

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du  
Diplôme de Docteur Vétérinaire.

# Screening Phytochimique et Contribution à l'Etude de l'activité anti inflammatoire d'une Plante Médicinale «tiges et feuilles» (*Ziziphus lotus*)

Présenté par Melle : LAMARI Nesrine.

Melle : MERIEM Aicha.

Soutenu le : le 30/09/2017.

Devant le jury composé de:

- Président :	Mme AINOUZ L	MAA	ENSV d'Alger
- Promoteur :	Dr ZAOUANI M	MAA	ENSV d'Alger
-Co- promoteur :	Mme DJELLOUT B	MAA	ENSV d'Alger
- Examineur 1:	Dr BENMOHAND C	MAA	ENSV d'Alger
- Examineur 2 :	Dr ZENAD W	MAA	ENSV d'Alger

Année Universitaire : 2016/2017.

# *Remerciement*

*En* préambule à ce mémoire nous remercions *ALLAH* qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'études.

*Nos* remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de l'ENSV, pour la richesse et la qualité de l'enseignement.

*Nous* tenons à exprimer notre profonde gratitude a notre encadrant *Mr* ZAOUANI pour son suivi et pour son énorme assistance, qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la période du projet.

*On* tient à remercier également notre encadrant *Mme* DJELLOUT pour le temps qu'elle a consacré et pour les précieuses informations qu'elle nous a prodiguées avec intérêt et compréhension.

*De* plus on remercie *Mme* YAHIAOUI et *Mme* BENMOHAND pour La générosité et disponibilité révélée.

*Nous* adressons nos remerciements à *Mme* AINOUZ de nous avoir fait

l'honneur d'accepter la présidence du jury.

A *Mme* BENMOHAND pour avoir accepté de faire partie du jury.

Hommage très respectueux.

A *Mme* ZENAD pour avoir bien voulu nous faire l'honneur d'être membre de

notre jury. Sincères remerciements.

*On* remercie tout particulièrement nos parents pour leurs efforts étendus au long de notre cursus scolaire et universitaire ainsi pour leurs soutien persistant.

*Enfin*, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

*Merci à toutes et à tous*

## Liste des Figures

- **Figure 01** : Tiges et feuilles du *Zizyphus lotus*.....05
  
- **Figure 02** : Structure de base des flavonoïdes.....11
  
- **Figure 03** : Structure de base des terpénoïdes.....14

## Liste des Tableaux

- **Tableau 01** : Teneur de la pulpe du jujubier frais en métabolite primaire.....08
- **Tableau 02** : Composition en métabolites secondaires des différents organes de *Zizyphus lotus* .....08
- **Tableau 03**: Les principales classes des flavonoïdes.....12
- **Tableau 04**: Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.....18
- **Tableau 05** : Matériels et réactifs utilisés dans l'activité phytochimique.....23
- **Tableau 06**: Résultats du screening phytochimique de la partie aérienne de la plante étudiée.....30
- **Tableau 07**: Un tableau récapitulatif des résultats de l'activité anti inflammatoire des différents lots inclus dans l'expérience.....34

## Liste des Photos

- **Photo 01** : Site de récolte de la plante de *Ziziphus Lotus* subesp. *Saharae* .....22
- **Photo 2**: Etape de préparation de la poudre du *Ziziphus lotus*....24
- **Photo 03** : Filtration de la solution de *Ziziphus lotus* et l'obtention de l'extrait aqueux qu'on va utiliser dans nos expériences.....25
- **Photo 04** : Bain marie..... 27
- **Photo 05**: Injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire dans les pattes postérieure gauches des souris.....29
- **Photo 06**: Résultat de la mise en évidence des polyphénols dans la partie aérienne de la plante du *Ziziphus lotus*.....31
- **Photo 07**: Résultat de la mise en évidence des tanins catéchiques.....31
- **Photo 08**: Résultat de la mise en évidence des tanins galliques...32
- **Photo 9**: Résultat de la mise en évidence des alcaloïdes.....32
- **Photo 10**: Résultat de la mise en évidence des flavonoïdes de type Flavone.....33
- **Photo11**: Résultat de la mise en évidence des saponosides.....33

## Liste des Abréviations et des Symboles

- **AINS:** Anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- **AIS:** Anti-inflammatoires stéroïdiens.
- **AMM:** Autorisations de Mise sur le Marché.
- **C°:** Degré Celsius.
- **COX:** Cyclo-oxygénase.
- **ENSV:** Ecole National Supérieure Vétérinaire.
- **EX:** Exemple.
- **FeCl<sub>3</sub>:** Chlorure de fer.
- **g:** Gramme.
- **Hcl:** Acide chlorhydrique.
- **IL:** Interleukines.
- **INRF:** Institut National de la Recherche Forestière.
- **KB:** kilobase.
- **kg:** kilogramme.
- **Km:** Kilo mètre.
- **m:** Mètre.
- **Mg:** Magnésium.
- **mg:** Milligramme.
- **min:** Minute.
- **ml:** Millilitre.
- **Na:** Sodium.
- **NaCl:** Chlorure de sodium.
- **NF-kappa B:** Nuclear Factor- Kappa B.
- **NO :** Monoxyde d'azote.
- **OMS:** Organisation Mondiale de la Santé.
- **ORL:** Oto-Rhino-Laryngologie.
- **PAF TNF:** Facteur activateur des plaquettes.
- **R:** Réactif.
- **ROS:** Espèces Réactives de l'Oxygène.
- **SNC:** Système Nerveux Central.
- **SPA:** Santé et Production Animales.
- **T°:** Température.
- **TNF $\alpha$ :** Facteur de Nécrose Tumorale.

## Sommaire

Introduction .....	1
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
Chapitre I. Généralités sur les Plantes Médicinales .....	2
I.1. Les plantes médicinales .....	2
I.2. La phytothérapie .....	2
I.3. La Pharmacognosie .....	3
I.4. La récolte et la cueillette .....	3
I.5. Le séchage .....	4
I.6. La conservation des plantes sèches .....	4
I.7. La préparation des remèdes naturels .....	4
Chapitre II .Caractéristiques du <i>Zizyphus lotus</i> .....	5
II.1. Description botanique du <i>Zizyphus lotus</i> .....	5
II.2. Classification botanique .....	5
II.3. Répartition Géographique .....	6
II.3.1. Dans le monde .....	6
II.3.2. En Algérie .....	6
II.4. Caractère écologique .....	6
II.5. Caractères biologiques et thérapeutiques du <i>Zizyphus lotus</i> .....	6
II.5.1. Activités anti-inflammatoire et analgésique .....	7
II.5.2. Activités antifongique et anti-mollusque .....	7
II.5.3. Activité anti-ulcérogénique .....	7
II.5.4. Autres activités .....	7
II.6. Composition chimique du <i>Zizyphus lotus</i> .....	8
II.6.1. Les métabolites primaires .....	8
II.6.2. Les métabolites secondaires .....	8
II.7. L'usage traditionnel .....	9
Chapitre III : Les métabolites secondaires .....	10
III.1. Définition et fonction .....	10
III.2. Classification des métabolites secondaires .....	10
III.2.1. Les composés phénoliques .....	10
III.2.2. Les flavonoïdes .....	11
III.2.3. Les tanins .....	13

III.2.4. Les terpénoïdes .....	14
III.2.5. Les hétérosides .....	15
III.2.6. Les saponosides .....	15
III.2.7. Les Alcaloïdes .....	16
Chapitre IV : L'inflammation .....	16
IV.1. Définition de l'inflammation .....	16
IV.2. Étiologie .....	16
IV.3. Manifestations cliniques .....	17
IV.4. Les étapes de l'inflammation .....	17
IV.5. Les médiateurs de l'inflammation .....	18
IV.6. Thérapeutiques de l'inflammation .....	19
IV.6.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens .....	19
IV.6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens .....	20
IV.7. Les principales plantes anti-inflammatoire inscrites à la Pharmacopée .....	20
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
I. Matériels et méthodes .....	22
I.1. Matériels .....	22
I.1.1. Matériel végétal .....	22
I.1.2. Matériels non biologique .....	23
I.2. Méthode .....	23
I.2.1. Le screening phytochimique .....	23
I.2.2. Étude de l'activité anti inflammatoire .....	27
II. Résultats et discussion .....	30
II.1. Résultats .....	30
II.1.1. Résultats de l'étude phytochimique .....	30
II.1.2. Résultats de l'activité anti inflammatoire .....	34
II.2. Discussion .....	35
Conclusion .....	36

## ***Introduction***

L'émergence de nouvelles maladies, le développement de résistances aux médicaments, l'apparition de virus mortels, les complications liées aux transplantations d'organes et l'augmentation de l'incidence des infections fongiques, ainsi que les risques de toxicité associé à l'utilisation excessive des médicaments et des antibiotiques de synthèse, poussent les chercheurs à explorer différentes sources naturelles afin d'obtenir de nouveaux médicaments qui seraient efficaces, possédant une faibles toxicité et ayant un impact mineur sur l'environnement.

Les plantes avec leurs nombres illimités constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et d'activité biologique. Les plantes aromatiques sont caractérisées par leurs richesses en principes actifs et en substances tels que les polyphénols et les flavonoides qui sont dotés de propriétés importantes et différentes.

La présente étude a pour objet: la réalisation d'un screening phytochimique et la contribution à l'étude de l'activité anti inflammatoire de la plante du **Jujubier** (*Ziziphus*).

Nous avons structuré ce mémoire en 02 parties :

- la partie bibliographique en rapport avec l'étude entamée englobant 04 chapitres,
- la partie expérimentale qui aborde l'aspect pratique de l'étude.

Les résultats obtenus sont présentés et débattus, et suivis d'une conclusion générale.

## **Partie Bibliographique.**

## Chapitre I. Généralités sur les Plantes Médicinales.

### **I.1. Les plantes médicinales :**

Dans le code de la Santé publique, « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elle est présentée pour ses propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Moreau, 2003 in Ghabrier, 2010).

Ces plantes sont utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006).

### **I.2. La phytothérapie :**

La phytothérapie est un mot extrait des mots grecs « phyto » qui veut dire plante et « thérapie » qui veut dire soigner. La phytothérapie est l'ensemble des soins thérapeutiques faisant directement appel aux drogues d'origine végétale. Les végétaux peuvent être employés sous plusieurs formes: infusions simples ou composées, ou sous forme de préparations galéniques, teintures, extraits (Hamamouch I.1999).

On peut distinguer deux types de phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'études cliniques (Lachkham,2014).
- Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des

phytomédicaments est soumise à l'autorisation de mise sur le marché (AMM). On parle alors de pharmacognosie ( Lachkham,2014).

### **I.3. La Pharmacognosie :**

La pharmacognosie est définie comme l'étude des substances naturelles à usage médical (Bruneton ; 1987).

Ces substances naturelles peuvent être définies comme étant: (Daoud et Ouazar 2005)

- une seule substance chimique pure et parfaitement définie.
- un mélange naturel de plusieurs substances, cas des huiles essentielles.
- une matière première, partie de la plante n'ayant subi aucun traitement pharmaceutique et qui est thérapeutique (la plante entière ou une partie seulement, fruit, feuille, racine, écorce, suc).

Pour la pharmacognosie, étudier une plante c'est définir son identité et décrire sa morphologie aussi bien que son anatomie, connaître son origine et son mode de production.

C'est aussi apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analyser sa composition chimique et les facteurs qui peuvent le faire varier, connaître la structure et les propriétés des principes actifs aussi bien que leur activité pharmacologique (Bruneton, 1993).

Le but de la pharmacognosie est d'étudier de manière approfondie des substances naturelles déjà utilisées en thérapeutique, et de rechercher de nouvelles substances naturelles susceptibles d'avoir un intérêt thérapeutique (Charpentier, 1998).

### **I.4. La récolte et la cueillette :**

L'efficacité d'une plante dépend nécessairement de sa récolte et de sa conservation. Les plantes ou leurs organes (feuilles, bourgeons, fleurs, fruit) doivent être cueillis par temps sec et de préférence après le lever du soleil. La cueillette des feuilles se fait au moment propice, ou dès qu'elles auront atteint leur plein épanouissement. Les fruits doivent être bien murs pour les récoltes. Les fleurs sont cueillies en pleine éclosion, lorsqu'elles resplendent de leur éclat. Les racines et les écorces des arbres et arbrisseaux ne devront être cueillis qu'à la fin du cycle de développement des parties aériennes, habituellement pendant l'automne (Baba Aissa ,1999).

### **I.5. Le séchage :**

Jusqu'à présent, le séchage constitue la méthode la plus simple et la plus couramment utilisée pour conserver le produit végétal, il doit être réalisé le plus rapidement possible après la récolte.

Le séchage se fait en principe à l'ombre, ou du moins dans un endroit protégé contre les rayons trop forts du soleil. On sèche séparément chaque plante ou une partie de la plante. Les plantes sont étendues en couches minces sur des planches recouvertes d'un papier propre, sec et sans odeur, ou sur une planche en bois.

Le temps de séchage dépend de l'air, de la température et de la plante à traiter. Pendant l'été, le temps de séchage est de 3 à 8 jours. Au printemps et en automne, une ou deux semaines, jusqu'à ce que la plante perde un poids proportionnel à sa teneur en eau (Thurzoval et al, 1978).

### **I.6. La conservation des plantes sèches :**

Les parties des plantes triées par espèce sont gardées dans des sacs en papier bien fermés, ou dans des boîtes en carton recouvertes de papier. Les drogues sont conservées loin de la lumière solaire, de l'humidité, des odeurs, des gaz, des moisissures et autres facteurs de dégradation (Thurzoval et al, 1978).

### **I.7. La préparation des remèdes naturels :**

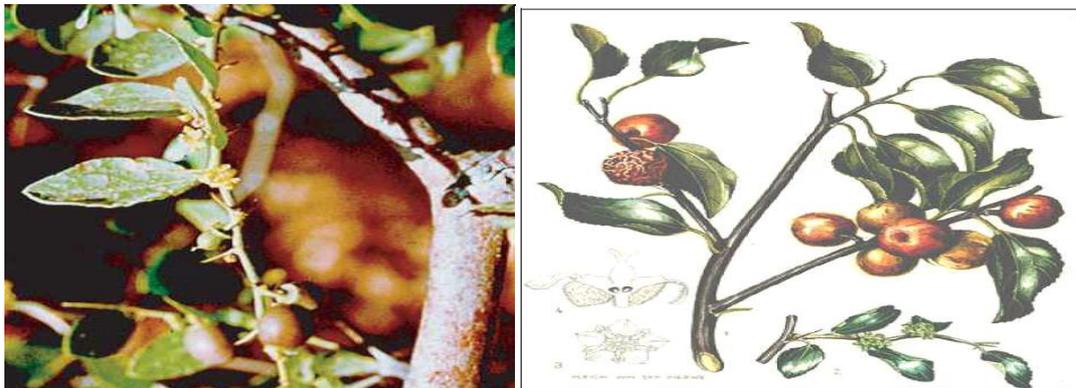
L'action des plantes médicinales ne dépend pas seulement de leurs propriétés et de leurs qualités, mais également de la manière dont elles sont appliquées. Il existe en effet de nombreuses façons de les employer fraîches ou sèches, par un usage interne ou externe, traitées ou non. On peut utiliser une plante seule ou un mélange de plusieurs plantes, parfois même des plantes combinées avec d'autres préparations naturelles ou synthétiques (Thurzoval et al, 1978).

## Chapitre II .Caractéristiques du *Zizyphus lotus*.

### II.1.Description botanique du *Zizyphus lotus* :

Le *Zizyphus lotus* (jujubier) est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnacées (Rsaissi et Bouchache, 2002). Communément appelé en Afrique du Nord « Sedra » (Borgi et al , 2007(a)). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètre pouvant atteindre 2m de haut.

Ces feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Chaque feuille porte à sa base deux stipules transformées en épine inégale et vulnérable. Les fleurs sont jaunes, pentamères et groupées en inflorescence cymeuse. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux appelé "Nbeg"; ceci est représenté dans la (**Figure 01**) (Rsaissi et Bouchache, 2002).



**Figure 01:** Tiges et feuilles du *Zizyphus lotus* (Rsaissi et Bouchache, 2002).

### II.2. Classification botanique : (Quezel et Santa, 1962).

- **Embranchement :** Spermatophytes.
- **Sous embranchement :** Angiospermes.
- **Sous classe :** Dicotylédone.
- **Ordre :** Celastrales
- **Famille :** Rhamnacées.
- **Genre :** *Zizyphus*.
- **Espèce :** *Zizyphus lotus*.

### **II.3.Répartition Géographique :**

#### **II.3.1.Dans le monde:**

Le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une d'entre elles, *Zizyphus lotus*, est spontanée dans le sud de l'Espagne et du Portugal, en Sicile, et en Grèce (Bross ,2000). On le rencontre aussi dans les steppes désertiques d'Afrique du Nord et Asie Mineure (Paris et Dillemann, 1960).

#### **II.3.2.En Algérie :**

Le *Zizyphus lotus* est répandu dans toute l'Algérie excepté au niveau du Tell Algéro-Constantinois (Quezel et Santa, 1968).

### **II.4.Caractère écologique :**

Le jujubier est plastique et rustique. Il aime les sols sableux à limoneux, bien drainés, de pH neutre ou légèrement alcalin. Il supporte une faible fertilité du sol et une grande variété du climat mais on le trouve principalement dans des zones avec une longue saison sèche (Louppe D, 2003).

### **II.5. Caractères biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus lotus* :**

Les différentes espèces du *Zizyphus* sont largement utilisées dans le traitement de certaines maladies comme: les troubles digestifs, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (Abu-Zarga et al ., 1995, Abdel-Zaher et al ., 2005 , Suksamrarn et al , 2005).

Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne. Parmi ces effets, on souligne les plus importants:

#### **II.5.1. Activités anti-inflammatoire et analgésique :**

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti inflammatoire significative (Borgi et Chouchane, 2006).

Le *Zizyphus lotus* inhibe la production de Monoxyde d'azote (NO), cette activité apparaît potentiellement avec l'extrait méthanolique de l'écorce des racines qui est la source possible de l'agent anti inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite par

l'Oxazolone (Borgi et al ., 2008).

Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs: les flavonoïdes et les saponines.

Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses (Borgi et al. 2007(a)).

### **II.5.2. Activités antifongique et anti-mollusque :**

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et méthanolique) de *Zizyphus lotus* se sont avérés très actifs in vitro vis-à-vis de neuf souches de champignons pathogènes et de mollusques *Balinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose) (Lahlou et al. 2002).

### **II.5.3. Activité anti-ulcérogénique :**

Le *Zizyphus lotus* (les feuilles, l'écorce des racines) possède une importante activité anti-Ulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus pour leurs effets gastroprotecteurs (Borgi et al ., 2007(b)).

### **II.5.4. Autres activités :**

Les fruits de *Zizyphus lotus* sont décrits comme adoucissant, et entrent dans le traitement de la gorge et des irritations broncho-pulmonaires. De même, la poudre des feuilles sèches et des fruits est appliquée dans le traitement des furoncles (Borgi et al ., 2007(a)). D'ailleurs l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* est utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement du diabète (Ghedira et al, 1995).

## **II.6. Composition chimique du *Zizyphus lotus* :**

Les études phytochimiques menées sur le *Zizyphus lotus* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires (**tableau 01 et 02**).

### **II.6.1. Les métabolites primaires : (tableau 01)**

**Tableau 01: Teneur de la pulpe du jujubier frais en métabolites primaires (Catoire et al 1999).**

<b>La fraction de la pulpe du fruit</b>	<b>Le pourcentage</b>
sucres	20% à 32%
lipides	0,1% à 0,3%
protides	0,8% à 2,1%

### **II.6.2. Les métabolites secondaires :**

Le *Zizyphus lotus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides (Borgi et Chouchane, 2006 ; Catoire et al., 1994). (**tableau 02**).

**Tableau 02: Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus lotus* ( Borgi et al , 2007).**

<b>Organe végétal</b>	<b>Composition chimique</b>	<b>Références</b>
<b>Fruits</b>	-flavonoïdes, tanins saponines, alcaloïdes	(Borgi et al .,2007 (b))
<b>Feuilles</b>	-flavonoïdes, tanins, alcaloïdes. -saponines de type dammarane : -jujuboside B -jujubogenin glycoside -dérivé sulfaté de jujubasaponine IV	(Borgi et al .,2007 (b))  (Macuek et al .,2004)
<b>Ecorce des racines</b>	-flavonoïdes, saponines de type damarane. -tanins. -alcaloïde cyclopeptidiques lotusines A-G	(Borgi et al .,2007(a))  (Borgi et al .,2007(b))  (Le crouéour, 2002)

## **II.7.L'usage traditionnel:**

### **Parties utilisées:**

Les fruits (jujubes) sont récoltés en septembre dès qu'ils commencent leur maturité (couleur brune).

### **Formes d'usage:**

- Décoction des jujubes à raison de 50 gramme par litre à bouillir durant une demi-heure. Ils peuvent être associés avec les dattes, les figues et les raisins secs.
- Pâte à base de farine de jujubes séchées et débarrassés de leur graine. Bouillir pendant une demi-heure un demi-kilo de farine de jujube dans 3,5 litres d'eau. Après filtration et décantation, récupérer la partie liquide. Ajouter 3 kg de gomme arabique pulvérisée et 2 kg de sucre blanc. Malaxer jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Cuire sur un feu doux tout en remuant.(anonyme)

### **Usage interne en phytothérapie:**

#### **Enrouement, pharyngite, toux et diarrhée:**

**a.** Décoction: 50 gr de fruits de jujubier grossièrement broyés pour un litre d'eau. Boire jusqu'à 500 ml par jour.

**b.** Pâte pectorale: Consommation à volonté. (Bio en ligne .com.)

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

### **III.1.Définition et fonction :**

Les métabolites secondaires sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante. Ils sont bio synthétisés à partir des métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus (Boudjerda, 2013).

En général, les termes, métabolites secondaires, xénobiotiques, facteurs antinutritionnels, sont utilisés pour déterminer ce groupe, il existe plus de 200.000 composés connus qui ont des effets antinutritionnels et toxiques chez les mammifères. Comme ces composés ont des effets toxiques, leur incorporation dans l'alimentation humaine peut être utile pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections virales...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure dépendante (Makkar , Siddhuraju , Becker 2007).

### **III.2.Classification des métabolites secondaires :**

Les métabolites secondaires sont classés selon leur structure chimique en quatre groupes majeurs:

- ❖ Les composés phénoliques ou aromatiques.
- ❖ Les terpénoïdes.
- ❖ Les hétérosides.
- ❖ Les alcaloïdes

#### **III.2.1.Les composés phénoliques :**

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  qui est un monohydroxybenzène.

Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arome, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols.

Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (Walton et Brown, 1999).

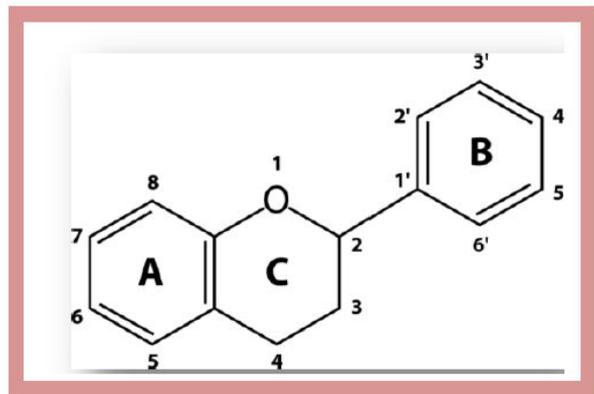
Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives (King et Young, 1999), ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires, antimicrobiens (Bahorun, 1997 ; Cetkovic et al. 2008).

### III.2.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques qui représentent un large groupe des métabolismes secondaires.

Ces molécules sont considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Bruneton, 1999).

Leur structure comprend deux cycles aromatiques (A et B) reliées par une troisième chaîne carbonée, généralement organisé comme une hétérocyclique oxygéné (C) présenter sur la (figure 02).



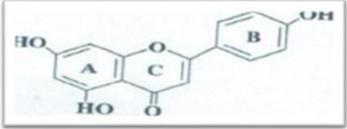
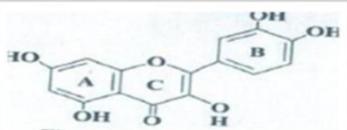
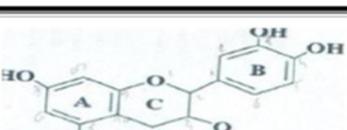
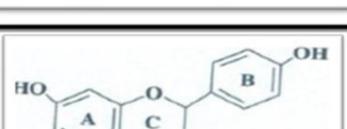
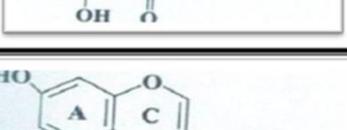
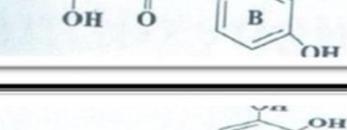
**Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes (Hudcova et Dostalek 2015).**

### ❖ Classification des flavonoïdes :

Plus de 5000 variétés des flavonoïdes ont été identifiés et peuvent être classer selon leur structure sur la base du degré de substitution et l'oxydation (Yao, Jiang, Shi, Tomas, Datta et al, 2004).

Les flavonoïdes prédominants sont le plus souvent divisés en six sous-classes: Les flavones, les flavonols, flavan-3-ols, les flavanones, les isoflavone et les anthocyanidines sont mentionnés dans le **(tableau 03)** ci-dessous ( Hudcova., Jelinek. 2015 ).

**Tableau 03: Les principales classes des flavonoïdes ( Hudcova., Jelinek 2015).**

CLASSE	STRUCTURE	EXEMPLE
LES FLAVONES		APIGÉNINE
LES FLAVONOLS		QUERCÉTINE
FLAVAN-3-OLS		CATÉCHINE
LES FLAVONONES		NARINGÉNINE
ISOFLAVONONES		GÉNISTÉINE
ANTHOCYANIDINES		CYANDINE

### **III.2.3.Les tanins :**

Ils sont définis comme étant des composés poly-phénoliques, hydrosolubles de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 KB (polymères) ayant la propriété de tanner la peau c'est-à-dire de la rendre imputrescible (l'empêche de pourrir), propriété liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines), à précipiter les alcaloïdes et la gélatine (Harrar ; 2012).

Selon la structure, on a deux types de tanins: les tanins hydrolysables et les tanins condensés, dits aussi proanthocyanidines (Boudjouref . 2011).

#### **III.2.3.1.Les tanins hydrolysables :**

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannase en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques.

- **Tanins galliques (Gallo tanins):** ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.
- **Tanins ellagiques (Ellagi tanins):** ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique.

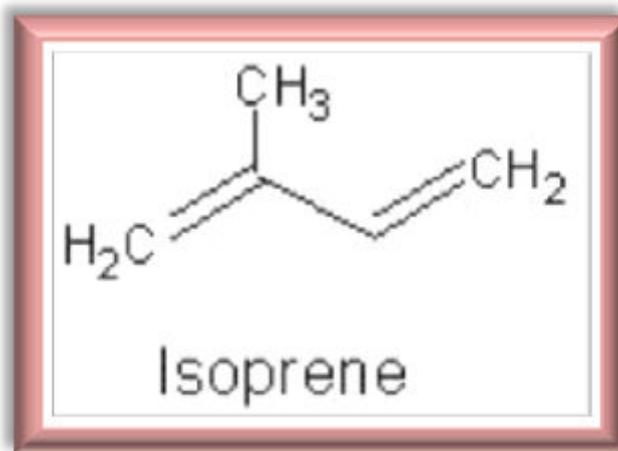
#### **III.2.3.2.Les tanins condensés :**

Ce sont des proanthocyanidines c'est-à-dire, des composés polyphénoliques hétérogènes: dimères, oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5- deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols.

Les tanins condensés sont des molécules non hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes, caractérisée par l'absence de sucre (Boudjouref, 2011).

### **III.2.4. Les terpénoïdes :**

Les terpènes constituent le plus grand ensemble des métabolites secondaires des végétaux, notamment les plantes supérieures. Ils sont également rencontrés dans les autres types d'organismes vivants (algues, mousses, champignons, insectes) (Guessoum, 2015), leur structure est présentée sur la (**figure 03**).



**Figure 03 : Structure de base des terpénoïdes** (Boubekri, 2014).

### **III.2.5. Les hétérosides :**

Les hétérosides ou glycosides sont des molécules formées par combinaison d'oses et de substances non glucidique appelées aglycones ou génines. Ils forment des substances de réserve localisées dans les vacuoles cellulaires. Les hétérosides se différencient entre eux par leurs génines qui appartiennent à tous les groupes de métabolites secondaires (flavonoïdes, saponosides, et tanins) et par le mode de liaison entre le génine et l'ose ainsi que par la nature de la partie glucidique (Aref . 2015).

### **III.2.6. Les saponosides :**

Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques, fréquemment rencontrés chez les végétaux supérieurs en particulier chez les Dicotylédones (racines, fruits, écorces, tiges, feuilles ou graines), mais sont synthétisés également par certains animaux marins tels que les concombres de mer ou les étoiles de mer.

Le nom saponoside est dérivé du mot latin *sapo* qui veut dire savon, qui évoque le caractère moussant de leur solution aqueuse. Ce pouvoir tensio-actif est dû au caractère amphiphile des molécules, à la fois lipophile (la partie aglycone ou génine) et hydrophile (la partie osidique).

Les saponosides sont des composés, pour la plupart, très polaires et sont souvent retrouvés sous forme de mélanges complexes dans la plante. Ils possèdent en outre un large spectre de propriétés biologiques et pharmacologiques notamment des propriétés immunomodulatrice, immunoadjuvante, cytotoxique, antitumorale et hypocholestérolémiant (Kissoum et Khalfaoui ; 2015).

### **III.2.7. Les Alcaloïdes :**

#### **III.2.7.1. Définition :**

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux. Ils peuvent être présents dans tous les organes.

Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3% du poids sec de la drogue. Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins. (Aref , 2015).

#### **III.2.7.2. Fonction et propriétés :**

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes du point de vue biologique car certains constituent le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisées comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes.

Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque. (Aref ,2015).

## Chapitre IV : L'inflammation.

### **IV.1. Définition de l'inflammation :**

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Nathan, 2002; Barton, 2008).

La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la réparation des tissus. L'inflammation de courte durée dite « inflammation aiguë » est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui lui permet de retrouver son intégrité physiologique. Alors que l'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se pérennise et devient une inflammation chronique (Weill *et al.* 2003).

### **IV.2. Étiologie :**

La réaction inflammatoire peut être déclenchée par plusieurs éléments:

- **Des micro-organismes** comme des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites;
- **Des corps étrangers** (des protéines étrangères, par ex., les pollens, des cristaux de silice ou d'amiante);
- **Des lésions tissulaires** avec formation de débris de tissus comme après une atteinte mécanique (coupure, piqûre, frottement, ou corps étranger), chimique (acides et bases) ou physique (chaleur, froid ou rayonnement [UV, X, radioactifs]), ou encore sous l'influence d'inducteurs endogènes comme les cellules tumorales tuées, hémorragies, réactions auto-immunes, ou cristaux formés dans l'organisme (urée, oxalate ou phosphate de calcium, cholestérol) (Silbemagi *et al.*, 2000).

### **IV.3. Manifestations cliniques :**

La réaction inflammatoire est responsable de phénomènes locaux caractérisés par quatre signes cardinaux qui sont: la rougeur, la chaleur, la douleur et l'œdème. Mais elle peut aussi entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante en cas de persistance de la réaction inflammatoire.

Les effets cliniques généraux sont une altération de l'état général, associant une asthénie, une anorexie, un amaigrissement, une fièvre, des troubles du sommeil et une cachexie avec fonte musculaire (Rousselet et al. 2005).

#### **IV.4. Les étapes de l'inflammation :**

L'inflammation ainsi définie se déroule en trois phases:

- **une première phase précoce** : elle se caractérise par une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité capillaire et se traduit par les signes suivants: chaleur, œdème et douleur. On note également une migration de leucocytes des vaisseaux vers les tissus lésés et une libération de facteurs tissulaires à savoir l'histamine, la sérotonine, les kinines, les prostaglandines.
- **une deuxième phase dite du « granulome »**: caractérisée par l'introduction dans l'infiltrat cellulaire de polynucléaires, faisant place à des cellules mononuclées (lymphocytes, plasmocytes), aux macrophages qui phagocytent les agents agressifs et aux fibroblastes. Il s'en suit une libération d'enzymes protéolytiques qui entretiennent l'inflammation.
- **une troisième phase, c'est la phase ultime ou de réparation** : La cellule dominante est le fibroblaste qui synthétise les fibres de collagène et les mucopolysaccharides aboutissant à la constitution d'un nouveau tissu conjonctif. Ce tissu a pour rôle de former une barrière. Le tissu fibreux néoformé entourant le foyer infectieux peut empêcher les antibiotiques d'agir au niveau des articulations conduisant à une diminution de la mobilité et parfois un blocage. Au niveau du système nerveux central; la réaction inflammatoire empêche le déplacement du liquide céphalorachidien et entraîne une compression du SNC. Tous ces inconvénients expliquent la nécessité d'utiliser des produits qui peuvent empêcher l'inflammation (Boutaghane. ; 2013).

#### **IV.5. Les médiateurs de l'inflammation :**

La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les

différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire (Rankin, 2004) et le **(Tableau 4)** résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation.

**Tableau 04: Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire** (Rankin, 2004 ; Male, 2005 ; Davoine et Lacy, 2014).

<b>Médiateurs</b>	<b>Origines</b>	<b>Effets</b>
<b>Histamine</b>	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
<b>Sérotonine</b>	Mastocytes et plaquettes	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
<b>Facteurs d'activation plaquettaire (PAF)</b>	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule l'agrégation des plaquettes, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
<b>Prostaglandine</b>	Essentiellement par les leucocytes.	Vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.

## **IV.6. Thérapeutiques de l'inflammation :**

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques tels que l'Acide acétylsalicylique (Aspirine) doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires (Mohr *et al*, 2001).

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes:

### **IV.6.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens :**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été utilisés avec succès pour le soulagement de la douleur, la fièvre et l'inflammation depuis plus de 3000 ans et ils sont toujours utilisés quotidiennement par des millions de patients à travers le monde. Ceux sont des médicaments à propriétés anti inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclo-oxygénase (Bidaut-Russel, 2001).

Cependant, leur utilisation thérapeutique à long terme est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale. Ces effets indésirables sont généralement liés à l'inhibition des iso-enzymes cyclo-oxygénases (COX-1 et COX-2) par les AINS classiques. La COX-1 est constitutive et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus, tandis que la COX-2 est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF $\alpha$  et l'IL1. L'apparition des AINS sélectifs des COX-2 appelés coxibs vient réduire les effets secondaires gastro-intestinaux, mais ils induisent un risque cardiovasculaire (Ouédraogo et al, 2012).

### **IV.6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens :**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immune (Payne et Adcock., 2001).

Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables. Le risque d'apparition de ces effets indésirables s'accroît avec le prolongement de la

durée du traitement et l'augmentation de la posologie. Divers troubles peuvent être observés. Ces troubles peuvent être aigus tel que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement, l'euphorie avec insomnie allant jusqu'à une psychose aiguë et l'apparition d'ulcères gastroduodénaux. Des troubles chroniques peuvent aussi se manifester tel que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Henzen, 2003).

#### **IV.7. Les principales plantes anti-inflammatoire inscrites à la Pharmacopée :**

Les principales plantes anti-inflammatoires inscrites à la Pharmacopée française et/ou Européenne sont: (Heymonet C ; 2013)

- l'écorce de saule.
- la sommité fleurie de reine-des-prés.
- la feuille de cassis.
- la feuille d'ortie.
- la feuille de frêne.
- la racine d'harpagophyton.
- la racine de réglisse.
- le rhizome de curcuma.

L'écorce de saule, la sommité fleurie de la reine-des-prés, la feuille de cassis, la feuille d'ortie, la feuille de frêne sont traditionnellement utilisées dans le traitement symptomatique des manifestations articulaires douloureuses mineures.

La racine de réglisse est indiquée en cas d'inflammation des voies respiratoires supérieures et le rhizome de curcuma dans le traitement des troubles digestifs.

Les propriétés anti-inflammatoires de ces plantes sont dues à divers principes actifs:

- la salicine pour la saule.
- l'aldéhyde salicylique pour la reine-des-prés.
- les prodelphinidines pour le cassis.
- l'acide caféylmalique pour l'ortie.

-l'esculoside et le fraxoside pour le frêne.

- l'acide glycyrrhizique pour la réglisse.

-la curcumine pour le curcuma.

L'activité anti-inflammatoire de ces plantes est due à leur effet inhibiteur sur la synthèse des métabolites de l'acide arachidonique et sur l'activation du facteur de transcription NF-kappa B ainsi qu'à leurs propriétés anti-oxydantes.

Ces plantes peuvent être proposées dans le traitement de l'inflammation des articulations et de l'inflammation des pathologies O.R.L. Le phénomène inflammatoire est un processus intervenant dans de nombreuses pathologies telles que les maladies cardio-vasculaires et le cancer.

## **Partie Expérimentale.**

**Objectif :**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Zootechnie ainsi qu'au niveau du laboratoire Santé et Production Animales (SPA) de l'ENSV qui a duré 2 mois. Ce travail consiste en une contribution à l'étude de la phytochimie et de l'activité anti inflammatoire du *Ziziphus lotus subesp. saharae*.

Pour effectuer cette étude, plusieurs étapes ont été réalisées:

- Préparation de la poudre et l'extrait aqueux de la plante choisie.
- Réalisation d'un screening phytochimique.
- Etude de l'activité anti-inflammatoire.

**I. Matériels et méthodes:****I.1. Matériels :****I.1.1. Matériel végétal :**

Notre étude a été effectuée sur la partie aérienne (tiges et feuilles) du *Ziziphus lotus subesp. saharae*. La récolte a été réalisée au mois d'Octobre 2015 au niveau de la localité de Tifoughine à 1238 m d'altitude, à 30 km au Sud-Est de la wilaya de Tamanrasset.



**Photo 01 : Site de récolte de la plante de *Ziziphus Lotus subesp. saharae*. (Photo personnelle).**

La plante a été séchée à T° ambiante, dans un endroit sec et aéré, à l'abri du soleil.

L'identification botanique a été réalisée par Mme Sahki R, Botaniste-Chercheur au niveau de l'INRF rattaché au Parc National de l'Ahaggar de Tamanrasset.

**I.1.2. Matériels non biologique :****Tableau 05: Matériels et réactifs utilisés dans l'activité phytochimique.**

Matériels	Réactifs
Plateau	R. Stiasny
Broyeur à larme	R. Mayer
Balance électrique	R. Bouchardat
Passoire	R. Dragendorff
Bain marie	Carragénine
Entonnoir	
Plaque chauffante	
Tube à essai	
Papier filtre	
Pince en bois	
Porte tubes	
Barquette en aluminium	

**I.2.Méthode:****I.2.1.Le screening phytochimique:****I.2.1.1.Principe:**

Le screening phytochimique est un test qualificatif qui permet de mettre en évidence les composés chimiques se trouvant dans un produit végétal ou autre, tel que:

- Les polyphénols.
- Les tanins.
- Les alcaloïdes.
- Les flavonoïdes.
- Les saponosides.

La présence de ces derniers est attestée par la formation d'un précipité, le changement de coloration du milieu.

### I.2.1.2. Préparation de la poudre et de l'extrait aqueux :

#### a-Préparation de la poudre :

Séparer les tiges des feuilles et mettre chacune dans un plateau, les broyer à l'aide d'un broyeur ensuite conserver une quantité de la poudre pour réaliser le screening phytochimique.

#### b-Préparation de l'extrait aqueux :

Mélanger 50g de feuilles et 50g de tiges après les avoir broyer, mettre la poudre dans un erlenmeyer et verser dessus un litre d'eau (1litre d'eau pour 100g), vortexer le mélange pendant quelques minutes et l'échauffer à 40c° pendant 30min ensuite le filtrer sur un papier filtre.

Le filtrat est la solution du Jujubier qu'on va utiliser dans l'étude de l'activité anti inflammatoire



**Photo 2:** Etape de préparation de la poudre du *Ziziphus lotus*. (Photo personnelle)



**Photo 03 : Filtration de la solution de *Ziziphus lotus* et l'obtention de l'extrait aqueux qu'on va utiliser dans nos expériences. (Photo personnelle)**

### **I.2.1.3. Analyse phytochimique:**

#### **a-Mise en évidence des polyphénols:**

##### **❖ Test au chlorure de fer**

Macérer 200mg de poudre sèche dans 2ml d'eau distillée et 6ml d'Acétone, mettre au bain marie pendant 5min, filtrer et récupérer le filtrat, ensuite rajouter 1 à 2 gouttes de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) sur le filtrat. La présence des composés phénoliques provoque la formation d'une coloration noirâtre.

#### **b-Mise en évidence des tanins:**

##### **▪ Tanins catéchiques:**

##### **❖ Révélation par le réactif de Stiasny**

La mise en évidence des tanins catéchiques a été effectuée par l'utilisation du réactif de Stiasny dont le principe est le suivant: ajouter quelques gouttes de ce dernier au filtrat de l'étape précédente (polyphénols), mettre le tube dans un bain marie pendant 30min. Apparition des flocons blanc signifie présence des tanins catéchiques.

**▪ Tanins galliques:**

La mise en évidence des tanins galliques consiste en l'ajout de 2 g d'Acétate de sodium et quelques gouttes de Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) dans le filtrat de l'étape précédente (tanins catéchique). L'apparition d'une coloration noirâtre signe de présence des tanins galliques.

**c- Alcaloïdes:**

La méthode générale de mise en évidence des alcaloïdes repose sur leur précipitation par les réactifs généraux des alcaloïdes (Pharmacopée européenne, 2012).

L'identification rapide des alcaloïdes requiert la préparation d'un extrait en faisant macérer 200mg de poudre sèche dans 10ml d'Acide sulfurique, agiter pendant 2min, filtrer et partager le filtrat dans 3 tubes à essai. Ajouter quelques gouttes de chaque réactif dans un tube différent: réactif de Mayer, réactif de Bouchardat, et le réactif de Dragendorff.

En présence d'alcaloïdes, le réactif de Mayer est remarqué par un précipité « blanc jaunâtre » et un précipité « marron » pour la réaction de Bouchardat, un précipité « rouge orangée » pour le réactif de Dragendorff.

**d- Flavonoïdes:**

La mise en évidence rapide de Polyphénols de type flavonoïde repose sur l'addition de 5 ml d'éthanol avec 200mg de poudre dans un tube à essai, mettre au bain marie à  $65^\circ\text{C}$  pendant 10min ensuite filtrer à chaud. Prélever 1ml de filtrat, ajouté par la suite 1ml d'HCl et rognure de Mg, faire plonger dans l'eau froide. On observe un changement de couleur après cessation d'effervescence.

La présence des flavonoïdes est révélée par les colorations suivantes:

- Rouge cerise en présence de Flavonols.
- Orange en présence de Flavones.
- Rouge violacé en présence de Flavanones.

**e- Saponosides :**

Les saponosides ont des propriétés tensio-actives, ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes.

**Protocole :**

- Préparation d'une tisane ;
- Répartir l'infusion dans des tubes à essai ;
- Agiter jusqu'à formation d'une mousse ;
- Formation de mousse persistante après 10 min témoignant la présence des saponosides.



**Photo 04 : Bain marie.** (Photo personnelle)

**I.2.2. Etude de l'activité anti inflammatoire:**

**I.2.2.1. Principe:**

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti inflammatoire (Colot, 1972).

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

**I.2.2.2. Matériels de l'activité anti inflammatoire:**

**a- Animaux :**

- ◆ NMRI BALB/c
- ◆ Sexe: mâle,
- ◆ Poids: 19 à 21 g,
- ◆ Nombre: 24,
- ◆ Alimentation: Granulés,

- ◆ Boisson: Eau de robinet ad libitum,
- ◆ Conditions d'hébergement: - Température: 20 à 24°C,
  - Humidité: 50%,
  - Eclairage: 10 heures.

**b-Appareillage:**

- ◆ Balance analytique,
- ◆ Balance pour animaux.

**c-Petits matériels:**

- ◆ Ciseaux,
- ◆ Bistouri,
- ◆ Sonde de gavage pour souris,
- ◆ Biberon de souris,
- ◆ Des gants,
- ◆ Seringue avec aiguille,
- ◆ Cage à souris de laboratoire.

**d-Réactifs:**

- Suspension carragénine à 1%,
- Eau physiologique à 0,9%.

**e-Produits:**

- Produit à tester (l'extrait de *Ziziphus lotus*),
- Produit de référence (Diclofénac).

**I.2.2.3.Méthode:**

Constituer 4 lots de 6 souris chacun:

- Un lot témoin(T),
- Un lot essai 1 (E1): 200mg/kg,
- Un lot essai 2 (E2) :300mg /kg,
- Un lot produit référence Diclofénac (D).

**Au temps T0 :**

Administrer par voie orale aux quatre lots les suspensions suivantes:

- Lot témoin: chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau physiologique ou de solvant,
- Lot essai 1 (E1): chaque souris reçoit 0,5ml du produit à tester à la dose active (200 mg/kg),
- Lot essai 2 (E2): chaque souris reçoit 0,5ml du produit à tester à la dose active (300 mg/kg)
- Lot référence (D) : chaque souris reçoit 0,5 ml du Diclofénac à la dose active.

**Au temps T0 + 30 mn:**

Injecter la solution de carragénine (0,05ml d'une suspension de carragénine à 1% dissoute dans du NaCl 0,9%) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mis en expérience comme sur la (**photo 05**).



**Photo 05: Injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire dans les pattes postérieure gauches des souris.** (Photo personnelle)

#### **Au temps T0 + 4h :**

- Sacrifier les animaux par rupture de la nuque;
- Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique.

- **Expression des résultats:**

- Calculer les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot;
- Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de patte droite} \times 100}{\text{Moyenne des poids de patte droite}}$$

- -Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai} \times 100}{\% \text{ d'œdème témoin}}$$

## II. Résultats et discussion:

### II.1. Résultats:

#### II.1.1. Résultats de l'étude phytochimique:

A l'égard des résultats du screening phytochimique consignés dans le (**Tableau 06**) ci- dessous, la présence des métabolites secondaires dans l'extrait aqueux de *Ziziphus lotus* subesp. *saharae*; est évidente.

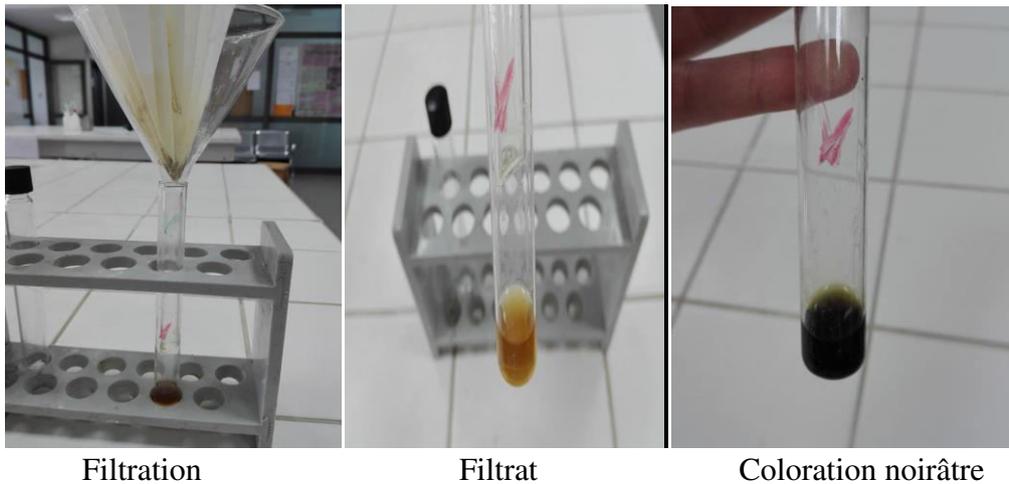
**Tableau 06: Résultats du screening phytochimique de la partie aérienne de la plante étudiée.**

Métabolites recherchés		Résultats des tests
<b>Polyphenols</b>		+
<b>Tanins</b>	Catéchiques	+
	Galliques	+
<b>Alcaloïdes</b>		-
<b>Flavonoïdes</b>		+
<b>Saponosides</b>		+

- Réaction positive: + (présence).
- Réaction négative: - (absence).

#### II.1.1.1. Identification des polyphénols:

L'ajout de quelques gouttes de Chlorure de fer sur le filtrat a entraîné une réaction positive; apparition d'un précipité noir, ce qui indique la présence des substances phénoliques dans les tiges et les feuilles de la plante du *Ziziphus lotus* représentée sur la (**photo 06**).



**Photo 06: Résultat de la mise en évidence des polyphénols dans la partie aérienne de la plante du *Ziziphus lotus*.** (Photo personnelle)

#### II.1.1.2 .Identification des tanins:

##### a- Identification des tanins catéchiques:

L'addition du réactif de Stiansy au filtrat a entraîné l'apparition du flocon blanc, ce résultat indique la présence des tanins catéchiques représenté sur la (**photo 07**).



**Photo 07: Résultat de la mise en évidence des tanins catéchiques.** (Photo personnelle)

##### b) Identification des tanins galliques:

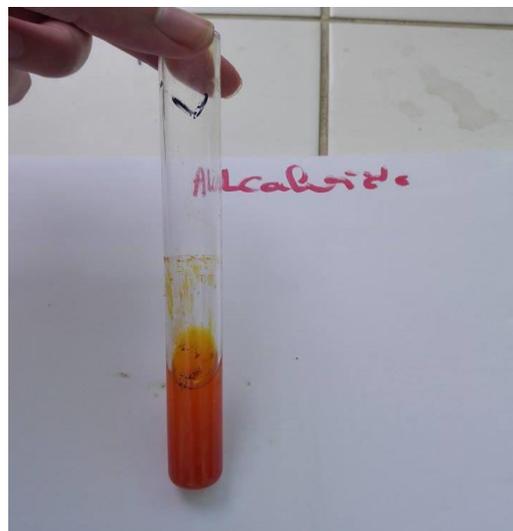
L'ajout de 2g d'Acétate de sodium et de quelques gouttes de Chlorure de fer au filtrat de l'étape précédente (tanins catéchiques), a entraîné l'apparition d'une coloration noirâtre représentée sur la (**photo 08**).



**Photo 08: Résultat de la mise en évidence des tanins galliques (Photo personnelle).**

#### **II.1.1.3. Identification des alcaloïdes:**

L'ajout de quelques gouttes des trois réactifs (Mayer, Bouchardat, Dragendorff) dans trois tubes différents du filtrat a entraîné la formation d'un précipité orange indiquant l'absence d'alcaloïdes représentée sur la **(Photo 9)**.



**Photo 9: Résultat de la mise en évidence des alcaloïdes (Photo personnelle).**

#### **II.1.1.4. Identification des flavonoïdes:**

La mise en évidence rapide des polyphénols de type flavonoïde présent dans le filtrat a produit une coloration orange, cette dernière étant caractéristique des Flavones représentée sur la **(Photo 10)**.



**Photo 10: Résultat de la mise en évidence des flavonoides de type Flavone.**  
(Photo personnelle).

#### **II.1.1.5. Identification des saponosides :**

Une hauteur de mousse a été observée au niveau des tubes après agitation de l'infusé, ce qui confirme la présence des saponosides représentée sur la (**photo 11**).



**Photo11: Résultat de la mise en évidence des saponosides** (Photo personnelle).

### II.1.2.Résultats de l'activité anti inflammatoire:

L'activité anti inflammatoire de l'extrait aqueux de *Ziziphus lotus* après administration par voie orale sur des souris par le test de l'œdème de patte induit par carragénine montre clairement que l'extrait aqueux de la partie aérienne de cette plante a un effet anti inflammatoire dans l'inflammation aiguë dès la dose de 200 et 300 mg/kg avec un pourcentage de réduction de l'œdème respectivement de 70,83% et 74,76% ; ces résultats sont représentées dans le (Tableau 07).

l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg offre une protection anti inflammatoire identique à celui du produit de référence (Diclofénac) cependant l'extrait à la dose de 300 mg/kg a montrer un effet anti inflammatoire nettement supérieur au produit de référence.

**Tableau 07: Un tableau récapitulatif des résultats de l'activité anti inflammatoire des différents lots inclus dans l'expérience.**

Lots	Poids patte gauche (g)	Poids patte droite (g)	% d'œdème	% réduction de l'œdème
<b>Témoin</b>	0,21	0,144	49,421	0
<b>E1</b>	0,13	0,12	14,56	70,83
<b>E2</b>	0,18	0,16	12,47	74,76
<b>D</b>	0,20	0,18	13,79	70,83

## II.2.Discussion :

Nos résultats expérimentaux sont logique car les polyphénols (acide phénoliques et flavonoïdes), les tanins (galliques et catéchiques) ainsi que les saponosides sont solubles dans l'eau par contre les alcaloïdes sont insoluble dans l'eau mais soluble dans les milieux acides et les solvants organique de faible polarité.

Les données existantes dans la bibliographie sur la phytochimie des différentes espèces de ziziphus montrent une grande diversité, cette biodiversité phytochimique est due à la nature de la plante qui est présente dans différents climats.

Selon Borgi et al (2007; fitoterapia) l'activité AI de l'extrait aqueux en utilisant l'œdème de la patte induit par la Carragénine à montrer un pourcentage d'inhibition de 72,9%.

Modèle animale: le cochon d'inde.

Voie d'administration: injection intra péritonéale.

**Malgré la différence entre le modèle animale et la voie d'administration utilisés, nous avons obtenus des résultats plus au moins similaires.**

Selon Borgi et al (2008; South African Journal of Botany): l'activité AI en utilisant l'œdème de la patte induit par la Carragénine sur les rats à montrer un pourcentage d'inhibition de 75% pour les flavonoïdes et de 90% pour les saponines.

L'activité AI en utilisant l'œdème de l'oreille induit par l'OXAZOLONE sur les souris à montrer un pourcentage d'inhibition de 47% pour les flavonoïdes et de 65% pour les saponines.

**L'AI des saponines est plus importante que l' AI des flavonoïdes de *Ziziphus lotus*.**

Nous avons discuté nos résultats expérimentaux au deux seul et uniques travaux publier dans la bibliographie.

La présente étude confirme les deux travaux antérieurs en apportant une touche d'**originalité** concernant le **choix du modèle animale** (les souris) et surtout concernant la **voie d'administration** (voie orale).

## Conclusion

Ce travail nous a permis d'extraire les molécules bioactives de *Ziziphus lotus* en utilisant l'eau comme solvant d'extraction.

L'étude phytochimique des composés contenues dans l'extrait aqueux nous a permis d'identifier les polyphénols, les flavonoides, les tanins et les saponosides.

Nous avons pu mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de *Ziziphus lotus* par la voie orale pour la première fois.

Le choix de ce sujet est dicté par des travaux antérieurs effectués dans le cadre de la valorisation des plantes spontanées à caractère médicinale des régions saharienne de l'Algérie.

## Références Bibliographiques

- **Abdel-Zaher A ., Salim Y-S ., Assaf M-H ., Abdel-hady R-H.** (2005). Antidiabetic activity of *Zizyphus spina –christi* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, **101**:129-138.
- **Aref M.** (2015). Contribution à l'étude phytochimique, les activités Biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome Arabica L* (Région d'Oued Souf). universite echahid hamma lakhdar d'el-oued p : 13.
- **Bahorum T.** (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source
- **Bidaut-Russell M** (2001). Adverse gastrointestinal effects of nsaid: consequences and costs. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*.15, 739-753.
- **Borgi W ., Recio M-C ., Rios J-L ., Chouchane N.** (2008).Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, **14**:320-324.
- **Borgi W et Chouchane N** .(2006). Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.).*Revue des Régions Arides* ,283-286.
- **Borgi W., Bouraoui A ., Chouchane N.**(2007(b)). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.)extracts, *Journal of Ethnopharmacology*,**12**:228-231.
- **Borgi W., Ghedira K., Chouchane N.**(2007(a)). Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks . *Fitoterapia*.**78**:16-19.
- **Borgi W., Ghedira K., Chouchane N.**(2007(a)). Antiinflammatory and analgesic activities of
- **Boubekri C.** (2014).Etude de l'activité antioxydante des polyphénolsextraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat en sciences Spécialité Chimie. Université Mohamed Khider – Biskra .Page 29\_51.
- **Boudjerda Z.** (2013). Recherche et Détermination Structurale des métabolites Secondaires de *Achillea ligustica* (Anthemideae ) , et *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae ) .Diplôme de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option: Phytochimie .Université Mentouri-Constantine. 40\_41.
- **Boudjouref M.** (2011).Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Universite Ferhat Abbes, Setif. 9\_28.

- **Boutaghane N(2013).** Etude phytochimique et pharmacologique des plantes médicinales ; Constantine 209 et 210 de 271.
- **Bross J.(2000).**Larousse des arbres et des arbustes.Larousse (Ed)Canada .576p
- **Bruneton J ;** 1993 : Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.2ème édition, Ed TEC et DOC Lavoisier, paris, pp2-3
- **Bruneton J.** (1999).Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3ème éd).Tec et Doc (Ed), Paris ,1120p
- **Bruneton J.,** 1987.-Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed TEC et DOC Lavoisier, Paris, 9p.
- d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritias pp 83-94.
- **Davoine F. and Lacy P. (2014)** Eosinophil cytokines, chemokines and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology Molecular Innate Immunity*, 5(570); 1-17.
- **Di Rosa,** (1972); Biological properties of carrageenan. *J Pharma and Pharmacol* 24: 89-102.
- **Douad K et Ouazar L ;** 2005 : Screening chimique et contribution à l'étude de l'activité anti diarrhéique d'une plante médicinale du Pistachier (pistacia lentiscus) édition 1999, 389p
- **Ghabrier J. Y.,** 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.
- **Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J-M., Zeches M., Le Men-Olivier L.** (1995).Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*.*Phytochemistry* ,38 :767-772
- **Guessoum D. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes Chez *Urtica dioica* L. et évaluation de leur Pouvoir antibactérien. Mémoire de master, université de Constantine 1.p :40.
- **Hamamouchi.M.** La plante médicinale et aromatique marocaines.Bamako(Mali): 53.
- **Harrar A. (2012).**Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Diplôme de Magister Biochimie et physiologie Expérimentale. Université Ferhat Abbes-Sétif. 8\_31.
- **Henzen C (2003).** Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19, 442-446.
- **Heymonet C (2013):**les plantes à visée anti inflammatoire utilisées en phytothérapie
- **IDGIE ;** 2009 du blog le livre des secrets : Herboristerie : récolte, séchage et conservation
- **Karabin M.,** Tereza Hudcova., Lukas Jelinek et Pavel Dostalek. (2015). Biotransformationsand biological activities of hop flavonoids. Department of

Biotechnology, Faculty of Food and Biochemical Technology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic.

- **Kissoum A., Khalfaoui K (2015).** Evaluation phytochimique et étude des activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne (*Foeniculum vulgare*). Université de Constantine 1, p :7.
- **Lachkham. N. 2014 :** Utilisation de la médecine alternative au cours de la spondylarthrite ; Maroc ; p17 de 83p
- **Makkar S., Siddhuraju P et Becker K. (2007).** Plant Secondary Metabolites, Methods in Molecular Biology; Ed: HUMANA PRESS. **393**: 67-111.
- **Male D. (2005)** Immunologie: aide-mémoire illustré. *4ème éd, De Boeck, Bruxelles*, pp; 79-83.
- **Mohr K, Iüllmann H, Ziegler A, (2001).** Atlas de poche de pharmacologie. Flammarion, Médecine-Science. 384
- **Nathan C (2002).** Points of control in inflammation. *Nature*, 19-26,420, 846-852.
- **Paris R et Dillemann G. (1960).** Les plantes médicinales des régions arides .Unesco (Ed) .Paris.99
- **Payne D N R, Adcock I M (2001).** Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2, 145–150.
- **Quezel P et Santa S. (1962).**Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome2. Centre national de la recherche, Paris ,565p.
- **Rankin J.A. (2004)** Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues*, 15; 3-17.
- **Rousselet M C, Vignaud, J M, Hofman P, Chatelet F P (2005).** Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP, 1-57.
- **Rsaissi N et Bouhache M. (2002).**La lutte chimique contre le jujubier .Programme National de transfert et technologie en Agriculture (PNTTA),DERD(Ed) .n°94.Rabat,4p
- **SAHKI R et SAHKI A :LE HOGGAR** Promenade botanique ,édition ESCOPE .
- **Sanago R., 2006.** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.
- **Silbemagi S, Lang F (2000).** Atlas de poche de physiopathologie 1ere Éd France, Flammarion Médecine-Sciences, p. 48.
- **Soro T.Y., Néné-bi A.S., Zahoui O.S., Yapi A. and Traoré F. 2015.** Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Journal of Animal and Plant Sciences*, **24**(3): 3802– 3813.
- **Thurzoval L ; Sabrier D ; Deuoy D ; Synoens C ; Symoens M ; et Fasbender B, 1978-**Les plantes santé qui poussent autour de nous .Ed Bruxelles Elserver Séquoia ,286p

- **Walton N., Brown D. (1999).** Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: world scientific.**43**:1-14.
- **Wantana** (2009) ;Wantana R, Tassanee N, Subhadhirasakul S (!"1) Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of Putranjiva roxburghii
- **Weill B, Batteux F, Dhainaut J (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), p: 12-23.
- **Yao L., Jiang Y., Shi J., Tomas B., Datta N., et Al. (2004).** Flavonoïdes in food and their health benefits. Plant foods Hum Nutr **59**: 113-122.  
*Zizyphus lotus* root barks . *Fitoterapia*.**78**:16-19.

### Références internet

- **Bio en ligne .com**
- **Pharmacopée 2012**

## Résumé

*Ziziphus lotus subesp.saharae*(*Sedra*) est une espèce endémique au Sahara, elle appartient à la famille des Rhamnacees. Dans le Sud Algerien , elle est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des pathologies à composantes inflammatoires. L'objectif de cette étude a été d'effectuer un screening phytochimique et aussi de tester l'action anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de ses tiges feuillées sur l'œdème. Le criblage phytochimique a révélé la présence de polyphénols, de tanins, de flavonoïdes et de saponosides. Aux doses de 200 et 300mg/kg, les décoctés aqueux des tiges feuillées ont réduit significativement l'œdème de la patte de la souris induit par la carragénine. Ces résultats montrent que les tiges feuillées de *Ziziphus lotus subesp.saharae* présentent des propriétés anti-inflammatoires. Cette action pourrait s'expliquer par la présence de métabolites secondaires tels que les tanins et les composés phénoliques dans l'extrait de la plante. Toutefois, son mécanisme d'action reste encore à élucider.

**Mots clés :** *Ziziphus lotus subesp.saharae*. Phytochimie. Activité anti-inflammatoire.

## Summary

*Ziziphus lotus subesp.saharae* (*Sedra*) is an endemic species in the Sahara; it belongs to the Rhamnaceae family. In the south of Algeria, it is used in traditional medicine for the treatment of pathologies with inflammatory components. The objective of this study was to perform a phytochemical screening and also to test the anti-inflammatory action of the aqueous extract of its leafy stems on the edema. The aqueous extract reduced edema at the first hour, at the third hour and at the fifth hour after the injection of carrageenan. Phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, tannins, flavonoids and saponosides. These results show that the leafy stems of *Ziziphus lotus subesp.saharae* exhibit anti-inflammatory properties. This action could be explained by the presence of secondary metabolites such as tannins and phenolic compounds in the extract of the plant. However, its mechanism of action remains to be elucidated.

**Keywords:** *Ziziphus lotus subesp.saharae*. Phytochemistry. Anti-inflammatory activity

## ملخص

زيزيفوس لوتس (*subesp.saharae*) (سيدرا) نوع متوطن في الصحراء، ينتمي إلى عائلة رامناسي. في جنوب الجزائر، يتم استخدامه في الطب التقليدي لعلاج الأمراض مع المكونات الالتهابية. وكان الهدف من هذه الدراسة إجراء فحص فيتوكيميكال وأيضاً لاختبار عمل مضاد للالتهابات من المستخلص المائي من ينبع الورقية على وذمة. كشف الفحص الكيمائي النباتي وجود البوليفينول، والعفص، الفلافونويدات و سابونوسيدس. في جرعات من 200 و 300 ملغ / كغ، ديكوكتس مائي من ينبع الورقية خفضت بشكل كبير الكاراجينان الناجم عن ذمة القدم الأمامية. وتظهر هذه النتائج أن ينبع الورقية من زيبوس اللوتس *subesp.saharae* يحمل خصائص مضادة للالتهابات. ويمكن تفسير هذا الإجراء بوجود المستقلبات الثانوية مثل العفص والمركبات الفينولية في مستخلص النبات. ومع ذلك، لا يزال يتعين توضيح آلية عملها.

**كلمات البحث** زيزيفوس لوتس *subesp.saharae*. نشاط مضاد للالتهابات. كيمياء العقاقير