- ✓ Les 4 ou rarement 5 étamines sont libres et opposipétales.
- ✓ Les anthères sont basifixes ou dorsifixes, versatiles, et ont une déhiscence longitudinale ou valvaire, introrse.
- ✓ Le gynécée est formé de 2-5 carpelles soudés en un ovaire, supère, semi-infère ou infère, généralement divisé en 2-3 loges par le développement centripète des bords placentaires, rarement uniloculaire par avortement de loges. Chaque loge renferme un ovule anatrope ou épitrope sur un placenta basal.
- ✓ Le style est simple, et le stigmate souvent trilobé.

- ✓ Les fruits sont très variés : ce sont généralement des drupes ou des capsules à déhiscence ventrale. Lorsque ces derniers sont indéhiscentes, ils montrent souvent des adaptations à la dispersion par le vent, comme l'aile du fruit de *Paliurus*.
- ✓ Les graines n'ont pas ou guère d'albumen et renferment un grand embryon droit <sup>[2]</sup>.

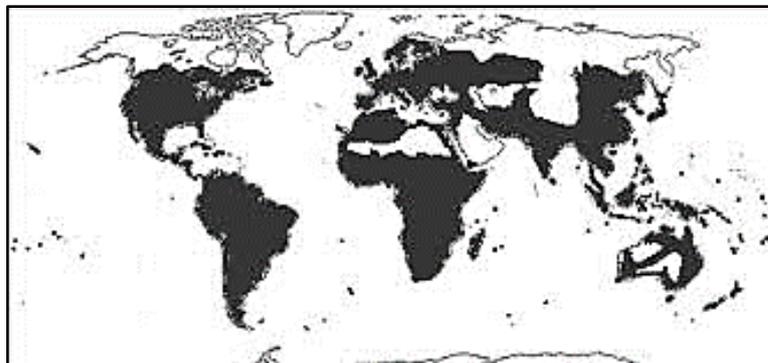


Figure I.4. Répartition géographique des espèces de la famille des Rhamnacées <sup>[13]</sup>

### I.3. Le genre *Zizyphus*

#### I.3.1. Description de genre *Zizyphus*

Le genre *Zizyphus* contient plus de 100 espèces d'arbustes épineux et de petits arbres avec feuilles caduques ou feuilles persistantes, à trois nervures. Les inflorescences sont de type cymeux et les fleurs sont petites, pérygines, un ovaire entouré par un disque nectaire épais. Les fruits drupes avec un pyrène solitaire <sup>[2]</sup>.

Les *Zizyphus* ou et les *Jujubiers* ont une large distribution, dans les régions tropicales et subtropicales du monde, allant du continent asiatique en passant par le bassin méditerranéen jusqu'à atteindre le continent américain. Elles sont concentrées principalement en Asie et en Amérique.

En Algérie, ce genre est représenté par quatre espèces, dont *Zizyphus lotus* (L.) Desf. et *Zizyphus mauritanicus* <sup>[2]</sup>.

#### I.3.2. Historique et origine de la plante *Zizyphus*

Découvert en 1767, le nom de *Zizyphus* dérive de l'appellation Berbère «Zizoufou, Zuzaifo». Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfu mouZizafun», alors que les grecs utilisent le mot «Ziziphon».

La classification des espèces est basée principalement sur des caractéristiques morphologiques et leurs modes d'utilisation <sup>[13]</sup>.

Ce genre regroupe plusieurs espèces environ 170. Telles que *Z. Spina-Christ*, *Z. vulgaris* (Mill), *Lotus* (L), *Z. mauritiana* (Lam). Les deux espèces qui produisent des fruits comestibles sont *Zizyphus mauritiana* et *Zizyphus jujuba*, cette dernière est l'espèce la plus populaire. L'arbre de jujube est appelé dans les pays arabes : Sidr, Nabk, Anneb, jujube et en chine on le nomme datte chinoise <sup>[13]</sup>.

Les espèces fruitières de *Z.* à grand potentiel de sélection, introduites dans plus de 30 pays représentent des exemples extraordinaires de plantes pérennes à divers usages dans les zones arides, semi-arides, et même désertiques de presque tous les continents grâce à leurs capacités de résistance à la sécheresse et leurs mécanismes physiologiques et Morphologiques d'adaptation.

Le sid'r présente de nombreux avantages pour la santé humaine et est représenté par de nombreuses espèces : *Rhamnus hirsuta*, *Rhamnus albanica*, *Rhamnus elegans*, *Rhamnus aurea*, *Rhamnus globosa*, *Rhamnus costata*, *Rhamnus diffusa*, *Rhamnus hirsuta*...etc <sup>[13]</sup>.

### I.3.3. Autres espèces de *Zizyphus* à travers le monde

Il existe environ 122 espèces de ce genre dont voici quelques un :

✓ *Zizyphus Spina-Christi* (Linné)

C'est un arbuste, très épineux avec des rameaux flexibles, grêle disposé en zigzag, pouvant atteindre 6 m ; à feuilles ovales glauques et à petits fruits globuleux, plus ou moins ovoïdes (d'environ 15 mm), à pulpe charnue comestible. Il est cultivé en Inde, Pakistan, Syrie, Egypte, Tunisie, et dans les oasis sahariennes. Des fruits arrondis de la grosseur d'une noix <sup>[14]</sup>.

✓ *Zizyphus joazeiro* (Martius)

Il est originaire du Brésil, le *Zizyphus joazeiro* est un arbre à rameaux épineux, à feuilles vertes foncées avec des fruits ronds d'environ 3 cm de diamètre qui sont jaunes à maturité <sup>[14]</sup>.

✓ *Zizyphus mucronata* (willd)

C'est une espèce assez commune et disséminée dans les savanes soudaniennes et sahélo-soudaniennes le long des berges de rivière.

C'est un arbuste plus ou moins sarmenteux, avec une écorce lisse ou crevassée grise et des épines. Les feuilles sont alternes ovales à bord crénelé <sup>[14]</sup>.

✓ *Zizyphus mauritiana* (L)

Jujubier indien c'est un arbuste à rameaux cotonneux et à feuilles tomenteuses dessous ; fruits très petits <sup>[14]</sup>.



Figure I.5. Différents espèces de *Zizyphus* <sup>[2]</sup>

## I.4. *Zizyphus Spina-Christi*

### I.4.1 Description botanique de *Zizyphus Spina-Christi* (Sidr)

*Zizyphus Spina-Christi* est un arbuste, très ramifiée à partir de la base. Il peut atteindre la taille d'un petit arbre de 1 à 3 m de hauteur. Les racines de *Zizyphus Spina-Christi* sont longues et traçantes. L'écorce est grise à brune, peu fissurée, à tranche rose à rougeâtre <sup>[4]</sup>.

Les rameaux jeunes sont glabres, recourbés vers le bas, flexueux de couleur vertes ou rosées. Les adultes sont gris ou blanc ponctué, arqués en zig-zig, à épines disposées par deux à l'aisselle des feuilles : l'une, plus ou moins droite et effilée, un peu orientée vers le haut et atteint 1,8 cm de longueur ; l'autre en crochet, plutôt orientée vers le bas et un peu plus courte. Les feuilles sont caduques entières, alternes, trinervées, coriaces à pétiole court ; limbe vert et plus ou moins brillant sur la face supérieure, grisâtre et pubescent sur la face inférieure. Elles sont glabres et glauques en dessous, ovales, 1.5 à 2 fois plus longues que large, à margés entières ou finement sinuées (**Figure I.6**) <sup>[4]</sup>.

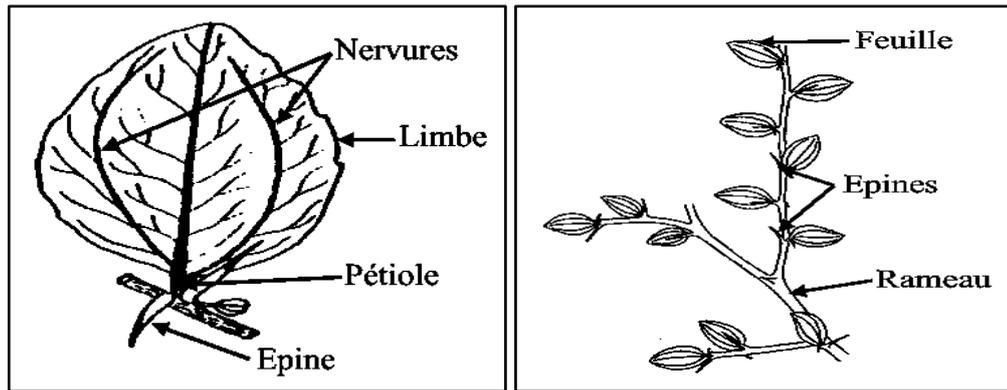


Figure I.6. Rameau et feuille de *Z. Spina-Christi* <sup>[4]</sup>

Les fruits sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petits et ronds sont recouverts d'une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre. Enveloppant un petit noyau de 4à5 mm de diamètre. Son noyau est soudé en une seule masse, et il contient 2 graines (Figure I.7).

Le jujubier entre en dormance du mois d'octobre jusqu'au mois de mars. Il fleurit au mois de mai et donne des fruits au mois d'Août.

Cet arbrisseau a une croissance très lente et commence à porter des fruits vers l'âge de 4 ans. Ils peuvent continuer à paraître vers 20 à 25 ans <sup>[1]</sup>.

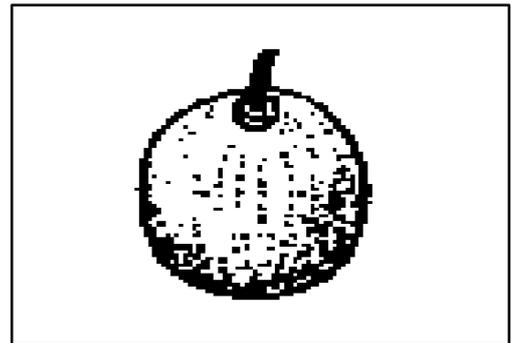


Figure I.7. Fruit de *Z. Spina-Christi* <sup>[4]</sup>

Les fleurs sont regroupées en fascicules axillaires peu fournie, fleurs hermaphrodites, petites (0.3-0.5 cm), à 5 grands sépales, 5 petits pétales opposées à 5 étamines, elles-mêmes insérées sous le disque central, porteur du style très visibles de couleurs jaune (Figure I.8) ; il Fleuri en été <sup>[4]</sup>.

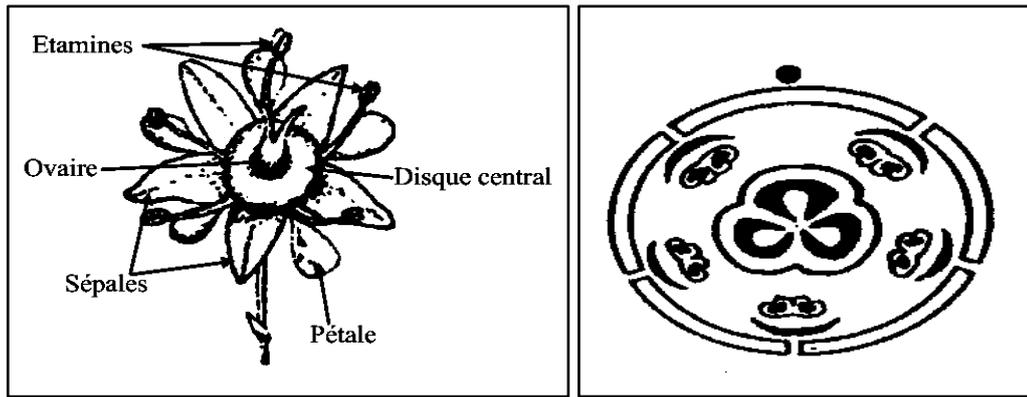


Figure I.8. Fleur et diagramme de *Z. Spina-Christi* <sup>[4]</sup>

#### I.4.2. Taxonomie de *Zizyphus Spina-Christi*

La place de *zizyphus Spina-Christi* dans la taxonomie botanique est la suivant <sup>[13]</sup> :

Tableau I.1. Taxonomie de *Zizyphus Spina-Christi* <sup>[13]</sup>

Régime	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Sous classe	Dicotylédone
Ordre	Celastrales
Famille	Rhamnaceae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Spina-Christi</i>

#### I.4.3. Echantillonnage sur le terrain

L'échantillonnage est effectué sur quatre sujets de *zizyphus Spina-Christi* (Figure I.9).



Figure I.9. La plante du *Zizyphus Spina-Christi* en mars, en mai, en Juin et en été <sup>[1]</sup>

## I.4.4. Composition chimique et biochimique du *Zizyphus Spina-Christi*

### I.4.4.1. Métabolites primaires

Les études photochimiques menées sur le *Zizyphus Spina-Christi* montrent la présence des métabolites primaires (Tableau I.2) [8].

Tableau I.2. Pourcentage des compositions primaires du *Zizyphus Spina-Christi* [8]

Constituents	Pourcentages %
Protéines	19,11
Carbohydrates	40,87
Lipides	32,92
Sucres	20

### I.4.4.2. Métabolites secondaires

Plusieurs études ont affirmé la richesse de *juzubier* en alcaloïdes, en flavonoïdes, en Stérols, en tanins, en saponines et en triterpénoïdes (Tableau I.3). En particulier, Les feuilles contiennent des alcaloïdes différents, y compris la ziziphine (Figure I.10), jubanine, amphibine, alpha terpinol, linalol et saponines diverses [13].

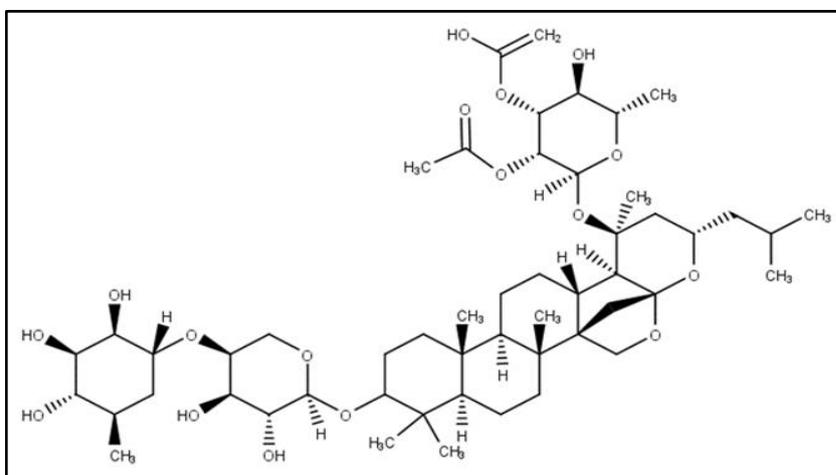


Figure I.10. Structure chimique de Ziziphine [13]

**Tableau I.3. Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus Spina-Christi*<sup>[1]</sup>**

Organe végétale	Composés majeurs	Quantité
<b>Fruits</b>	Polyphénols totaux	297 - 4078, 2mg/100g
	Flavonoïdes	122mg/100g
	Tanins	33mg/100g
<b>Feuilles</b>	Glucides (monosaccharides)	8720mg/100g
	Saponines	340mg/100g
	Flavonoïdes	130 - 199mg/100g
	Polyphénols totaux	664mg/100g
	Rutine	3,66mg/100g
	Flavonols glycosides	3,00mg/100g
<b>Graines</b>	Lipides	29730mg/100g
	Protéines	14220mg/100g
	Glucides	4087 - 4720mg/100g
	Suce soluble	4100mg/100g
	Polyphénols totaux	14,68mg/100g
<b>Écorces des racines</b>	Polyphénols totaux	109mg/100g
	Saponines (lotuside I et II, lotusine A-G)	219mg/100g
	Proanthocyanidine	156mg/100g
	Flavonoïdes	87mg/100g
<b>Pulpes</b>	Sucre soluble	10500mg/100g
	Minéraux	3200mg/100g
	Protéines	1180mg/100g
	Tanins	922mg/100g
	Polyphénols totaux	325mg/100g
	Flavonoïdes	173mg/100

#### I.4.5. Etude de la composition chimique de l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi*

La vertu nutritionnelle de *Z. Spina-Christi* est principalement basée sur sa composition riche en vitamine E, vitamine C, fibres, acides gras, acides aminés, calcium, magnésium et des quantités considérables de sucres <sup>[15]</sup>.

Les huiles végétales sont largement consommées dans notre alimentation. Ils contribuent à la saveur, au goût et à la texture des aliments. Conformément à cela, il a été rapporté que l'huile de *Z. Spina-Christi* est de haute qualité, car de sa teneur en acides gras insaturés et autres bioactifs composés <sup>[15]</sup>.

#### I.4.5.1. Métabolites primaires

##### a) La fraction vitaminique

*Zizyphus Spina-Christi* pourrait être considéré comme une source de nombreuses vitamines pour l'alimentation humaine <sup>[15]</sup>. Les vitamines A, E et C étaient présents dans l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* avec 3,80, 4,50 et 24,65 respectivement (**Tableau I.4**).

**Tableau I.4. Composition biochimique (en vitamines) de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* <sup>[15]</sup>**

Constituents	Teneurs (en mg/100g)
Vitamines liposolubles	
Vitamine A	<b>3,8</b>
Vitamine E	<b>4,5</b>
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C	<b>24,65</b>

##### b) La fraction minérale

Toutes les parties de la plante de *Zizyphus Spina-Christi* contiennent du calcium, potassium et ions ferreux. Des pourcentages élevés d'éléments ont été trouvés dans différentes parties de la plante, L'écorce Contient 94,23% en calcium <sup>[16]</sup>.

##### c) La fraction lipidique

De nombreuses études ont rapporté que toutes les parties de *Z. Spina-Christi* en particulier, graines, pulpe, fruits, feuilles, amande, racine et tige, sont riches en acide palmitique, stéarique, linoléique et oléique <sup>[15]</sup>.

L'acide palmitique, l'acide stéarique et l'acide oléique sont les acides gras, ils sont plus important de l'écorce vers la tige de *Z. Spina-Christi*, à 33,80%, 24,40% et 21,73% respectivement.

Des études in vivo chez le lapin LDL modèle, a fourni la preuve que l'acide oléique est responsable des propriétés antioxydantes puissantes attribuées à de nombreuses huiles comestibles riches en cet acide gras. De plus, il a été signalé que l'acide oléique a régulé à la hausse l'expression du cancer du sein, protéine de résistance et module ainsi la rétention intestinale <sup>[15]</sup>.

Les AGI comportent des acides gras mono insaturés (AGMI) avec un pourcentage de 21,73% pour la tige de *Zizyphus Spina-Christi*. Et des acides gras polyinsaturés (AGPI) avec des pourcentages 11,10% pour la tige de *Zizyphus Spina-Christi* (**Tableau I.5**).

**Tableau I.5. Composition en acides gras (g/100 g de lipides totaux) de tige**  
*Zizyphus Spina-Christi* <sup>[15]</sup>

Acide gras	Teneur (en g/100g)
Acide Laurique	/
A. myristique	0
A. palmitique	33,80
A. stéarique	24,40
A. arachidique	0
A. béhénique	/
AGS	58,20
A. palmitoléique	0
A. oléique	21,73
A. érucique	0
A. lignocérique	0
AGMI	21,73
A. linoléique	11,10
A. $\alpha$ -linoléinique	0
AGPI	11,10
AGI	32,80

#### I.4.5.2. Métabolites secondaires

Les Principaux composés sont les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines et autres biomolécules.

Les polyphénols d'origine végétale sont une famille de molécules organiques <sup>[15]</sup>.

Au cours de la dernière décennie, il y a eu un intérêt croissant pour le rôle des polyphénols, dans plusieurs pathologies humaines. Ils ont été avérés cardio-protecteurs, anticancéreux, antiviral, ayant des propriétés antiallergiques et antispasmodiques. Leur structure chimique est caractérisée par la présence de nombreux groupes phénoliques. Les polyphénols sont également capables de piéger les espèces radicalaires réactives et préviennent les réactions peroxydatives <sup>[15]</sup>.

Les travaux, montrent la présence de l'acide p-coumarique, rutine, apigénine, quercétine et acide chlorogénique dans l'extrait de tige (**Tableau I.6**) <sup>[17]</sup>.

**Tableau I.6. Concentration de certains acides phénoliques présents dans les échantillons de l'écorce de tiges de *Zizyphus Spina-Christi*** <sup>[17]</sup>

Extraction méthanoïque	Concentration (mg/100 gm)
Rutine	325,0
Apigénine	122,90
Acide p-coumarique	25,30
Quercétine	18,08
L'acide chlorogénique	21,70
Acide syringique	27,59

#### I.4.6. Répartition géographique de *Zizyphus Spina-Christi*

Le *Zizyphus Spina-Christi* est originaire de la Chine septentrionale et de là, il avait été apporté dans l'Asie occidentale, puis en Europe méridionale et dans les steppes semi-désertiques d'Afrique du Nord méditerranéen, en Arabie, au Sahara septentrional, au Sahara central et en Asie-mineure. On le rencontre dans les zones rocailleuses au niveau des falaises, aux pieds des collines et dans les lits oueds à fond rocailleux <sup>[4]</sup>.

*Zizyphus Spina-Christi* se trouve sur tout le nord du Maghreb. Il est très répandu dans les régions arides e l'Algérie du Sud, dans les pâturages arides, les steppes et dans toute l'Algérie, sauf sur le tell algéro-constantinois <sup>[4]</sup>.

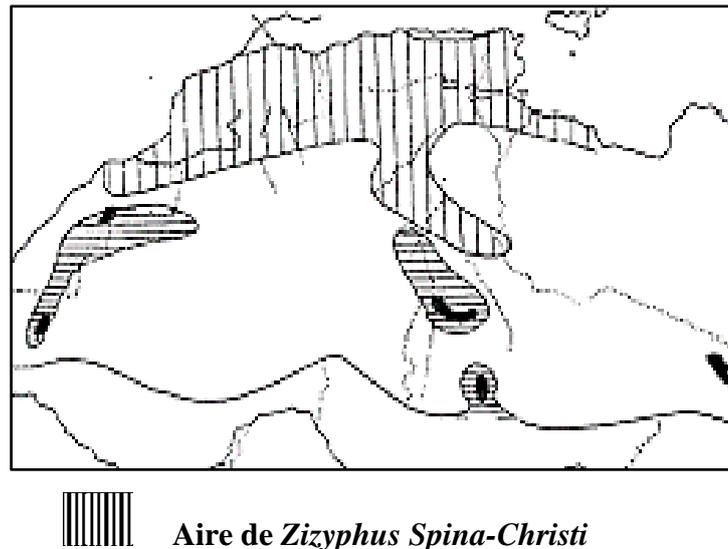


Figure I.11. Aire de répartition du *Zizyphus Spina-Christi* en méditerranée <sup>[4]</sup>

#### I.4.7. Exigence climatiques de *Zizyphus Spina-Christi*

*Le Zizyphus Spina-Christi* est un exemple extraordinaire de plantes pérennes à usages multiples dans les zones arides et semi-arides voire même désertiques de presque tous les continents grâce à leur capacité de résistance à la sécheresse.

L'aire naturelle de la majorité des jujubiers se situant entre 20° et 30° de latitude, c'est une zone qui est caractérisée par des climats chauds et secs et où sont localisés la majorité des déserts du globe <sup>[13]</sup>.

Les *jujubiers* subsistent bien dans les environnements arides grâce à leurs mécanismes physiologique et morphologique d'adaptation. Ils jouent un rôle très important dans la conservation des sols grâce à leurs systèmes racinaires profonds et vigoureux qui permettent une stabilisation des substrats et protègent ceux-ci contre l'érosion.

*Z. Spina-Christi* aime la chaleur et craint le froid mais il s'est acclimaté dans la région méditerranéenne, par contre, Il craint les terrains compacts et humides .Il supporte également la sécheresse et l'irradiation <sup>[13]</sup>.

#### I.4.8. Sources islamiques

Le Coran a mentionné l'arbre deux fois ; l'arbre de lote est communément identifié comme *Z. Spina-Christi* et, par conséquent, cette espèce est très respectée par les musulmans à travers le Moyen-Orient. Cet arbre a été largement utilisé comme plante fruitière et comme plante médicinale depuis antiquité et est toujours en usage à l'heure actuelle <sup>[18]</sup>.

Le Coran dit: « ils seront parmi des jujubiers sans épines » sourate 56, Al-Wàqi'a (L'évènement), verset 28. On parle également du jujubier lors du récit du voyage nocturne de l'ascension de Mohamed accompagné par l'ange Gabriel jusqu'au jujubier de la limite supérieure : « puis il m'emmena vers Sidrat al-Muntaha (le jujubier de limite supérieure) dont les feuilles ressemblaient aux oreilles d'éléphants et les fruits étaient [grands] comme les cruches. Au moment où-par l'ordre de Dieu-le jujubier fut couvert de ce qui couvrit, il se transforma et aucune des créatures de Dieu ne pourrait décrire sa splendeur »<sup>[18]</sup>.

Plusieurs hadiths rapportent que Mohamed demandait aux personnes chargées de laver un mort, de le laver avec de l'eau mêlée de *jujubier*.

Farooqi, dans son livre "Plantes du Coran", discute à longueur les différents noms de l'arbre de lotus du Coran: il suggère *Z. Spina-Christi* en option, mais d'autre part *Z. lotus* et *Z. Spina-Christi* sont des plantes sauvages en Arabie.

Une autre possibilité qu'il mentionne est le cèdre du Liban (*Cedrus libani* L.), également appelé "sidr en arabe". Farooqi conclut que l'arbre de lotus du Coran était en effet le cèdre du Liban, et le malentendu historique a perpétué le nom erroné jusqu'à ce que le aujourd'hui<sup>[18]</sup>.

Le débat en cours concernant le lotus dans le Coran, nonobstant, l'arbre sacré trouvé dans le Moyen-Orient appelé sidr, le nom donné dans le Coran, est le *Jujube du Christ (Zizyphus Spina-Christi)*<sup>[18]</sup>.

#### I.4.9. Utilisation traditionnelle de *Zizyphus*

- ✓ **Feuilles** : Utilisés dans les maladies de la peau écrémée, et sont utiles dans le traitement des maladies de la poitrine, de la papillote et des anthelminthiques cuits et contre la diarrhée, et utilisés en Egypte comme pigment et pour le traitement de l'inflammation oculaire.
- ✓ **Fruits** : On sait que les fruits sont bénéfiques pour le traitement de l'enflure des seins et que les anciens Egyptiens fabriquaient à partir des fruits du pain sucré et l'utilisent dans la composition des médicaments.
- ✓ **Bois** : Est donc utilisé dans de nombreuses applications industrielles telles que le travail d'outils agricoles, de meubles, de bâtiments, de maison et dans la médecine traditionnelle, il est utilisé comme charbon de bois, et mélangé à du vinaigre pour traiter la morsure du serpent<sup>[13]</sup>.

#### I.4.10. Différentes utilisations de *Zizyphus Spina-Christi*

Polyvalent de *zizyphus Spina-Christi*  
 Il existe de nombreuses formes de prestations de *Zizyphus Spina-Christi*, dont les fruits sont consommés frais ou secs et peuvent être broyés sous forme de farine utilisée dans les produits de boulangerie, où ils sont sous forme de petites boules, car la pulpe des fruits peut être mangée ou stockée l'avenir. Les avantages de cette plante sont résumés dans (Figure I.12) <sup>[19]</sup>.

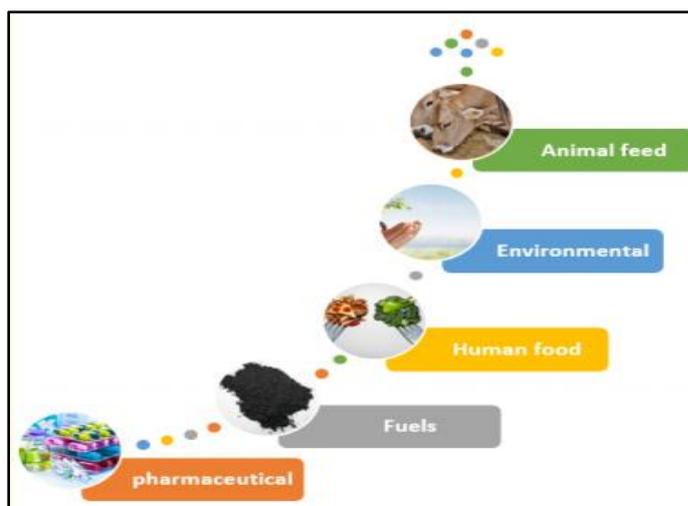


Figure I.12. Les utilisations de *Z. Spina-Christi* <sup>[19]</sup>

##### ✓ L'alimentation animale

Les feuilles sont utilisées comme nourriture pour les animaux, en particulier pendant la saison sèche, où de petites branches sont frottées et utilisées comme aliments pour les chameaux et chèvres <sup>[19]</sup>.

##### ✓ Sources de carburant

Le bois est utilisé comme source de combustible et d'accès au charbon de haute qualité, et est utilisé aussi dans la fabrication de portes et fenêtres, poignées de porte et meubles <sup>[19]</sup>.

##### ✓ Utilisations environnementales

Il a une grande importance environnementale car il est cultivé autour des villages et fonctionne comme une ceinture de sécurité et de brise-vent en raison de la profondeur et de l'étendue de ses racines. De plus, il participe à augmenter le taux de fertilité du sol car il contient une grande quantité de phosphore <sup>[19]</sup>.

##### ✓ Nourriture humaine

Il existe de nombreuses façons de profiter de la plante, il peut être consommé comme fruit se caractérisant par la douceur du goût, ou moulu et mélangé avec de l'eau et fabriqué à partir de celui-ci cuit des produits comme le pain d'épices.

Des études récentes ont prouvé que le miel issu d'abeilles qui se nourrissent d'arbres de barrage est un puissant anticorps bactérien par rapport à d'autres types de miel <sup>[19]</sup>.

### ✓ Utilisations pharmaceutiques

Les espèces du genre "*Zizyphus*" sont employées largement en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies tels que : les troubles digestifs, la faiblesse, les problèmes du foie, l'obésité, les infections urinaires, le diabète, les infections de la peau, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie <sup>[20]</sup>.

Des études ont démontré, la présence de six alcaloïdes cyclopéptidiques et quatre saponines dans les racines de cette espèce ce qui lui a donné une activité antibactérienne.

Les racines sont utilisées pour traiter les maladies pulmonaires (considérées comme bronchodilatateur), le rhumatisme, l'arthrite, ainsi elles sont considérées comme fébrifuges et cicatrisantes <sup>[20]</sup>.

Les fruits du jujubier ont divers effets à savoir : anti-âge et anti-tumoraux, des effets sur le système cardiaque en augmentant la capacité d'oxygénation des sujets et empêcher l'arythmie cardiaque, des effets anti-diarrhéiques et anti-ulcérogéniques, des effets antibactériens et antifongiques suite à la présence des alcaloïdes cyclopéptidiques, et des effets antidiabétiques <sup>[20]</sup>.

Des chercheurs étudié les aqueuses et éthanoliques extrait d'écorce de *Z. Spina-Christi* qui a montré l'antagonisme à la contraction induite par l'acétylcholine du jéjunum de lapin qui a confirmé l'utilisation folklorique de *Z. Spina-Christi* comme spasmolytique.

Les auteurs ont également étudié l'extrait aqueux de l'écorce de *Z. Spina-Christi* contre contenant divers microorganismes pour évaluer les activités antibactériennes et toxicologiques qui ont montré l'utilité de l'écorce de tige pour le traitement des plaies, brûlures, gêne gastrique et infections des voies urinaires.

Parties d'Arial de *Z. Spina-Christi* aurait des effets cytotoxiques contre carcinome du col de l'utérus humain et lignées cellulaires du carcinome du sein humain <sup>[21]</sup>.

Les feuilles ont des effets hypoglycémiques, ainsi qu'une activité antiseptique et désinfectante <sup>[20]</sup>.

L'infusion des fleurs est utilisée comme un fébrifuge et un désinfectant pour les yeux. Un effet immunodépresseur a été observé chez les cellules Tumorales humaines sous l'action de l'extrait des polyphénols <sup>[20]</sup>.

Les rameaux secs et épineux du jujubier sont utilisés pour former des clôtures défensives. Les feuilles sont employées largement comme une réserve fourragère d'appoint pour les chameaux

et les chèvres. C'est la seule espèce ligneuse spontanée qu'on rencontre aux limites Nord du désert. En Afrique, le bois du jujubier est utilisé pour la sculpture et la menuiserie <sup>[20]</sup>.

#### **I.4.11. Propriétés, Effets et Indication**

En effet, si les plantes médicinales bien utilisées ont de nombreuses vertus, il ne faut pas oublier qu'une plante mal utilisée peut-être toxique, et qu'une partie d'une plante peut soigner un trouble particulier tandis qu'une autre partie de cette même plante peut être dangereuse pour la santé <sup>[22]</sup>.

##### **✓ Contre-indications**

À cause de l'effet de *Zizyphus* qui est stimulant sur l'utérus, il est contre-indiqué de prendre de l'amande de jujubier en cas de grossesse. Le fruit, par contre, ne présenterait aucun risque à cet égard.

Pour soigner les insomnies, il est préférable de consulter un praticien dûment formé en MTC (Médecine traditionnelle chinoise), car le jujubier ne convient pas à certains types d'insomnie.

Il n'est pas recommandé également aux personnes qui ont peu d'appétit ou beaucoup de ballonnements après avoir mangé <sup>[23]</sup>.

##### **✓ Effets indésirables**

L'amande du jujubier étant riche en huiles, elle peut, selon la Médecine traditionnelle chinoise, entraîner ou aggraver la diarrhée ou la nausée chez les gens qui ont des problèmes de digestion <sup>[23]</sup>.

##### **✓ Interactions**

Il n'y a aucune interaction connue avec des plantes, mais au contraire on associe de nombreuses fois le jujubier à d'autres plantes pour harmoniser leurs effets. Il n'y a aucune interaction connue non plus avec des compléments ou des médicaments <sup>[23]</sup>.

## Chapitre II

### *Applications Biologiques*

**L**es espèces de *Zizyphus* ont été utilisées à de nombreuses fins thérapeutiques par des personnes à travers le monde. Plus précisément, les plantes du genre *Zizyphus* sont utilisées pour traiter diverses maladies et affections dans des régions telles que l'Inde, la Chine, au Moyen-Orient, en Afrique australe et en Amérique du Sud.

Cinq espèces appartenant au genre *Zizyphus*, *Z. jujuba*, *Z. mauritiana*, *Z. nummularia*, *Z. Spina-Christi* et *Z. xylopyrus*, ont été répertoriées et décrites dans la littérature scientifique [24]. Cette revue se concentre sur *Zizyphus Spina-Christi* et discute de leurs utilisations locales et traditionnelles.



Figure II.1. Écorce de *Z. Spina-Christi* [1]

#### Phytochimiques

Alcaloïdes peptidiques  
Cyclopeptides  
Flavonoïdes  
Stérols  
Tanins  
Acide bétulinique  
Glycosides  
Saponines triterpénoïdes

#### Pharmacologie

Activités antibactériennes  
Anticancéreuses  
Antidiarrhéiques  
Antifongiques  
Anti-inflammatoire  
Antiplasmodiale

#### Ethnopharmacologie

Maux de dents  
Fièvre  
Maladies pulmonaires  
Tonique  
Soulager la gingivite  
Dysenterie  
Diarrhée  
Corrige les bulles  
Pansement  
Empêcher la grossesse  
Ecchymoses et ulcères

## II.1. Ethnopharmacologie: pratiques traditionnelles

*Z. Spina-Christi* a longtemps été utilisé par les Arabes dans la médecine folklorique pour maintenir la santé [24]. Son écorce est gris clair, très craquelée, écailleuse; tronc tordu; très ramifié, couronne épaisse; pousses blanchâtres, flexibles, tombantes; épines par paires, l'une droite, l'autre recourbée [25].

En Arabie Saoudite, l'écorce de tige est utilisée pour calmer les maux de dents et la fièvre.

En Afrique tropicale, en particulier dans le pays de Kapisiki sont utilisées dans différentes préparations médicinales. Au Zimbabwe, des décoctions d'écorce ont été signalées en Afrique du Sud pour des maladies pulmonaires.

Selon le système de médecine unani, l'écorce est tonique.

Au Japon, Les populations tribales locales utilisent l'écorce pour empêcher la grossesse [26]. En médecine traditionnelle La colle à écorce est utilisée pour accélérer la guérison des ecchymoses et des ulcères et comme pansement.

Au Pakistan et dans la région de Sariska en Inde, l'écorce corrige les bulles [24] et la décoction d'écorce amère et astringente est prise pour arrêter la diarrhée et la dysenterie et soulager la gingivite [27].

## II.2. Activités pharmacologiques

Des recherches phytochimiques sur *Z. Spina-Christi* ont montré que cette plante contient de nombreux composés phytochimiques biologiquement importants. Des alcaloïdes peptidiques et cyclopeptidiques, des flavonoïdes, des stérols, des tanins, de l'acide bétulinique et des glycosides de saponine triterpénoïdes ont été isolés et identifiés chimiquement [21]. Ceux-ci comprennent 165 alcaloïdes, 151 flavonoïdes, 43 terpénoïdes, 31 saponines et 40 autres composés [24].

Des études antérieures ont révélé les nombreuses applications médicinales du genre *Zizyphus*, de leurs extraits et de leurs constituants chimiques, dans une gamme de modèles de test in vitro et in vivo. Il a été démontré qu'ils possèdent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antidiabétiques, antidiarrhéiques, antifongiques, inhibitrices de l'anticholinestérase, anti-inflammatoire, antileishmania, antinociceptive, antioxydante, antiplasmodiale, antipyrétique, hépatoprotectrice, sédative et inhibitrice de l'uréase à différentes doses / concentrations [24].

Celles-ci sont décrites plus en détail dans les sous-sections suivantes.

## II.2.1. Activité antioxydante

Benammar (2011) a constaté que les extraits des différentes parties de *Zizyphus Spina-Christi* exercent une activité antioxydante. Par conséquent, il est possible que cette activité puisse être attribuée aux vitamines antioxydantes présentes dans *Zizyphus Spina-Christi* [28].

Pour cela, des analyses ont été réalisées sur la composition en vitamines dans l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* et ont cherché si il y'a possibilité de corrélation entre l'abondance des vitamines et la pouvoir antioxydant de la plante. Le test de corrélation de Spearman (Rs) a été utilisé [28] :

- ✓ Dans ce test on admet qu'il existe une forte corrélation entre deux paramètres lorsque le coefficient de corrélation (Rs) est proche de 1.
- ✓ Les résultats de ce test montrent qu'il existe une forte corrélation ente la capacité antioxydante et l'abondance dans *Zizyphus Spina-Christi* de vitamines A, vitamine C et vitamine E.
- ✓ Ils ont montré également que la décoction d'écorce de *Zizyphus Spina-Christi* exerce une activité immunosuppressive.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux d'Adhvaryu et al. (2007) qui ont également observé que les extraits de *Zizyphus Spina-Christi* exercent des effets immunomodulateurs chez les rongeurs [29].

Pour résumer, Ils ont affirmés que des extraits aqueux de différents parties (feuilles, racine, écorce de tige...) de *Zizyphus Spina-Christi* exercent un potentiel thérapeutique certain, puisqu'ils possèdent des propriétés antioxydantes et immunosuppressives [28].

Les vitamines antioxydantes sont des substances dont l'organisme ne peut en général faire la synthèse nécessaires à l'organisme et à sa croissance, agissant à doses minimes, dépourvues de valeur calorique intrinsèque et qui doivent être apportées par le régime alimentaires [30].

Les vitamines ont le plus souvent un rôle de cofacteur dans les synthèses enzymatiques et membranaires. Les besoins en vitamines sont impératifs en période de croissance [30].

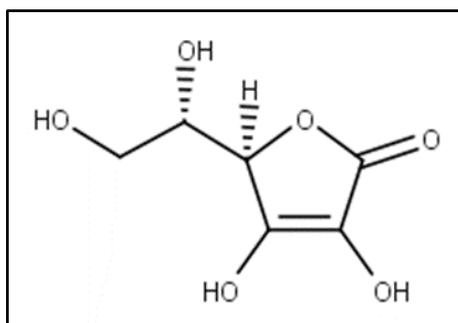
### II.2.1.1. Vitamine C

La vitamine C (ou acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique, elle empêche l'oxydation des LDL, produite par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) [31].

Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, le vit C passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui sera régénérée par le glutathion.

La vitamine C est facilement oxydée par de nombreux oxydants, en particulier le dioxygène de l'air, c'est pourquoi la vitamine C est un antioxygène : réagissant avec le dioxygène, elle empêche celui-ci d'oxyder les constituants des aliments et protège ainsi les corps gras contre le rancissement, limite l'oxydation des ions nitrite en ions nitrate <sup>[31]</sup>.

Les fruits du jujubier sont riche en acide ascorbique (192-359 mg/100 g) en quantité importante, ce qui représente deux à quatre fois sa teneur dans les agrumes <sup>[31]</sup>.



**Figure II.2. Structure chimique de la vitamine C** <sup>[32]</sup>

La vitamine C permet également la régénération du radical tocophéroxyle (Vit E•), formé au cours de la réaction de protection anti-radicalaire, en tocophérol. Elle réduit la glycosylation et augmente l'activité des enzymes antioxydantes <sup>[33,34]</sup>.

### II.2.1.2. Vitamine A

C'est une vitamine liposoluble. Dans l'organisme, elle existe sous forme de rétinol, de rétinal, d'acide rétinoïque (RA) et de rétinyl phosphate.

Ces molécules sont altérées par l'oxygène de l'air, altérations accélérées par la lumière et la chaleur <sup>[28]</sup>.

Les aliments d'origine animale (viandes, produits laitiers et surtout foie) contiennent du rétinol et des esters de rétinol alors que les végétaux contiennent essentiellement des carotènes qui sont des précurseurs de vitamine A.

Une molécule de bêta-carotène, par hydrolyse de la liaison 15-15' sous l'influence d'une caroténoïde monooxygénase ( $\beta$ -carotène 15,15' monooxygénase), donne deux molécules de

vitamine A. Par contre, les deux autres carotènes (alpha et gamma) ne donnent naissance qu'à une seule molécule de vitamine A [28].

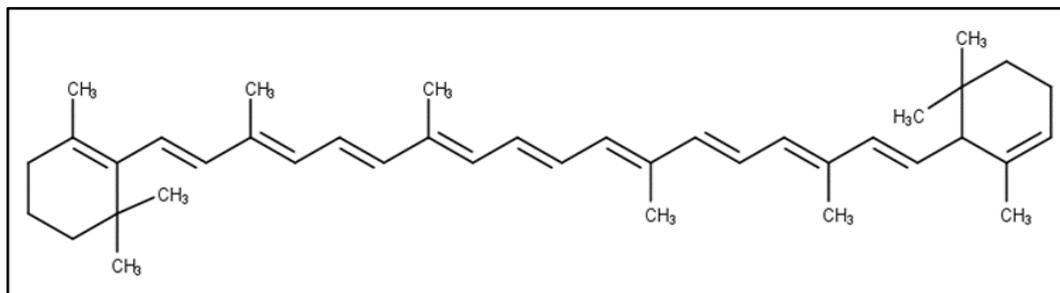


Figure II.3. Structure chimique du bêta-carotène [32]

La forme la plus utile de vitamine A est le rétinol, bien qu'on puisse également en trouver sous forme de rétinal ou d'acide rétinoïque.

La vitamine A est impliquée dans la croissance des os et la synthèse de pigments de l'œil. Le rétinol est parfois utilisé dans le traitement des acnés sévères. La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet ( $1^1O_2$ ) et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés [28].

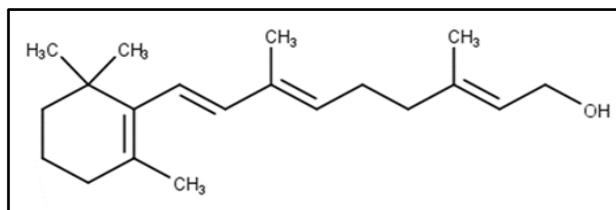


Figure II.4. Structure chimique de la vitamine A [32]

### II.2.1.3. La vitamine A et le système immunitaire

La vitamine A est un stimulant pour l'immunité. Le manque de vitamine A diminue la réponse du système immunitaire à certaines bactéries et certains virus. Sans vitamine A, les cellules ne peuvent ni croître ni se différencier, ce qui réduit l'efficacité du système immunitaire [35].

De même, la vitamine A diminue l'inflammation et une carence en vitamine A (CVA) exacerbe la réponse inflammatoire [36].

Cette propriété anti-inflammatoire de la vitamine A est due à l'induction de la différenciation des cellules T en cellules T régulatrices. En effet dans les cellules la vitamine A est transformée en acide rétinoïque (RA). Le rétinol comme le RA va être transporté jusqu'au noyau grâce à des transporteurs appelés CRBP (rétinol cellulaire fixant protéine) et CRABP (acide rétinoïque

cellulaire-liaison protéine). Dans le noyau, on trouve des récepteurs à l'acide rétinoïque appelés RAR (récepteurs d'acide rétinoïque), de type  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ , et les récepteurs de RA appelés RXR (récepteurs rétinoïque X). Ces récepteurs nucléaires RAR et RXR se lient sur leurs éléments de réponse cibles appelés RARE (éléments réactifs acide rétinoïque) et contrôlent l'expression des gènes. C'est ainsi que le RA induit l'expression génique de l'IL<sub>4</sub> qui oriente la différenciation cellulaire T vers le phénotype Th<sub>2</sub>, induit l'apoptose des cellules T [36] et diminue la réactivité des cellules CD<sub>8</sub> en induisant leur différenciation en CD<sub>8</sub> régulatrices faiblement cytotoxiques [37].

Le récepteur nucléaire de vitamine A est RAR (récepteurs acides rétinoïque) et celui de l'acide rétinoïque est RXR (récepteurs rétinoïdes). RAR et RXR forment un hétérodimère RAR/RXR, qui se lie à sur l'ADN au niveau des éléments de réponse au rétinoïdes (RARES) pour réguler la transcription de gène [28].

#### II.2.1.4. Vitamine E

Cette vitamine désigne une famille de molécules chimiques liposolubles. Il existe quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable. L' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -Toch) est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs [38].

Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique radicalaire, l' $\alpha$ -Toch, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO<sub>2</sub> et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection [39,40].

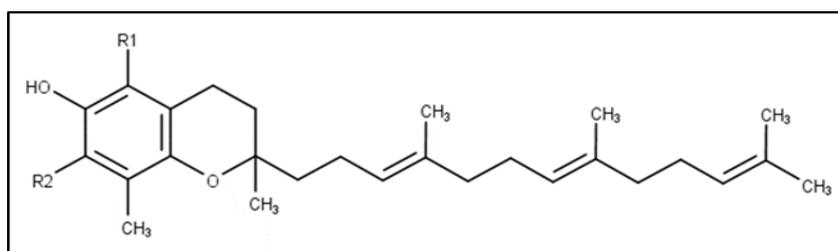


Figure II.5. Structure chimique de la vitamine E [32]

La fonction la plus connue de la vitamine E est celle d'antioxydant capable de protéger la vitamine A, les carotènes et les acides gras polyinsaturés (AGPI) de l'oxydation et de piéger les radicaux peroxydes (LOO•) pour donner des hydroperoxydes (LOOH) stables et peu réactifs. Ceci

interrompt la cascade de peroxydation induite par les radicaux libres. Ensuite la vitamine E oxydée est régénérée par la vitamine C.

L'action antioxydante de la vitamine E est extrêmement efficace et l'on estime qu'une molécule d'alpha-tocophérol peut inhiber la peroxydation de 1000 molécules d'acides gras polyinsaturés et il y aurait en moyenne dans la membrane une molécule de vitamine E pour 500 molécules d'acide gras [28].

La vitamine E améliore non seulement les défenses antioxydantes, mais semble aussi aider le corps face aux problèmes de résistance à l'insuline.

Les recherches révèlent qu'un faible taux de vitamine E représente un indice fiable et indépendant du développement du diabète de type 2. Les individus qui affichent un faible taux de vitamine E présentent un risque cinq fois plus élevées de développer le diabète que ceux qui jouissent d'un taux normal de cette vitamine [28].

#### II.2.1.5. Vitamine E et système immunitaire

La vitamine E exerce un effet immunostimulateur associé à une résistance accrue contre les agents infectieux [41]. En effet, la vitamine E induit la différenciation des cellules T vers le phénotype Th1 et augmente, *in vitro* la prolifération des cellules T, et la production de l'IL-2 [42].

Alpha-tocophérol exerce aussi des effets anti-inflammatoires *in vitro et in vivo*, il diminue la libération de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, et le TNF $\alpha$ ) et diminue également l'adhérence des monocytes à l'endothélium. En outre, l'alpha-tocophérol diminue le niveau de protéine C (marqueurs inflammatoires) chez les patients atteints de maladies cardiovasculaires [43].

#### II.2.2. Acides gras polyinsaturés et système immunitaire

Selon Benammar (2011) *Zizyphus Spina-Christi*, semble être une bonne source de gras saturés (16:0 et 18:0), mono-insaturés (18:1 n-9) et polyinsaturés (18:2 n-6) des acides gras [28].

En ce qui concerne les acides gras essentiels, l'acide linoléique est présent dans toutes les parties de la plante (l'écorce de tige). Les effets immunosuppresseurs significatif de l'extrait de noyau ne peut pas être attribués à sa teneur en vitamines puisque cet extrait ne contient pas de vitamine A, et sa teneur en vitamine E est plus faible, de même sa teneur en vitamine C est plus faible que celle de la pulpe.

Les chercheurs n'ont pas observé de corrélation entre l'effet antiprolifératif du *jujubier* et sa teneur en vitamines. Cependant, ils ont montré une forte corrélation ( $R_s = 0,70$ ) entre la teneur en acides gras n-3 et l'effet antiprolifératif de *Zizyphus Spina-Christi* [28].

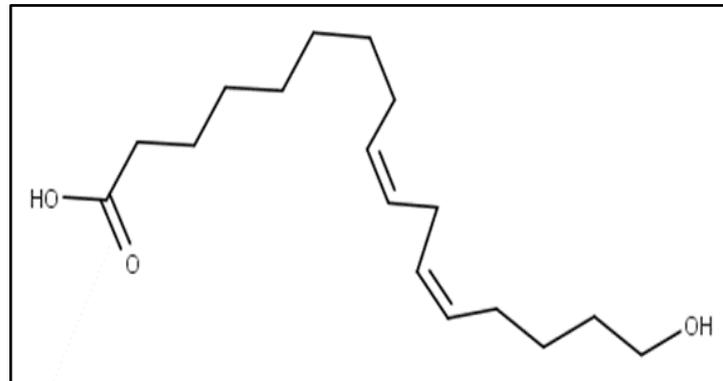


Figure II.2. Structure chimique de l'acide linoléique [44]

Il a été bien établi que les acides gras n-3 exercent une activité anti-inflammatoire et immunosuppressive à la fois dans les études cliniques et expérimentales [45].

De nombreux travaux ont mis en évidence que les AGPI (n-3) ont tendance à diminuer les réponses immunitaires en modulant notamment la prolifération des cellules immunocompétentes [46]. Ainsi, Kelley *et al.* (1991) ont mis en évidence chez l'Homme, qu'une augmentation de la consommation de graines de lin, riches en acide  $\alpha$ -linoléique, diminue la prolifération des lymphocytes en culture stimulés par des mitogènes [47].

De même, la consommation quotidienne de 1,23g d'EPA et de DHA, sans supplémentation en vitamine E, entraîne une diminution de la prolifération des cellules mononuclées et de la production de certaines cytokines *in vitro* [47].

L'ajout de différents AGPI (n-3) sur des lymphocytes en culture et leurs effets sur la prolifération des lymphocytes T et B, indique que des concentrations faibles en ces acides gras ( $< 3 \mu\text{M}$ ) augmentent ces fonctions *in vitro*, tandis que des concentrations élevées ( $> 30 \mu\text{M}$ ) les inhibent [28].

Des réductions de la prolifération (jusqu'à 65%) ont été également observées sur des cellules T humaines isolées à partir du sang périphérique. L'activité biologique dépend du degré d'insaturation et de la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras. En effet, les acides gras saturés ont moins d'effets que les AGPI. La production de l'IL-2 est indispensable pour la prolifération des cellules T. Cette cytokine agit de façon autocrine et/ou paracrine via son récepteur présent sur les cellules T. Plusieurs études ont montré que les AGPI (n-3) inhibent la prolifération

des lymphocytes T de souris et humains, en inhibant la production d'IL-2 ou en inhibant l'expression de son récepteur (IL-2R) [28,48].

Les acides gras agissent également sur la différenciation des cellules T, notamment les cellules T CD4<sup>+</sup>. La décision finale pour une cellule CD4 de se différencier en cellules Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub> est prise au cours de sa première rencontre avec l'antigène.

Des études ont mis en évidence que l'EPA et le DHA diminuent la production de l'IL-2 par les cellules Th<sub>1</sub> et stimulent la production d'IL-4 issues des Th<sub>2</sub> [49,50] ont récemment démontré qu'un régime enrichi en AGPI (n-3), diminue le taux d'expression des cytokines de type Th<sub>1</sub> et augmente celui des cytokines de type 2, chez des rates gestantes rendues diabétiques ainsi que chez leurs progénitures macrosomiques.

### II.2.3. Activité antidiarrhéiques

Les effets antidiarrhéiques de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* chez des rongeurs de laboratoire ont été évalués par Adzu et al (2003).

Des études sur la diarrhée induite par l'huile de ricin, l'accumulation de liquide intraluminale et le temps de transit gastro-intestinal ont été menées.

Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait provoquait une protection dose-dépendante des rats contre la diarrhée induite par l'huile de ricin, diminuait l'accumulation de liquide intraluminale et le transit gastro-intestinal [51].

- ✓ L'huile de ricin a provoqué une diarrhée abondante dans tout le groupe témoin de solution saline avec un début à  $88,169 \pm 6,27$  min et une perte de poids corporel de  $1,639 \pm 0,13$  g (**Tableaux II.1 et II.2**).
- ✓ L'extrait et le diphénoxylate l'ont considérablement inhibé. Le diphénoxylate (2,5 mg / kg) a produit une activité plus élevée (91,67%) que l'extrait (66,67%) (**Tableau II.3**).
- ✓ L'extrait (50-200 mg / kg) a réduit significativement l'accumulation intraluminale de volume de liquide induite par l'huile de ricin en fonction de la dose (**Tableau II.4**).
- ✓ L'extrait a également réduit le transit intestinal de la farine de charbon de bois par rapport au groupe témoin salin de 12,16, 21,36 et 46,88% pour l'extrait (50, 100 et 200 mg / kg, respectivement).
- ✓ L'atropine (0,1 mg / kg) a également entraîné une réduction significative (76,99%) (**Tableau II.5**) [51].

**Tableau II.1. Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* sur l'apparition de la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat <sup>[51]</sup>**

Traitement	Dose (mg / kg)	Heure d'apparition de la diarrhée <sup>a</sup> (min)
Contrôle (solution saline)	10 ml/Kg	88,169 ± 6,27
Extrait	50	142,629 ± 9,42*
Extrait	100	170,509 ± 6,32*
Extrait	200	207,179 ± 8,58*
Diphénoxylate	2,5	227,509 ± 5,07*

Les astérisques indiquent une signification statistique entre les groupes et contrôle. P < 0,05.

<sup>a</sup> Les valeurs sont exprimées en moyenne ±S.E.M. (n = 6).

L'huile de ricin est à 90% de ricinoléate et sa propriété induisant la diarrhée est connue pour être due à son métabolite actif l'acide ricinoléique, qui diminue la perméabilité au Na et Cl dans l'intestin et est également associée à la stimulation endogène de la libération de prostaglandines <sup>[51,52]</sup>.

L'extrait au méthanol d'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* administré par voie orale a provoqué une inhibition significative de la gravité et prolongé le temps d'apparition de la diarrhée induite expérimentalement chez le rat par l'huile de ricin. L'extrait pourrait, par conséquent, atteindre cette activité par l'inhibition de la perméabilité électrolytique et / ou l'inhibition de la libération de prostaglandine <sup>[51]</sup>.

**Tableau II.2. Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat: perte de poids corporel <sup>[51]</sup>**

Traitement	Dose (mg / kg)	Perte de poids corporel <sup>a</sup> (g)	% D'inhibition
Contrôle (solution saline)	10 ml/Kg	1,639 ± 0,13	—
Extrait	50	1,179 ± 0,21	28,22
Extrait	100	0,939 ± 0,11*	42,94
Extrait	200	0,589 ± 0,10*	64,41
Diphénoxylate	2,5	0,389 ± 0,09*	76,68

Les astérisques indiquent une signification statistique entre les groupes et contrôle. P < 0,05.

<sup>a</sup> Les valeurs sont exprimées en moyenne ±S.E.M. (n = 6).

L'apparition retardée de la diarrhée et une légère réduction du poids corporel des rats provoquée par l'extrait va dans le sens de ces résultats qui avaient montré plus tôt qu'une inhibition

du transit intestinal est souvent suivie d'une réduction de la perte de poids corporelle induite par l'huile de ricin <sup>[51]</sup>.

**Tableau II.3. Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat <sup>[51]</sup>**

Traitement	Dose (mg / kg)	Score de diarrhée			Score total	% D'inhibition
		++	+	0		
Contrôle (solution saline)	10 ml/Kg	6	0	0	12	–
Extrait	50	3	2	1	9*	33,32
Extrait	100	1	4	1	6*	50,00
Extrait	200	0	4	2	4*	66,67
Diphénoxylate	2,5	0	1	5	1*	91,67

Les astérisques indiquent une signification statistique entre les groupes et contrôle. P < 0,05.

**Tableau II.4. Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* sur l'accumulation de liquide intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat <sup>[51]</sup>**

Traitement	Dose (mg / kg)	Volume de liquide <sup>a</sup> (ml)	% D'inhibition
Contrôle (solution saline)	10 ml/Kg	2,589 /0,12	–
Extrait	50	2,039 / 0,07*	21,32
Extrait	100	1,889 /0,08*	27,13
Extrait	200	1,529 /0,14*	41,08
Diphénoxylate	2,5	0,619 /0,14*	76,35

Les astérisques indiquent une signification statistique entre les groupes et contrôle. P < 0,05.

<sup>a</sup> Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$ S.E.M. (n = 6).

La suppression de l'accumulation de liquide intestinal par l'extrait suggère qu'il peut inhiber et favoriser son activité antidiarrhéique. L'extrait a également inhibé la petite motilité intestinale du repas de charbon de bois d'une manière dépendante de la dose, ce qui confirme en outre les spéculations ci-dessous. Les agents qui réduisent la motilité et la sécrétion intestinales sont connus pour posséder une activité antidiarrhéique <sup>[53,54]</sup>.

**Tableau II.5. Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* sur le transit gastro-intestinal chez le rat <sup>[51]</sup>**

Traitement	Dose (mg / kg)	Distance parcourue <sup>a</sup> (cm)	% D'inhibition
Contrôle (solution saline)	10 ml/Kg	9,139 /1,15	–
Extrait	50	8,029 /2,16	12,16
Extrait	100	7,189 /2,45	21,36
Extrait	200	4,859 /2,50*	46,88
Atropine	0,1	2,109 /0,02*	76,99

Les astérisques indiquent une signification statistique entre les groupes et contrôle. P < 0,05.

<sup>a</sup> Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$ S.E.M. (n = 6).

L'effet antidiarrhéique de l'extrait d'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* peut donc être attribuable à son action inhibitrice contre la motilité gastro-intestinale et l'inhibition de la propriété d'entéropooling <sup>[55]</sup>.

Les tanins sont connus pour réduire la sécrétion et rendre le mucus intestinal résistant par la formation de tannate protéique <sup>[55]</sup>. Il est possible que les tanins trouvés présents dans l'extrait contribuent aux effets observés <sup>[56,57]</sup>.

L'activité antimicrobienne de l'extrait de cette plante a été signalée et est susceptible, même si elle n'est pas prouvée, de contribuer au pouvoir antidiarrhéique de l'extrait lors de diarrhées infectieuses. De telles propriétés peuvent sous-tendre les effets antidiarrhéiques observés de *Z. Spina-Christi* et à partir de là, L'activité anti-diarrhéique de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* est prouvée.

#### II.2.4. Activité antiplasmodiale et cytotoxique

Tuente et son équipe (2017) ont fait une étude sur l'activité antiplasmodiale, la cytotoxicité et la relation structure-activité des alcaloïdes cyclopeptidiques <sup>[58]</sup>.

L'extraction, l'isolement et l'élucidation de la structure des alcaloïdes cyclopeptidiques inclus dans ce manuscrit ont été rapportés précédemment. L'activité antiplasmodiale in vitro contre la souche K1 de *P. falciparum* et la cytotoxicité contre les cellules MRC-5 ont été déterminées pour trois alcaloïdes cyclopeptidiques, isolés de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi*, et les résultats sont présentés dans le tableau II.6 <sup>[58]</sup>.

L'activité antiplasmodiale la plus élevée a été trouvée pour la spinanine-B (3), avec une valeur IC<sub>50</sub> de 2,1  $\mu$ M et sans effets cytotoxiques à des concentrations de 64,0  $\mu$ M ou moins.

**Tableau II.6. Activité antiplasmodiale contre *P. falciparum* et cytotoxicité contre les cellules MRC-5 pour les alcaloïdes cyclopeptidiques isolés de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* [58]**

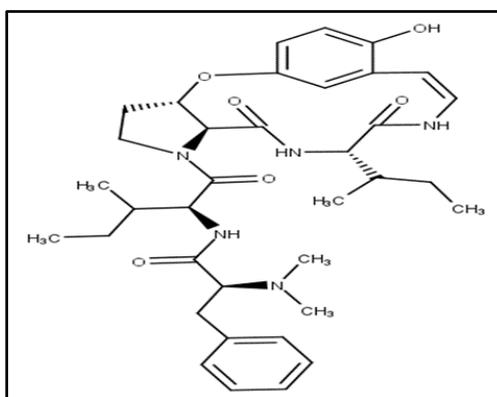
Composé	<i>P. falciparum</i> K1 IC50 (µM)	MRC-5 IC50 (µM)
Spinanine-B	2,1 ± 0.3	>64,0
Nummularine-E	>64,0	>64,0
Amphibine-D	8,9 ± 1,5	>64,0

Les activités antiplasmodiales et cytotoxiques de trois alcaloïdes cyclopeptidiques ont été évaluées, avec le résultat le plus prometteur trouvé pour la spinanine-B, avec une valeur IC50 de 2,1 µM et sans effets cytotoxiques à des concentrations allant jusqu'à 64,0 µM.

En combinant les résultats avec ceux précédemment rapportés par les groupes pour neuf autres alcaloïdes cyclopeptidiques dans une étude qualitative de relation structure-activité concernant l'activité antiplasmodiale a été réalisée [58].

Les résultats obtenus ont indiqué qu'un cycle à 13 chaînons est préféré à un cycle à 14 chaînons, et que la méthylation en position 2 du fragment styrylamine, qui fait partie de ce cycle, est bénéfique, bien que les composés hydroxylés aient également présenté une activité antiplasmodiale.

Cependant, afin de confirmer l'importance du groupement méthoxy et du groupement β-hydroxy proline, et afin de déterminer le rôle exact des différents acides aminés aliphatiques (leucine, isoleucine, valine) soit dans le cycle macrocyclique soit dans la chaîne latérale, des recherches supplémentaires sont nécessaires [58].



**Figure II.3. Structure chimique de la spinanine-B [59]**

Essam et al (2017) ont été étudiés aussi l'activité cytotoxique des extraits acétate d'éthyle (AE) et d'acétate d'éthyle alcalin (AEA) de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* (à une concentration de 50 à 400 µg / puits) dans des lignées cellulaires HCT-116 et MCH-7 [22].

Les cellules témoins ont montré une prolifération élevée qui a été prise à 100%. Les deux extraits ont induit une réduction dose-dépendante de la viabilité des lignées cellulaires.

La CI50 de l'extrait d'EA dans les cellules HCT-116 et MCH-7 était > 400 µg / puits et 397 µg / puits, respectivement.

La CI50 de l'extrait d'AEA dans les cellules HCT-116 et MCH-7 était > 196 µg / puits et 164 µg / puits, respectivement [22].

Les résultats indiquent que l'extrait d'AEA a montré un effet cytotoxique plus élevé que l'extrait d'AE. L'AEA contient une plus grande quantité de flavonoïdes et d'alcaloïdes que l'extrait d'EA.

Les flavonoïdes et les alcaloïdes isolés de plusieurs plantes ont montré des effets cytotoxiques dans différentes lignées cellulaires. Ces composés phytochimiques peuvent être responsables des effets cytotoxiques de l'écorce de *Z. Spina-Christi*.

Le phytol, le principal constituant phytochimique de l'écorce de *Z. Spina-Christi*, aurait également de puissants effets cytotoxiques [22].

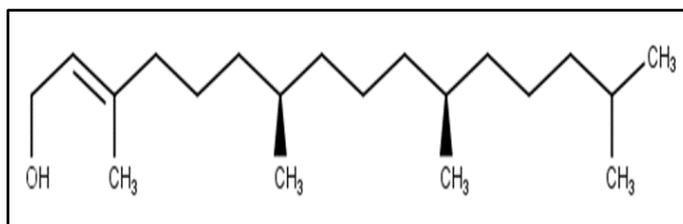


Figure II.4. Structure chimique de le phytol [60]

### II.2.5. Activité antimicrobienne des extraits de *Zizyphus Spina-Christi*

Aisha et al (2015) ont testé l'activité antimicrobienne d'extrait d'éther de pétrole, de chloroforme, de méthanol et d'extrait aqueuse de l'écorce de tiges de *Zizyphus Spina-Christi* contre six bactéries standard: Deux Gram positif (*Bacillus subtilis* (NCTC 8236), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), deux Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et deux champignons (*Aspergillus niger* ATCC 9763 et *Candida albicans* ATCC 7596) [61].

Les cultures bactériennes ont été maintenues sur des pentes d'agar nutritif, elles ont été cultivées sur une plaque d'agar nutritive et incubées à 37 °C pendant 18 heures avant d'être utilisées pour les tests. La moyenne des diamètres des zones d'inhibition de croissance produites par les extraits de *Zizyphus Spina-Christi* contre les organismes standards est indiquée dans le tableau II.7 et les CMI dans le tableau II.8 [61].

**Tableau II.7. Activité antimicrobienne des extraits de *Zizyphus Spina-Christi* contre des microorganismes standards [61]**

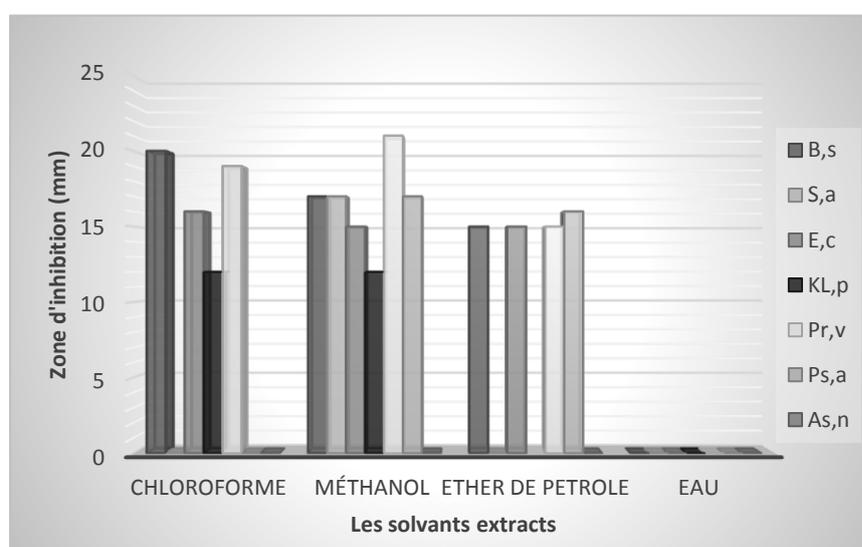
Solvant	Rendement %	Microorganismes MDIZ							
		<i>B. s</i>	<i>S. a</i>	<i>E. c</i>	<i>KL. p</i>	<i>Pr. v</i>	<i>Ps. a</i>	<i>As. n</i>	<i>C. a</i>
Chloroforme	<b>0,366</b>	20	–	16	12	19	–	–	–
Méthanol	<b>5,071</b>	17	17	15	12	21	17	–	–
Ether de pétrole	<b>0,72</b>	15	–	15	–	15	16	–	–
Eau		–	–	–	–	–	–	–	–

*B. s* = *Bacillus subtilis*, *S. a* = *Staphylococcus aureus*, *E. c* = *Escherichia coli*, *KL. P* = *Klebsiella pneumoniae*, *Pr. v* = *Proteus vulgaris*, *Ps. a* = *Pseudomonas aeruginosa*, *As. n* = *Aspergillus niger*, *C. a* = *Candida albicans*.

MDIZ = diamètre moyen de la zone d'inhibition de la croissance en mm

Interprétation des résultats: MDIZ > 15 mm = haut, 14-15 mm = modéré, <15 mm = faible

(-) = pas d'inhibition / Concentration utilisée = 100 mg / ml de 0,1 ml / tasse



**Figure II.5. Zone d'inhibition (mm) des pathogènes bactériens et fongiques par différents extraits d'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* [61]**

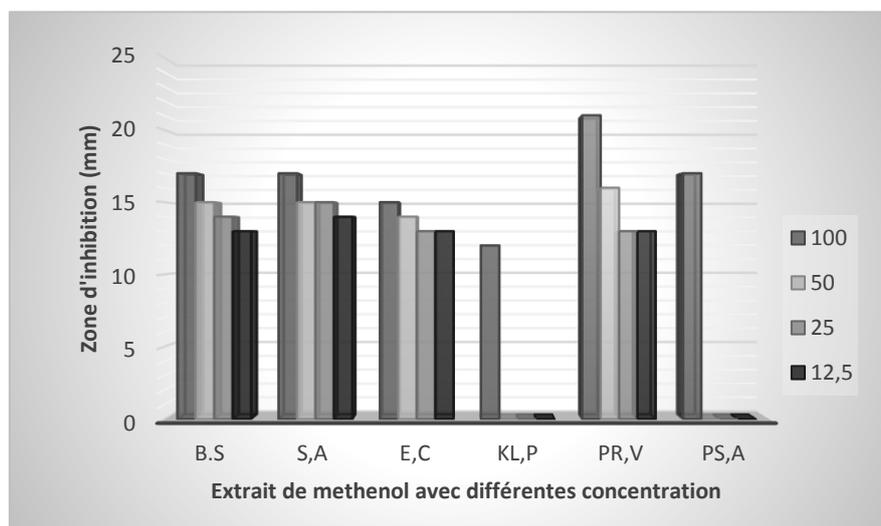
**Tableau II.8. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de tiges des extraits de méthanol de *Zizyphus Spina-Christi* [61]**

Concentration MIC (mg / ml)	Microorganismes MDIZ					
	<i>B. s</i>	<i>S. a</i>	<i>E. c</i>	<i>KL. p</i>	<i>Pr. v</i>	<i>Ps. a</i>
100	17	17	15	12	21	17
50	15	15	14	–	16	–
25	14	15	13	–	13	–
12,5	13	14	13	–	13	–

*B. s* = *Bacillus subtilis*, *S. a* = *Staphylococcus aureus*, *E. c* = *Escherichia coli*, *KL. P* = *Klebsiella pneumoniae*, *Pr. v* = *Proteus vulgaris*, *Ps. a* = *Pseudomonas aeruginosa*

MDIZ = diamètre moyen de la zone d'inhibition de la croissance en mm / (-) = pas d'inhibition

Les valeurs les plus faibles (CMI) étaient de 12,5 mg / ml pour l'extrait de méthanol brut de la tige de *Zizyphus Spina-Christi* contre *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* et *Pr. Vulgaris* [61].



**Figure II.6. Zone d'inhibition (mm) des pathogènes bactériens et fongiques par l'extrait méthanolique d'écorce de tige de *Zizyphus* [61]**

L'extrait d'éther de pétrole des tiges a montré une activité modérée contre *B. subtilis*, *E. coli*, *Pr. vulgaris* et une activité élevée contre *Ps. aeruginosa*. Son extrait chloroformique a montré une activité élevée contre *B. subtilis*, *E. coli* et *Pr. vulgaris*. Faible activité contre *K. pneumoniae* et actif contre *Ps. aeruginosa* et *S. aureus* [61].

L'extrait au méthanol a montré une activité élevée contre *Pr. vulgaris*, *B. subtilis*, *S. aureus* et *Ps. aeruginosa*, une faible activité contre *Kl. pneumoniae* et une activité modérée contre *E. coli*.

L'extrait aqueux des tiges était inactif contre tous les organismes bactériens [61]. Contrairement à Korji (2012) qui a constaté que l'extrait aqueux de tige de *Zizyphus Spina-Christi* présentait une activité contre tous les organismes parmi lesquels *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Ps. aeruginosa* [62] et *E. coli*. El-Kamali et Mahjoub (2009) ont rapporté que l'extrait aqueux d'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* était le plus actif de tous les extraits aqueux testés [63]. De plus, il était inactif contre les deux champignons testés et ce résultat était similaire à celui rapporté par Mohammed et al. (2012) l'extrait d'écorce de tige (aqueux) n'a montré aucune inhibition de *C. albicans* à faible dose mais était sensible au-dessus de 600 mg / ml, ce qui suggère que l'extrait possède une activité antifongique [64].

## II.2.6. Tests toxicologiques

Mohammed et al. (2012) ont fait un test toxicologiques sur Quarante rats Wister blanches des deux sexes pesant entre 120 et 160 g ont été utilisés [64].

Les animaux ont été divisés en 4 groupes et ont reçu des doses quotidiennes comme suit:

- ✓ Groupe A (200 mg / kg) de l'extrait.
- ✓ Groupe B (400 mg / kg) de l'extrait.
- ✓ Groupe C (800 mg / kg) de l'extrait.
- ✓ Groupe D a été administré par voie orale en une seule dose de solution saline normale (0,9% de NaCl) servant de témoin.

Les rats ont reçu les doses par voie orale pendant trois semaines à l'aide d'une sonde d'alimentation ils ont été sacrifiés par décapitation sans cruauté 24 heures après le dernier traitement et le sang collecté a été laissé coaguler, centrifugé à 3000 tr / min et le sérum récolté [64].

Le test biochimique a montré que les enzymes sériques (AST, ALT et ALK) n'étaient pas significativement ( $P > 0,05$ ) élevées par l'administration d'extrait (Tableau II.9).

Le groupe ayant reçu 400 mg / kg d'extrait de poids corporel a enregistré la plus faible concentration d'AST, d'ALT et de phosphatase alcaline. L'albumine sérique et les protéines sériques n'ont également montré aucun changement significatif ( $P > 0,05$ ) par rapport au témoin [64].

Le groupe traité avec 200 mg / kg d'extrait de poids corporel a enregistré la plus faible concentration de protéines sériques tandis que :

Le groupe traité avec 800 mg / kg d'extrait de poids corporel a enregistré la plus faible concentration de protéines sériques [64].

**Tableau II.9. Effets de l'extrait d'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* L sur les enzymes sériques, les concentrations de protéines et d'albumine des rats <sup>[64]</sup>**

Paramètres	Contrôle	Dose d'extrait d'écorce de tige (mg / kg) aqueux		
		200	400	800
AST (UI / L)	11,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	12,00 ± 4,24 <sup>a</sup>	8,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	12,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
ALT (UI / L)	6,00 ± 2,82 <sup>a</sup>	6,00 ± 2,82 <sup>a</sup>	4,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
ALK.P (UI / L)	30,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	28,00 ± 4,24 <sup>a</sup>	27,50 ± 0,70 <sup>a</sup>	31,00 ± 1,41 <sup>a</sup>
ALBUMINE (g / l)	37,50 ± 3,52 <sup>a</sup>	36,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	36,00 ± 4,24 <sup>a</sup>	38,50 ± 2,12 <sup>a</sup>
PROTÉINES (g / dl)	59,00 ± 1,41 <sup>a</sup>	59,00 ± 1,41 <sup>a</sup>	60,50 ± 3,53 <sup>a</sup>	57,00 ± 1,41 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> P > 0,05; Les valeurs ne montrent aucune différence significative par rapport au contrôle

L'administration de l'extrait à des rats n'a pas élevé les paramètres biochimiques observés. L'ALT, l'indicateur le plus spécifique de la fonction hépatique, n'a pas augmenté de manière significative. Cela montre qu'aucun dommage hépatocellulaire n'a été enregistré. Les aminotransférases (ALT et AST) sont produites dans le foie et sont de bons marqueurs des dommages aux cellules hépatiques, mais pas nécessairement de la gravité des dommages <sup>[65]</sup>. Ils sont normalement présents à de faibles niveaux dans le sang, donc si les cellules hépatiques sont endommagées, on peut s'attendre à ce que certaines des enzymes fuient dans le sang et augmentent en taux.

L'augmentation du taux sérique d'AST telle qu'observée dans cette étude peut refléter des lésions des cellules hépatiques. L'ALT sérique est connue pour augmenter les maladies hépatiques et elle a été utilisée comme outil pour mesurer la nécrose hépatique.

L'étude des chercheurs indique que *Zizyphus Spina-Christi* peut être très utile dans le contrôle des maladies hépatiques et néphrotiques anomalies et doivent donc être soumis à des essais cliniques <sup>[64]</sup>.

### II.2.7. Activité anticancéreuse

Soliman et al (2018) ont fait un test anticancéreux basé sur le fractionnement systématique de l'écorce de tige de la plante *Z. Spina-Christi* poussant dans le climat aride unique des Emirats Arabes Unis (EAU), Ils ont isolé un nouveau dérivé de bétuline avec une activité appropriée et une toxicité minimale qui n'ont jamais été signalées à partir du même génotype en croissance dans d'autres climats <sup>[66]</sup>.

Par conséquent, ils suggèrent que l'utilisation traditionnelle et courante de *Zizyphus* spp. Aux Émirats arabes unis, un médicament anticancéreux alternatif attribué à un dérivé de bétuline nouvellement identifié.

Ils ont constaté que l'extrait éthanolique de l'écorce de tige de plante présentait une activité anticancéreuse supérieure à celle des feuilles et des épines [66].

L'extrait de tiges a montré un taux de survie de 8% des cellules cancéreuses A549 par rapport aux taux de survie de 57% et 40% des épines et des extraits de feuilles, respectivement.

De même, les taux de survie des cellules HEPG2 étaient de 39%, 5% et 54% lorsqu'ils étaient traités avec des extraits d'épines, de tiges et de feuilles, respectivement.

D'autre part, les cellules MDA-MB-231 ont montré des taux de survie de 86%, 19% et 91% lorsqu'elles sont traitées avec des épines, extraites de tiges et de feuilles, respectivement.

En utilisant la lignée de cellules cancéreuses U87, l'extrait de tiges a montré un taux de survie de 21% par rapport à 88% et 74% avec des extraits d'épines et de feuilles, respectivement [66].

Tous les résultats ont été comparés à la doxorubicine et au DMSO comme témoins positifs et négatifs, respectivement, ces résultats obtenus ont indiqué que l'extrait de tiges végétales était anticancéreux plus proéminent et efficace contre toutes les lignées cellulaires testées.

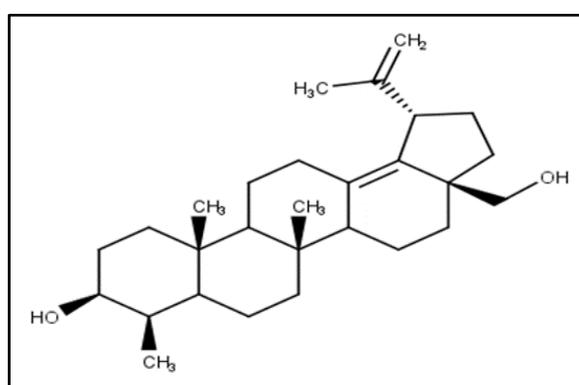


Figure II.7. Structure de la 13-déshydrobétuline [66]

Les parties de plantes ont été extraites séparément avec de l'éthanol et les extraits de plantes séchées ont été incubés séparément à des concentrations de 10 µg / ml avec différentes lignées cellulaires suivies d'une analyse MTT.

Les effets des extraits de plantes ont été comparés au blanc de solvant et à la doxorubicine comme témoins négatifs et positifs, respectivement.

Détermination de la CE50 d'extrait d'éthanol de tiges par rapport à la doxorubicine en utilisant des cellules HEPG2.

La CE50 est utilisée pour mesurer la puissance du médicament et se réfère à la concentration de l'extrait végétal qui exerce une activité anticancéreuse de 50% à un moment spécifié.

La CE50 relative est la concentration correspondant à la moitié de la réponse.

La CE50 absolue est la réponse correspondant à 50% du contrôle.

Les données affichent la moyenne du pourcentage du taux de survie des cellules de mammifères à différentes concentrations  $\pm$  erreur standard de la moyenne. Une valeur  $p < 0,05$  a été considérée comme significative <sup>[66]</sup>.

Les résultats ont également indiqué que l'extrait de tiges présentait une activité puissante et spécifique sur les cellules cancéreuses HEPG2 avec un taux de survie de 5% comparé aux taux de survie de 8%, 19,5% et 21% pour les cellules A549, MDA et U87, respectivement.

De plus, réduction de 10 fois La dose d'extrait de tiges a montré un taux de survie de 55% de HEPG2 par rapport à un taux de survie  $> 90\%$  des autres lignées cellulaires testées.

Comparé à la doxorubicine comme contrôle positif, l'extrait éthanolique de tiges s'est avéré sûr lorsqu'il a été testé sur des cellules fibroblastes normales (taux de survie  $> 90\%$ ). Ainsi, en calculant la concentration de l'extrait de tiges éthanoliques qui donne une réponse demi-maximale (EC50) et son indice thérapeutique (TI), il a montré que  $1\mu\text{g} / \text{ml}$  était l'EC50, et  $\sim 100$  était le TI, indiquant une large gamme thérapeutique <sup>[66]</sup>.

## Chapitre III

### *Résultats des Travaux Antérieurs*

**D**ans ce chapitre, nous avons rassemblé plusieurs recherches et travaux appliqués réalisés dans différentes parties du monde sur l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi* afin de déterminer ses composantes et de déterminer les propriétés thérapeutiques de cette plante, les résultats varient d'un extrait à l'autre et d'un échantillon à l'autre.

## I. Matériels et méthodes

### I.1. Dosage

Sawadogo en 2012 a fait un dosage des extraits de l'écorce des racines de *Zizyphus Spina-Christi* récoltées le 21-02-2011 à Gonsé (localité située à 20 km de Ouagadougou) au Burkina Faso. Le séchage des drogues a été réalisé à l'ombre à la température ambiante du laboratoire de l'IRSS. Pour broyer les drogues séchées, il a utilisé un broyeur Resch type SM 2000 OSI/1430  $\mu\text{pm}$  et a utilisé ces poudres pour l'extraction des extraits d'écorce par décoction, infusion, macération à l'eau et macération à l'éthanol à 70°C [67].

#### I.1.1. Teneur en eau

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de 100°C à 105°C et sous pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur. La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation.

Le calcul suivant détermine le pourcentage en eau [14]:

$$\% H = \frac{M1-M2}{P} \times 100 \quad (\text{Eq.III.1})$$

Soit:

**H%** : Humidité.

**M1** : Masse de la capsule + matière fraîche avant étuvage.

**M2** : Masse de l'ensemble après étuvage.

**P** : Masse de la prise d'essai.

La teneur en matière sèche (MS) est calculée selon la relation suivante.

$$\mathbf{MS(\%) = 100 - H(\%)} \quad (\text{Eq.III.2})$$

## I.1.2. Cendres

### I.1.2.1. Teneur en cendres totales

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de la matière organique par incinération dans un four à moufle.

Ils ont effectué le calcul suivant <sup>[14]</sup>:

$$\% \mathbf{MO} = \frac{M1 - M2}{P} \times 100 \quad (\text{Eq.III.3})$$

Soit:

**MO** : matière organique

**M1** : masse de la capsule + matière sèche.

**M2** : masse de la capsule + cendres.

**P** : masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres est calculée par la formule suivante :

$$\mathbf{Cendres\ totale = 100 - MO\%} \quad (\text{Eq.III.4})$$

### I.1.2.2. Teneur en cendres sulfuriques

Les cendres sont des substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque la drogue est calcinée avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Elles déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

La masse des cendres sulfuriques s'obtient alors comme suit <sup>[67]</sup> :

$$\% \mathbf{Cendres\ sulfuriques} = \frac{MCs}{MPE} \times 100 \quad (\text{Eq.III.5})$$

**M'** : La masse du creuset contenant la prise d'essai

**MCs** : La masse de cendres sulfuriques

**MPE** : La masse prise d'essai

**M** : La masse avant étuve – tare (T)

**MCs = M' – Tare, MPE = M – T**

### ***1.1.2.3. Teneur en cendres chlorhydriques***

Les cendres chlorhydriques sont constituées de silice, de sable et de poussière susceptibles de souiller la drogue. Leur teneur est déterminée à partir des cendres totales.

Le pourcentage en cendres chlorhydrique (%Cc) s'obtient par la formule suivante <sup>[67]</sup> :

$$\% \text{ Cc} = \frac{M_{Cc}}{\sum M_{PE}} \quad (\text{Eq.III.6})$$

$M_{Cc} = M' - T$ ,  $M_{PE} = M' - M$  (Masse totale de poudre ayant servi au dosage de l'eau).

**M<sub>Cc</sub>** : La masse de cendres chlorhydriques

**M<sub>PE</sub>** : La masse de la prise d'essai

### ***1.1.3. Criblage phytochimique préliminaire des extraits de *Zizyphus Spina-Christi****

Des échantillons frais d'écorces de tiges de *Zizyphus Spina-Christi* ont été prélevés par Abdelrafie et al (2020) à Algazira islang, Au nord d'Omdurman, dans l'État de Khartoum.

Les échantillons ont été lavés et séchés en plein air dans l'ombre pendant deux semaines, puis différents extraits ont été préparés selon la méthode Robinson avec peu de développement méthodologique, tel que décrit : L'extraction assistée par micro-ondes (EAM) a été utilisée sur l'échantillon sec à 170°C pour réduire à la fois le temps et le volume de solvant d'extraction, et pour diminuer les dommages des composés bioactifs sans augmenter la période d'extraction. Vingt grammes d'échantillon ont été trempés dans l'éther de pétrole, de l'acétate d'éthyle, de l'éthanol et du méthanol pendant 72 heures. Les extraits ont été concentrés en utilisant un évaporateur rotatif à 40 ° C, et finalement les extraits séchés ont été stockés à 4 ° C <sup>[68]</sup>.

Les résidus ainsi obtenus lors de la préparation des extraits ont servi à l'identification des familles des substances chimiques contenues dans l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi*, comme les alcaloïdes, saponines, flavonoïdes, terpènes, stéroïdes, glucosides, coumarines, anthraquinones, phlobatannins, tanins et les lipéoïdes selon les méthodes classiques.

#### ***1.1.3.1. Test des alcaloïdes***

Les alcaloïdes ont été identifiés en se basant sur leur solubilité dans l'eau. Leur détection a été faite respectivement par les tests aux réactifs de Mayer (HgCl<sub>2</sub>, KI et H<sub>2</sub>O), de Dragendorff [Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, KI et H<sub>2</sub>O], et de Wagner (KI, I<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O) sur les extraits aqueux. L'apparition d'un précipité rouge-orange (pour les réactifs de Mayer et Dragendorff) et brun, rouge ou noir pour le réactif de Wagner témoigne la présence des alcaloïdes <sup>[69]</sup>.

### ***1.1.3.2. Test des flavonoïdes***

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Deux (2) ml de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose-orangé ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique a intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes [70].

### ***1.1.3.3. Test des Triterpènes et des stérols***

Deux grammes de poudre sont macérés dans 25 ml d'éthanol absolu pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire. Après macération 1 ml d'acide acétique est ajouté à 5 ml du filtrat évaporé, puis 0,5 ml d'acide sulfurique sont additionnés. La présence des stérols se traduit par la formation d'un anneau pourpre virant du vert au bleu-vert. Pour les tri-terpènes, l'expérience suivante a été réalisée : à 2,5 ml du filtra précédent, 1,5 ml d'acide sulfurique et quelques gouttes de chloroforme sont ajoutés délicatement. La formation d'un anneau marron à l'interface indique la présence des tri-terpènes [71].

### ***1.1.3.4. Test des tanins***

Les tanins ont été recherchés au moyen du test au réactif de Stiasny (chlorure ferrique à 1%) réalisé sur l'extrait aqueux. La formation de coloration bleue, bleu-vert, bleue-sombre ou verte, témoigne la présence des tanins [69].

### ***1.1.3.5. Test des saponines***

Quant aux saponines, les tests au dichromate de potassium (1%) acidifié par l'acide sulfurique (98%) et à la mousse réalisés sur l'extrait aqueux ont été utilisés pour les identifier. L'apparition de la coloration vert-sale pour le premier test et de la mousse persistante suite à une agitation vigoureuse pour le second test témoigne la présence des saponines [69].

### ***1.1.3.6. Test des coumarines***

Un gramme de poudre légèrement humidifié est placé dans un tube à essai. Ce dernier est recouvert avec un papier filtre imbibé d'une solution de soude caustique (1M). Après un chauffage au bain marie pendant quelques minutes (10-15 min), le papier filtre est examiné sous lampe UV à 365 nm. La fluorescence jaune confirme la présence des coumarines [71].

#### ***1.1.3.7. Test des Glycosides***

**a) La méthode de Fehling :** 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50% ont été ajoutés à 1 ml d'extrait puis le mélange a été chauffé dans de l'eau bouillante pendant 15 minutes. 10 ml de solution de Fehling ont été ensuite ajoutés et le mélange a été bouilli. La formation d'un précipité rouge brique a indiqué la présence de sucres réducteurs <sup>[16]</sup>.

**b) La méthode de Molish :** 2 ml de l'extrait préparé ont été mélangés avec 0,2 ml de solution alcoolique d' $\alpha$ -naphtol en plus de 2 ml d'acide sulfurique à 10%, la formation d'une zone violet bleuâtre indique la présence d'hydrates de carbone et / ou de glycosides <sup>[16]</sup>.

#### ***1.1.3.8. Test des glycosides cardiaques***

0,1 g de poudre végétale a été trempé dans 1 ml d'acide acétique glacial avec une goutte de chlorure ferrique. 1 ml d'acide sulfurique a été ajouté sous la couche, un anneau brun obtenu indique la présence de glycosides <sup>[68]</sup>.

#### ***1.1.3.9. Test des anthraquinones***

10 ml de benzène ont été ajoutés dans 6 g de l'échantillon de poudre d'éphédra dans un ballon conique et trempés pendant 10 minutes puis filtrés. 10 ml supplémentaires d'une solution d'ammoniaque à 10% ont été ajoutés au filtrat et agités vigoureusement pendant 30 secondes, une couleur rose, violette ou rouge indique la présence d'anthraquinones dans la phase ammoniacale <sup>[72]</sup>.

#### ***1.1.3.10. Test des stéroïdes***

2 ml de chloroforme et de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré ont été ajoutés à 5 ml d'extrait végétal aqueux brut. Dans la couche inférieure de chloroforme, une couleur rouge est apparue, indiquant la présence de stéroïdes <sup>[72]</sup>.

#### ***1.1.3.11. Test des phlobatannins***

Quelques ml de HCl à 1% ont été ajoutés à 1ml de l'extrait, un résultat positif est indiqué par la formation d'un précipité rouge <sup>[16]</sup>.

## I.2. Analyse CG-SM

Essam et al (2018) ont fait une étude sur l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi*. Des écorces fraîches ont été récoltées depuis la région de Hail, Arabie Saoudite et séchées à l'air libre. Ces dernières ont été extraites à l'éthanol absolu à plusieurs reprises. L'extrait à l'éthanol a été filtré et concentré sous pression réduite puis fractionné en utilisant du chloroforme et du n-butanol. Puis ont été filtrées et déshydratées sur du sulfate de sodium anhydre et concentrées sous pression réduite.

Les échantillons ont été soumis à une analyse CG-SM. La température de l'injecteur était de 250°C, et la colonne est décrite comme suit: TG-SQC GC, 15m x 0,25mm x 0,25mm, la programmation de la température était maintenue de 50°C à 290°C avec une augmentation régulière comme suit :

- ✓ La température du four était initialement de 50°C, puis a augmenté jusqu'à 150°C à une vitesse de 7°C/min (maintenue pendant 1 minute),
- ✓ augmentée jusqu'à 250°C à une de 5°C/min (maintenu pendant 5 minutes) et
- ✓ finalement augmenté jusqu'à 290°C à une vitesse de 10°C/min (maintenue pendant 2 minutes).

La source d'ions et la température de la ligne de transfert MS était de 300°C. Les bruts ont été injectés avec un mode "sans division". Les spectres de masse ont été pris à 70 ev ; fragments de 40 à 1000 Dalton. La confirmation finale des constituants a été faite par comparaison digitale des spectres de masse des pics avec la base de données spectrale de masse des bibliothèques de Wiley et l'Institut National Standard et Technologie <sup>[60]</sup>.

## I.3. Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Temerk et al (2017) ont extrait les écorces de tige de la plante *Zizyphus* qui ont été collectées dans la ville de Qena, en Égypte. La présence de groupes fonctionnels bioactifs a été déterminée par spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) dans la poudre de plante. L'analyse a été réalisée en utilisant un instrument Magna-FTIR 560 à une résolution de 2 cm<sup>-1</sup> plage de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup> dans une pastille KBr en utilisant un mode de réflectance diffuse exploité par logiciel Nicolet Omnic comme indiqué par les fabricants. <sup>[16]</sup>.

#### I.4. HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR

L'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* a été recueillie par Tuentner et al (2017) en juillet et août 2012 à Giloti, Pakistan. Le matériel végétal a été séché et broyé avant l'extraction puis analysé. Deux configurations HPLC-SPE-NMR ont été utilisées, l'une est le Système HPLC-PDA-SPE-NMR, composé d'un système HPLC Agilent série 1200 avec un dégazeur de solvant en ligne, pompe quaternaire, échantillonneur automatique, compartiment à colonnes et détecteur à barrette de diodes. L'autre est un système HPLC-HRMS-PDA-SPE-NMR (chromatographie liquide haute performance, détection de réseau de photodiodes, spectrométrie de masse haute résolution, extraction en phase solide et spectroscopie par résonance magnétique nucléaire), composé d'un système HPLC Agilent série 1260 avec dégazeur intégré, pompe quaternaire, échantillonneur automatique, compartiment de colonne thermostaté et détecteur à barrette de diodes, où un diviseur de flux dirigeait 1% de l'éluat vers un spectromètre de masse équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (IES). Dans les deux configurations, l'éluat a été dilué avec de l'eau au moyen d'une pompe HPLC K-120. Les échantillons ont été collectés en utilisant une unité Prospekt-2 SPE en utilisant des cartouches de résine GP de 2 mm, et préparés pour la RMN. Les systèmes ont été contrôlés avec logiciel Hystar version 3.2 et Prep Gilson ST version 1.2 [59].

#### I.5. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Les tiges fraîches de *Zizyphus Spina-Christi* ont été récoltées par Ghafoor et al (2012) dans la région du Kurdistan irakien - centre-ville d'Erbil. Un échantillon de 10 g a été pesé avec précision et 150 ml de méthanol absolu ont été ajoutés à l'échantillon. Le mélange résultant a été extrait au Soxhlet pendant 12 heures, puis a été filtré avec un filtre de silite 545 (20-45 µL) sous vide. Le filtrat résultant a été passé à travers la colonne Sephadex LH-20 et évaporé sous vide par un évaporateur rotatif à 60 ° C jusqu'à siccité. L'échantillon séché résultant a été redissous dans 25 ml d'éthanol à 95% et acidifié à un pH de 2,0. L'échantillon était prêt pour l'analyse HPLC en utilisant une colonne C18 avec un débit de 1,0 ml / min. et en utilisant un mélange de butanol: acide acétique: eau dans un rapport de 14:1:85 comme phase mobile [17].

Toutes les analyses chimiques et l'extraction ont été effectuées à l'aide d'un instrument HPLC avec échantillonneur automatique, logiciel (système de données de chromatographie YOUNGLINAutochro-3000), dégazeur à vide et pompe mélangeuse, colonne Luna ODS (C18) 100R (250 × 4,6 mm / 5 microns) et détecteur ultra-violet avec une détection à 280 nm [17].

## I.6. Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* a été extraite par Abdel-Galil et al (1990) à plusieurs reprises avec  $C_6H_6 - NH_4OH - EtOH$  (100:1:1). Les bases ont été séparées des extraits combinés de  $C_6H_6$  par agitation avec acide citrique aqueux à 7%, la couche a été basifiée avec  $NH_4OH$  et extraite avec  $CHCl_3$ , et des alcaloïdes bruts (6,5 g) ont été obtenus. Ceux-ci ont été fractionnés sur une colonne de gel de silice de 1 kg, en éluant avec des mélanges  $CHCl_3$  et MeOH de polarité croissante en 8 fragments. La chromatographie a été contrôlée par UV et les fragments ont été analysés par CCM, chacun étant un mélange de deux ou trois composants principaux. Les composants purs ont été séparés par une préparation répétée [73].

Spinanine-A.  $C_{24}H_{32}N_4O_4$  ([M]<sup>+</sup> trouvé 440.2418). Cristaux (86 mg), PF 175-176° (non corrigé).  $[\alpha]_D - 121^\circ$  (MeOH ; C O, 1). UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) forte absorption des extrémités et des épaules à 250 et 280 nm. IR $\nu_{max}$  (KBr) : 3360, 1680, 1650 (NH), 301 et 2840 (CH), 1620 (C = C), 1220, 1050 (éther arylique). SM : m / z 440 [M]<sup>+</sup>, 383, 355, 354, 328, 327, 326, 258, 229, 203, 193, 186, 183, 165, 135, 134, 86 (pic de base), 70, 68. La composition élémentaire de tous les fragments a été confirmée par des mesures à haute résolution. L'alcaloïde (5 mg) a été hydrolysé avec du HCl 6 M (24 h) dans un tube scellé. L'hydrolysate a été évaporé à la sécheresse et examiné par PC (n-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O, 4:1:5) et (n-BuOH- H<sub>2</sub>O-Me<sub>2</sub>CO-NH<sub>4</sub>OH, 8:6:1:1) en utilisant la ninhydrine comme réactif de pulvérisation. La leucine a été identifiée par comparaison avec un composé authentique [73].

La zizyphine-F, la jubanine-A et l'amphibine-H ont également été obtenues et identifiées par des méthodes spectroscopiques et par comparaison chromatographique avec des échantillons authentiques dans plusieurs systèmes de solvants [73].

## I.7. Analyse de fluorescence des rayons X (FRX)

La présence d'éléments bioactifs dans la poudre de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* a également été déterminée par Temerk et al (2017) en utilisant le système de fluorescence des rayons X à dispersion d'énergie. L'analyse a été réalisée à l'aide d'un analyseur d'élément JEOL JSX 3222 [16].

## II. Résultats et discussions

### II.1. Extractions

Le rendement, l'aspect et la couleur obtenus sont consignés dans le tableau III.1, Un rendement maximal est obtenu avec le macéré à l'éthanol pour les écorces des racines de *Zizyphus Spina-Christi* <sup>[67]</sup>.

**Tableau III.1. Résultats des extractions par l'eau et l'éthanol à 70°C d'écorce des racines de *zizyphus Spina-Christi* <sup>[67]</sup>**

Extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur
Décocté aqueux 10%	<b>13,80</b>	Cristallin	Orange clair
Infusé 10%	<b>14,80</b>	Floconneux	Orange clair
Macéré Eau	<b>8,00</b>	Cristallin	Noirâtre
Macéré Ethanol 70%	<b>22,9</b>	Cristallin	Jaunâtre

### II.2. Tests préliminaires

#### II.2.1. Dosages

**Tableau III.2. Teneurs en cendres totales, chlorhydriques sulfuriques, substances extractibles par l'eau des écorces des racines de *Zizyphus Spina-Christi* <sup>[67]</sup>**

Dosages	Pourcentages(%)
Cendres totales	<b>13,96</b>
Cendres chlorhydriques	<b>2,47</b>
Cendres sulfuriques	<b>18,93</b>
Substances extractibles par l'eau 1g	<b>4,00</b>
Teneur en eau	<b>5,01</b>

Les pourcentages en cendres sulfuriques (18,93%) déterminent la quantité de substances inorganiques, le pourcentage en cendres totales (13,96%) détermine la charge des éléments minéraux. Les substances extractibles par l'eau (4%) montrent la présence de substances hydrosolubles dans la plante et le taux en cendres chlorhydriques (2,47%) montre que les écorces sont assez peu souillées par la poussière et le sable <sup>[67]</sup>.

### II.2.2. Criblage phytochimique des plantes

Le criblage phytochimique des constituants chimiques des extraits d'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* ont tous une grande quantité de tanins. Les flavonoïdes étaient présents en quantité modérée dans les extraits de méthanol et d'éthanol. De plus, tous les extraits trouvés contiennent une faible quantité de coumarines, tandis que les alcaloïdes sont présents en faible quantité dans l'éthanol. Triterpène et stérol sont présents en quantité modérée dans tous les extraits. De plus, du glycoside cardiaque a été trouvé en grande quantité dans tous les extraits. Les extraits se sont avérés contenir une grande quantité d'anthraquinones (**Tableau III.3**)<sup>[68]</sup>.

**Tableau III.3. Analyse photochimique qualitative de *Zizyphus Spina-Christi***<sup>[1,5]</sup>

Tests	Résultats
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Triterpènes et des stérols	+
Tanins	+
Saponines	+
Coumarines	+
Glycosides cardiaques	+
Méthode de Fehling	+
Méthode de Molish	+
Anthraquinones	+
Stéroïdes	+
Phlobatanines	+

Les constituants agissent tous comme des antioxydants, comme bien connu, les antioxydants diminuent l'attaque des radicaux libres sur l'ADN et empêchent donc les mutations qui causent le cancer<sup>[74]</sup>. L'effet antimérorragique de l'écorce serait le fait des flavonoïdes. Cet effet thérapeutique est rapporté par Nacoulma (1996) qui a signalé que les flavonoïdes réduiraient les hémorragies. Les stérols, les polyterpènes et les alcaloïdes permettent d'expliquer des utilisations thérapeutiques traditionnelles signalées par d'autres auteurs mais non révélées par les résultats de cette enquête<sup>[70]</sup>.

### II.3. Analyse CG-SM

L'analyse CG-SM a été réalisée sur des extraits bruts organiques (extraits de chloroforme et de butanol) fractionnés à partir de l'extrait éthanolique de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi*. La comparaison des spectres de masse avec la base de données a montré plus de 90% de correspondance (Tableaux III.4, III.5) <sup>[60]</sup>.

**Tableau III.4. Composés identifiés dans un extrait de chloroforme de *Zizyphus Spina-Christi* <sup>[60]</sup>**

Tr (min)	Composés identifiés	Aire du pic %	PM (g/mol)
9,01	Pyrrolidine, 1- (1,6-dioxo octadécyl) -pyrrolidine,	1,22	351
11,22	Acide dichloroacétique, ester tétradécylique	2,33	324
12,84	2, 6, 10,15-tétraméthylheptadécane,	1,94	296
12,96	Quercétine, quercétine 7,3 ', 4'-triméthoxy 4H-1-benzopyran-4-one, 2- (3,4-diméthoxyphényl) -3,5-dihydroxy-7-méthoxy-	0,46	344
13,17	Hydroxytoluène butylé	1,96	220
14,50	1-hexadécanol	2,27	242
14,61	Octadécane, 1-chloro-	4,67	288
18,26	1-hexadécanol, 2-méthyl	4,95	256
20,59	7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) déca-6,9-diène-2,8-dione	8,30	276
22,08	Acide hexadécanoïque, ester éthylique	8,69	284
25,11	(Acide 9-octadécénoïque (Z) -, ester éthylique) Oléate d'éthyle	3,38	310
25,64	Stéarate d'éthyle	1,40	312
29,25	Phénol, 2,2'-méthylènebis (6- (1,1-diméthyléthyl) -4-méthyl-	1,89	340
42,17	Stigmastérol	0,65	412
43,21	$\alpha$ -Sitostérol	0,68	414
43,64	Bétuline	55,23	442

D'après le tableau III.4, il est clair que l'extrait au chloroforme contient 16 composés différents, représentant 100% de l'extrait total. Les composés identifiés sont répertoriés dans le tableau ci-dessus selon leur ordre d'éluion sur la colonne GC TG-SQC (**Figure III.1**). Les principaux composés détectés étaient la bétuline (55,23%), l'ester éthylique d'acide hexadécanoïque (8,69%), le 7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro (4, 5) déca-6,9-diène-2,8-dione (8,30%). Comme représenté

sur le tableau, la quercétine (0,46%), le stigmastérol (0,65%) et l' $\alpha$ -sitostérol (0,68%) étaient présents en petites quantités dans l'extrait chloroformique. L'extrait au méthanol de fruits mûrs comestibles de *Z. Spina-Christi* et *Z. jujuba* contiendrait également de la quercétine [60,75].

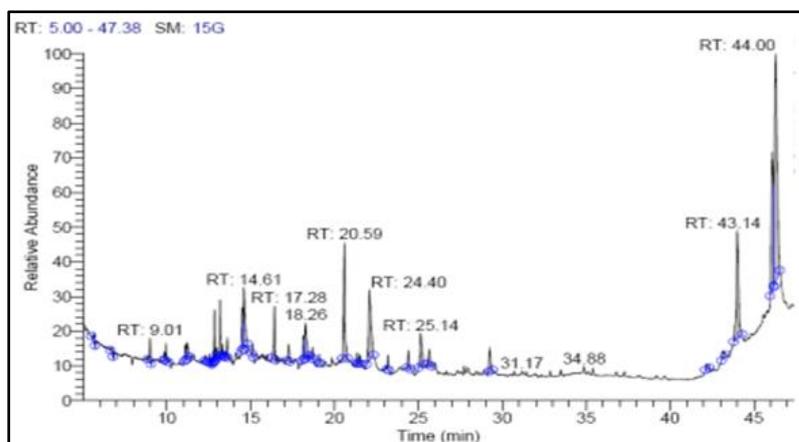


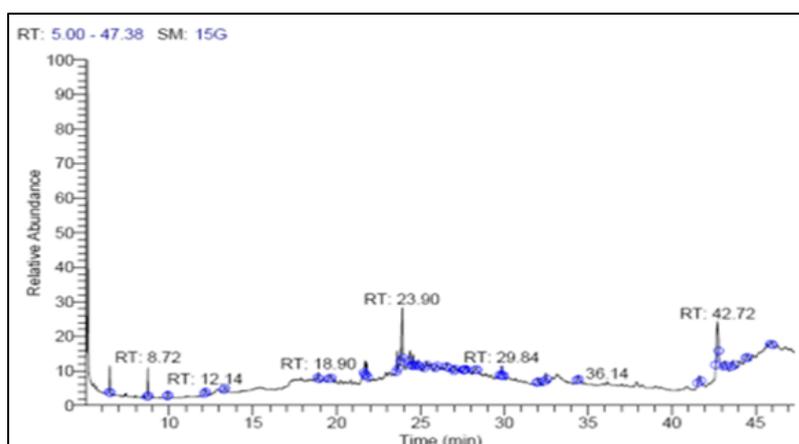
Figure III.1. Chromatogramme GC-MS d'un extrait de chloroforme de *Z. Spina-Christi* [60]

Le tableau III.5 représente le temps de rétention et le poids moléculaires de chaque composé identifié.

Tableau III.5. Composés identifiés dans l'extrait de butanol de *Z. Spina-Christi* [60]

Tr (min)	Composés identifiés	Aire du pic%	PM (g/mol)
6,46	1,2-dihydro-4-éthoxy-2-quinol one	4,71	189
8,72	1-butoxy-1-isobutoxy-butane	5,30	202
18,90	Acide 9-octadécénoïque (Z) - acide oléique	1,82	282
19,62	Cholestan-3-ol, 2-méthylène-, (3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ ) -	1,83	400
21,79	1,1-diméthyltétradécylhydrosulfure	5,52	258
23,62	Dotriacontane	6,58	450
23,90	Phytol	21,31	296
24,38	14- $\alpha$ -H-pregna	11,59	288
29,84	Di-(9-octadécénoyl)-glycérol	6,78	620
32,48	Acétate de Z, Z-4,16-octadécadién-1-ol	3,44	308
42,17	Stigmastérol	4,26	412
43,21	$\alpha$ -Sitostérol (Stigmast-5-én-3-ol, (3 $\alpha$ ) -)	23,51	414
43,64	Betulin	3,45	442

L'extrait de n-butanol s'est avéré contenir 13 composés différents, représentant 100% de l'extrait total. Les composés identifiés sont répertoriés dans le tableau ci-dessus selon leur ordre d'élution sur la colonne TG-SQC GC (**figure III.2**). Les principaux composés détectés étaient le stigmast-5-én-3-ol, (3á) - (23,51%), le phytol (21,31%) et le 14-á-H-pregna (11,59%). Il est intéressant de noter que le phytol est également présent comme principaux constituants de l'huile des parties aériennes de *Z. jujuba* (29,1%) [60,76].



**Figure III.2.** Chromatogramme GC-MS d'un extrait de butanol de *Z. Spina-Christi* [60]

Dans l'analyse CG-SM, 26 composés chimiques différents ont été identifiés dans l'écorce de tige de *Z. spina-Christi*. Les deux extraits (chloroforme et de butanol) fractionnés à partir de l'extrait éthanolique de *Zizyphus Spina-Christi* contiennent respectivement 16 et 13 composés. L'extrait de butanol de *Zizyphus Spina-Christi* est le meilleur, il est riche en glucides, flavonoïdes, terpénoïdes et glycosides et alcaloïdes de saponine par rapport à d'autres extraits [60].

#### II.4. Détermination des groupes fonctionnels par FTIR

Les bandes enregistrées du spectre FTIR et les groupes fonctionnels de l'écorce de tige de *Zizyphus Spina-Christi* sont indiqués dans le tableau III.6 [16].

**Tableau III.6. Analyse FTIR pour les groupes fonctionnels bioactifs** <sup>[16]</sup>

Longueur d'onde des pics (cm <sup>-1</sup> )	Composants bioactifs
3421	Liaisons O – H dans les molécules d'eau ou aux groupes OH présents dans la cellulose, les hémicelluloses et la lignine
1617	Étirement des vibrations de (C = N) Amide II des protéines
1108	Les vibrations d'étirement de la déformation C-O et C-C, C-O-H et C-O-C des glucides
3388	Liaisons N-H de protéines ou liaisons O – H dans les molécules d'eau, ou aux groupes OH présentés dans la cellulose, les hémicelluloses et la lignine
2932	Étirement des liaisons aliphatiques C – H dans les groupes –CH <sub>3</sub> et -CH <sub>2</sub> dans les lipides, la cellulose, les hémicelluloses et la lignine.

## II.5. HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR

L'écorce de *Z. Spina-Christi* a été extraite avec 80% du méthanol et les extraits bruts ont été fractionnés par séparation liquide-liquide, suivie d'une chromatographie flash. La purification des composés individuels a été effectuée soit par HPLC-PDA-HRMS-SPE-NMR, soit par HPLC semi-préparative avec DAD et détection par ESIMS <sup>[59]</sup>.

L'étude phytochimique de l'écorce de tige de *Z. Spina-Christi* avec des techniques spectroscopiques avancées a conduit à l'isolement de cinq alcaloïdes cyclopeptidiques. Deux composés ont été signalés pour la première fois, spinanine-B (1) et spinanine-C (2) dans *Z. Spina-Christi*. En outre, nummularine-D (3), nummularine-E (4) et amphibine-D (5) ont été signalées pour le premier temps en *Z. Spina-Christi*. Deux composés de type integerrine ont été identifiés dans *Z. Spina-Christi* : nummularine-D (3) et nummularine-E (4). Les trois autres alcaloïdes cyclopeptidiques, spinanine-B (1), spinanine-C (2) et amphibine-D (5) appartiennent à l'amphibine-B type (5 (14) cyclopeptide alcaloïdes avec une fraction b-hydroxyproline). Les alcaloïdes sont composés d'acides aminés L, la configuration L était également adoptée pour les autres acides aminés présents dans les alcaloïdes cyclopeptidiques signalés ici, bien que cela n'ait pas pu être confirmé par des preuves expérimentales pour tous les centres chiraux <sup>[59]</sup>.

**Tableau III.7. Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H (H en ppm, multiplicité (J en Hz))** [59]

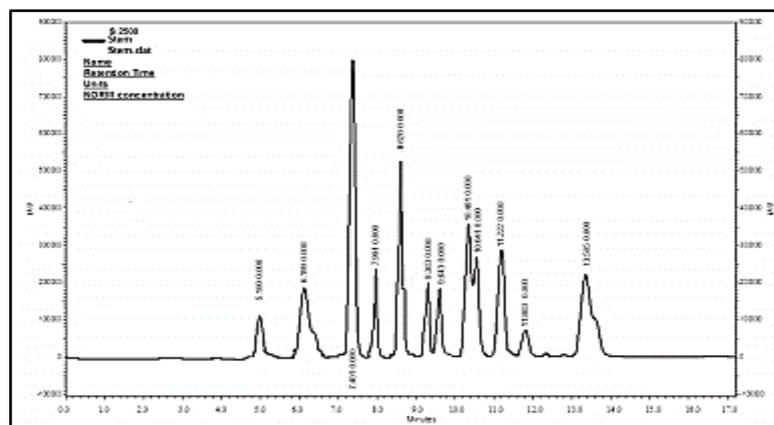
Position	1	2	3	4	5
1	6.06, d (9.0)	6.05, d (8.9)	6.76, d (7.5)	6.78, d (7.5)	6.75, d (7.5)
2	6.80, d (9.0)	6.80, d (9.0)	6.25, d (7.5)	6.23, d (7.5)	6.24, d (7.5)
3 (N-H)	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.
5	4.15, d (6.7)	4.20, d (6.6)	4.18, m 4.19,	dd (9.2, 5.0)	3.87, d (8.1)
6 (N-H)	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.
8	4.37, d (3.3)	4.34, d (3.0)	4.83 <sup>b</sup>	4.87 <sup>a</sup>	3.95, d (6.5)
9	5.27, m	5.18, m	5.94, d (8.2)	5.95, d (8.0)	5.35, m
12	6.81 <sup>b</sup>	6.76, dd (8.9, 2.9)	7.20, dd (8.4, 2.5)	7.18, dd (8.2, 2.5)	7.17, dd (8.4, 2.1)
13	6.86, d (8.9)	6.84, d (8.9)	7.10, d (8.4)	7.09, d (8.2)	7.08, dd (8.4, 2.1)
14	-	-	-	-	-
15	-	-	7.05, dd (8.5, 1.8)	7.05, dd (8.4, 1.8)	7.14 <sup>b</sup>
16	6.71, d (2.7)	6.71, d (2.9)	7.24, dd (8.5, 2.5)	7.23, dd (8.4, 2.5)	7.12 <sup>b</sup>
17A	1.91, m	1.92, m	1.30, m	1.30 <sup>b</sup>	1.62, m
17B	-	-	1.41, m	1.40 <sup>b</sup>	-
18A	1.24, m	1.26, m	1.41, m	1.40 <sup>b</sup>	0.99, m
18B	1.47, m	1.52, m	-	-	1.40, m
19	0.87, t (7.4)	0.92, t (7.4)	0.84, d (6.3)	0.81, d (5.4)	0.77 <sup>b</sup>
20	0.96, d (6.9)	1.00, d (6.9)	0.80, d (6.3)	0.82, d (5.4)	0.78 <sup>b</sup>
21A	2.28, m	2.18, m	-	-	2.14, m
21B	2.59, m	2.43, m	-	-	2.56, m
22A	3.60, m	3.21, m	7.57, d (7.5)	7.58, d (7.5)	3.52, m
22B	4.26, m	3.95, m	-	-	4.17, dd (10.4, 9.0)
23	-	-	7.38, t (7.5)	7.40, t (7.5)	-
24A	-	-	7.31, t (7.5)	7.33, t (7.5)	-
24B	-	-	-	-	-
25a	4.48, d (8.9)	4.87, t (7.4)	7.38, t (7.5)	7.40, t (7.5)	4.39, d (9.0)
25B	-	-	-	-	-
26A	1.74, m	2.84, dd (13.6, 7.1)	7.57, d (7.5)	7.58, d (7.5)	1.7, m
26B	-	2.99, dd (13.6, 7.1)	-	-	-
27A	1.15, m	-	N-H, n.o.	N-H, n.o.	1.10, m
27B	1.53, m	-	-	-	1.49, m
28	0.87, t (7.4)	7.10-7.30 <sup>c</sup>	-	-	0.85, t (7.5)
29	0.80, d (6.8)	7.10-7.30 <sup>c</sup>	2.49, d (5.4)	2.47, d (9.0)	0.76 <sup>b</sup>
30	N-H, n.o.	7.10-7.30 <sup>c</sup>	1.34 <sup>b</sup>	3.72, m	N-H, n.o.
31A	-	7.10e7.30 <sup>c</sup>	0.82 <sup>b</sup>	O-H, n.o.	-
31B	-	-	1.09, m	-	-
32	3.31 <sup>a</sup>	7.10-7.30 <sup>c</sup>	0.75, t (7.3)	0.91, d (6.2)	3.65, m
33A	2.94, dd (13.0, 4.8)	N-H, n.o.	0.64, d (6.9)	1.75, s	3.09, m
33B	3.05, dd (13.0, 9.8)	-	-	-	-
34	-	-	N-H, n.o.	1.75, s	-
35	7.19, d (7.5)	3.25, m	1.72, s		7.23, dd (7.4, 2.3)
36A	7.26, t (7.5)	2.90, dd (13.2, 5.1)			7.35 <sup>b</sup>
36B	-	2.98, dd (13.2, 5.1)			-
37	7.12, t (7.5)	-			7.34 <sup>b</sup>
38	7.26, t (7.5)	7.10-7.30 <sup>c</sup>			7.35 <sup>b</sup>
39	7.19, d (7.5)	7.10-7.30 <sup>c</sup>			7.23, dd (7.4, 2.3)
40	2.40, s	7.10-7.30 <sup>c</sup>			2.63, s
41	2.40, s	7.10-7.30 <sup>c</sup>			2.63, s
42		7.10-7.30 <sup>c</sup>			
43		2.25, s			
44		2.25, s			

**Tableau III.8. Identification des structures chimiques et des  $\lambda_{\max}$  pour les composés 1 à 5 [59]**

Composés	$\lambda_{\max}$	Structures chimiques
Spinanine-B (1)	$\lambda_{\max}$ 206, 267, 321 nm	
Spinanine-C (2)	$\lambda_{\max}$ 202, 268, 322 nm	
Nummularine-D (3)	$\lambda_{\max}$ 225 nm	
Nummularine-E (4)	$\lambda_{\max}$ 225 nm	
Amphibine-D (5)	$\lambda_{\max}$ 202 nm	

### I.6. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La séparation et l'identification des composés phénoliques ont été effectuées par HPLC en phase inversée avec C18 et détection à 280 nm [16].

**Figure III.3. Chromatogramme HPLC de l'échantillon [16]**

La figure III.3 représente le chromatogramme des échantillons de tiges, la comparaison des chromatogrammes des échantillons avec ceux des étalons de composés phénoliques, indiquent la présence d'acide p-coumarique, de rutine, d'apigénine, de quercétine et d'acide chlorogénique dans l'extrait de la tige en fonction de la comparaison des temps de rétention des étalons de composés phénoliques et des constituants présents dans les échantillons<sup>[16]</sup>.

Le facteur de réponse peut être utilisé pour déterminer la concentration d'échantillons inconnus, le RF (parfois appelé facteur de sensibilité) peut être déterminé pour chaque norme comme suit :

$$\text{RF} = \text{surface standard} / \text{concentration standard} \quad (\text{Eq.III.7})$$

Le facteur de réponse (RF) peut être utilisé pour calculer la concentration de l'échantillon comme suit :

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \text{zone de l'échantillon} / \text{RF} \quad (\text{Eq.III.8})$$

Si deux ou plusieurs étalons sont mesurés (à des concentrations différentes), les RF peuvent être calculés comme la valeur moyenne de Selon la mesure de la surface de pic<sup>[16]</sup>.

## II.7. Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'alcaloïde, spinanine-A, pf 175-176 "a été isolé de la fraction de base brute par chromatographie sur colonne et CCM préparative répétée d'éluant cyclohexane-EtOAc-MeOH (10: 5: 1) sur gel de silice, il a donné une légère couleur avec le réactif de Dragendorff.

La formule moléculaire a été déterminée par spectroscopie de masse à haute résolution comme  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4$  ( $[\text{M}]^+ m/z 440.2418$ ) et a été reconnue comme un alcaloïde cyclopeptidique à 14 chaînons dans son spectre UV. Le spectre IR présentait des bandes pour -NH, -NH CO, C = C et Ar-O-C, il est isomérique avec la zizyphine-G et les deux molécules présentent des schémas de fragmentation de masse identiques indiquant leur similitude structurelle grossière. Cependant, l'hydrolyse acide a révélé la différence essentielle entre les deux molécules. Ainsi, alors que la zizyphine-G fournissait de l'isoleucine lors de l'hydrolyse acide, la spinanine-A donnait de la leucine. Ces découvertes révèlent que la spinanine-A possède la structure 1 qui diffère de celle de la zizyphine-G en ayant la leucine au lieu de l'isoleucine comme acide aminé final<sup>[73]</sup>.

Cet examen chimique de l'écorce de tige de cette plante a révélé un nouvel alcaloïde cyclopeptidique à 14 membres, le spinanine-A. ainsi que trois alcaloïdes cyclopeptidiques à 13

membres précédemment décrits qui ont été identifiés comme la zizyphine-F, la jubanine-A et l'amphibine-H. Ces derniers alcaloïdes n'ont pas été signalés auparavant chez *Z. Spina-Christi* [73].

## II.8. Analyse de fluorescence des rayons X (FRX)

Comme le montre la figure III.4, la présence d'éléments bioactifs dans la poudre de *Z. Spina-Christi* a été déterminée en utilisant la fluorescence des rayons X. L'analyse a conclu que toutes les parties de la plante contiennent du Potassium, du Fer et du Calcium. On constate que l'écorce, contrairement aux autres parties, est plus riche en Calcium (**94,23%**) [16].

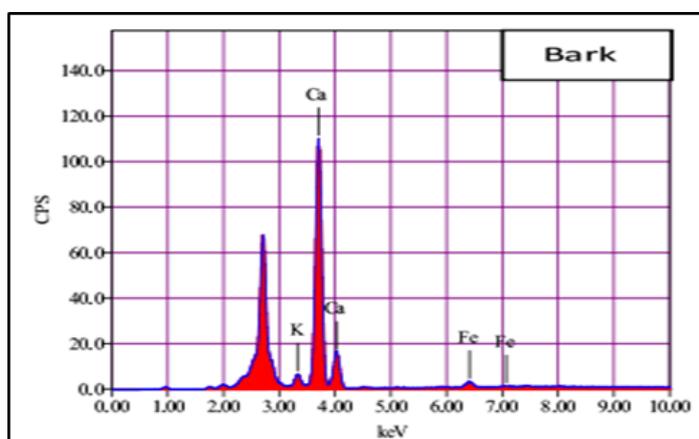


Figure III.4. Spectre d'analyse par fluorescence X (FRX) de l'écorce de tige *Z. Spina-Christi* [16]

Enfin, on peut dire que la présence des composés phytochimiques dans l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi* peut être affectée par le génotype, les conditions du développement et la croissance, la maturité, le conditionnement, les conditions de stockage, etc.

*Conclusion générale*

*&*

*Perspectives*

L'Algérie dispose d'une diversité floristique exceptionnelle, plusieurs espèces sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner les différentes maladies et les infections.

Le présent travail est principalement consacré à la détermination de la composition chimique et les effets biologiques de l'huile essentielle des écorces de *Zizyphus Spina-Christi* appartenant à la famille de Rhamnaceae.

Notre critère de sélection de cette plante repose sur ses usages en médecine traditionnelle, et l'endémisme de *Zizyphus Spina-Christi* (Rhamnaceae).

Notre étude est destinée en premier lieu à l'investigation phytochimique et biologique de *Zizyphus Spina-Christi*. Après avoir cité les conditions de récolte, extraction et séparation, nous avons décrit les diverses méthodes chromatographiques utilisées telles que la chromatographie liquide à haute performance (**HPLC**), la chromatographie sur couche mince (**CCM**), La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (**GC-MS**) et la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (**FTIR**).

Le pourcentage en eau des écorces de *Zizyphus Spina-Christi* était inférieur à **10%**, d'où un faible risque de fermentation et d'oxydation enzymatique. Cela permet alors une meilleure conservation des drogues.

Le taux en cendres chlorhydriques (**2,47%**) est assez significatif car il nous montre que les écorces sont assez peu souillées par la poussière et le sable.

Le pourcentage en cendres sulfuriques (**18,93%**) détermine la quantité de substances inorganiques.

Le pourcentage en cendres totales (**13,96%**) nous renseigne sur la charge des éléments minéraux (potassium, ions ferreux et en calcium).

Les substances extractibles par l'eau (**4%**) montrent bien qu'on a la présence d'extraits hydrosolubles dans la plante.

Les composés isolés sont principalement des acides gras saturés (**58,20%**) et insaturés (**32,80%**).

Les vitamines A, E et C étaient présentes dans l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi* avec des pourcentages respectifs de **3.80%**, **4.50%** et **24.65%**.

Le fer, le potassium et le calcium ont également été trouvés dans l'écorce de la plante, et le pourcentage de ce dernier était élevé (**94,23%**) par rapport au pourcentage total de minéraux.

Les analyses qualitatives mènent à l'isolement de plusieurs groupes chimiques tous reconnus pour leurs propriétés pharmacologiques. Les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les saponines, coumarines, des stérols et triterpènes, des alcaloïdes, des anthraquinones, des phlobatanines et des glycosides cardiaques sont tous extractibles par différents solvants. Tous ces produits sont isolés pour la première fois dans cette espèce, notamment : deux composés, spinanine-B et spinanine-C, ont été signalés pour la première fois dans *Z. Spina-Christi*. En outre, nummularine-D, nummularine-E et amphibine-D ont été signalés pour le premier temps en *Z. Spina-Christi*.

La plupart de ces groupes chimiques sont hydrosolubles et pourraient être responsables des différentes activités aussi bien *in vivo* que *in vitro* et cela justifie la pertinence de la forme d'utilisation par les tradithérapeutes.

L'élucidation structurale des composés isolés a été effectuée par différentes méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie (**FTIR**, **RMN 1D** et **2D**), l'analyse des spectres de masse haute résolution (**HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR**) et par la comparaison avec les données de la littérature.

L'étude des activités biologiques menées par les chercheurs, *in vitro* et *in vivo*, de divers extraits de l'écorce de *Zizyphus Spina-Christi* nous a permis d'observer des résultats intrigants.

Le test de l'activité antimicrobienne des extraits par la méthode de diffusion en milieu gélosé a montré que les extraits testés sont actifs vis-à-vis de certaines souches bactériennes. Cependant, il est noté que les bactéries les plus sensibles aux composés actifs sont du genre *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* à **24**, **22** et **20 mm** respectivement. De plus, ils sont inactifs contre les deux champignons (*Aspergillus niger* and *Candida albicans*).

De même, L'extrait d'écorce a montré une activité antioxydante, antidiarrhéique, antiplasmodiale, cytotoxique et anticancéreuse plus proéminent et efficace contre toutes les lignées cellulaires testées.

Au terme de notre étude, il ressort que les écorces de *Zizyphus Spina-Christi* possèdent bien des vertus thérapeutiques ce qui justifie leur utilisation en médecine traditionnelle.

Enfin, la biodiversité des plantes médicinales traditionnellement connues dans notre pays se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demande d'être exploitée par des recherches.

De cet effet, et comme perspectives, on propose de :

- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- ✓ Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes douées d'une activité biologique.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- [1] -N. Lahmer, S. Messai, « Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines du *Zizyphus lotus* (L) », Mémoire de Master : Biochimie/Biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri Constantine, (2017).
- [2] -W. Ourzeddine, « Etude Chimique et Biologique de Plantes Médicinales Algériennes, cas des espèces *Zizyphus lotus* et *Fagonia longispina* », Thèse de doctorat : Chimie Organique. Université des Frères Mentouri Constantine 1. (2018).
- [3] -A. K. Abeer, Y. Heba Ez, Z. M. Mohamed, « Hepatoprotective and antioxidant effects of *Zizyphus spina-christi* fruits on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats », Nature and Science, (2011).
- [4] -A. Mekdache, A. Messaoudi, « Inventaire des Champignons endophytes des rameaux de *Zizyphus lotus* de la région de Djebba (Tizi-Ouzou, Algérie) », Mémoire de Master : Diversité et Adaptation de la Flore Méditerranéenne, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, (2017).
- [5] -IESV Institut européen des substances végétales, « Les plantes médicinales », Association loi 1901, Document réservé à l'usage des professionnels de la santé, (2015/2016).
- [6] -S. Bach, S. Piotton, R. Vilarino, F. Waelti, « Les médecines parallèles », Immersion en communauté, (2006).
- [7] -S. E. Amroune, « Phytothérapie et plantes médicinales », Mémoire de Master : Protection des Ecosystèmes, Université des Frères Mentouri Constantine, (2018).
- [8] -I. Amari, H. Gourissi, « Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro des extraits méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* », Mémoire de Master : Biochimie Moléculaire et Santé, Université des Frères Mentouri Constantine 1, (2017).
- [9] -M. T. Ben Moussa, « Phytothérapie », Laboratoire de pharmacognosie (3ème année), Département de pharmacie Batna, (2010).
- [10] -F. Merad F, T. Mahiout, « Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines », Thèse de doctorat : Département de Pharmacie, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, (2019).
- [11] -L. Anne-Sophie, « La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie », Thèse de doctorat : Faculté de pharmacie de Marseille, (2018).
- [12] -P. Iserin, M. Masson, J.P. Restellini, E. Ybert, D. Laage, F. Moulard, « Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins ». Edition Larousse. p 6-12, (2001).
- [13] -N. Ben Achour, H. Oulad Mir, « Etude comparative de l'extraction des huiles fixes de la plante *Zizyphus Spina-Christi* de la région Metlili et Djamoura », Mémoire de Master : Génie des Procédés de l'Environnement, Université Kasdi Merbah Ourgla, (2019).

- [14] -M. Saadoudi, « Caractérisation biochimique, conservation et essais d'élaboration des produits alimentaires à base du fruit de *Zizyphus lotus* L », Thèse de doctorat : Qualité et Sécurité -Alimentaire, Université Hadj Lakhdar Batna 1, (2019).
- [15] -S. Abdoul-Azize, « Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus* L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health », *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2867470, (2016).
- [16] -F. S. Hassan, W. M. Salem, W. F. Sayed, H. A. Temerk, « Antibacterial Effect of Phytochemical Extracts from *Zizyphus spina-Christi* against Some Pathogenic Bacteria », *Egypt, J. Bot*, 57, No, 3: pp. 595 – 604, (2017).
- [17] -O. G. Anwar, K. Q. Hemn K Q, A. F. Nabil, « Analysis of Phenolic Compounds in Extracts of *Zizyphus spina-christi* using RPHPLC method », *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(6):3158-3163, (2012).
- [18] -D. Amots, L. Efraim, L. Shay, « The ethnobotany of Christ's Thorn Jujube (*Zizyphus spina-christi*) in Israel », *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, doi: 10.1186/1746-4269-1-8, (2005).
- [19] -F. E. Walaa, « Potent Medicinal Influences of *Zizyphus Spina-Christi* », *Acta scientific medical sciences*, 4 Issue: 2582-0931, (2020).
- [20] -M. Abdeddaim, « Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique. (*Celtis australis* L, *Crataegus azarolus* L, *Crataegus monogyna* J, *Elaeagnus angustifolia* L, et *Zizyphus lotus* L) », Thèse de doctorat : Biochimie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (2016).
- [21] -J. R. Humaidi, E. Nabih Ads, S. Rajendrasozhan<sup>1</sup>, I. H. Syed, M. S. S. Sherif, « Phytochemical, antimicrobial and cytotoxic evaluation of *Zizyphus spina Christi* (L.) stem bark », *Biomedical Research*, 28 (15): 6646-6653, (2017).
- [22] -E. Padeloup Grenez, « Phytothérapie - exemples de pathologies courantes à l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation », Thèse de doctorat : Faculté de Pharmacie de Lille, Université de Lille, (2019).
- [23] -R. H. Rabenavao, « Le Genre *Zizyphus* Mill (Rhamnaceae) : Valeurs économiques, Alimentaire et Médicinale », *Mémoire de Master I (M1) : Département Biologie végétale*, Université de Mahajanga, (2011).
- [24] -Y. El Kharrassi, E. El Maaiden, A. K. Essamadi, K. Moustaid, B. Nasser, N. A. S. Qarah, « Genus *Zizyphus*: A comprehensive review on ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological properties », *Journal of Ethnopharmacology*, doi.org/10.1016/j.jep.112950, (2020).
- [25] -H. Elaheh, A. Jinous, « Phytochemistry and pharmacologic properties of *Zizyphus spina christi* (L.) Willd », *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(31), pp. 2332-2339, (2012).
- [26] -A. Azam, Bonkougou, Bowe, Dekock, Godara, Williams, « Ber », *International Centre for Underutilised Crops*, Southampton, UK, (2006).

- [27] -D. Dahiru, J. M. Sini, L. John-Africa, « Antidiarrhoeal activity of Ziziphus mauritiana root extract in rodents », *African Journal of Biotechnology*, 5 (10), pp. 941-945, (2006).
- [28] -C. E. Bennamar, « Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante medicinale nord africaine, Zizyphus Lotus L. (Sedra) : Etude des differente extraits », Thèse de doctorat : Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, (2011).
- [29] -M. R. Adhvaryu, N. Reddy, M. H. Parabia, « Effects of four Indian medicinal herbs on Isoniazid-, Rifampicin- and Pyrazinamide-induced hepatic injury and immunosuppression in guinea pigs », *World J Gastroenterol*, 13:3199-3205, (2007).
- [30] -S. Hercberg, P. Preziosi, S. Briancon, « A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study-design, methods, and participant characteristics, supplementation en vitamines et mineraux antioxydants ». *Control Clin Trials*, 19: 336-351, (1998).
- [31] -Jawanda, J. S. Bal, « The ber highly paying and rich in value », *Indian Hort*, 23: 19- 21, (1978).
- [32] -T. Desmier, « Les antioxydants de nos jours : Definition et applications », Thèse de doctorat : Faculté de Pharmacie universite de limoges, (2016).
- [33] -K. Chen, J. Sun, A. C. Carr, J. D. Morrow, J. Zeind, B. Frei, « Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo », even in the presence of iron overload, (2000).
- [34] -S. Kojo, « Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress », *Curr Med Chem*, 11(8): 1041-64, (2004).
- [35] -K. Pino-Lagos, M. J. Benson, R. J. Noelle, « Retinoic acid in the immune system », *Ann N Y Acad Sci. Nov*;1143:170-87, (2008).
- [36] -Z. Szondy, « Cell Death Differ », *Jan*; 5(1):4-10, (1998).
- [37] -M. Kishi, *Biochem Biophys Res Commun*, Mar 26; 394(1):228-32, (2001).
- [38] -A. Carr, B. Zhu, B. Frei, « Potentiel anthiatherogenic mechanisms of ascorbate ( vitamin C) and alpha- tocopherol ( vitamin E ) », *Circ. Res*, 56 : 428-37, (2000).
- [39] -W. Pryor, « Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials », *Free Rad. Bio. Med*, 28: 141- 64, (2000).
- [40] -A. Khalil, « Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis », *Can. J. Physiol. Pharmacol*, 80: 662-9, (2002).
- [41] -S. N. Han, D. Wu, W. K. Ha, « Vitamin E supplementation increases T helper 1 cytokine production of old mice infected with influenza virus », *Immunology* 100: 487-493, (2000).
- [42] -S. N. Meydani, M. Meydani, J. B. Blumberg, « Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy subjects », *JAMA* 277: 1380-1386, (1997).
- [43] -U. Singh, I. Jialal, « Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol », *Ann N Y Acad Sci. Dec*;1031:195-203. Review, (2004).

- [44] -L. François, « Chapitre 1: Introduction Acides gras biochimie structurale-biochimie des lipides de medecine de grenoble », universite Joseph fourier, (2007).
- [45] -P. C. Calder, S. Krauss-Etschmann, E. C. Jong, C. Dupont, J. S. Frick, H. Frokiaer, J. Heinrich, H. Garn, S. Koletzko, G. Lack, G. Mattelio, H. Renz, P. T. Sangild, J. Schrezenmeir, T. M. Stulnig, T. Thymann, A. E. Wold, B. Koletzko, « Early nutrition and immunity - progress and perspectives », *Br J Nutr*, 96:774-790, (2006).
- [46] -N. A. Khan, A. Hichami, « Role of n-3 polyunsaturated fatty acids in the modulation of T-cell signaling », *Recent Adv. Res. Lipids* 6: 65-75, (2002).
- [47] -D. S. Kelley, L. B. Branch, J. E. Love, P. C. Taylor, Y. M. Rivera, J. M. Iacono, « Salmon diet and human immune status », *Eur. J. Clin. Nutr*, 46: 397-404, (1992).
- [48] -E. Soyland, M. S. Nenseter, L. Braathen, C. A. Drevon, « Very long chain n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids inhibit proliferation of human T-lymphocytes in vitro », *Eur. J. Clin. Invest.* 23: 112-121, (1993).
- [49] -J. L. Arrington, D. N. McMurray, K. C. Switzer, Y. Y. Fan, R. S. Chapkin, « Docosahexaenoic acid suppresses function of the CD28 costimulatory membrane receptor in primary murine and Jurkat T cells », *J. Nutr.* 131: 1147-1153, (2001).
- [50] -A. S. Chan, E. C. Yip, L. Y. Yung, H. Pang, S. C. Luk, S. F. Pang, Y. H. Wong, CKBM « stimulates MAPKs but inhibits LPS-induced IFN-gamma in lymphocytes », *Phytother Res*, 20:725-731, (2006).
- [51] -B. Adzu a, S. Amos a, M.B. Amizan b, K. « Gamaniel, Evaluation of the antidiarrhoeal effects of Zizyphus spinachristi stem bark in rats », (2013).
- [52] -T. A. Mckee, J. J. Lin, A. E. « Stafford, Biosynthesis of ricinoleate in castor oil », *Advances in Experimental Medical Biology*, 46437/46447, (1999).
- [53] -P. A. Nwafor, F. K. Okwuasaba, L. G. Binda, « Antidiarrhoeal and antiulcerogenic effects of methanol extract of Asparagus pubescent root in rats », *Journal of Ethnopharmacology* 72, 421/427, (2000).
- [54] -G. D. DiCarlo, N. Mascolo, A. A. Izzo, F. Capasso, « Effects of Quercetin on the gastrointestinal tract in rats and mice », *Phytotherapy Research* 8, 42/45, (1994).
- [55] -K. D. Tripathi, « Essentials of Medical Pharmacology ». Jaypee Brothers, Medical Publishers (P), New Delhi, 775 pp, (1994).
- [56] -N. A. A. Ali, W. D. Julich, C. Kusnick, U. Lindequist, « Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities », *Journal of Ethnopharmacology* 74,173/179, (2000).
- [57] -A. A. Shahat, L. Pieters, S. Apers, N. M. Nazeit, N. S. Abdel-Azim, D. V. Berghe, A. T. Vlietinck, « Chemical and Biological investigation on Zizyphus spina-christi L », *Phytotherapy Research* 15, 593/597, (2001).
- [58] -E Tuentner, K. Segers, K. B. Kang, J. Viaene, S. H. Sung, P. Cos, L. Maes, Y. V. Heyden, L. Pieters, « Antiplasmodial Activity, Cytotoxicity and Structure-Activity Relationship Study of Cyclopeptide Alkaloids », Academic Editor: Michael Wink, (2017).

- [59] -E. Tuentner, K. Foubert a, D. Staerk b, S. Apers a, L. Pieters, « Isolation and structure elucidation of cyclopeptide alkaloids from *Ziziphus nummularia* and *Ziziphus spina-christi* by HPLC-DAD-MS and HPLC-PDA-(HRMS)-SPE-NMR », journal homepage. [www.elsevier.com/locate/phytochem](http://www.elsevier.com/locate/phytochem), (2017).
- [60] -N. A. Essam, R. Saravanan, I. H. Syed, M. S. S. Sherif, J. R. Humaidi, « Phytochemical screening of different organic crude extracts from the stem bark of *Ziziphus spina-christi* (L.) », *Biomedical Research* 2018; 29 (8): 1645-1652, (2018).
- [61] -A. B. Alia, A. Z. Almagboulb, O. M. Mohammed, « Antimicrobial activity of fruits, leaves, seeds and stems extracts of *Ziziphus spina –Christi* », *Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants*, (2015).
- [62] -H. A. Sawsa, Korji, « Inhibition of nitrate reductase production from gram negative bacteria using *Zizyphus spina-christi* extract and comparing with some antibiotics », *The Iraqi Journal of Agricultural Science* 43 (2): 144-150, (2012).
- [63] -H. El-Kamali, S. Mahjoub, « Antibacterial activity of *Francoeuria crispa*, *Pulicaria undulata*, *Ziziphus spina-Christi* and *Cucurbita pepo* against seven standard pathogenic bacteria », *Ethnobot. Leaflets.* (13), pp722-733 (2009).
- [64] -G. Mohammed, H. Yesufu, F. Abdulrahman, J. Muazu, S. I. Yakubu, G. Sadiq, C. Wazis, « Antimicrobial and toxicological screening of the aqueous stem bark extract of *Zizyphus spina-Christi* (Linnaeus Desf) », *J. Microbiol. Biotechn. Res.*2 (2), pp337-342, (2012).
- [65] -R. Rej, *Clin Lab Med*, 9(4): 667-87, (1989).
- [66] -S. Sameh, M. H. Alshaimaa, A. Abdel-Nasser, El Shorbagi, A. A. El-Keblawy, « Novel Betulin Derivative is Responsible for the Anticancer Folk Use of *Ziziphus spina-christi* from the Hot Environmental Habitat of UAE », *Journal of Ethnopharmacology*, <https://doi.org/10.1016/j.jep.11.040>, (2018).

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b>	Taxonomie de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	13
<b>Tableau I.2.</b>	Pourcentage des compositions primaires du <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	14
<b>Tableau I.3.</b>	Composition en métabolites secondaires des différents organes du <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	15
<b>Tableau I.4.</b>	Composition biochimique (en vitamines) de l'écorce de tige de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	16
<b>Tableau I.5.</b>	Composition en acides gras (g/100 g de lipides totaux) de tige <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	17
<b>Tableau I.6.</b>	Concentration de certains acides phénoliques présents dans les échantillons de l'écorce de tiges de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	18
<b>Tableau II.1.</b>	Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de <i>Z. Spina-Christi</i> sur l'apparition de la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat.....	33
<b>Tableau II.2.</b>	Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat: perte de poids corporel.....	33
<b>Tableau II.3.</b>	Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de <i>Z. Spina-Christi</i> sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat.....	34
<b>Tableau II.4.</b>	Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de <i>Z. Spina-Christi</i> sur l'accumulation de liquide intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat.....	34
<b>Tableau II.5.</b>	Effet de l'extrait au méthanol de l'écorce de tige de <i>Z. Spina-Christi</i> sur le transit gastro-intestinal chez le rat.....	35
<b>Tableau II.6.</b>	Activité antiplasmodiale contre <i>P. falciparum</i> et cytotoxicité contre les cellules MRC-5 pour les alcaloïdes cyclopeptidiques isolés de l'écorce de tige de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	36
<b>Tableau II.7.</b>	Activité antimicrobienne des extraits de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> contre des microorganismes standards.....	38
<b>Tableau II.8.</b>	Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de tiges des extraits de méthanol de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	39
<b>Tableau II.9.</b>	Effets de l'extrait d'écorce de tige de <i>Z. Spina-Christi</i> L sur les enzymes sériques, les concentrations de protéines et d'albumine des rats.....	41
<b>Tableau III.1.</b>	Résultats des extractions par l'eau et l'éthanol à 70°C d'écorce des racines de <i>zizyphus Spina-Christi</i> .....	52

<b>Tableau III.2.</b>	Teneurs en cendres totales, chlorhydriques sulfuriques, substances extractibles par l'eau des écorces des racines de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	52
<b>Tableau III.3.</b>	Analyse photochimique qualitative de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	53
<b>Tableau III.4.</b>	Composés identifiés dans un extrait de chloroforme de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	54
<b>Tableau III.5.</b>	Composés identifiés dans l'extrait de butanol de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	55
<b>Tableau III.6.</b>	Analyse FTIR pour les groupes fonctionnels bioactifs.....	57
<b>Tableau III.7.</b>	Données spectroscopiques RMN <sup>1</sup> H (H en ppm, multiplicité (J en Hz)) pour les composés 1 à 5.....	58
<b>Tableau III.8.</b>	Identification des structures chimiques et des $\lambda_{\max}$ .....	59

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>I.1.</b>	Infusion des feuilles.....	06
<b>Figure</b>	<b>I.2.</b>	Préparation des macérât.....	06
<b>Figure</b>	<b>I.3.</b>	Décoction des tiges et feuilles.....	07
<b>Figure</b>	<b>I.4.</b>	Répartition géographique des espèces de la famille des Rhamnacées.....	09
<b>Figure</b>	<b>I.5.</b>	Différents espèces de <i>Zizyphus</i> .....	11
<b>Figure</b>	<b>I.6.</b>	Rameau et feuille de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	12
<b>Figure</b>	<b>I.7.</b>	Fruit de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	12
<b>Figure</b>	<b>I.8.</b>	Fleur et diagramme de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	13
<b>Figure</b>	<b>I.9.</b>	La plante du <i>Zizyphus Spina-Christi</i> en mars, en mai, en Juin et en été.....	13
<b>Figure</b>	<b>I.10.</b>	Structure chimique de Ziziphine.....	14
<b>Figure</b>	<b>I.11.</b>	Aire de répartition du <i>Zizyphus Spina-Christi</i> en méditerranée.....	19
<b>Figure</b>	<b>I.12.</b>	Benefits of <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	21
<b>Figure</b>	<b>II.1.</b>	Écorce de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	24
<b>Figure</b>	<b>II.2.</b>	Structure chimique de la vitamine C.....	27
<b>Figure</b>	<b>II.3.</b>	Structure chimique du bêta-carotène.....	28
<b>Figure</b>	<b>II.4.</b>	Structure chimique de la vitamine A.....	28
<b>Figure</b>	<b>II.5.</b>	Structure chimique de la vitamine E.....	29
<b>Figure</b>	<b>II.6.</b>	Structure chimique de l'acide linoléique.....	31
<b>Figure</b>	<b>II.7.</b>	Structure chimique de la spinanine-B.....	36
<b>Figure</b>	<b>II.8.</b>	Structure chimique de le phytol.....	37
<b>Figure</b>	<b>II.9.</b>	Zone d'inhibition (mm) des pathogènes bactériens et fongiques par différents extraits d'écorce de tige de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	38
<b>Figure</b>	<b>II.10.</b>	Zone d'inhibition (mm) des pathogènes bactériens et fongiques par l'extrait méthanolique d'écorce de tige de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	39
<b>Figure</b>	<b>II.11.</b>	Structure de la 13-déshydrobétuline.....	42
<b>Figure</b>	<b>III.1.</b>	Chromatogramme GC-MS d'un extrait de Chloroforme de <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	55
<b>Figure</b>	<b>III.2.</b>	Chromatogramme GC-MS d'un extrait de butanol de <i>Z. Spina-Christi</i> .....	56
<b>Figure</b>	<b>III.3.</b>	Chromatogramme HPLC de l'échantillon.....	59
<b>Figure</b>	<b>III.4.</b>	Spectre d'analyse par fluorescence X (XRF) de l'écorce de tige <i>Zizyphus Spina-Christi</i> .....	61

## Liste des abréviations

<b>AGI :</b>	Acides gras insaturés.
<b>AGMI :</b>	Acides gras mono insaturés.
<b>AGPI :</b>	Acides gras polyinsaturés.
<b>ROS :</b>	Substances réactives à l'oxygène.
<b>RA :</b>	Acide rétinoïque.
<b>CVA :</b>	Carence en vitamine A.
<b>RAR :</b>	Récepteurs d'acide rétinoïque.
<b>RXR :</b>	récepteurs rétinoïque X.
<b>IL-2 :</b>	Interleukine- 2.
<b>IL-4 :</b>	Interleukine-4.
<b><math>\alpha</math>-Toch :</b>	Alpha-tocophérol.
<b>UI :</b>	Unité internationale.
<b>B. s :</b>	Bacillus subtilis.
<b>S. a :</b>	Staphylococcus aureus.
<b>E. c :</b>	Escherichia coli.
<b>KL. p :</b>	Klebsiella pneumoniae.
<b>Pr. v :</b>	Proteus vulgaris.
<b>Ps. a :</b>	Pseudomonas aeruginosa.
<b>MDIZ :</b>	Diamètre moyen de la zone d'inhibition de la croissance en mm.
<b>ALT :</b>	Alanine transaminase.
<b>AST :</b>	Aspartate transaminase.
<b>ALK. Phos :</b>	Phosphatase alcaline.
<b>EAM :</b>	L'extraction assistée par micro-ondes.
<b>CG-SM :</b>	chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
<b>FTIR :</b>	Spectromètre infrarouge à transformée de Fourier.
<b>IES :</b>	d'ionisation par électrospray.
<b>HPLC :</b>	La chromatographie liquide à haute performance.
<b>CCM :</b>	Chromatographie sur couche mince.
<b>FRX :</b>	Analyse de fluorescence des rayons X.