



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou bekr Belkaïd -Tlemcen-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

*Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat
en Biochimie Appliquée*

Thème

**Etude phytochimique et recherche de l'activité antioxydante,
antidiabétique et antimicrobienne des extraits de *Ziziphus jujuba*
Mill. et de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth., de la région de Tlemcen**

Présenté par : Mme ADJDIR Sarra

Le Jury de soutenance

Président:	Prof. Boucherit-Otmani Zahia	Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen
Examineurs:	Prof. Azzi Rachid	Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen
	Prof. Bouhadjra Keltoum	Université Djillali Liabès-Sidi Bel Abbès
	Prof. Seddiki Sidi Mohammed L.	Centre Universitaire Salhi Ahmed-Naâma
Directrice de thèse:	Dr. Benariba Nabila	Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen

Année Universitaire : 2021-2022

A ma famille

A mes chers parents

A mon mari

A mes enfants

A mon frère et mes sœurs

Remerciements

Au cours de la préparation de cette thèse, tant de personnes m'ont accompagnée et m'ont soutenue à qui je voudrais exprimer ma reconnaissance et présenter mes sincères remerciements.

En premier temps j'exprime mes remerciements à ma directrice de thèse, Dr. Benariba N., maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, qui m'a honoré de sa confiance en acceptant la direction de cette thèse. Je la remercie pour son aide variée, ses encouragements, pour le temps qu'elle a consacré à ce travail, pour les publications des résultats dans des revues de renommée internationale, ainsi que pour sa lecture attentive du manuscrit. Je la remercie également pour le soutien permanent qu'elle m'a témoigné au cours de cette recherche, sans oublier sa générosité et son dévouement à la science largement imprégné d'une simplicité qui ne peut émaner que d'un grand esprit. Qu'elle trouve dans cette thèse le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Mes chaleureux remerciements s'adressent à Mme Boucherit-Otmani Z., professeur au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, ancienne directrice du laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » et responsable de la formation doctorale « Biochimie Appliquée » pour me faire l'honneur de présider ce jury, de participer à l'évaluation de ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence scientifique. Je la remercie également pour ses encouragements et l'intérêt qu'elle a toujours porté à cette recherche. Qu'elle trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

Je remercie vivement Mr Azzi R., professeur au département de Biologie, et vice-doyen chargé de la post graduation, la recherche scientifique et les relations extérieures de la faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, d'avoir accepté d'évaluer ce travail et de l'intérêt qu'il lui a accordé. Je le remercie également pour sa disponibilité et ses conseils à mon égard tout au long de ce travail. Qu'il trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Mme Bouhadjra K., professeur à l'université Djilali Liabes Sidi Bel Abbès, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence scientifique. Qu'elle trouve l'expression de ma profonde considération.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à Mr Seddiki S., professeur au Centre Universitaire de Naâma, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence scientifique. Qu'il trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

J'exprime mes sincères remerciements et ma gratitude à Mr Djaziri R., professeur, au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, pour sa contribution active à l'initiation et la mise en route de cette thèse avant sa décision de partir en retraite. Je le remercie pour sa disponibilité, sa présence, ses conseils et ses qualités humaines et scientifiques. Qu'il trouve dans cette thèse toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Mes sincères remerciements s'adressent également à Mme Adida H., maître de conférences au département de Biologie, Université Ahmed Ben Bella-Oran, à Mme Belkacem N., maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, à Mme Benmansour M., maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, à Mr Rahmoun M.N., professeur au département de

Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, à Mr Bedrane A. Maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, et à Mme Malek F. Maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, pour leur aides variées, leurs conseils, leurs présences, et leurs encouragements à mon égard. Qu'ils trouvent dans cette thèse le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Je voudrais également remercier Mme Merzouk H. professeur au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, et Mr Cherrak S.A. maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, de m'avoir facilité l'accès au laboratoire de Physiologie, physiopathologie, biochimie de la nutrition et de m'avoir permis l'utilisation du fluorimètre dans les meilleures conditions.

Je tiens à remercier Mme. Atik-Bekkara F. professeur au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, et Mr. El Haci I. maître de conférences-chercheur au Centre de recherche sur l'analyse physique et chimique (CRAPC) de Tipaza, de m'avoir facilité l'accès au laboratoire des Produits Naturels pour effectuer l'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA dans les meilleures conditions.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux membres de laboratoire Ecologie et Gestion des écosystèmes naturels, département de biologie, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, pour leur aide et leur disponibilité pour l'identification botanique des plantes étudiées dans cette thèse.

Mes remerciements s'adressent également à mes amies Hidayat, Kamila, khawla,zohra, Imane et Assia pour l'ambiance conviviale et la complicité scientifique ; et à mes collègues les membres du laboratoire Antibiotiques Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB), citant Mme Bechiri-Abbes A. et Mme Chekroune E. pour leurs diverses contributions à ce travail, ainsi que tout le personnel du laboratoire les techniciennes, les doctorants et les mastérants.

C'est grâce au soutien des membres de ma famille, en particulier mes chers parents, mon mari, mon frère et mes sœurs, à leur présence constante, à leur aide sans limites, et leur dévouement que j'ai pu mener à terme ce travail. Qu'ils trouvent dans cette thèse l'expression de mes sincères remerciements et le témoignage de ma profonde gratitude.

Enfin, ma profonde gratitude va à l'égard de toutes personnes qui ont aimablement contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail de thèse.

Liste des abréviations

- ABTS•** : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
- Acet_{1zj}** : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
- Acet_{2zj}** : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
- Acet_{MI}** : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M. inodora*
- Acr** : Acarbose
- AE** : Activité enzymatique
- AG** : Acide gallique
- AGE** : Advanced Glycation End Products
- AmB** : Amphotéricine B
- Aq_{zj}** : Extrait aqueux de *Z. jujuba*
- Aq_{MI}** : Extrait aqueux de *M. inodora*
- ATCC** : American Type Culture Collection
- AVC** : Accident vasculaire cérébral.
- BCB** : Blanchiment du β-carotène.
- BHA** : Butylated hydroxyanisole.
- BHT** : Butylated hydroxytoluène.
- BSA** : Bovine Serum Albumin.
- CAT** : Capacité antioxydante totale
- Cat** : Catéchine
- CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- DNSA** : Acide 3,5-dinitrosalicylique
- DPP-IV** : Dipeptidylpeptidase IV
- DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
- EA_{zj}** : Extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
- EA_{MI}** : Extrait eau -acétone de *M. inodora*
- EC₅₀** : Concentration efficace moyenne.
- EM_{zj}** : Extrait eau -méthanol de *Z. jujuba*
- EM_{MI}** : Extrait eau -méthanol de *M. inodora*
- ERN** : Espèces réactives d'azote
- ERO** : Espèces réactives d'oxygène
- ES** : Erreur standard
- Es** : Extrait sec
- FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power
- Gent** : Gentamicine
- GLP-1** : Glucagon-like peptide 1
- GLUT** : Glucose transporter
- HbA1c** : Hémoglobine glyquée
- HO•** : Radical hydroxyle
- H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- HO₂•** : Radical hydroperoxyde
- HOCl** : Acide hypochloreux
- IC₅₀** : Concentration inhibitrice moyenne.
- Kir 6.2** : Canal potassique rectifiant entrant 6.2 (K⁺ inward rectifier)
- Km** : Constante d'affinité
- LDH** : High density lipoprotein
- LDL** : Low density lipoprotein
- n-but_{1zj}** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
- n-but_{2zj}** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
- n-but_{MI}** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M. inodora*
- NCCLS** : National Committee for Clinical Laboratory Standards
- ND** : Non déterminé
- NO•** : Monoxyde d'azote
- ¹O₂** : Oxygène singulet
- O₂•** : Anion superoxyde
- OMS** : Organisation mondiale de la sante
- ONOO** : Peroxynitrite.
- ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity.
- pNP** : Para-nitrophénol.
- pNPG** : 4-Nitrophenylalpha-D-glucopyranoside
- RAGE** : Récepteur des AGE
- RP-HPLC-PDA** : Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography Photo Diode Array
- SGLT** : Sodium glucose cotransporter
- SIDA** : Syndrome d'immunodéficience acquise
- SUR1** : Sulfonylurea receptor
- UFC** : Unité formant colonie.
- UI** : Unité internationale
- Vin** : Vitesse initiale
- Vmax** : Vitesse maximale
- ε** : Coefficient d'extinction molaire

Liste des tableaux

Tableau n°01: Quelques molécules antioxydantes isolées à partir de quelques plantes médicinales	09
Tableau n°02: Quelques exemples des antidiabétiques et leurs caractéristiques	14
Tableau n°03: Mécanisme d'action de certains phytoconstituants à effet antidiabétique.....	17
Tableau n°04 : Le mécanisme d'action antimicrobien de certains composés phytochimiques	23
Tableau n° 05: Les souches des bactéries et des levures utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	53
Tableau n°06: Caractéristiques des extraits du fruit de <i>Z. jujuba</i>	56
Tableau n°07: Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de <i>M. inodora</i>	57
Tableau n°08 : Screening phytochimique des extraits des fruits de <i>Z. jujuba</i>	58
Tableau n°09: Screening phytochimique des extraits de la partie aérienne de <i>M. inodora</i>	58
Tableau n°10: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits du fruit <i>Z. jujuba</i>	62
Tableau n°11: Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits de la partie aérienne de <i>M. inodora</i>	62
Tableau n°12: Effet antiradicalaire des molécules antioxydantes de références sur la réduction du DPPH	64
Tableau n°13: Effet antiradicalaire des extraits du fruit de <i>Z. jujuba</i> sur la réduction du DPPH	65
Tableau n°14: Effet antiradicalaire des extraits de <i>M. inodora</i> sur la réduction du DPPH.	66
Tableau n°15: Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des molécules antioxydantes de références (test de β -carotène).	67
Tableau n°16: Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des extraits de <i>Z. jujuba</i> (test de β -carotène).....	67
Tableau n°17: Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des extraits de <i>M.inodora</i> (test de β -carotène).....	68
Tableau n°18: Pouvoir réducteur du fer des extraits de <i>Z. jujuba</i> , <i>M. inodora</i> et des molécules antioxydantes de références.	69
Tableau n°19: La capacité antioxydante totale des extraits de <i>Z. jujuba</i> et de <i>M. inodora</i> ($\mu\text{g eq AG/mg}$ extrait).	71
Tableau n°20: Effet inhibiteur des extraits de <i>Z. jujuba</i> et de <i>M. inodora</i> sur l'activité de l' α -glucosidase exprimé en valeur de IC_{50}	72
Tableau n°21 : Effet inhibiteur des extraits de <i>Z. jujuba</i> et de <i>M. inodora</i> sur l'activité de l' α -amylase exprimé en valeur de IC_{50}	73
Tableau n°22: Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l' α -glucosidase et son substrat pNPG.	75
Tableau n°23: Les vitesses initiales de la cinétique de l' α - glucosidase dans l'apparition du produit (pNP) en présence de différentes concentrations du substrat (pNPG) et de l'extrait Acet _{2zj} de <i>Z. jujuba</i>	77
Tableau n°24: Vitesses maximales et les constantes de Michaelis obtenues en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait Acet _{2zj}	78

Tableau n°25: Les vitesses initiales (mM/min) de la cinétique enzymatique de l' α -glucosidase à différentes concentrations du substrat pNPG et de l'extrait EM _{MI} de <i>M. inodora</i>	79
Tableau n°26: Les vitesses maximales et les constantes de Michaelis déterminés pour l' α glucosidase en présence de différentes concentrations de l'extrait EM _{MI} de <i>M.inodora</i>	80
Tableau n°27: Les vitesses initiales (mM/min) de la cinétique enzymatique de l' α - glucosidase à différentes concentrations du pNPG et de l'acarbose.	81
Tableau n°28: Les vitesses maximales et les constantes de Michaelis déterminés pour l' α - glucosidase en présence de différentes concentrations de l'acarbose.	82
Tableau n°29: Paramètres cinétiques de l' α -glucosidase (Vmax et Km) déterminés pour l' α - glucosidase en présence de l'extrait Acet _{2zj} de <i>Z. jujuba</i> , de l'extrait EM _{MI} de <i>M. inodora</i> et de l'acarbose.....	83
Tableau n°30: Les vitesses initiales de la réaction enzymatique de l' α -amylase avec l'amidon.....	84
Tableau n°31 : Les vitesses initiales (mM/min) de la cinétique enzymatique de l' α -amylase à différentes concentrations de l'amidon et de l'extrait EA _{zj} de <i>Z. jujuba</i>	86
Tableau n°32: Les vitesses maximales et les constantes de Michaelis déterminés pour l' α - amylase en présence de différentes concentrations de l'extrait EA _{zj} de <i>Z. jujuba</i>	88
Tableau n°33: Les vitesses initiales (mM/min) de la cinétique enzymatique de l' α -amylase à différentes concentrations de l'amidon et de l'extrait Acet _{MI} de <i>M. inodora</i>	89
Tableau n°34: Les vitesses maximales et les constantes de Michaelis déterminés pour l' α - amylase en présence de différentes concentrations de l'extrait Acet _{MI} de <i>M. inodora</i>	90
Tableau n°35: Les vitesses initiales (mM/min) de la cinétique enzymatique de l' α -amylase à différentes concentrations de l'amidon et de l'acarbose.	91
Tableau n°36 : Les vitesses maximales et les constantes de Michaelis déterminés pour l' α - amylase en présence de différentes concentrations de l'acarbose.....	92
Tableau n°37: Paramètres cinétiques de l' α -amylase (Vmax et Km) déterminés en absence et en présence de l'extrait EA _{ZJ} , l'extrait Acet _{MI} et de l'acarbose.	93
Tableau n°38: Les valeurs IC ₅₀ déterminées pour l'effet inhibiteur de la glycation de la BSA par les extraits en présence de 4 mg/mL du glucose.	97
Tableau n°39: Effet antibactérien et antifongique des extraits de <i>Z. jujuba</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibition (en mm).....	99
Tableau n°40: Effet antibactérien et antifongique des extraits de <i>M. inodora</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibition (en mm).	100
Tableau n°41: Effet antibactérien des extraits de <i>Z. jujuba</i> exprimé en concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).	101
Tableau n°42: Effet antibactérien des extraits de <i>M. inodora</i> exprimé en Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).	101

Liste des figures

Figure n°01: Structure chimique de quelques terpenoïdes.	04
Figure n°02 : Structure chimique de quelques alcaloïdes.	04
Figure n°03 : Structure chimique de quelques acides phénoliques.	05
Figure n°04 : Structure chimique des tanins hydrolysables (A) et des tanins condensés (B).	06
Figure n°05 : Structure chimique des stilébènes.	06
Figure n°06 : Sous-classes des flavonoïdes.	07
Figure n°07 : Peroxydation lipidique induite par le radical hydroxyle (OH•).	10
Figure n°08: Modifications oxydatives des protéines.	11
Figure n°09: Modifications oxydatives de l'ADN.	12
Figure n°10: Mécanisme d'action des sulfamides.	15
Figure n°11: Mécanisme d'action de l'acarbose.	16
Figure n°12: Structure chimique de la Guanidine, Galéguine et Metformine.	17
Figure n°13: Etapes de la réaction de glycation non enzymatique des protéine.	19
Figure n°14: Conséquences fonctionnelles des AGE.	20
Figure n°15 : Les parties végétatives et florales de <i>Z. jujuba</i>	25
Figure n°16: Structure chimique de certains alcaloïdes cyclopeptidiques identifiés dans <i>Z. jujuba</i>	26
Figure n°17: Structure chimique de certains terpénoïdes et flavonoïdes identifiés dans <i>Z. jujuba</i>	26
Figure n°18: Les parties végétatives et florales de <i>Micromeria inodora</i> (Desf.) Benth.	28
Figure n°19: Structure chimique de certains composés identifiés dans les huiles essentielles de la partie aérienne de <i>M. inodora</i>	29
Figure n°20: Structure chimique de certains composés identifiés dans les extraits de la partie aérienne de <i>M. inodora</i>	29
Figure n°21: Fruit de la plante <i>Z. jujuba</i>	31
Figure n°22: Partie aérienne de la plante <i>M. inodora</i>	31
Figure n°23: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits à partir de la pulpe du fruit de <i>Z. jujuba</i>	32
Figure n°24: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits à partir de la partie aérienne de <i>M. inodora</i>	33
Figure n°25 : Réaction de l'acide gallique et les composés de molybdène dans le réactif de Folin-Ciocalteu.	36
Figure n°26 : Formation du complexe flavonoïdes et trichlorure d'aluminium (AlCl ₃).	38
Figure n°27 : Mécanisme réactionnel du test DPPH.	40
Figure n°28: Réaction du β-carotène avec le radical peroxy.	41
Figure n°29: Mécanisme réactionnel du pouvoir réducteur du fer (FRAP) en utilisant le ferricyanure de potassium.	42

Figure n°30: Mécanisme réactionnel de la capacité antioxydante totale (CAT) en utilisant le phosphomolybdène.	43
Figure n°31: Réaction d'hydrolyse du pNPG par α -glucosidase.....	45
Figure n°32: Réduction du DNSA par les sucres réducteurs.....	47
Figure n°33 : Réactions de formation de produits finaux de glycation avancée AGE.	51
Figure n°34 : Spectres chromatographiques des extraits du fruit de <i>Z. jujuba</i> (280nm) l'extrait EA _{zj} (A), Acet _{2zj} (B) et Acet _{1zj} (C).....	59
Figure n°35 : Spectres chromatographiques des extraits de la partie aérienne de <i>M. inodora</i> (280nm) l'extrait Acet _{MI} (A), n-but _{MI} (B) et l'extrait Aq _{MI} (C).....	60
Figure n°36: Courbes étalon d'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux (A) et de catéchine pour le dosage de flavonoïdes totaux (B).....	61
Figure n°37: Courbe étalon d'acide gallique.....	70
Figure n°38 : Courbes de l'apparition du produit (pNP) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -glucosidase en fonction du temps.....	75
Figure n°39: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α - glucosidase avec son substrat pNPG.....	76
Figure n°40 : Courbes de l'apparition du produit (pNP) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -glucosidase et de l'extrait Acet_{2zj} de <i>Z. jujuba</i> 2,4 mg/mL (A) et 7,1 mg/mL (B) en fonction du temps..	76
Figure n°41 : Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α - glucosidase avec son substrat (pNPG) en présence de l'extrait Acet_{2zj} de <i>Z. jujuba</i>	77
Figure n°42 : Courbes de l'apparition du produit (pNP) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -glucosidase et de l'extrait EM_{MI} de <i>M. inodora</i> à 0,24 mg/mL (A) et 0,71 mg/mL (B) en fonction du temps.....	78
Figure n°43: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α - glucosidase avec son substrat (pNPG) en présence de l'extrait EM _{MI} de <i>M. inodora</i>	79
Figure n°44 : Courbes de l'apparition du produit (pNP) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -glucosidase et de l'acarbose 0,06 mg/mL(A) et 0,12 mg/mL(B)	80
Figure n°45: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α - glucosidase avec son substrat pNPG et en présence de l'acarbose (Acr).....	81
Figure n°46 : Courbe d'étalonnage du maltose.	83
Figure n°47: Courbes de l'apparition du produit (le maltose) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -amylase en fonction du temps.	84

Figure n°48: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α -amylase avec l'amidon.....	85
Figure n°49: Courbes de l'apparition du produit (le maltose) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -amylase et de l'extrait EA_{zj} de <i>Z. jujuba</i> 2,5mg/mL (A), 5mg/mL (B) et 10 mg/mL(C) en fonction du temps.	86
Figure n°50: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α -amylase avec l'amidon et en présence de l'extrait EA _{zj} de <i>Z. jujuba</i>	87
Figure n°51: Courbes de l'apparition du produit (le maltose) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -amylase et de l'extrait Acet_{MI} de <i>M. inodora</i> 0,31 mg/mL (A), 0,63 mg/mL (B), 1,25 mg/mL(C) en fonction du temps.....	88
Figure n°52: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α -amylase avec l'amidon en présence de l'extrait Acet _{MI} de <i>M. inodora</i>	89
Figure n°53: Courbes de l'apparition du produit (le maltose) en présence de différentes concentrations du substrat [S] de l' α -amylase et de l'acarbose à 1,25 mg/mL(A), 2,5 mg/mL(B), 5 mg/mL(C) en fonction du temps.....	91
Figure n°54: Représentation linéaire en double inverse de Lineweaver et Burck ($1/V_{in}=f(1/[S])$) de la réaction de l' α -amylase avec l'amidon en présence de l'acarbose.	92
Figure n°55: Effet inhibiteur des extraits de <i>Z. jujuba</i> sur la formation des AGE(%) suite à la glycation <i>in vitro</i> de l'albumine..	94
Figure n°56: Effet inhibiteur des extraits de <i>M. inodora</i> sur la formation des AGE(%) suite à la glycation <i>in vitro</i> de l'albumine..	95
Figure n°57: Effet inhibiteur des molécules antioxydantes sur la formation des AGE(%) suite à la glycation <i>in vitro</i> de l'albumine..	96

ملخص

تعرف النباتات الطبية والعطرية اهتمامًا متزايدًا من خلال إبراز أنشطتها البيولوجية واستغلالها في المجال الصيدلاني للأغراض العلاجية. ولتحقيق هذا الهدف، أجرينا الدراسة الحالية المتعلقة بتقييم المفعول المضاد للأكسدة، المضاد للسكري والمضاد للميكروبات بواسطة المستخلصات المائية والعضوية لثمار نبتة: *Ziziphus jujuba* Mill. ومستخلصات الجزء الهوائي لـ: *Micromeria inodora* Benth. وقد أظهرت نتائج تقدير متعدد الفينول و الفلافونيدات قيمًا متغايرة من 42.84 إلى 94.70 (مغ معادل لحمض غاليك /مغ من المستخلص) و من 47.08 إلى 427.33 (مغ معادل للكاتشين /مغ من المستخلص) بالنسبة لـ: *Z. jujuba* ، و من 175.50 إلى 332.62 (مغ معادل لحمض غاليك /مغ من المستخلص) و من 65.38 إلى 86.30 (مغ معادل للكاتشين/مغ من المستخلص) بالنسبة لـ *M. inodora*. كما كشف الفحص بالكروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (RP-HPLCPDA) للمركبات الفينولية للنبتين عن وجود حمض الغاليك و الكيرسيتين في جميع المستخلصات، بالإضافة إلى الروتين، الفانيلين و نارينجين في مستخلص اسيتات الايثيل لنبته *M.inodora*.

وأظهرت النتائج المتحصل عليها فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة تأثيرًا واعدًا لجميع المستخلصات، بالأخص مستخلصات لنبته *M. inodora* ، ولا سيما مستخلص اسيتات الايثيل. حددت التراكيز المثبطة النصفية (IC_{50}) في اختبار محاصرة الجذور الحرة DPPH ما بين 1.5 و 18.9 مغ/مل بالنسبة لمستخلصات نبتة *M. inodora* ، وما بين 12 و 503.6 مغ/مل لمستخلصات *Z. jujuba* . أما في اختبار تبييض البيتا كاروتين (BCB) ، أظهرت المستخلصات اسيتات الايثيل وماء-اسيتون لنبته *M.inodora* نسبة تثبيط عالية للأكسدة بقيم تراكيز IC_{50} تتراوح ما بين 28 إلى 32 مغ/مل ، و ما بين 48 و 61 مغ/مل بالنسبة للمستخلصات اسيتات الايثيل و n- بيتانول. بالنسبة لنتائج اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) فقد اثبتت أن المستخلص اسيتات الايثيل لنبته *M.inodora* (7.5 مغ/مل) أكثر فاعلية في ارجاع الحديد في حين ان مستخلصات النبتة *Z. jujuba* سجلت تراكيز ما بين 95 و 782 مغ/مل.

أما فيما يخص اختبار القدرة الاجمالية المضادة للأكسدة الإجمالية (CAT) ، فقد قدرت ما بين 19.33 و 71.98 مغ معادل حمض الغاليك/مغ من المستخلص بالنسبة للنبته *Z. jujuba* و ما بين 65.54 و 102.83 مغ معادل حمض الغاليك/مغ من المستخلص بالنسبة للنبته *M. inodora*.

كما كشفت نتائج التجارب المخبرية لمستخلصات النبتتين فاعليتها في تثبيط أنزيم ألفا غلوكوسيداز ($IC_{50} \geq 2,81 Z. jujuba \geq 6,48$ مغ/مل ؛ $IC_{50} \geq 0,46 M. inodora \geq 0,74$ مغ/مل) ، و أنزيم ألفا أميلاز ($IC_{50} \geq 0,90 Z. jujuba \geq 1,11$ مغ/مل ؛ $IC_{50} \geq 0,76 M.inodora \geq 2,29$ مغ/مل)، بتناسب طردي مع تراكيز هذه المستخلصات. وأوضحت الثوابت الحركية للأنزيمات أن نوع التثبيط غير تنافسي لألفا غلوكوسيداز بوجود المستخلصات اسيتات الايثيل *Z.jujuba* و ماء-ميتانول *M.inodora* لافا أميلاز بوجود المستخلصات ماء-اسيتون *Z.jujuba* و اسيتات الايثيل *M.inodora*. أظهرت نتائج البحث بالنسبة للمفعول المضاد للغلكتة قدرت مستخلصات *Z. jujuba* على منع تكوين المنتجات النهائية لغلكتة بروتين الالبومين ($CMI \geq 0,85 \geq 5,10$ مغ/مل) و بالمثل مستخلصات *M. inodora* اظهرت قيم 0,3 مغ/مل و 3,6 مغ/مل.

وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات، أظهرت المستخلصات من كلتا النبتتين نشاطًا منخفضًا جدًا ضد البكتيريا ($CMI \geq 110 \geq 450$ مغ/مل) وانعدام المفعول ضد السلالات الفطرية.

في الختام ، تُظهر مستخلصات *M.inodora* نشاطًا ملحوظًا كمضاد للأكسدة ومضاد لمرض السكري مقارنة بمستخلصات *Z.jujuba*.

الكلمات المفتاحية: *Ziziphus jujuba*، *Micromeria inodora*، متعدد الفينول، المفعول المضاد للأكسدة، المضاد للسكري والمضاد للميكروبات.

Abstract

The valorization of medicinal and aromatic plants arouses a growing interest with the aim of highlighting their biological activities and their exploitation in the pharmaceutical field for therapeutic purposes. With this objective, we have carried out the present study which deals with the *in vitro* evaluation of the antioxidant, antidiabetic and antimicrobial activities of aqueous and organic crude extracts and their ethyl acetate and n-butanol fractions, prepared from the fruit of *Ziziphus jujuba* and the aerial part of *Micromeria inodora*.

The level of total polyphenols and flavonoids determined in the extracts of *Z. jujuba* is variable between 42.84 - 94.70 $\mu\text{g eq GA/mg E}$, and 47.08 - 427.33 $\mu\text{g eq Cat/mg E}$, respectively. In *M. inodora* extracts the polyphenol content is high (175.50 - 332.62 $\mu\text{g eq GA/mg E}$) and flavonoids (86.30-65.38 $\mu\text{g eq Cat/mg E}$). RP-HPLC-PDA chromatographic analysis determined the presence of gallic acid and quercetin as common molecules present in all extracts. The ethyl acetate fraction of *M.inodora* also contain rutin, vanillin and naringinin.

The results obtained regarding the antioxidant activity revealed a promising effect of all the extracts, especially the extracts of *M. inodora*, notably the ethyl acetate fraction. The IC_{50} values determined for DPPH in *M. inodora* extracts are variable between 1.5 $\mu\text{g/mL}$ and 18.9 $\mu\text{g/mL}$ against 12 to 503.6 $\mu\text{g/mL}$ for *Z. jujuba* extracts. The main results concerning β -carotene oxidation showed that ethyl acetate and water-acetone *M.inodora* extracts strongly inhibited β -carotene oxidation with IC_{50} values ranging from 28 to 32 $\mu\text{g/mL}$; and from 48 to 61 $\mu\text{g/mL}$ for *Z. jujuba* extracts ethyl acetate and n-butanol. Concerning the FRAP method, the ethyl acetate extract of *M.inodora* ($\text{EC}_{50} = 7.5\mu\text{g/mL}$) exhibited the best iron reducing capacity, whereas the *Z. jujuba* extracts showed variable IC_{50} between 95 and 782 $\mu\text{g/mL}$. The total antioxidant capacity of the *Z. jujuba* fruit extracts was variable between 19.33 and 71.98 $\mu\text{g eq AG/mg extract}$, whereas the extracts of the aerial part of *M. inodora* showed higher values between 65.54 and 102.83 $\mu\text{g eq AG /mg extract}$ especially in the ethyl acetate fraction.

The results obtained regarding the antidiabetic activity showed that all the extracts provided *in vitro* inhibition of α -glucosidase (*Z. jujuba* $2.81 \leq \text{IC}_{50} \leq 6.48 \text{ mg/mL}$; *M. inodora* $0.46 \leq \text{IC}_{50} \leq 0.74 \text{ mg/mL}$) and α -amylase (*Z. jujuba* $0.90 \leq \text{IC}_{50} \leq 1.11 \text{ mg/mL}$; *M. inodora* $0.76 \leq \text{IC}_{50} \leq 2.29\text{mg/mL}$) proportional to the concentration of each extract. Enzymatic kinetics parameters mounted non competitive inhibition of α -glucosidase by ethyl acetate fraction of *Z.jujuba* and eau-acetone *M.inodora* extracts, and of α -amylase by water-acetone of *Z.jujuba* and ethyl acetate of *M.inodora* extracts. The results of the antiglycating effect of BSA in the presence of 4mg/mL glucose reveal that the extracts of *Z. jujuba* provided inhibition of AGE formation ($0.85 \leq \text{IC}_{50} \leq 5.10 \text{ mg/mL}$); similarly the extracts of *M. inodora* which showed IC_{50} values of 0.3 mg/mL (n-butanol) and 3.6 mg/mL (Aqueux).

The extracts of *Z. jujuba* and *M. inodora* exhibited low antibacterial activity in liquid and solid media. Only *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25933 strains appeared to be the most sensitive ($110 \leq \text{CMI} \leq 450 \text{ mg/mL}$). These extracts showed no inhibitory effect on the growth of *Candida* strains.

In conclusion, *M.inodora* extracts exhibit remarkable antioxidant and antidiabetic activity compared to *Z.jujuba* extracts.

Keywords: *Ziziphus jujuba*; *Micromeria inodora*, polyphenols, antioxidant activity, antidiabetic activity, antimicrobial activity.

Résumé

La valorisation des plantes médicinales et aromatiques suscite un intérêt croissant dans le but de mettre en valeur leurs activités biologiques et leur exploitation dans le domaine pharmaceutique à des fins thérapeutiques. Dans cet objectif, nous avons réalisé la présente étude qui porte sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits bruts aqueux et organiques et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol, préparés à partir du fruit de *Ziziphus jujuba* et la partie aérienne de *Microméria inodora*.

Le taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux déterminés dans les extraits de *Z. jujuba* est variable de 42,84 à 94,70 µg eq AG/mg Es, et de 47,08 à 427,33 µg eq Cat/mg Es, respectivement. Les extraits de *M. inodora* la teneur en polyphénols est élevée (175,50 et 332,62 µg eq AG/mg Es) et en flavonoïdes (86,30 et 65,38 µg eq Cat/mg Es). L'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA a déterminé la présence de l'acide gallique et la quercétine comme molécules communes présentent dans tous les extraits. La fraction acétate d'éthyle de *M. inodora* renferme en plus la rutine, la vanilline et la naringinine.

Les résultats obtenus concernant l'activité antioxydante ont révélé un effet prometteur de l'ensemble des extraits, en particulier les extraits de *M. inodora*, notamment la fraction acétate d'éthyle. Les valeurs de IC₅₀ déterminées pour le DPPH sont variables de 1,5µg/mL à 18,9µg/mL contre 12 à 503,6µg/mL pour les extraits de *Z. jujuba*. Les principaux résultats concernant l'oxydation du β-carotène ont montré que les extraits acétate d'éthyle et eau-acétone de *M. inodora* ont fortement inhibé l'oxydation du β-carotène avec des valeurs d'IC₅₀ variantes de 28 à 32 µg/mL ; et de 48 à 61 µg/mL pour les fractions acétate d'éthyle, n-butanol de l'extrait aqueux et eau-acétone de *Z. jujuba*. Concernant la méthode du FRAP, l'extrait acétate d'éthyle de *M.inodora* (EC₅₀ = 7,5µg/mL) a présenté le meilleur pouvoir réducteur du fer, tandis que les extraits *Z. jujuba* ont affiché des IC₅₀ variables de 95 à 782 µg/mL. La capacité antioxydante totale des extraits du fruit de *Z. jujuba* est variable de 19,33 à 71,98 µg eq AG/mg extrait, alors que les extraits de la partie aérienne de *M. inodora* montrent des valeurs plus élevés de 65,54 à 102,83 µg eq AG /mg d'extrait notamment dans la fraction acétate d'éthyle.

Les résultats obtenus concernant l'activité antidiabétique ont montré que l'ensemble des extraits ont assuré *in vitro* une inhibition l'α-glucosidase (*Z. jujuba* 2,81 ≤ IC₅₀ ≤ 6,48mg/mL; *M. inodora* 0,46 ≤ IC₅₀ ≤ 0,74 mg/mL) et de l'α-amylase (*Z. jujuba* 0,90 ≤ IC₅₀ ≤ 1,11 mg/mL; *M. inodora* 0,76 ≤ IC₅₀ ≤ 2,29mg/mL) proportionnelle à la concentration de chaque extrait. Les paramètres de la cinétique enzymatique ont montré une inhibition non compétitive de l'α-glucosidase par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z.jujuba* et eau-méthanol de *M.inodora*, et de l'α-amylase par les extraits eau-acétone de *Z.jujuba* et acétate d'éthyle de *M.inodora*. Les résultats de l'effet antiglycant de BSA en présence de 4mg/mL de glucose révèlent que les extraits de *Z. jujuba* ont assuré l'inhibition de la formation des AGE (0,85 ≤ IC₅₀ ≤ 5,10 mg/mL); de même les extraits de *M. inodora* qui ont présenté des valeurs de IC₅₀ de 0,3 mg/mL (n-butanol) et 3,6 mg/mL (aqueux).

Les extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* ont affiché une faible activité antibactérienne en milieu liquide et en milieu solide. Seules les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25933 semblent les plus sensibles (110≤CMI≤450mg/mL). Ces extraits n'ont présenté aucun effet inhibiteur de la croissance des souches de *Candida*.

En conclusion, les extraits de *M.inodora* présentent une activité antioxydante et antidiabétique remarquables par rapport aux extraits de *Z.jujuba*.

Mots clés : *Ziziphus jujuba* ; *Microméria inodora*, polyphénols, activité antioxydante, activité antidiabétique, activité antimicrobienne.

Table des matières

Introduction générale	01
Synthèse bibliographique.....	03

Matériels et méthodes

1. Etude Phytochimique.....	30
1.1. Matériel végétal.....	30
1.2. Préparation des extraits	31
1.3. Calcul du rendement d'extractions.....	33
1.4. Screening phytochimique des extraits préparés	34
1.5. Analyse chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes.....	35
1.6. Dosage de polyphénols totaux	36
1.7. Dosage de flavonoïdes totaux	37
2. Evaluation <i>in vitro</i> de quelques activités biologiques des extraits de <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i>	39
2.1 Evaluation de l'activité antioxydante	39
2.1.1. Evaluation du pouvoir antiradicalaire sur le radical libre DPPH	39
2.1.2. Evaluation de l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique : test de blanchiment de β -carotène (BCB)	41
2.1.3. Evaluation du pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)	42
2.1.4. Evaluation de la capacité antioxydante totale (CAT).....	43
2.2 Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antidiabétique des extraits de <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i>	44
2.2.1 Evaluation de l'activité de l' α -glucosidase: méthode en point terminal	44
2.2.2 Evaluation de l'activité de l' α -amylase: méthode en point terminal	46
2.2.3 Evaluation de l'activité de l' α -glucosidase: méthode en cinétique	49
2.2.4 Evaluation sur l'activité de l' α -amylase: méthode en cinétique.....	50
2.2.5 Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet antiglycant des extraits de <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i> sur la BSA (Bovine Serum Albumin).	51
2.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits préparés	52
3. Analyse statistique	55

Résultats et interprétations

1. Etude Phytochimique	56
1.1 Caractéristiques des extraits de plantes <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i>	56
1.2 Screening phytochimique des extraits de plantes <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i>	57
1.3 Analyse chromatographique des composés phénoliques et des flavonoïdes	59
1.4 Teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux.....	61
2. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques des extraits de <i>Z.jujuba</i> et <i>M.inodora</i>	63
2.1 Activité antioxydante des extraits de <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i>	63

2.1.1	Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH	63
2.1.2	Evaluation de l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique (test de blanchiment de β -carotène).....	66
2.1.3	Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)	68
2.1.4	La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de <i>M. inodora</i> et <i>Z. jujuba</i> (test de phosphomolybdène)	70
2.2	Effet antidiabétique <i>in vitro</i> des extraits de <i>M. inodora</i> et <i>Z. jujuba</i>	71
2.2.1	Effet sur l'activité de l' α -glucosidase: méthode en point terminal.....	71
2.2.2	Effet sur l'activité de l' α -amylase: méthode en point terminal	73
2.2.3	Effet sur l'activité de l' α -glucosidase: méthode en cinétique enzymatique	74
2.2.4	Effet sur l'activité de l' α -amylase: méthode cinétique enzymatique	83
2.2.5	Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet antiglycant des extraits de <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i> sur la BSA (Bovine Serum Albumin).	93
2.3	Effet antibactérien et antifongique des extraits de <i>Z. jujuba</i> et <i>M. inodora</i>	98
Discussion	102
Conclusion et perspectives	118
Références bibliographiques	120

Introduction générale

Le monde végétal grâce à sa richesse en métabolites secondaires qui procurent des propriétés curatives appréciables, constitue la source majeure de nouveaux principes actifs. L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, pour les maladies chroniques et en particulier pour les maladies métaboliques et infectieuses, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les pays en voie de développement, font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle pour se soigner (**Eddouks et al., 2007; Eddouks et al., 2017; Eddouks et al., 2019**).

Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population africaine ont recours aux traitements traditionnels (**OMS, 2000; OMS, 2002; Eddouks et al., 2007; Bouzabata et al., 2019**)

Le succès des plantes médicinales s'explique par la maîtrise technique et scientifique pluridisciplinaire fournis par la chimie, la pharmacologie, et l'ethnopharmacologie qui ont permis l'extraction de principes actifs et le développement de nouvelles formes thérapeutiques et galéniques plus adaptées et plus efficaces (**Eddouks et al., 2007; Chabrier, 2010; Bouzabata et al., 2019**). De nos jours, plus de 50% des médicaments sont d'origine végétale (**Jamshidi-Kia et al., 2018**).

De ce fait, les plantes médicinales et aromatiques suscitent un intérêt croissant dans la recherche scientifique à l'échelle mondial, et sont de plus en plus exploitées dans le domaine pharmaceutique à des fins thérapeutiques et cosmétiques. L'Algérie, par sa biodiversité climatique et végétale constitue un véritable réservoir des espèces spontanés et endémiques ; dont un grand nombre de plantes sont considérées comme aromatiques et médicinales, et sont largement utilisées en médecine traditionnelle. Certaines de ces espèces constituent l'objectif de plusieurs études scientifiques qui s'intéressent à la mise en évidence de leurs propriétés thérapeutiques, ainsi que l'extraction et l'identification de leurs principes actifs (**Bouزيد et al., 2017; Hamel et al., 2018**).

Dans le cadre de la valorisation des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales locales, les travaux scientifiques dans notre laboratoire de recherche Antibiotique, Antifongique : Physico-chimie synthèse et activité biologique, s'intéressent à la recherche d'éventuelles activités biologiques d'une variété de plantes médicinales. Dans ce contexte, s'inscrit l'objectif de ce travail de thèse consacré à l'évaluation *in vitro* de l'activité

antioxydante, antidiabétique, et antimicrobienne des extraits de *Ziziphus jujuba* Mill (famille des Rhamnaceés), communément appelé jujubier, et de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. connue sous le nom de thym inodore (famille des Lamiacées) récoltées dans la région de Tlemcen. Ces deux espèces sont répertoriés dans les enquêtes ethnobotaniques pour leurs propriétés médicinales, essentiellement antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreuse et antimicrobienne (**Beniston et al., 1984; Mukhtar et al., 2004; Stojanovi et al, 2008; Goetz, 2009; San et al., 2010**).

Notre approche expérimentale regroupe deux grandes parties, la première est consacrée à l'étude phytochimique des deux espèces étudiées. Elle consiste à la préparation à partir du fruit *Ziziphus jujuba* Mill et de la partie aérienne de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth, des extraits bruts aqueux et organiques ainsi que leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol. Les différents extraits obtenus font l'objet d'un screening phytochimique, un dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux, et une analyse chromatographique RP-HPLC-PDA.

La deuxième partie, est consacrée à l'étude *in vitro* des activités biologiques des extraits préparés, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'activité antioxydante en utilisant le test du pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH ; le test de blanchiment du β -carotène (BCB), le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP), et le test de la capacité antioxydante totale (CAT) en utilisant le phosphomolybdène. L'activité antidiabétique a été réalisée par mesure de l'activité des enzymes α -glucosidase et α -amylase en point terminal et en cinétique, et aussi par mesure de l'effet antiglycant des extraits sur l'albumine du sérum bovin (BSA). Nous avons également testé l'effet antimicrobien des extraits récupérés en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide et la méthode de microdilution en milieu liquide.

Le présent manuscrit comporte une introduction générale qui présente l'objectif de ce travail de thèse ; en suite une synthèse bibliographique sur les métabolites secondaires et leurs effets biologiques, notamment l'effet antioxydant, antidiabétique et antimicrobien, ainsi qu'une présentation des plantes étudiées *Z. jujuba* et *M. inodora*. Le chapitre matériel et méthodes regroupe les techniques et les méthodes utilisées, suivi par la présentation et l'interprétation des résultats obtenus, et enfin une discussion générale des principaux résultats avec présentation des perspectives.

Synthèse bibliographique

Les espèces végétales jouent un rôle fondamental dans la nature; elles présentent une composition chimique complexe formée de molécules qui ont un rôle essentiel, dont on ne peut négliger l'importance. Cette composition confère à la plante, sa caractéristique aromatique et ses vertus thérapeutiques responsables de son utilisation dans divers domaines, pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, agroalimentaire et culinaire (**Verbois, 2002; Daira, et al., 2016**).

Il existe environ 50000 à 70000 espèces végétales utilisées dans la phytothérapie à travers le monde, dont plus de 35000 sont utilisées dans les industries pharmaceutiques, chimiques ou cosmétiques (**Basli et al., 2012; Ilbert et al., 2016**).

L'Algérie par sa géographie offre une biodiversité écologique et végétale, sur 3000 espèces 15% sont endémiques. Cependant, seulement 146 sont considérées comme médicinales mais qui sont très peu explorées en phytochimie ainsi qu'en pharmacologie (**Daira et al., 2016; Bouzid et al., 2017; Hamel et al., 2018**).

La valorisation des plantes médicinales, employées en phytothérapie, consiste à la recherche de molécules alternatives aux principes actifs de synthèse chimique ayant dans certains cas des risques de toxicité pour la santé humaine et pour l'environnement (**Eddouks et al., 2007; Ghazghazi et al., 2013; Azzouzi et al., 2015**).

Les constituants actifs responsables des vertus médicinales des plantes sont généralement des métabolites secondaires, issus de différentes voies métaboliques. Ces métabolites sont des constituants non indispensables à la survie de la plante par opposition aux métabolites primaires (glucides, lipides et acides aminés) qui sont strictement nécessaires. Les métabolites secondaires jouent un rôle dans la maturation des fruits, l'adaptation aux conditions climatiques, la défense et la protection contre le stress environnemental (**Boizot et al., 2006 ;Ramakrishna et al., 2011 ; Basli et al., 2012**).

Les métabolites secondaires sont classés en trois grandes familles chimiques, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Les terpénoïdes représentent une vaste catégorie de phytoconstituants lipophiles avec plus de 23000 structures, qui résultent de la polymérisation des isoprènes (**fig. n°01**). Ils sont présents dans de nombreuses substances naturelles comme les hormones (gibbérélines), les pigments (carotène, xanthophylle), les vitamines, les stérols (cholestérol) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles

(limonène, géraniol). Ces composés volatiles aux propriétés odorantes, sont le moyen de communication et de protection des plantes contre les insectes prédateurs ; Ils sont utilisés en aromathérapie grâce à leur propriété antimicrobienne, antifongique, antiseptique, antivirale, antioxydante, antihypertensive, anti-inflammatoire, anxiolytique, antidépresseur et bronchodilatateur (Hopkins, 2003; Jovanovic et al. 2010; Costa et al., 2012; Katerova et al., 2012; Kabera et al., 2014 ; Han et al., 2020).

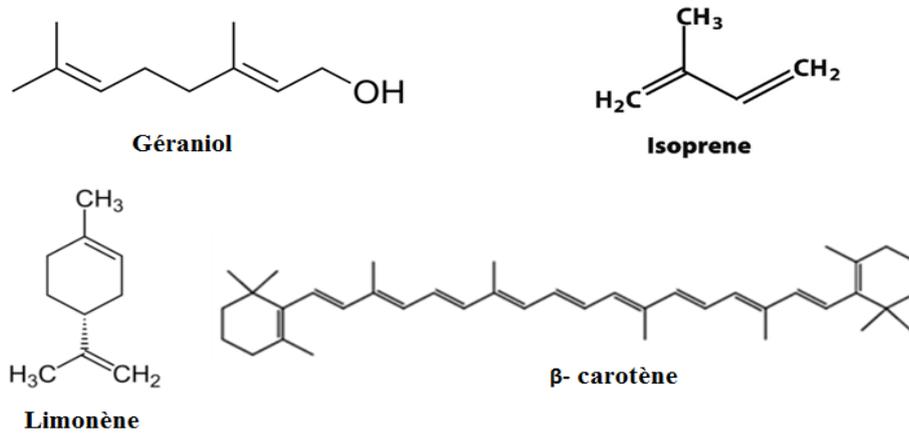


Figure n°01 : Structure chimique de quelques terpénoïdes.

Concernant les alcaloïdes, ils constituent un groupe de molécules azotées hétérocycliques à caractère alcalin d'où leur nom. Plus de 12000 composés ont été isolés. Le premier alcaloïde identifié fut la morphine (fig. n°02) qui provient du pavot (*papaver somniferum*) utilisée actuellement comme analgésique en médecine (Costa et al., 2012). Les alcaloïdes sont connus également pour leur effet sédatif (codéine), antidiabétique (berbérine), anticancéreux (tomatine), stimulant (caféine), antimalarique et antipyrétique (la quinine). Ils sont également caractérisés par leur propriétés antibactériennes et anti-oxydantes (Ujváry, 1999 ; Garrido et al., 2002; Raven et al., 2003 ; Costa et al., 2012 ; Katerova et al., 2012; Kabera et al., 2014).

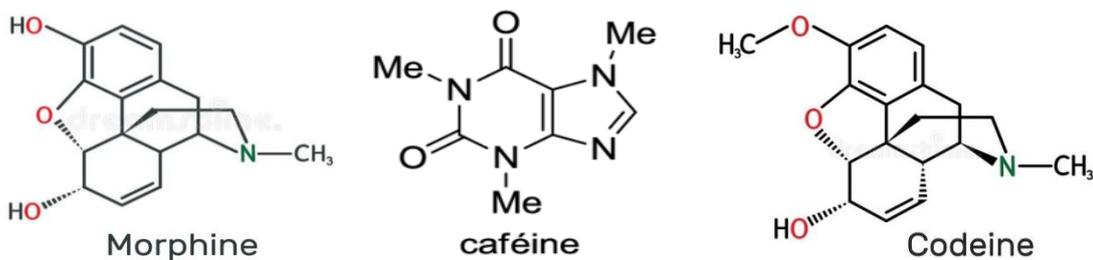


Figure n°02 : Structure chimique de quelques alcaloïdes.

La famille des composés phénoliques regroupe une large gamme de molécules qui contribuent dans la croissance, le développement, la signalisation et la défense des plantes. Actuellement, plus de 8000 structures chimiques identifiées sont tous caractérisées par au moins un groupement hydroxyle (-OH) attaché à un cycle aromatique. Ces composés sont répartis en deux grands groupes: les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Chira et al., 2008; Kennedy, 2014; Bouterfas et al., 2016). Les non-flavonoïdes sont représentés essentiellement par les acides phénoliques, les tanins, les stilbènes, les lignanes. Les acides phénoliques, comme l'acide vanillique, l'acide gallique et l'acide p-coumarique, sont des dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique (fig. n°03) (Chira et al., 2008; Vermerris et al., 2008; Anku et al., 2017).

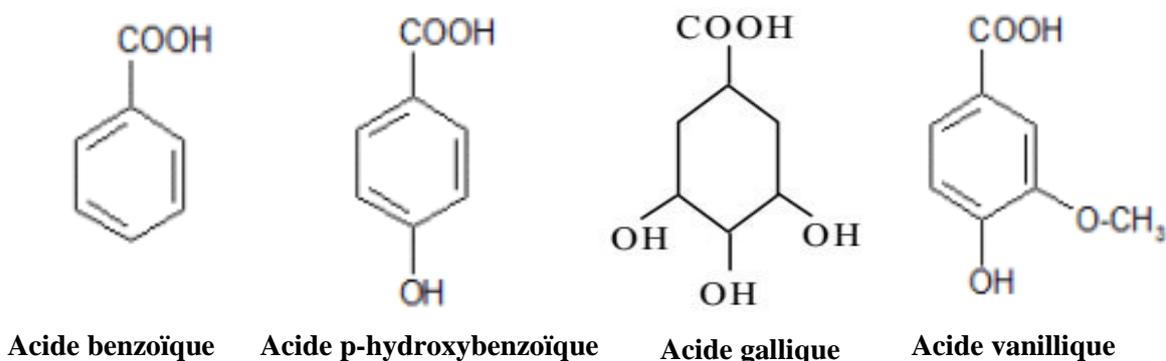


Figure n°03 : Structure chimique de quelques acides phénoliques.

Les tanins constituent la forme majoritaire des polyphénols non-flavonoïdes, caractérisés par leur pouvoir astringent et ayant une structure complexe qui leur confèrent la capacité de précipiter les protéines et de s'associer avec plusieurs molécules telle que la cellulose, l'amidon et les minéraux. Ils sont utilisés contre les diarrhées, les tumeurs de l'estomac et du duodénum, ainsi comme antiseptique ou anti-inflammatoire. Ces molécules sont généralement classées en deux groupes, les tanins hydrolysables (les gallotanins, les éllagitanins, les tanins complexes) et les tanins condensés (fig. n°04) (Vermerris et al., 2008; Kabera et al., 2014; Andrade et al., 2015; Isah et al., 2019).

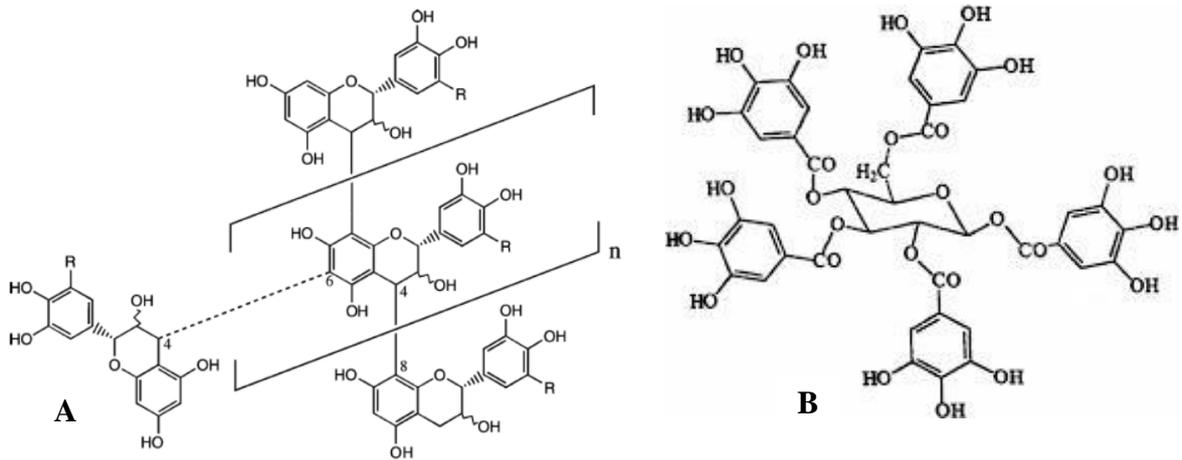


Figure n°04: Structure chimique des tanins condensés (A) et des tanins hydrolysables (B).

Les stilbènes sont également des composés non flavonoïdes caractérisés par une structure carbonée particulière, deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène incluant des monomères (comme le resvératrol) et des oligomères. Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales. Le resvératrol (**fig. n°05**) est considéré comme un puissant antioxydant et qui a également des propriétés anti-inflammatoires et neuroprotectrices (**Chira et al., 2008; Richard et al., 2014**).

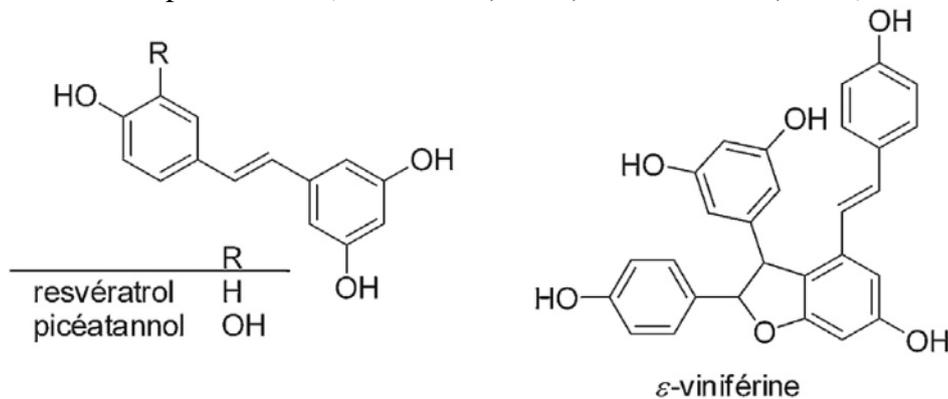


Figure n°05: Structure chimique des stilbènes (**Richard et al., 2014**).

Quant aux flavonoïdes, ils sont caractérisés par une structure complexe constituée de deux noyaux aromatiques (cycles A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). Ils jouent un rôle important dans les processus de défense contre le rayonnement UV et le stress oxydatif ainsi que dans la résistance aux phytopathologies (**Kumar et al., 2013; Carletti et al., 2014; Kabera et al., 2014**). On peut distinguer plusieurs sous-classes (**fig. n°06**): les flavonols (quercétine et rutine), les flavan-3-ols (catéchine et son isomère épicatechine), les isoflavones (Génistéine), les flavanones (naringinine), les flavones (apigénine, lutéoline) et les anthocyanidines (cyanidine). Les flavonoïdes sont dotés de plusieurs propriétés biologiques notamment l'effet hépatoprotecteur, antibactérien, antivirale, anticancéreux, anti-

inflammatoire et antioxydant (Ghedira, 2005; Chira *et al.*, 2008; Vermerris *et al.*, 2008;; Kumar *et al.*, 2013; Mauludin *et al.*, 2013; Kabera *et al.*, 2014; Nde *et al.*, 2015; Ganeshpurkar *et al.*, 2017).

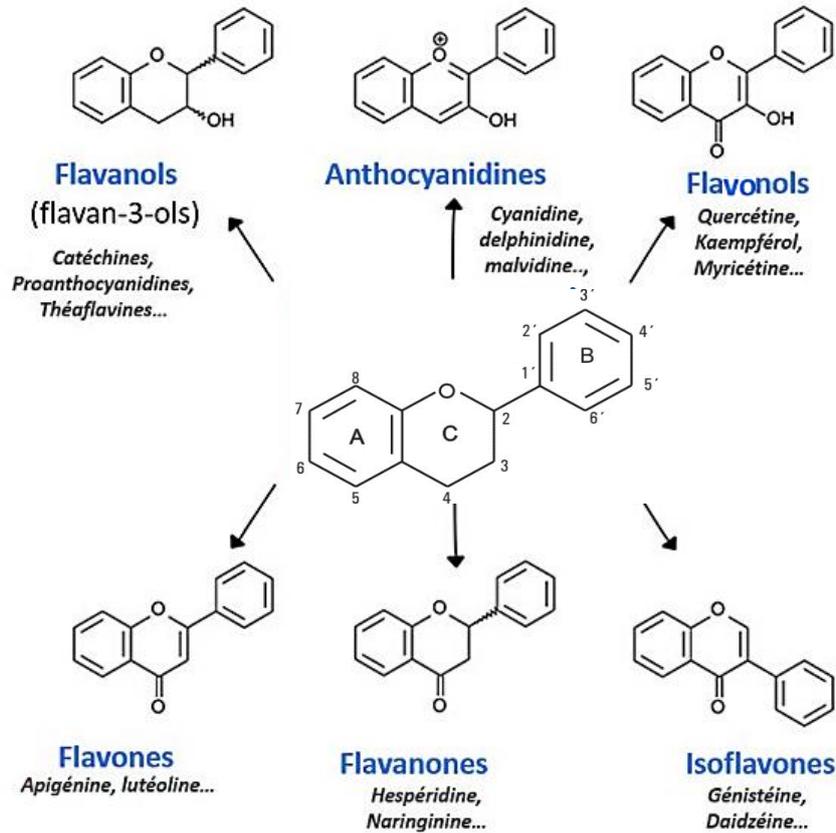


Figure n°06 : Sous-classes des flavonoïdes (Ghedira, 2005; Kumar *et al.*, 2013)

Les propriétés biologiques et curatives des métabolites secondaires, appelés également produits ou substances naturelles, ont amplifié l'importance de leur utilisation et la diversité de leurs domaines d'application, comme le domaine agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Ce dernier domaine, a amplement captivé une grande importance à l'égard de nombreuses thématiques scientifiques, car les produits naturels jouent un rôle important dans l'innovation pharmaceutique (Bougandoura *et al.* 2013; Lehmann, 2013).

L'intégration des plantes médicinales dans les soins de santé primaires est considérablement encouragée aussi bien dans les pays industrialisés que ceux qui sont en voie de développement. Environ 25 % des médicaments dérivent directement ou indirectement des plantes médicinales ; dans le cas des anticancéreux ou les anti-infectieux cette proportion aborde 60 % (Lehmann, 2013; Isah, 2019).

Les médicaments à base de plantes, fabriqués à partir d'une ou plusieurs espèces végétales et par opposition aux médicaments de synthèse sont des mélanges complexes regroupant de nombreux principes actifs, dont leur effet thérapeutique est éventuellement complémentaire ou synergique sur une cible physiologique unique ou multiple. Ce type de médicaments trouve son utilisation pharmaceutique dans le traitement de diverses maladies, tant aiguës que chroniques, qui touchent la santé humaine (**Briskin, 2000; Bieberstein, 2010**).

La lutte contre les maladies qui ont d'importantes répercussions sur la santé publique est une préoccupation mondiale, notamment les maladies infectieuses (la tuberculose, le SIDA et le paludisme), les troubles nutritionnels et les maladies non transmissibles comme l'accident vasculaire cérébral (AVC), les maladies cardiovasculaires, les maladies respiratoires, le diabète et le cancer (**Ly, 2012; OMS, 2000**).

Les maladies non transmissibles responsables de 63% de la mortalité mondiale et 80% des décès dans les pays en développement et les pays à revenus intermédiaires, sont directement ou en grande partie générées par le stress oxydatif, soit comme un activateur soit comme un aggravant du problème de santé (**Ly, 2012**).

Le stress oxydatif, par définition, est un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (les prooxydants) et les défenses antioxydantes de l'organisme (les antioxydants) en faveur des premières (**Haleng et al., 2007; Chung et al., 2013**).

Les antioxydants sont des molécules capables de neutraliser les pro-oxydants et de lutter contre le stress oxydatif. Il existent sous deux formes, endogène ou enzymatique et qui regroupe la catalase, la superoxide dismutase, la glutathione peroxidase, la peroxidase; et exogène ou non enzymatique représenté par la glutathion, l'acide ascorbique, α -tocophérol, β -carotène et les polyphénols (**Lamb et al., 2008; Stangeland et al., 2009; Pakkish et al., 2016**). D'autres antioxydants de synthèse, représentés par l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) connus sous le code E320 et E321, respectivement, sont largement utilisés en cosmétique et dans l'industrie alimentaire pour éviter le rancissement des lipides (huiles, beurres...) (**Richard et al., 2014; Bouterfas et al., 2016**).

Le développement de nouveaux antioxydants naturels d'origine végétale a suscité de plus en plus d'intérêt pour substituer les antioxydants de synthèse associés à des risques de toxicité (cancérogènes). Plusieurs études scientifiques ont révélé le pouvoir antioxydant d'une gamme

de plantes médicinales et le mécanisme d'action de certains phytoconstituants, le **tableau n°01** résume quelques molécules antioxydantes isolées à partir de quelques plantes médicinales (**Embuscado, 2015**).

Tableau n°01 : Quelques molécules antioxydantes isolées à partir de quelques plantes médicinales (Embuscado, 2015).

Plante	Nom scientifique	Molécules antioxydantes	Mode d'action
Romarin	<i>Rosemarinus officinalis</i>	Carnosol, acide carnosique, aciderosmarinique, rosmanol	Neutralisation des radicaux libres, Inhibition de la peroxydation lipidique, Chélation des métaux
Sauge	<i>Salvia officinalis L.</i>	Carnosol, acide carnosique, acide rosmarinique, rosmanol	
Origan	<i>Origanum vulgare</i>	Acide rosmarinique, acide caffeique, tymol, dihydroquercetin	
Thym	<i>Thymus vulgaris L.</i>	Thymol, acide gallique, caffeique et rosmarinique	Neutralisation des radicaux libres
Gingembre	<i>Ginger Zingiber officinale</i>	Gingerol, zingerone	
Curcuma	<i>Curcuma domestica L.</i>	Curcumins	
Poivre noir	<i>Piper nigrum L.</i>	Kaempferol, rhamnétine, quercétine	
Girofle	<i>Clove Eugenia caryophyllata</i>	Eugenol, isoeugenol, tannins, acide gallique	Neutralisation des radicaux libres, chélation des métaux
Marjolaine	<i>Majorana hortensis</i>	β -carotène, β -sitosterol, acide caffeique, eugenol, hydroquinone, acide rosmarinique	Neutralisation des radicaux libres
Cumin	<i>Cumin Cumimum cymimum</i>	Cuminal, γ -terpinène,	Neutralisation des radicaux libres, chélation des métaux

Selon leur origine, les pro-oxydants peuvent être des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou des espèces réactives de l'azote (ERN). Ces deux formes peuvent être des oxydants non radicalaires (dépourvu d'électrons non appariés) précurseurs des radicaux libres, comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'oxygène singulet (¹O₂), l'acide hypochloreux (HOCl) et le peroxydant (ONOO) ; ou bien des radicaux libres porteurs d'un électron non apparié, le radical hydroxyle (OH[•]), l'anion superoxyde (O₂^{•-}), le radical hydroperoxyde (HO₂[•]) et le monoxyde d'azote (NO[•]) (**Deramautd et al., 2013 ; Ruskovska et al., 2013**).

En fonction de leur concentration, les radicaux libres peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique. A faible concentration ils sont impliqués dans, l'apoptose, la régulation de facteurs de transcription et l'expression de certains gènes (telle que l'expression génétique d'enzymes antioxydantes) ainsi dans certaines voies de signalisation, le cycle cellulaire, la défense immunitaire et la phagocytose des bactéries par les cellules polymorphonucléaires (Favier, 2003; Haleng et al., 2007 ; Puca et al., 2013). Cependant dans certaines circonstances, l'excès de radicaux libres non maîtrisé par les systèmes de défense, s'avère très dommageable pour les macromolécules, les cellules et l'organisme (Favier, 2003; Haleng et al., 2007).

Les premières cibles privilégiées de l'oxydation sont les phospholipides membranaires et les acides gras polyinsaturés, acide linoléique et l'acide arachidonique (Cillard et al., 2006; Ruskovska et al., 2013 ; Olivares et al., 2016). La peroxydation des lipides est une réaction en chaîne provoquée par les dérivés de l'oxygène, en particulier le radical hydroxyle (OH[•]), qui est capable d'arracher un atome d'hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué (phase d'initiation), oxydé en radical peroxy (phase de propagation), et qui peut altérer de nombreuses molécules lipidiques en phase de terminaison (fig. n°07), ce qui provoque une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire (Favier, 2003; Cillard et al., 2006 ; Haleng et al., 2007; Ruskovska et al., 2013 ; Olivares et al., 2016).

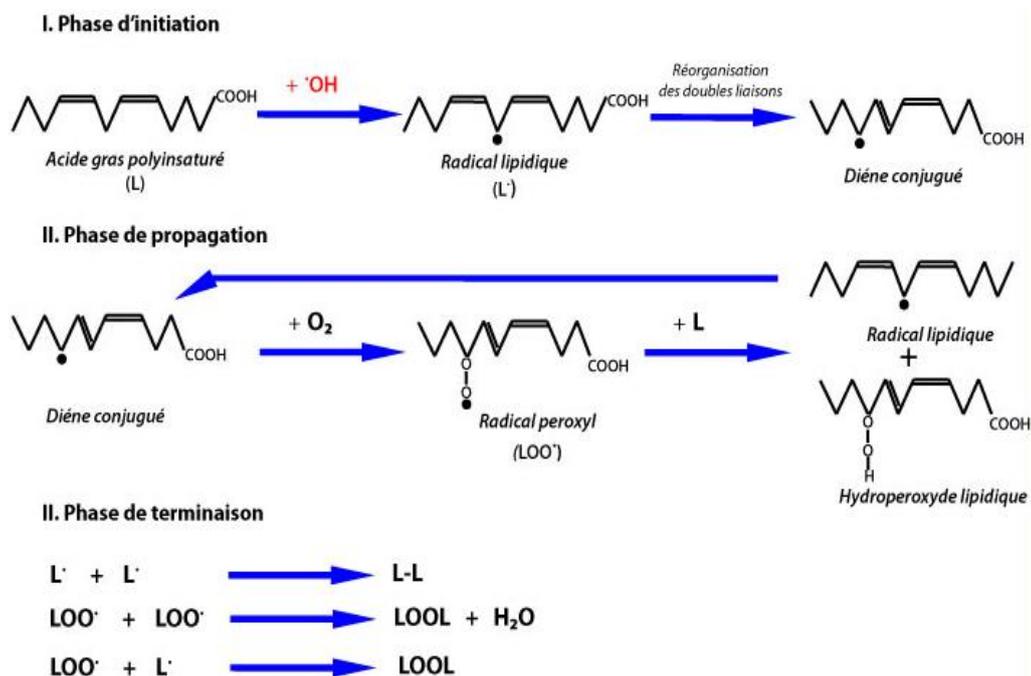


Figure n°07: Peroxydation lipidique induite par le radical hydroxyle (OH[•]) (Démarchez, 2012).

Les modifications oxydatives des protéines par les pro-oxydants peuvent être de plusieurs types ; soit par oxydation des chaînes latérales des acides aminés, sachant que les résidus aliphatiques (lysine, arginine), aromatique (tyrosine) et soufrés (méthionine, cystéine) sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux hydroxyles ; soit par formation de protéines carbonylées, issues d'un clivage de liaisons peptidiques, de l'oxydation de certains acides aminés, ou de l'interaction de leur chaîne latérale avec des produits de la peroxydation lipidique (**fig. n°08**). Ces modifications sont irréparables et conduisent à un changement de la structure secondaire et tertiaire, à l'agrégation ou à la protéolyse des protéines affectant ainsi la fonction de ces macromolécules (**Therond, 2006; Dichi et al.,2014; Mputu Kanyinda et al., 2014**).

Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et OH•, qui entraînent la dénaturation des protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant un dérivé AGE (Advanced Glycation End Products). Ce phénomène de glycoxydation est très fréquent chez les diabétiques, il contribue à la fragilité des parois vasculaires et de la rétine. Les pro-oxydants affectent également les mucopolysaccharides notamment les protéoglycanes du cartilage (**Spiteller, 2006 ; Van De Lagemaat et al., 2019**).

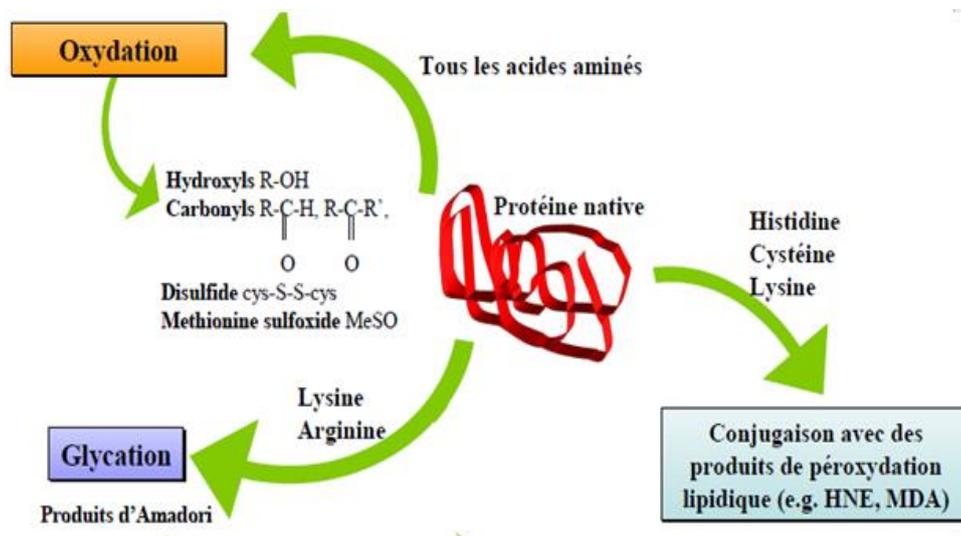


Figure n°08: Modifications oxydatives des protéines (**Petropoulos, 2011**).

L'oxydation peut endommager également l'ADN nucléaire et mitochondrial par oxydation des bases puriques et pyrimidiques (les bases guanines sont les sites préférentiels des réactions de transfert d'électron) ainsi que la rupture du squelette désoxyribose en provoquant le clivage des brins ou encore des liaisons entre la base et le désoxyribose (**fig. n°09**) (**Favier,**

2003; Valko et al., 2006). Ces modifications permanentes sont à l'origine d'un arrêt d'induction de la transcription, à des erreurs de réplication et à une instabilité génomique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement cellulaire (Favier, 2003; Valko et al., 2006 ; Zhang et al., 2013).

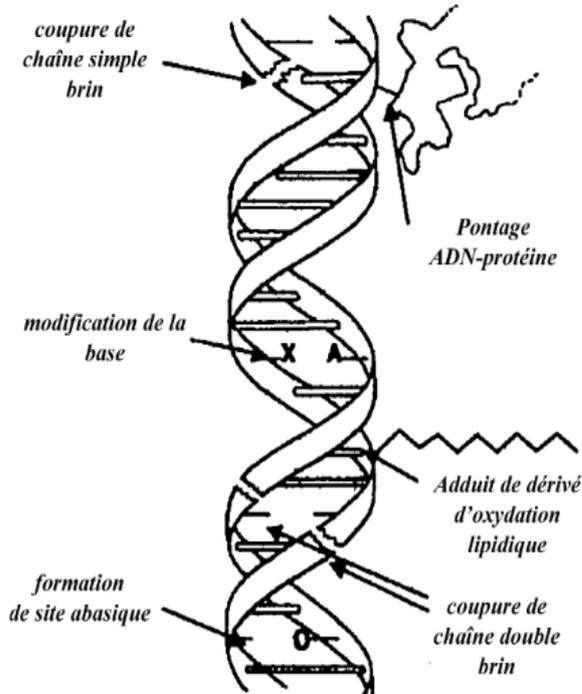


Figure n°09: Modifications oxydatives de l'ADN (Badouard, 2006).

L'oxydation des macromolécules est corrélée à un risque de développement de différentes pathologies, principalement l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives (Alzheimer et Parkinson), les maladies cardiovasculaires, le cancer et le diabète (Deramautd et al., 2013 ; Ruskovska et al., 2013 ; Liguori et al., 2018 ; Butterfield et al., 2019; Rabiei et al., 2019).

Selon l'OMS, le diabète sucré septième cause de décès dans le monde, est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique résultant d'une réduction de la sécrétion de l'insuline, ou de l'action de l'insuline, ou les deux associées. On distingue généralement trois types majoritaires du diabète, le type 1 (diabète insulino-dépendant), le type 2 (diabète non insulino-dépendant), le diabète gestationnel lié à une intolérance au glucose dépistée pour la première fois pendant la grossesse et autres types de diabète (Eddouks et al., 2007; Punthakee et al., 2018; Ben El Mostafa et al., 2019).

Le diabète de type 1, précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, représente 5 à 10% des cas et correspond à une destruction des cellules β pancréatiques aboutissant à une carence absolue en insuline, qui peut être d'origine auto-immune ou idiopathique. Il se manifeste par l'excrétion excessive d'urine (polyurie), une soif intense (polydipsie), une perte de poids, des troubles de la vision et la fatigue. Il touche généralement le sujet jeune (moins de 30 ans) (**Drouin et al., 1999 ; Daneman, 2006**).

Tandis que le diabète de type 2, anciennement appelé diabète non insulino-dépendant, résulte d'une insulino-résistance et/ou une insulino-déficience qui entraînent une hyperglycémie. Il représente 90 % des cas de diabète dans le monde, ses symptômes peuvent être similaires à ceux du diabète de type 1 mais sont souvent moins prononcés la raison pour laquelle son diagnostic ne s'établit qu'après plusieurs années de son apparition quand les complications sont déjà installées (**Daneman, 2006; Rigalleau et al., 2007**). Il résulte de différents facteurs déclenchant, environnementaux, comportementaux (la sédentarité et la mauvaise hygiène de vie), le stress de la vie moderne et aussi la prédisposition génétique (**Benkhiguel et al., 2014; OMS, 2016; Chandra et al., 2020**).

Quel qu'en soit le type, le diabète sucré peut entraîner des complications qui affectent plusieurs parties de l'organisme. Parmi les complications liées à l'hyperglycémie chronique figurent l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral, l'insuffisance rénale, l'amputation des jambes, la perte de vision et des lésions nerveuses (**Forbes et al., 2013 ; OMS, 2016**). Pendant la grossesse, un diabète mal maîtrisé accroît le risque de mortalité intra-utérine, des malformations congénitales, des complications obstétricales et d'autres complications (**Schlienger, 2013; Lemozy et al., 2014 ; OMS, 2016**).

En ce qui concerne les complications du diabète, la rétinopathie qui est la quatrième cause de perte de l'acuité visuelle chez les diabétiques, ainsi que l'œdème maculaire et la cataracte constituent la conséquence de l'hyperglycémie chronique. Aussi, la cardiopathie en association avec des lésions nerveuses (neuropathie) accroissent le risque d'ulcérations et d'infection des pieds du diabétique, nécessitant en définitive une amputation (**Schlienger, 2013; Lemozy et al., 2014; OMS, 2016**).

Le traitement initial du diabète repose sur les mesures hygiéno-diététiques par l'amélioration de l'hygiène nutritionnelle associée à un exercice physique régulier. Le traitement médicamenteux est nécessaire devant un effet incomplet ou un échec de ces

mesures, il est représenté essentiellement par l'insuline et les antihyperglycémiantes oraux visant à soigner et non à guérir la maladie (**tableau n°02**) (Coudreau, 2009 ; Wherrett *et al.*, 2013; Pillon *et al.*, 2014).

Tableau n°02: Quelques exemples des antidiabétiques et leurs caractéristiques (Pillon *et al.*, 2014).

Classe	Exemple de molécule	Mécanisme d'action	Avantages	Inconvénients
Insuline		Active directement le récepteur à l'insuline	Bon équilibre glycémique	Prise de poids Hypoglycémie Nécessité d'une surveillance de la glycémie
Biguanides	Metformine	Diminution de l'insulinorésistance (effet extrapancréatique)	Bonne tolérance à long terme Pas de prise de poids	Diarrhées Survenu d'une acidose lactique (à éviter en cas d'insuffisance rénale)
Sulfamides	Gliclazide Glibenclamide	Stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β	Bonne tolérance Faible coût	Hypoglycémie Augmentation du poids Nécessité de surveiller la glycémie
Analogues des glucagon-like peptide-1 (GLP-1)	Exénatide Liraglutide	Augmentation de la sécrétion d'insuline et suppression de la sécrétion du glucagon	Pas de prise de poids Faible risque d'hypoglycémie	Pancréatite À éviter en cas d'insuffisance rénale
Inhibiteurs des α-glucosidases	Acarbose Miglitol	Diminution de la dégradation des carbohydrates absorbables à l'intestin	Pas de prise de poids Faible coût	Flatulences Diarrhées

L'insulinothérapie est le traitement primordial du diabète de type 1. Dans le cas du diabète type 2, les antidiabétiques oraux demeurent indispensables. Ce traitement médicamenteux englobe des agents qui augmentent la sensibilité à l'insuline dits insulinosensibilisants (biguanides), des agents qui stimulent la sécrétion de l'insuline appelés insulinosécrétagogues (sulfamides hypoglycémiantes) et des molécules limitant l'absorption intestinale des hydrates de carbone disponibles (inhibiteurs des α -glucosidases) (Roussel *et al.*, 2004; Scheen, 2007).

Parmi les biguanides, on cite la metformine (Glucophage®), un antidiabétique oral de première intention lors de la prise en charge thérapeutique du diabète de type 2. Son action insulinosensibilisante inhibe la néoglucogenèse au niveau hépatique et stimule l'utilisation périphérique du glucose. Des données épidémiologiques récentes ont montré que cet antidiabétique exerce également une protection cardiovasculaire et présente des propriétés

antitumorales, indépendamment de son action sur la glycémie. Les différentes études réalisées avec les biguanides affirment que ces molécules permettent une diminution de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) de 1 à 2 % (Coudreau, 2009; Foretz *et al.*, 2014 ; Pilon *et al.*, 2014).

Les sulfamides hypoglycémiantes (famille des sulfonylurées) stimulent la sécrétion de l'insuline. Ces molécules se fixent sur leur récepteur au niveau de la membrane plasmique des cellules β -pancréatique SUR1 (sulfonyleurea receptor), ce qui inhibe l'efflux du potassium par fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants (Kir 6.2). L'élévation de la concentration du potassium intracellulaire qui en résulte, crée une dépolarisation cellulaire suffisante pour déclencher l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'influx du calcium conduit à l'exocytose des vésicules de l'insuline (fig. n°10) (Scheen, 2002; Faure, 2011; Monnier, 2014).

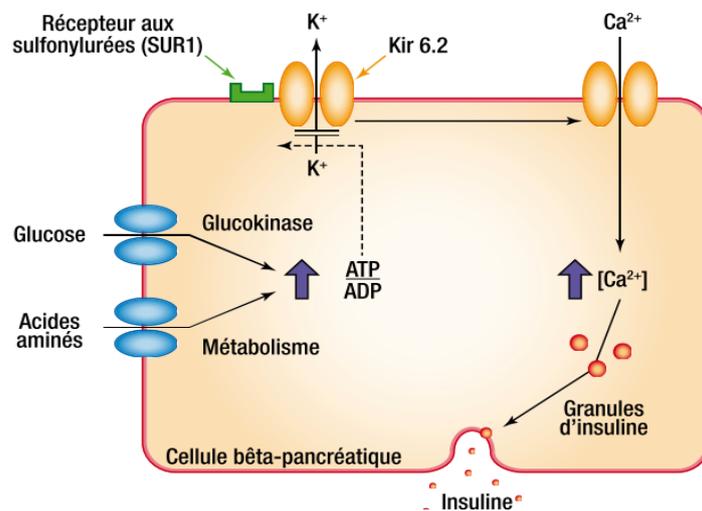


Figure n°10 : Mécanisme d'action des sulfamides (Faure, 2011).

De nouvelles approches pour les insulinosécrétagogues se basent sur le concept des incrétines, des hormones gastro-intestinales qui potentialisent la réponse insulinosécrétoire de manière glucose-dépendante. Elles regroupent le GLP-1 (les analogues du glucagon-like peptide 1) sécrétée en réponse au repas, et il sensibilise la cellule β -pancréatique à l'hyperglycémie pour sécréter l'insuline ; mais il est rapidement dégradé par l'enzyme dipeptidylpeptidase (DPP-IV) (Scheen, 2007 ; Scheen, 2015; Bauduceau *et al.*, 2019).

Les inhibiteurs des α -glucosidases agissent, comme leur nom l'indique, en inhibant de manière compétitive les α -glucosidases intestinales. Ils sont représentés par le miglitol et l'acarbose. Ce dernier, est un pseudo-tétraccharide d'origine microbienne qui inhibe de façon compétitive et réversible la liaison des oligosaccharides aux α -glucosidases intestinales (fig. n°11). L'incapacité de ces enzymes digestives à hydrolyser l'acarbose est due à la

formation d'une interaction électrostatique avec les groupements carboxyliques des acides aminés dans le site actif. Ces enzymes localisées au niveau de la bordure en brosse des entérocytes sont responsables de l'hydrolyse des polysaccharides en monosaccharides absorbables, tels le glucose et le fructose. Le ralentissement de la digestion et donc de l'absorption des glucides par les inhibiteurs des α -glucosidases permet de réduire l'hyperglycémie post-prandiale (Rosak et al., 2012; Pillon et al., 2014; Faure, 2017; Habtemariam, 2019).

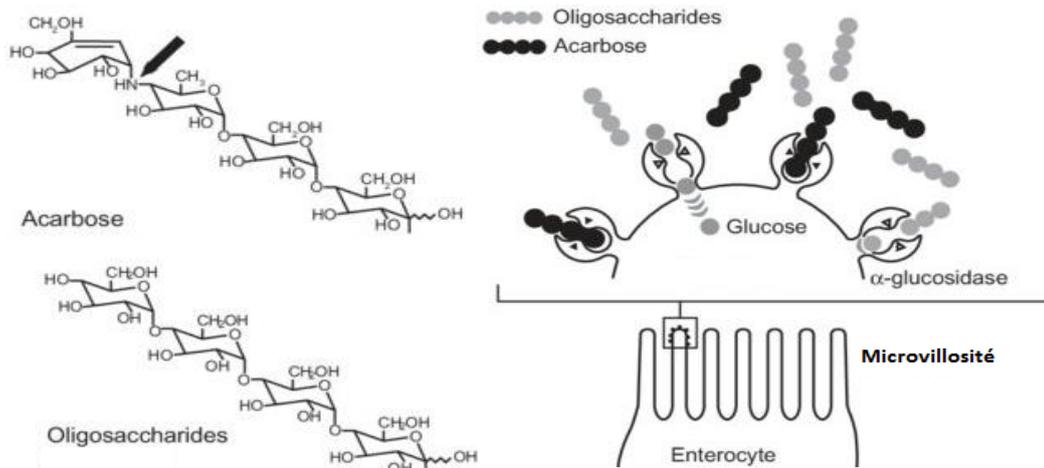


Figure n°11: Mécanisme d'action de l'acarbose (Rosak et al., 2012).

En raison de l'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels du diabète, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés (les troubles digestifs, hypoglycémie), ainsi le coût élevé pour les systèmes de santé dans les pays à faible revenu (17 % du budget total dans le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord) ; plusieurs recherches scientifiques sont intensément orientées vers l'exploitation des plantes médicinales comme source inépuisable de principes actifs et le développement de nouveaux médicaments antidiabétiques d'origine végétale (Pillon et al., 2014; Karuranga et al., 2017).

L'exemple classique est celui de la galégine, un alcaloïde dérivé de la guanidine qui possède des propriétés antidiabétiques puissantes, isolée de *Galega officinalis* (plante largement utilisée dans le traitement du diabète sucré). La metformine, un dérivé de la galégine, constitue l'unique représentante de la classe des biguanides utilisées aujourd'hui comme antidiabétique oral de référence pour traiter le diabète de type 2 (fig. n°12) (Foretz et al., 2014 ; Holaly et al., 2017; Habtemariam, 2019).

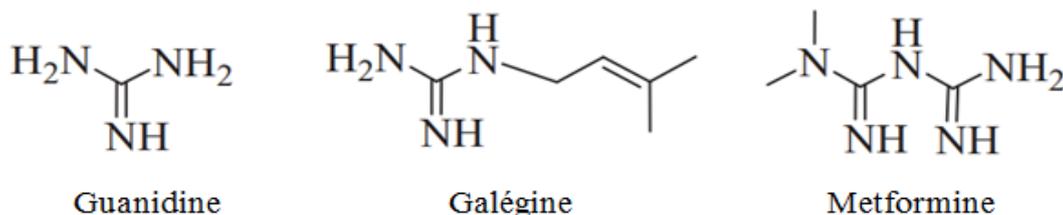


Figure n°12: Structure chimique de la Guanidine, Galéine et Metformine (Habtemariam, 2019).

Les ginsenosides (*Panax Ginseng Meyer*), le gingérol (*Zingiber officinale*) et la curcumine (*Curcuma longa*) constituent un autre groupe de métabolites secondaire à effet antidiabétique notamment dans la protection contre les complications cardiovasculaire, le **tableau n°03** résume le mécanisme d'action de quelques phytoconstituants antidiabétiques (Qi et al., 2011; Son et al., 2014; Holaly et al., 2017; Noipha et al., 2018; Tramontin et al., 2020).

Tableau n°03: Mécanisme d'action de certains phytoconstituants à effet antidiabétique (Ahangarpour et al., 2019)

Composant antidiabétique	Structure chimique	Mécanisme d'action
Resvératrol		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stimule l'absorption de glucose en absence d'insuline en augmentant l'expression des GLUT4. ▪ Stimule la sécrétion de l'insuline ▪ Diminue le taux de l'hémoglobine glyquée
Curcumine		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stimulation directe de la sécrétion de l'insuline par les des cellules β pancréatiques ▪ Inhibe la formation des AGE ▪ Empêche l'apparition de la cataracte
Acide chlorogénique		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Potentialise l'action de l'insuline sur les cellules cibles ▪ Diminue l'hyperglycémie postprandiale en inhibant l'α-glucosidase ▪ Inhibe la glucose-6-phosphatase ▪ Diminue (voir élimine) l'absorption intestinale du glucose par inhibition de la Glucose-6-phosphate translocase et la réduction du transport de glucose apical ▪ Stimule l'absorption du glucose dans les myotubes et les adipocytes par activation de la voie Kinase dépendante (AMPK)
Acide ellagique		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stimule la sécrétion de l'insuline ▪ Augmente la captation du glucose sanguin par les tissus périphériques ▪ Inhibe la formation de l'hémoglobine glyquée

L'hyperglycémie chronique favorise la génération des radicaux libres et expose la majorité des protéines de l'organisme, qu'elles soient tissulaires ou plasmatiques, extracellulaires ou intracellulaires, de manière cumulative et irréversible à un vieillissement moléculaire qui contribuent progressivement à l'altération de leurs propriétés structurales et fonctionnelles (**Schlienger, 2013, Jaisson et al., 2018**).

Les protéines plasmatiques, qui sont en contact directe avec le glucose sanguin sont les plus exposées à cette réaction comme l'albumine, l'insuline, l'hémoglobine, les immunoglobulines, les lipoprotéines (**Fournet, 2016**). Majoritairement ces altérations sont provoquées par des modifications post-traductionnelles non enzymatique, comme l'oxydation, la glycation, ou la carbonylation, qui correspondent le plus souvent à la fixation non enzymatique de métabolites simples sur les groupements fonctionnels des protéines (**Jaisson et al., 2019**).

La réaction de glycation non enzymatique, décrite pour la première fois par Maillard en 1912, consiste en la fixation non enzymatique et irréversible de sucre réducteur, hexoses comme: glucose, fructose, galactose, mannose et pentoses comme: ribose et xylulose, sur les fonctions amines des protéines (**Mihalache, 2008; Elosta et al., 2012; Fournet, 2016**).

La cible principale pour ces modifications est le groupe ϵ -NH₂ de lysines et le groupe guanidine des arginines. Dans le cas du glucose et du fructose les produits ainsi formés sont des glucosylamines, et des fructoselysines, respectivement (**Henle et al., 2003 in Mihalache, 2008**). Il s'agit d'un mécanisme complexe comprenant plusieurs étapes responsables de la formation de base de Schiff par liaison de la fonction aldéhyde ou cétone du sucre avec les fonctions amines des protéines. Un réarrangement moléculaire dans les bases de Schiff libère ainsi des produits plus stables appelés les produits d'Amadori (dans le cas des aldoses) ou de Heyns (dans le cas des cétooses, cas plus rare) (**Brownlee et al., 1988 in Mihalache, 2008**).

Ultérieurement, ces produits subissent de nombreuses réactions oxydatives pour former des intermédiaires réactifs, notamment des aldéhydes comme le méthylglyoxal, responsables de la formation de composés de structure complexe, souvent fluorescents, appelés AGE «Advanced Glycation End-products» ou PTG «Produits Terminaux de la Glycation» (**fig. n°13**) (**Jaisson et al., 2018**). Ces produits s'accumulent notamment au niveau du collagène et de la membrane basale glomérulaire (**Gillery, 2001; Bonnefont-Rousselot et al., 2004b; Gillery, 2006; Jaisson et al., 2018**).

Les AGE circulent dans le sang pour être éliminés par voie rénale, ils interviennent dans le métabolisme oxydatif par la fixation à des récepteurs membranaires spécifiques dont le plus connu est le RAGE (récepteur des AGE), glycoprotéine de 45 kDa exprimée à la surface de nombreuses cellules comme les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les lymphocytes, les monocytes, les polynucléaires et les neurones. Les AGE pourraient intervenir dans la fixation des LDL glycoxydées ce qui déclenche une signalisation qui conduit à un stress oxydant intracellulaire et l'expression des gènes impliqués dans la réponse inflammatoire (Schmidt *et al.*, 2000; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2004b; Gillery, 2006; Jaisson *et al.*, 2018).

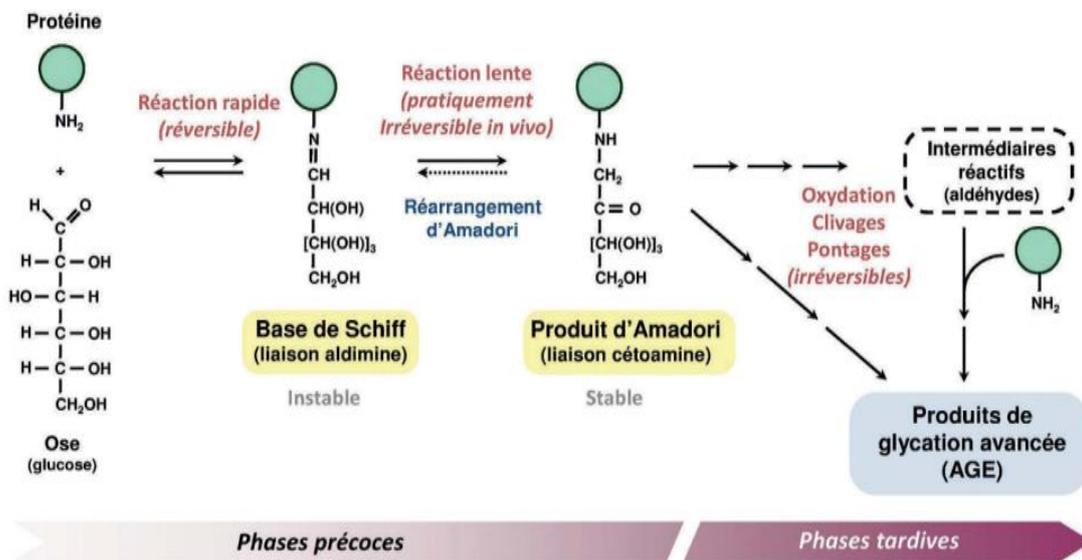


Figure n°13 : Etapes de la réaction de glycation non enzymatique des protéine (Jaisson *et al.*, 2018).

Les AGE induisent des modifications structurales et fonctionnelles au niveau de diverses protéines (**fig. n°14**). Les liaisons formées par les AGE sur le collagène entraînent une rigidité de ce dernier. L'albumine, les immunoglobulines G ou les lipoprotéines de basse densité (LDL) établissent également des liaisons avec ces produits et sont alors « piégés » au niveau des membranes basales, ce qui peut expliquer la participation des AGE aux complications diabétiques. Ces produits de glycation sont également susceptibles de s'associer avec la laminine, protéine structurale de la matrice extra-cellulaire (Verzijl *et al.*, 2002; Stitt, 2003; Bonnefont-Rousselot, 2004a; Gugliucci, 2014; Jaisson *et al.*, 2018).

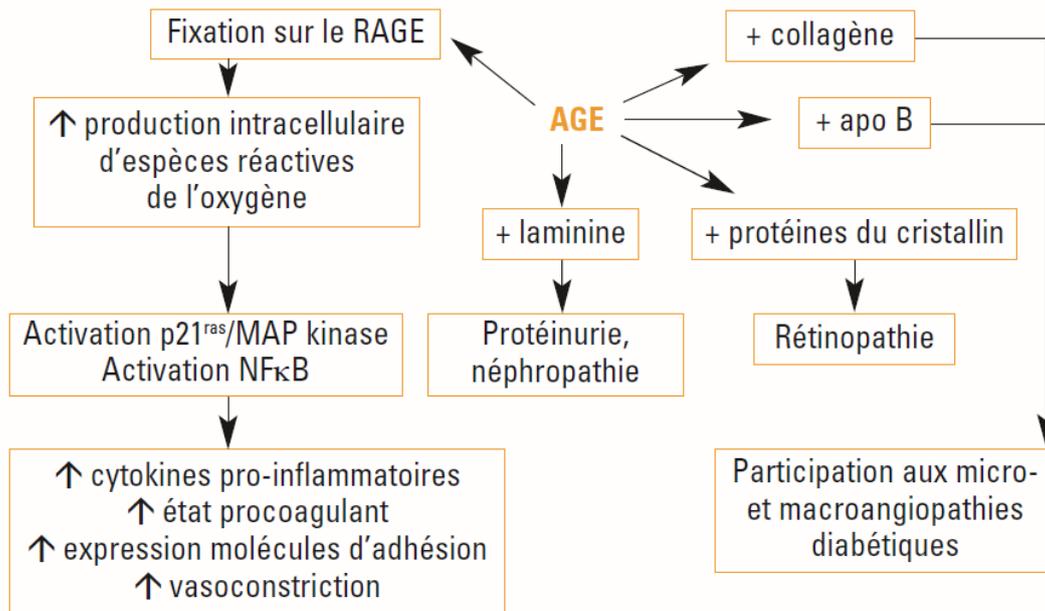


Figure n°14 : Conséquences fonctionnelles des AGE (Bonnefont-Rousselot, 2004a).

Les approches thérapeutiques utilisées actuellement reposent non seulement sur l'inhibition de la formation des AGE ou leur élimination, mais encore sur la limitation de la propagation de ces réactions. Il est nécessaire de proposer une thérapie complémentaire par des molécules anti-AGE chez les diabétiques afin d'éviter les complications de cette pathologie, et qui sont susceptibles de protéger les groupements amine libres des protéines, ou de neutraliser les produits de glycation avancés (AGE), c'est le cas de l'aminoguanidine molécule pharmaceutique inhibitrice de la glycation de l'albumine (Khalifah *et al.*, 1999; Wiernsperger, 2000; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2004b; Vatier *et al.*, 2010).

L'aminoguanidine un médicament pharmaceutique dérivé de la guanidine utilisée depuis une dizaine d'années, permet de limiter la progression de la réaction de glycation par inhibition de la production des AGE. Il se lie aux produits précoces de glycation, méthylglyoxal, glyoxal, et 3-désoxyglucosone en formant un composé neutre (Lewis *et al.*, 1990; Thornalley, 2003).

Outre les antioxydants, les antidiabétiques oraux eux-mêmes (metformine, troglitazone, gliclazide) peuvent présenter une activité antioxydante indépendante de leur action sur le contrôle glycémique, ce qui leur confère un fort potentiel thérapeutique anti-AGE, tels que la metformine, qui inhibe la formation de produits de glycation et dispose d'une autorisation de mise sur le marché (Khalifah *et al.*, 1999; Wiernsperger, 2000; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2004b; Vatier *et al.*, 2010).

Certains produits naturels qui peuvent être des extraits bruts de plantes médicinales ou des phytoconstituants purifiés, sont capables de présenter un effet antiglycant en inhibant les différentes étapes de la glycation. Comme la curcumine, un polyphénol isolé de *Curcuma longa*, inhibe l'accumulation des AGE. De même, la catéchine et l'acide gallique isolés du thé vert sont responsables de l'inhibition de la formation des bases de Schiff (**Elosta et al., 2012; Chinchansure et al., 2015**). La myricétine, l'apigénine et la lutéine exercent leur effet antiglycant par inhibition de la formation des produits d'Amadori, tandis que le kaempférol, épigallocatechine-gallate et les anthocyanidines sont des bloqueurs de transformation de produits d'Amadori en AGE, ou bien des bloqueurs des AGE formés (**Chinchansure et al., 2015**).

En dehors du stress oxydatif et du diabète sucré, la valorisation des effets thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques et l'exploitation de leurs principes actifs pour l'innovation de nouvelles formules pharmaceutiques, a touché également et à grande échelle les maladies infectieuses, qui constituent la première cause mondiale des décès prématurés tuant près de 50 000 personnes tous les jours (**Ahmad, 2001; OMS, 2020**).

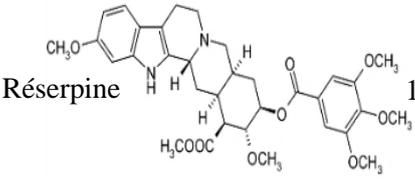
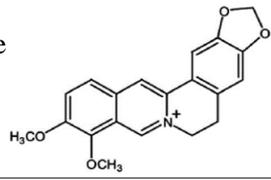
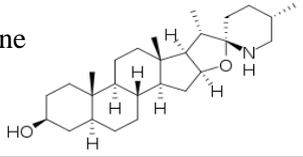
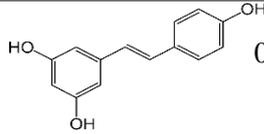
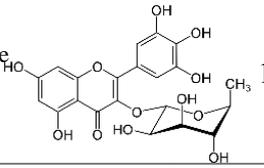
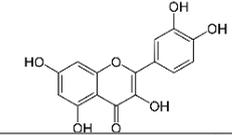
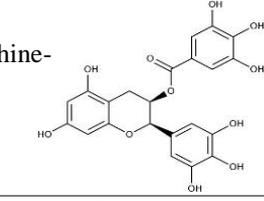
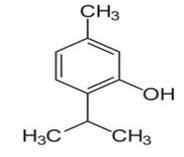
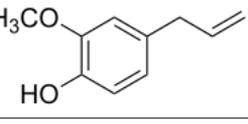
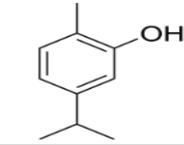
L'utilisation massive et abusive des antibiotiques, a permis l'apparition de souches résistantes et l'installation de la résistance aux antibiotiques, qui est devenue un problème de santé publique d'amplitude croissante, particulièrement suite à l'apparition de multirésistances (**OMS, 2018; OMS, 2020**). Plusieurs exemples illustrent l'ampleur de la menace de l'antibiorésistance, *Staphylococcus aureus* méthicilline-résistant constitue l'une des causes d'infections nosocomiales les plus répandues dans le monde, ainsi que les entérocoques sont fréquemment retrouvés chez des patients souffrant d'infections urinaires. L'émergence de la résistance de *Candida sp.* aux antifongiques est à l'origine des échecs thérapeutiques, et constituent de graves problèmes de santé (**FIP, 2008; Warnet, 2011; FAO, 2017; Dannaoui, 2013**).

Face à la menace récurrente de la résistance aux antimicrobiens, de nouvelles stratégies thérapeutiques sont indispensables pour traiter les maladies infectieuses. De ce fait, la mise en valeur du pouvoir antimicrobien des plantes médicinales est devenu d'une extrême importance pour la découverte et le développement de nouveaux médicaments anti-infectieux, ou des moyens de lutte efficaces contre cette antibiorésistance (**Yakhlef et al., 2011; Aouadhi et al., 2013; Chebaibi et al., 2016; Vernhet et al., 2016**).

Plusieurs travaux scientifiques ont déterminé le mécanisme d'action antimicrobien de phytoconstituants qui sont considérés comme antimicrobiens quand leur CMI est variable entre 100 et 1000 µg/mL (**Patra, 2012; Simões et al., 2012**). Parmi ces composés, les terpénoïdes et les huiles essentielles sont les plus puissants, suivis par les composés phénoliques, les quinones et les alcaloïdes (**Cowan, 1999; Simões et al., 2009; Saleem et al., 2010; Zida et al., 2017**).

Les phytoconstituants peuvent agir sur les micro-organismes selon plusieurs mécanismes d'actions qui sont en relation avec la nature chimique de ces composés. Ils peuvent inhiber la synthèse des protéines ou de l'ADN, mais majoritairement sont des inhibiteurs de la pompe à efflux membranaires et déstabilisateurs de la membrane cellulaire (**Patra, 2012; Simões et al., 2012**). Le **tableau n°04** résume le mécanisme d'action de certains métabolites sur des souches bactériennes et fongiques.

Tableau n°04 : Le mécanisme d'action antimicrobien de certains composés phytochimiques (Khameneh et al., 2019).

	Composé phytochimique	Concentration	Mécanisme d'action et souches sensibles
Alcaloïdes	 <p>Résérpine</p>	10 mg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>Staphylococcus sp.</i>, <i>Streptococcus sp.</i>, <i>Micrococcus sp.</i>
	 <p>Berbérine</p>	4 mM	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibiteur de la division cellulaire, Inhibiteur de la synthèse des protéines et de l'ADN chez <i>Escherichia coli</i> et <i>Candida albicans</i> ▪ Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>E. coli</i>
	 <p>Tomatidine</p>	5mg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibiteur de la pompe ATP synthase chez <i>Listeria</i>, <i>Bacillus</i> et <i>Staphylococcus spp.</i>
Composés phénoliques	 <p>Resvératrol</p>	0,064 à 0,313 mg/mL	
	 <p>kaempférol 3-O-rhamnoside (Afzeline)</p>	1,56 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>Mycobacterium smegmatis</i>, <i>Campylobacter jejuni</i>, <i>S. aureus</i>
	 <p>Quercétine</p>	75 µg/mL	
	 <p>Epigallocatechine-gallate</p>	64 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibition de la dihydrofolate reductase chez <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Terpénoïdes	 <p>Thymol</p>	49,37 µg/mL	<p>Chez <i>C. albicans</i> joue le rôle de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibiteur de l'ATPase-H⁺ au niveau de la membrane cellulaire ▪ Déstabilisateur de la membrane cellulaire ▪ Inhibiteur de la pompe à efflux
	 <p>Eugénol</p>	350 à 500 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Déstabilisateur de la membrane cellulaire chez <i>A. niger</i>, <i>A. fumigatus</i>, <i>A. flavus</i>, <i>A. ochraceus</i>, <i>Alternaria alternata</i>.
	 <p>Carvacrol</p>	7 à 8µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Déstabilisateur de la membrane cellulaire et Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>E. coli</i>, <i>E. aerogenes</i>, <i>S. aureus</i>.

À l'échelle internationale les plantes médicinales et aromatiques sont d'une importance considérable dans la recherche scientifique, suscitant un intérêt croissant des industries pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. L'Algérie, par sa biodiversité climatique et végétale, constitue un véritable réservoir d'un grand nombre de plantes médicinales, dont une minorité de ces espèces ont fait l'objet de nombreuses études scientifiques. Dans ce contexte s'articule l'objectif de la recherche scientifique du laboratoire, Antibiotique, Antifongique : Physico-chimie synthèse et activité biologique, qui s'intéresse à la recherche d'éventuelles activités biologiques essentiellement antidiabétiques, antioxydantes ou antimicrobiennes des plantes médicinales locales. De ce fait, dans la présente étude nous nous sommes intéressées à deux espèces végétales de la région de Tlemcen, *Ziziphus jujuba* (famille des rhamnacées) et *Micromeria inodora* (famille des lamiacées). Ces deux espèces sont répertoriés dans les enquêtes ethnobotaniques pour leurs propriétés médicinales, essentiellement antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreuse et antimicrobienne (Beniston et al., 1984; Mukhtar et al., 2004; Stojanovi et al., 2008; Goetz, 2009; San et al., 2010).

Ziziphus jujuba Mill. (famille des Rhamnacées), communément appelé le jujube ou « *Sfisef* », est un arbre épineux pouvant atteindre 12m de hauteur. Les feuilles sont pétiolées de 1,1 à 5,8 cm de long. Le fruit à pulpe acide et sucré, est une drupe comestible (à l'état frais ou sec) globuleuse ou ovale d'une couleur jaune-verdâtre et rouge à maturité (fig. n°15) (Mahajan et al. 2009; Tripathi et al. 2014; Zatout et al., 2021). Le fruit du jujubier utilisé dans plusieurs préparations alimentaires (confitures, pain, gâteaux, compotes, gelée, etc.) est caractérisé par sa teneur élevée en composés bioactifs tels que les sucres, les protéines, les lipides (acide oléique 71,7% et acide linoléique 15%), les vitamines (A, B et C), le calcium, les fibres alimentaires, les minéraux, et les antioxydants naturels (Tripathi et al., 2014; Rashwan et al., 2020). En médecine traditionnelle, les fruits, les feuilles, les graines, les racines et l'écorce sont largement utilisés pour le traitement du diabète sucré, la fièvre, les plaies, les ulcères, l'inflammation et l'asthme (Mukhtar et al., 2004; Goetz, 2009; San et al., 2010; Tripathi et al., 2014).



Figure n°15: Les parties végétatives et florales de *Ziziphus jujuba* (Akhter et al., 2013).

La phytochimie de *Ziziphus jujuba* a révélé la présence dans les différentes parties de cette espèce des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines et des tanins. La sativanine (-A, -B, -C, ...-K), la frangulanine et la ziziphine (-A, -B, -C, ...-Q) sont des alcaloïdes cyclopeptidiques majoritaires du jujubier (**fig. n°16**), caractérisés par leurs propriétés sédatives, antimicrobiennes et antitumorales (Mahajan et al., 2009; Tripathi et al., 2014).

Les feuilles et le fruit du jujubier sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes, en particulier la rutine et apigénine-7-glucoside au niveau des feuilles ; la catéchine, la rutine, le kaempférol, la quercétine 3-O-robinobioside, la quercétine 3-O-rutinoside, l'épicatéchine et l'acide caféique au niveau des fruits, qui sont riches en α -tocophérol et β -carotène (Pawlowska et al., 2009; Damiano et al., 2017; Xie et al., 2017). Le jujubier renferme également d'autres flavonoïdes, acides phénoliques et terpénoïdes comme l'acide bétulinique, acide oléanolique et acide ursolique, l'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide chlorogénique, l'acide syringique, acide *p*-coumarique, l'acide férulique, la procyanidine, la magnoflorine, la spinosine, l'isospinosine, la jujuboside A et B (**fig. n°17**) (Guo et al., 2010; Zhang et al., 2010; Liao et al., 2012; Wang et al., 2014; Shi et al., 2018).

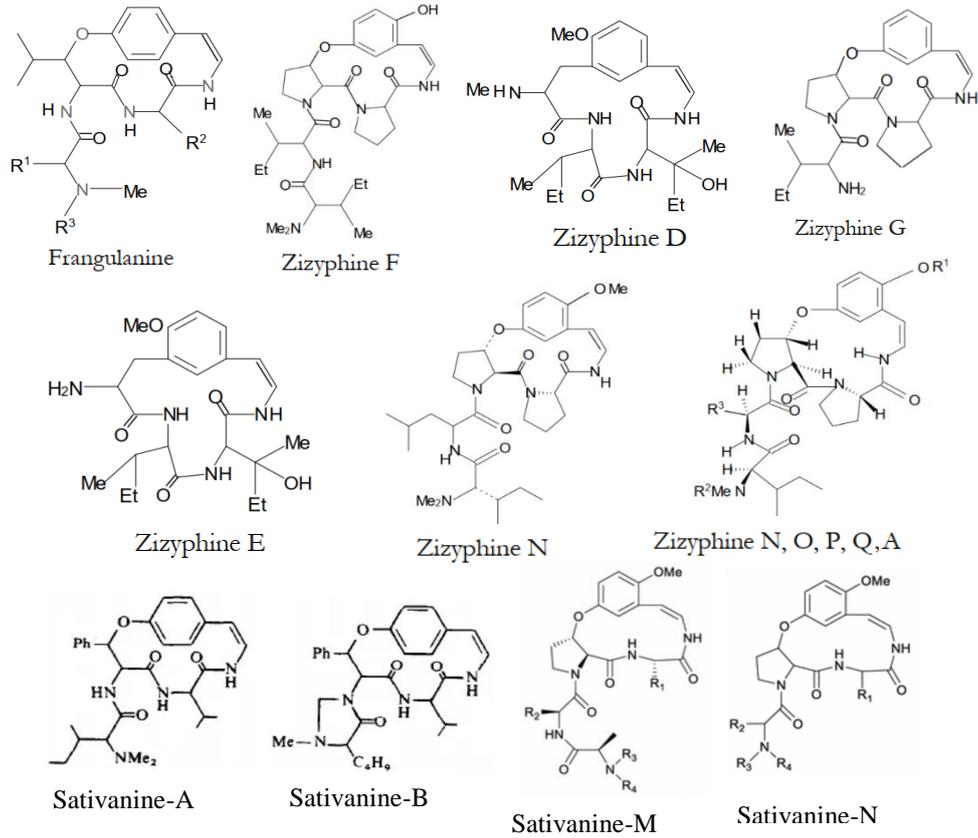


Figure n° 16: Structure chimique de certains alcaloïdes cyclopeptidiques identifiés dans *Z. jujuba* (Mahajan et al., 2009)

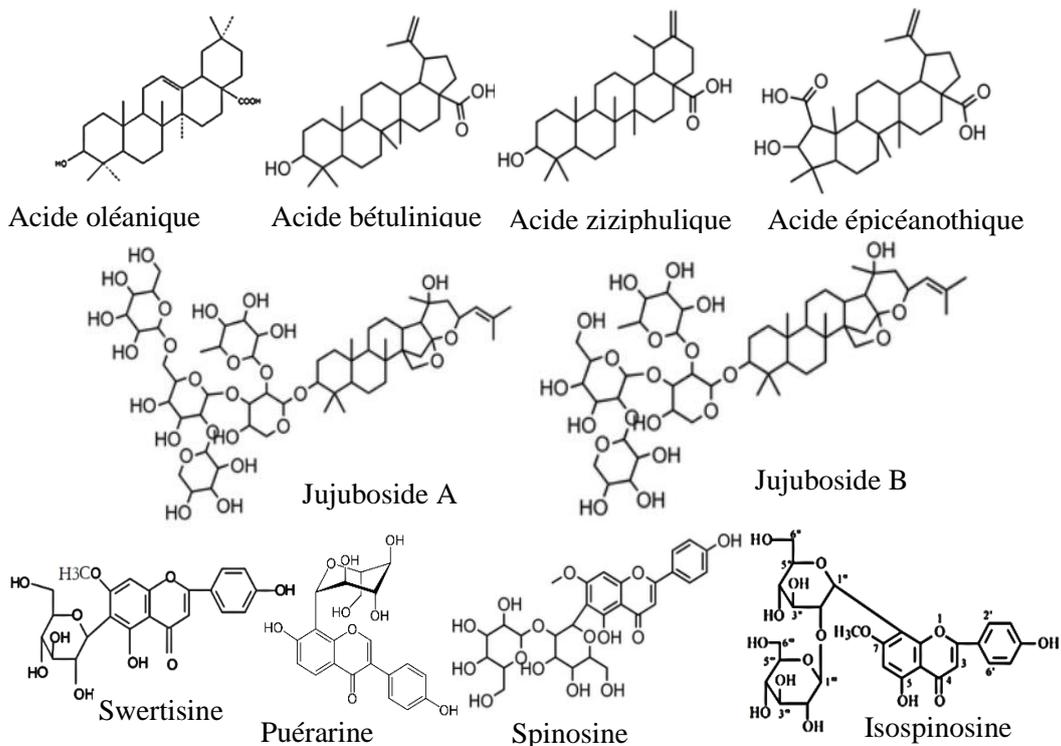


Figure n° 17: Structure chimique de certains terpénoïdes et flavonoïdes identifiés dans *Z. jujuba* (Mahajan et al., 2009).

Selon la littérature, plusieurs travaux scientifiques ont démontré certaines propriétés pharmacologiques des extraits de *Z. jujuba*. Les extraits de feuilles qui présentent un effet anti-inflammatoire aux doses 200, 400 et 600 mg/kg, assurent chez les rats diabétiques un effet hypoglycémiant et hypolipidémiant. Les extraits du fruit, notamment les terpénoïdes acides présentent *in vitro* une cytotoxicité élevée sur des lignées cellulaires tumorales, ainsi une activité antioxydante et antimicrobienne remarquable. De même, l'extrait des feuilles joue un rôle immunostimulant en augmentant le chimiotactisme et la phagocytose des neutrophiles, il possède également une activité antiulcéreuse dose-dépendante attribuée probablement à son action cytoprotectrice et anti-sécrétoire (Shirdel et al., 2009; Xue et al., 2009; Goyal et al., 2011; Niamat et al., 2012; Tripathi et al., 2014).

Les feuilles présentent également une activité cardiovasculaire, anti-diarrhéique et anti-obésité. L'extrait de graines est responsable d'un effet hypnotique-sédatif et anxiolytique, il réduit l'anxiété et induit le sommeil sans être un anticonvulsivant ou un relaxant musculaire ; tandis que, l'extrait méthanolique des écorces (5% et 10% w/w) révèle une activité cicatrisante des plaies chez les rats albinos (Shirdel et al., 2009; Xue et al., 2009; Goyal et al., 2011; Niamat et al., 2012; Tripathi et al., 2014).

En ce qui concerne la deuxième plante étudiée dans ce travail de thèse, *Micromeria inodora*, est une plante de la famille des Lamiacées. Cette dernière regroupe les plantes à fleurs environ 220 genres et 4000 espèces dans le monde, qui sont caractérisés par leurs vertus thérapeutiques (Naghbi et al., 2005). Les différentes espèces de cette famille (*Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum*) riches en flavonoïdes, terpénoïdes (Carvacrol, thymol) et acides phénoliques sont largement utilisées en médecine traditionnelle comme antibactérienne, antivirale, antifongique, antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire (Naghbi et al. 2005; Ni et al., 2015). Les espèces de *Micromeria* sont généralement consommées sous forme de tisane contre les rhumes, elles sont également utilisées contre les troubles cardiaques, les maux de tête, les plaies et les infections cutanées (Valverde, 1991; Ali-shtayeh et al., 1998; Telci et al., 2007; Stojanovi et al., 2008). Ces espèces contiennent un large éventail de phytoconstituants tels que les terpénoïdes, les phénols et les flavonoïdes comme l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique, l'apigénine et la thymonine (Šamec et al., 2015; Azab, 2016; Kordkolaei et al., 2019). Leurs huiles essentielles sont caractérisées par leurs activités antimicrobienne, antispasmodique et antioxydante (Abdelwahab et al., 2015; Azab, 2016; Brahmi et al., 2017).

En Algérie huit espèces de *Micromeria* ont été identifiées dont *M. inodora* (Desf.) Benth., elle est connue sous plusieurs synonymes : *Satureja fontanesii* Briq., *Micromeria barceloi* Willk., *Satureja Barceloi* (Willk. Pau), et en particulier *Thymus inodorus* Desf., ce dernier est communément appelé « Thym inodore ».

M. inodora est un sous-arbrisseau caractérisé par des tiges dressées et très ramifiées de 10 à 50 cm de long, de petites feuilles (2-3mm) sessiles, et de petites fleurs axillaires (**fig. n°18**). Cette plante inodore s'étend sur les roches et le calcaire dans la région ouest-méditerranéenne et surtout au niveau du littoral de l'ouest Algérien, où le nom vernaculaire de cette plante est "*Tazir ahmeur*" (Quezel, 1963; Beniston et al., 1984 ; Valverde , 1991; Stojanovi et al., 2008).



Figure n°18: Les parties végétatives et florales de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. (Ivorra et al., 2017; Bouriah et al., 2021).

En Algérie, très peu de travaux scientifiques sont consacrés à l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés biologiques de *M. inodora*, dont l'évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles ont fait l'objet de ces travaux. Les travaux de Benomari et al., (2016), ont révélé une forte inhibition de certaines souches Gram-positives impliquées dans les infections nosocomiales (*S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* et *E. faecalis*) par les huiles essentielles de la partie aérienne de *M. inodora* récoltée dans 24 stations sur l'Ouest d'Algérie.

Les principaux composés déterminés dans les huiles essentielles sont (**fig. n°19**) trans-sesquisabinène hydraté (**1** ; 20,9 %), α -acétate terpinyle (**2** ; 19,8 %), le globulol (**3** ; 4,9 %), l'oxyde de caryophyllène (**4** ; 4,3 %), le β -bisabolol (**5** ; 2,9 %) et trans-7-épi-sesquisabinène hydraté (**6** ; 2,6 %) (Benomari et al., 2016).

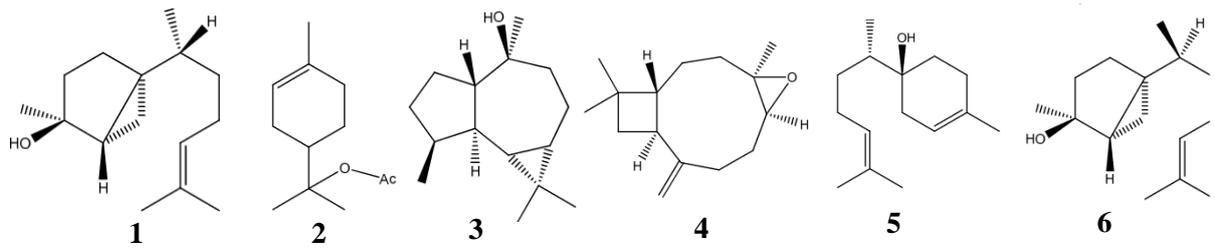


Figure n°19 : Structure chimique de certains composés identifiés dans les huiles essentielles de la partie aérienne de *M. inodora* (Benomari et al., 2016).

Dans les extraits de la partie aérienne de *M. inodora* récoltée dans la région montagneuse à Oran, l'analyse chimique réalisée par Bouriah et al., (2021) a déterminé la présence de flavonoïdes aglycones et glycosylés, des dérivés de phénylpropanoïdes et des acides triterpéniques, principalement dans les extraits du méthanol, dichlorométhane et de l'hexane (fig. n°20).

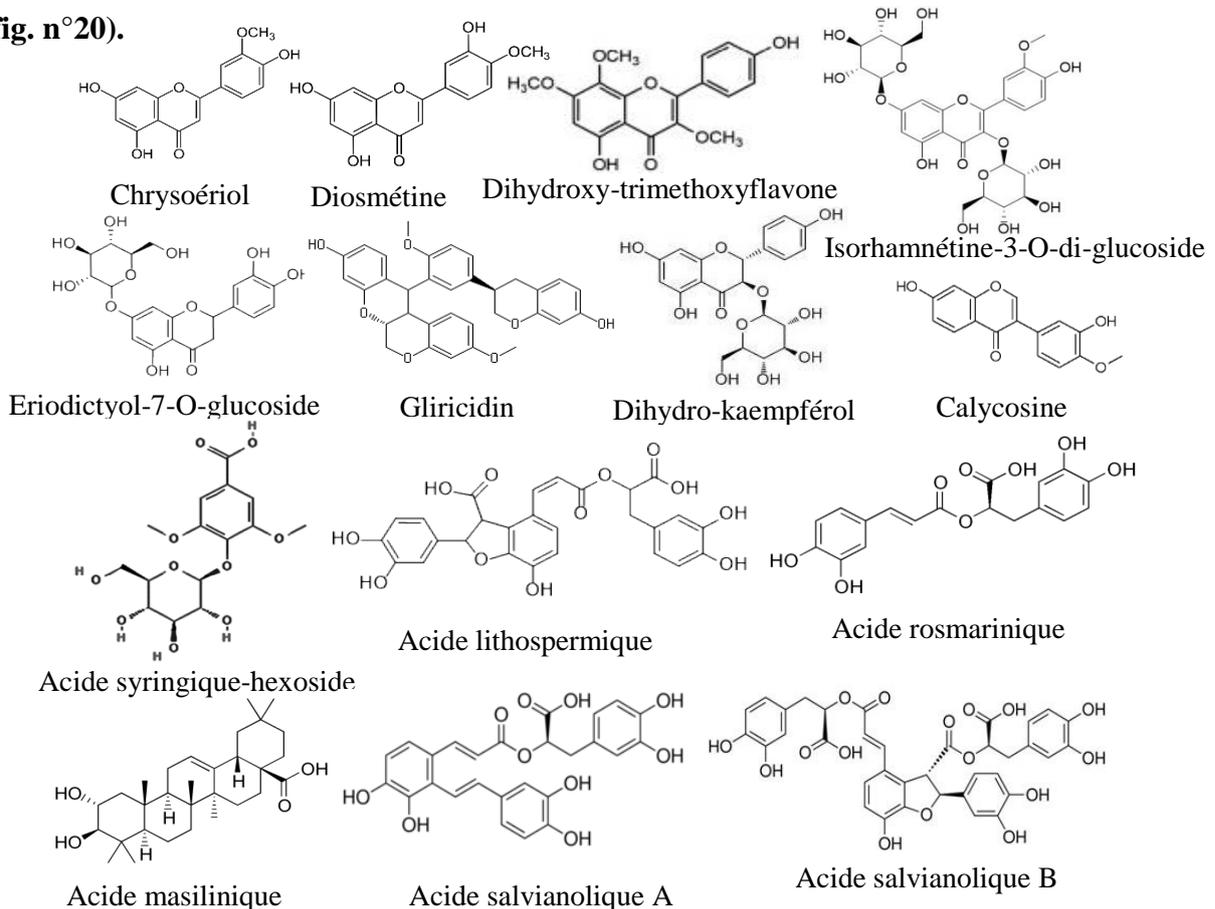


Figure n°20: Structure chimique de certains composés identifiés dans les extraits de la partie aérienne de *M. inodora* (Bouriah et al., 2021).

Matériel et méthodes

La partie expérimentale de ce présent travail, a été réalisée au sein de laboratoire de recherche Antibiotique, Antifongique : Physico-chimie synthèse et activité biologique (LAPSAB), université de Tlemcen. Le protocole expérimental regroupe deux grandes parties ;

- 1) La première partie est consacrée à l'étude phytochimique des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*. Elle consiste à la préparation des extraits aqueux et organiques par des méthodes d'extraction chimiques. Un screening phytochimique, une identification et une détermination du taux de polyphénols et flavonoïdes.
- 2) La deuxième partie concerne l'évaluation *in vitro* de certaines activités biologiques des extraits préparés. L'activité antioxydante réalisée par l'utilisation de tests: DPPH, FRAP, β -carotène et CAT. L'activité antidiabétique a été évaluée par deux tests ; l'effet des extraits sur l'activité des enzymes intestinales, α -amylase et α -glucosidase en point terminale et en cinétique, l'effet antiglycan de l'albumine du sérum bovin (BSA); et enfin l'évaluation de l'activité antimicrobienne, testée par les méthodes de diffusion sur disque et de microdilution.

1. Etude phytochimique

1.1 Le matériel végétal

La pulpe du fruit de *Ziziphus jujuba* Mill. et la partie aérienne de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. constituent le matériel végétal utilisé dans cette étude (**fig. n°21, n°22**). L'identification botanique des échantillons a été effectuée au laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels, département de biologie, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

Le fruit du jujubier a été récolté à maturité au cours du mois de septembre dans la région de Beni Snous, Wilaya de Tlemcen, Ouest Algérien. La partie aérienne de *M. inodora* a été récoltée durant sa période de floraison, au mois d'octobre, dans la région de Souahlia, Wilaya de Tlemcen-Algérie. Au laboratoire, le matériel végétal collecté a été séché à l'ombre et à température ambiante, puis la pulpe du fruit *Z. jujuba* et la partie aérienne de *M. inodora* sont récupérés et conservés soigneusement jusqu'à leur utilisation ultérieure pour la préparation des extraits.



Figure n°21: Fruit de la plante *Z. jujuba*.



Figure n°22: Partie aérienne de la plante *M. inodora*.

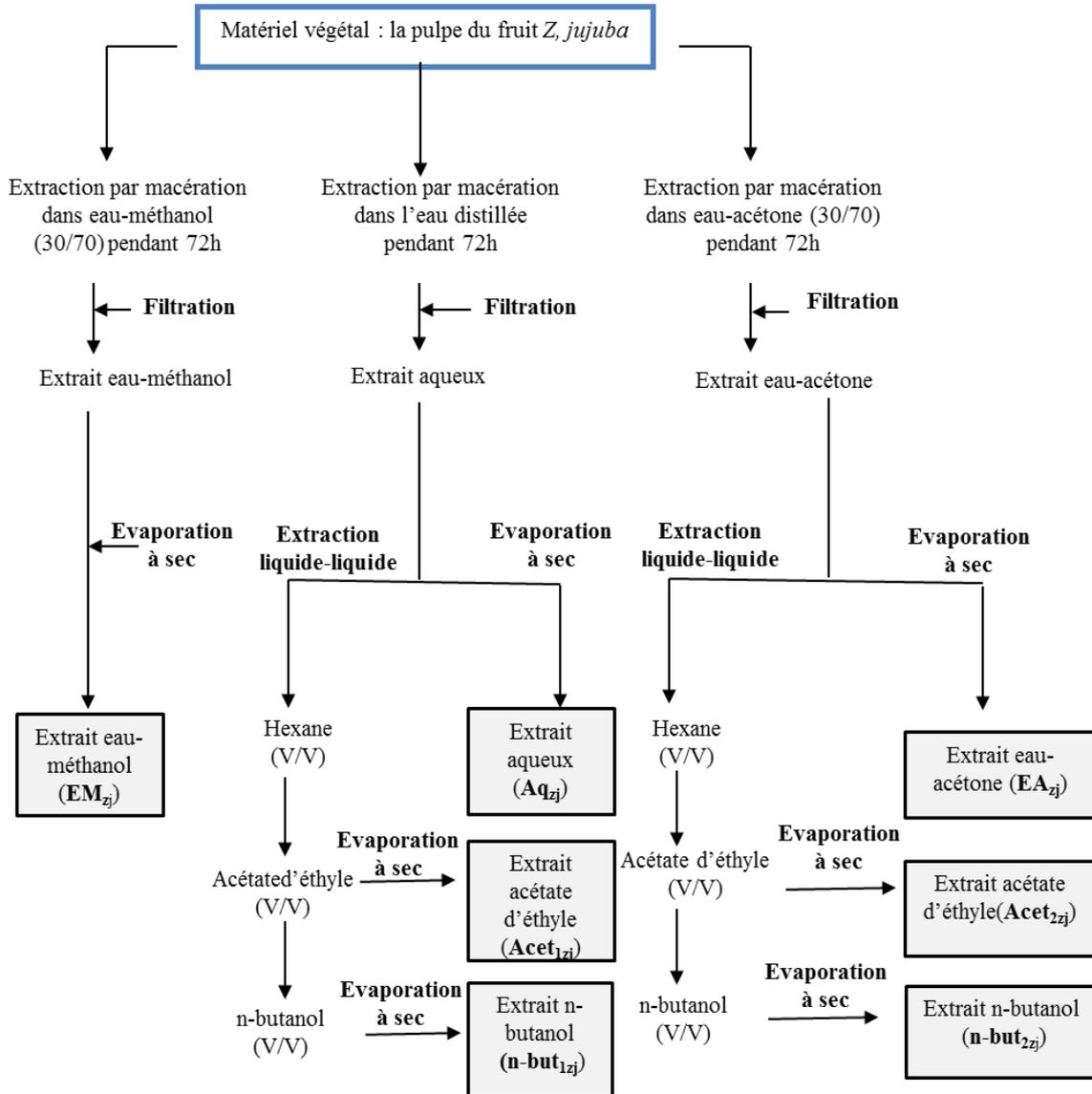
1.2 Préparation des extraits

La pulpe du fruit de *Z. jujuba* et la partie aérienne de *M. inodora* ont fait l'objet de différentes extractions chimiques pour la préparation des extraits aqueux et organiques.

10 g de la pulpe du fruit sec de *Z. jujuba* ont été macérés dans 300 mL du solvant qui peut être, l'eau distillée pour préparer l'extrait aqueux ($\mathbf{Aq_{zj}}$) ; le mélange eau-acétone et eau-méthanol (30/70 v/v) pour préparer les extraits eau-acétone ($\mathbf{EA_{zj}}$) et eau-méthanol ($\mathbf{EM_{zj}}$), respectivement. Les extraits préparés ont été concentrés au rotavapeur puis évaporés à sec dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Les extraits aqueux et eau-acétone ont subi un fractionnement liquide-liquide en utilisant le solvant acétate d'éthyle et le n-butanol. Les fractions récupérées à partir de l'extrait aqueux sont: $\mathbf{Acet_{1zj}}$ et $\mathbf{n-but_{1zj}}$, tandis que les fractions acétate d'éthyle ($\mathbf{Acet_{2zj}}$) et n-butanol ($\mathbf{n-but_{2zj}}$) ont été récupéré à partir de l'extrait eau-acétone (**fig. n°23**).

En ce qui concerne la plante *M. inodora*; 40 g de la partie aérienne sèche a été mise en extraction par macération dans 600 mL d'eau distillée pour préparer l'extrait aqueux ($\mathbf{Aq_{MI}}$), dans le mélange eau-acétone et eau-méthanol (30/70 v/v) pour préparer les extraits eau-acétone ($\mathbf{EA_{MI}}$) et eau-méthanol ($\mathbf{EM_{MI}}$), respectivement. Les extraits préparés ont été

concentrés au rotavapeur puis évaporés à sec dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Les extraits acétate d'éthyle (**Acet_{MI}**) et n-butanol (**n-but_{MI}**) ont été récupérés après fractionnement de



l'extrait aqueux (fig. n°24).

Figure n°23: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits à partir de la pulpe du fruit de *Z. jujuba*.

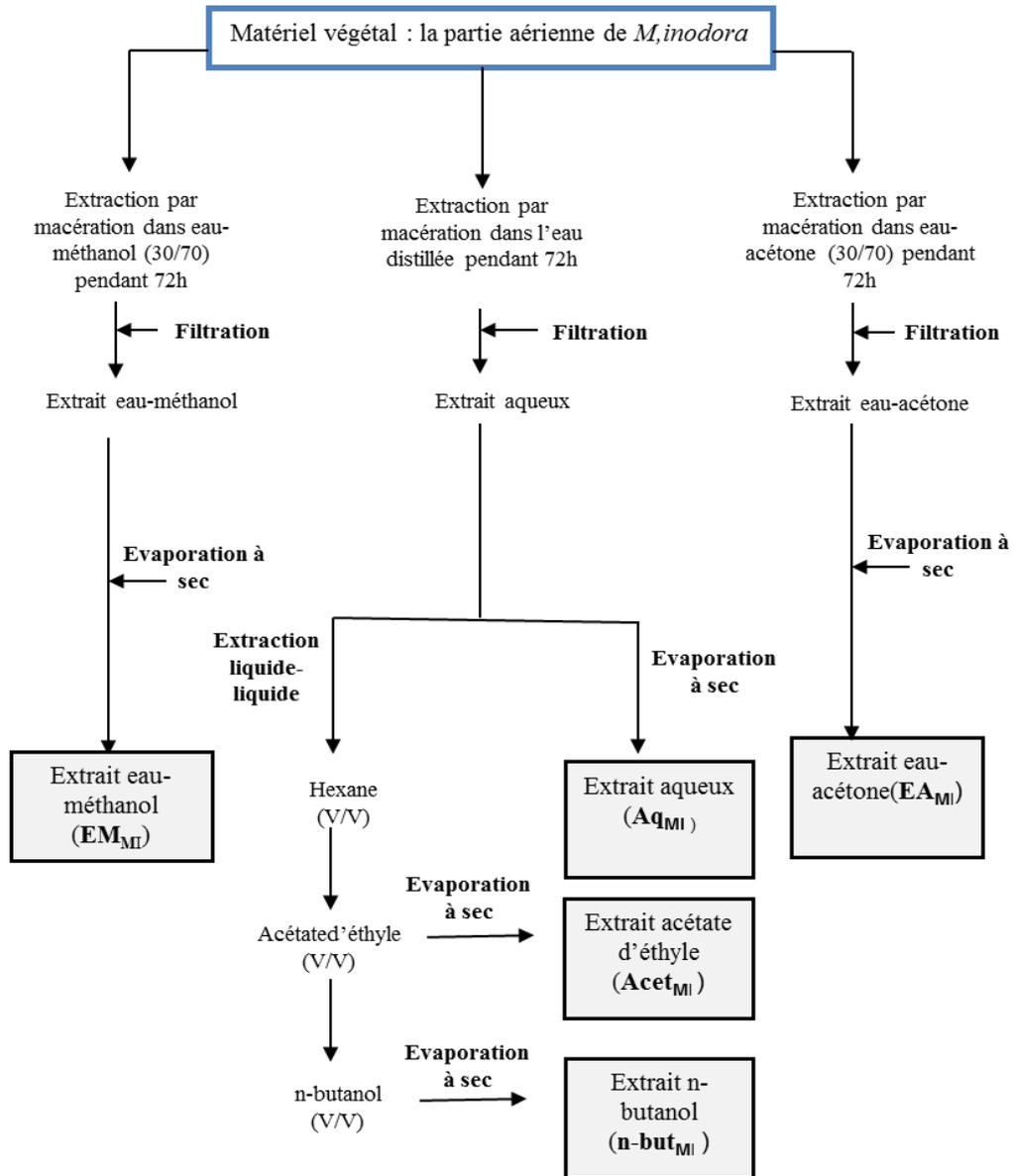


Figure n°24: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits à partir de la partie aérienne de *M. inodora*.

1.3 Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction défini comme étant le rapport entre la masse du produit sec récupéré après extraction et la masse de la matière végétale sèche initiale ayant servi pour l'extraction ; est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (M0/M1) \times 100$$

M0 : Masse en gramme du résidu sec obtenu après évaporation du solvant d'extraction.

M1 : Masse en gramme de la matière végétale sèche initiale.

1.4 Screening phytochimique des extraits préparés

Les extraits récupérés à partir des deux plantes étudiées, ont été soumis à un criblage phytochimique selon le protocole de **Trease et al., (1989)**; **Harbone, (1998)** et **Andrianarison et al., (2015)**, afin de révéler la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires;

▪ Tanins

0,5 mL de chlorure ferrique FeCl_3 (1%) est ajouté à 2 mL de l'extrait, après incubation pendant 15 min à température ambiante le développement d'une coloration verte caractérise les tanins catéchiques, tandis que la couleur bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques.

▪ Flavonoïdes

1mL de l'extrait est mélangé avec 1mL d'acide chlorhydrique (37%) et quelques copeaux de tournures de Magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, orange ou rose indique la présence de flavonoïdes.

▪ Quinones libres

Une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet après l'addition de 0,5 mL d'hydroxyde de sodium NaOH (1%) à 5 mL de l'extrait révèle la présence des quinones libres.

▪ Coumarines

20 mg de l'extrait est solubilisée dans 2 mL de l'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux volumes égaux, dont la première représente une solution témoin, la deuxième est traitée avec 0,5 mL de l'ammoniaque (NH_4OH) à 10%. Après l'exposition des deux solutions à la lumière ultraviolette à 366 nm, une fluorescence intense révèle la présence de coumarines.

▪ Anthraquinones

5 mL de NH_4OH (10%) ont été mélangé avec 5 mL de l'extrait, après agitation la présence des anthraquinones est indiquée par l'apparition d'une coloration violette.

▪ Alcaloïdes

La présence des alcaloïdes dans les extraits est révélée par deux réactifs, le réactif de Mayer et le réactif de Wagner. 0,5 mL de chaque extrait est mélangé avec 5 mL de l'acide chlorhydrique (1%) ; la solution obtenue est divisé en deux volumes égaux dont le premier est traité par 0,5 mL du réactif de Mayer et le second par 0,5 mL du réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

▪ Terpénoïdes

Deux tests ont été utilisés pour détecter la présence des terpénoïdes ;

Test de Libermann-Burchard: à 5 mL de l'extrait, 0,5mL d'anhydre acétique et 0,5mL de l'acide sulfurique concentré sont ajoutés. Après incubation de 15min à température ambiante, l'apparition d'une couleur mauve ou verte indique la présence de terpènes stéroïdiennes ou triterpénoïques, respectivement.

Test de chloroforme: 5 mL d'extrait est mélangé avec 2 mL de Chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes.

▪ Saponoside

Test de mousse : dans un tube à essai, 10 mL de l'extrait est agité pendant 15 secondes. Après 15 min, une mousse persistante supérieur à 1cm indique la présence de saponosides.

1.5 Analyse chromatographique des composés phénoliques et des flavonoïdes

Certains extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* ont subi une analyse par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (**RP-HPLC-PDA**) au niveau de labratoire de recherche Produits Naturels (LAPRONA), Université de Tlemcen. Il s'agit des extraits **EA_{zj}**, **Acet_{1zj}**, **Acet_{2zj}**, **Aq_{MI}**, **Acet_{MI}** et **n-but_{MI}**.

L'analyse RP-HPLC-PDA des composés phénoliques a été effectuée par un système Perkin Elmer Flexar, détecteur UV, équipé d'un système de distribution de pompe binaire et d'une colonne Eclipse ODS Hypersil C18 (150 mm x 4,6 µm). La phase mobile consistait en solvant A- acide acétique (2%) et B- acétonitrile. Le système d'élution en gradient était: 5 min avec

10% de B; 25 min avec 90% de B et 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B. L'identification des composés, détectés à 280 nm, était basée sur le temps de rétention de chaque pic obtenu avec ceux des standards provenaient de Sigma-Aldrich Chimie (Allemagne).

1.6 Dosage de polyphénols totaux

➤ Principe :

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène en présence de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (**fig. n°25**). La coloration produite qui absorbe entre 725 et 750 nm est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (**Boizot et al., 2006; Manarim et al., 2016**).

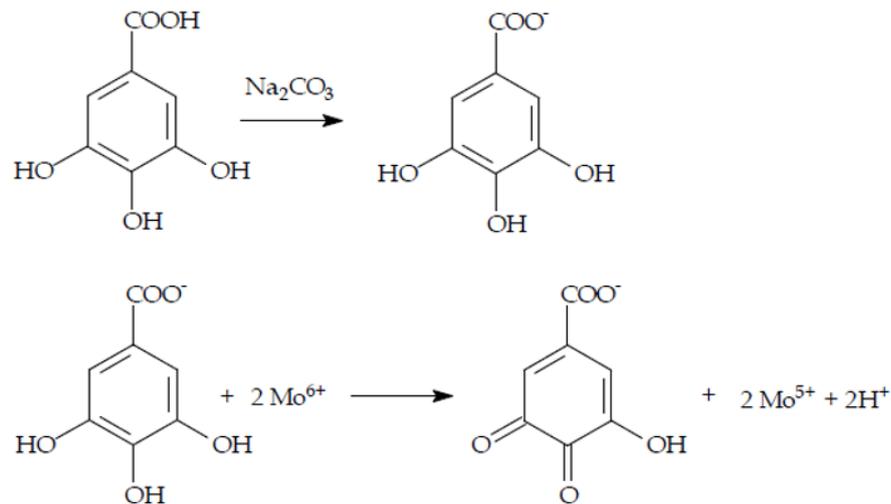


Figure n°25 : Réaction de l'acide gallique et les composés de molybdène dans le réactif de Folin-Ciocalteu (**Martono et al., 2019**).

➤ Préparation des échantillons

Les différents extraits obtenus des deux plantes : aqueux, eau-acétone, eau-méthanol, acétate d'éthyle/aqueux, n-butanol/aqueux, acétate d'éthyle/eau-acétone et n-butanol/eau-acétone; sont solubilisés dans l'eau distillée ou dans le méthanol à une concentration de 1mg/mL.

➤ **Mode opératoire**

Selon le protocole décrit par **Vermerris et al., (2006)**; un aliquot de 100 µL de chaque extrait ou fraction est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 2% fraîchement préparée. Après 5 min, 100 µL du réactif du Folin-Ciocalteu (0,2 N) est ajouté au mélange. Ce dernier, après agitation, est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique est mesurée contre le tube blanc (méthanol) au spectrophotomètre (JENWAY) à une longueur d'onde (λ) de 725 nm.

Une courbe étalon a été réalisée, en parallèle, dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme étalon dissout dans le méthanol à différentes concentrations finales de 2,27 à 45,45 µg/mL.

La concentration des polyphénols totaux présents dans les échantillons, exprimée en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg eq AG/mg Es) est calculée selon la formule suivante ;

$$[\text{Polyphénols}] = \frac{a \times f}{C}$$

a : concentration des polyphénols (µg / mL) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : concentration initiale de l'extrait (1mg/mL).

1.7 Dosage de flavonoïdes totaux

➤ **Principe**

Le taux de flavonoïdes dans les extraits préparés a été déterminé par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et la soude (NaOH). Dans le milieu réactionnel, la soude ionise tous les hydroxyles phénoliques du squelette flavonique. La présence du chlorure d'aluminium dans la solution mène à la formation d'un complexe entre les ortho-hydroxyles du flavonoïde et les fonctions carbonyles des noyaux aromatiques (**fig. n°26**). le complexe formé de couleur jaune-orange absorbe dans le visible à 510 nm (**Chang et al., 2002; Mekkiou, 2005; Manarim et al., 2016**).

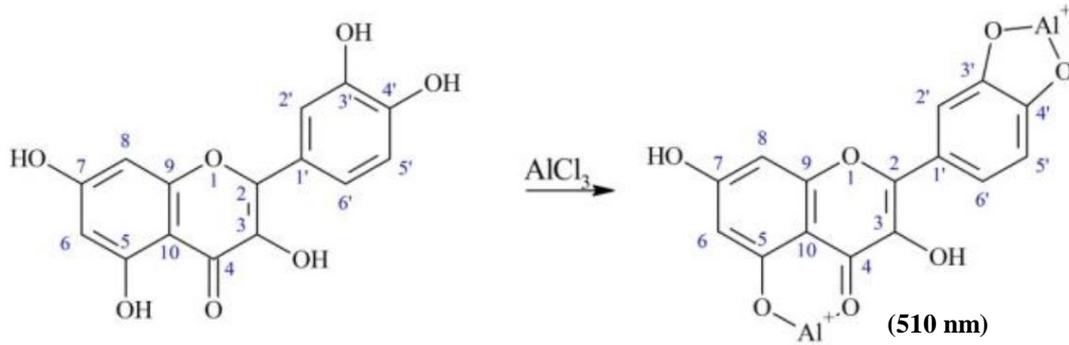


Figure n°26 : Formation du complexe flavonoïdes et trichlorure d'aluminium (AlCl_3)

(Martono et al., 2019).

➤ *Préparation des échantillons*

Chaque extrait récupéré à partir des deux plantes étudiées : aqueux, eau-acétone, eau-méthanol, acétate d'éthyle/aqueux, n-butanol/aqueux, acétate d'éthyle/eau-acétone et n-butanol/eau-acétone sont solubilisés dans l'eau distillée ou le méthanol selon leurs solubilités à une concentration de 1mg/mL.

➤ *Mode opératoire*

La teneur en flavonoïdes totaux dans chaque extrait a été déterminée selon le protocole décrit par **Zhishen et al., (1999)**. Un volume de 0,5 mL de chaque échantillon, est mélangé avec 2 mL d'eau distillée et 0,15 mL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15%. Après 6 minutes à température ambiante, 0,15 mL d'une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% et 2 mL de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH à 4%) sont ajoutés; le volume total est ajusté à 5 mL avec l'eau distillée. Après agitation au vortex, le mélange est incubé pendant 15 minutes à température ambiante.

L'absorbance est mesurée contre le tube blanc (méthanol) au spectrophotomètre à une longueur d'onde (λ) de 510 nm.

Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à différentes concentrations (5 à 100 $\mu\text{g/mL}$) permettra la détermination du taux des flavonoïdes totaux.

Le taux de flavonoïdes présents dans les échantillons, exprimée en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq Cat/mg E}$) est calculée selon la formule suivante ;

$$[\text{Flavonoïdes}] = \frac{a \times f}{C}$$

a : concentration des flavonoïdes ($\mu\text{g / mL}$) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution.

C : concentration initial de l'extrait (1mg/mL).

2. Evaluation *in vitro* de quelques activités biologiques des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*

2.1 Evaluation de l'activité antioxydante

Les différentes méthodes développées pour évaluer l'activité antioxydante sont caractérisé par leur mécanisme réactionnel impliqué, car les antioxydants peuvent agir soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron (**Prior et al., 2005**).

Dans le présent travail nous avons choisi quatre méthodes différentes afin d'évaluer la capacité antioxydante des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* en utilisant la méthode du piégeage du radical DPPH, le test de blanchiment du β -carotène, la méthode du pouvoir réducteur du fer et la capacité antioxydante totale.

2.1.1 Evaluation du pouvoir antiradicalaire sur le radical libre DPPH

➤ *Principe*

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical azoté stable de couleur violette. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, soluble dans le méthanol et caractérisé par son pic d'absorbance à 515 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH par transfert d'un hydrogène, passe à la forme réduite en formant le 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPHH) de couleur jaune (**fig. n°27**). La décoloration violette est proportionnelle au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Kouame, 2009; Locatelli et al., 2009; Popovici et al., 2009**).

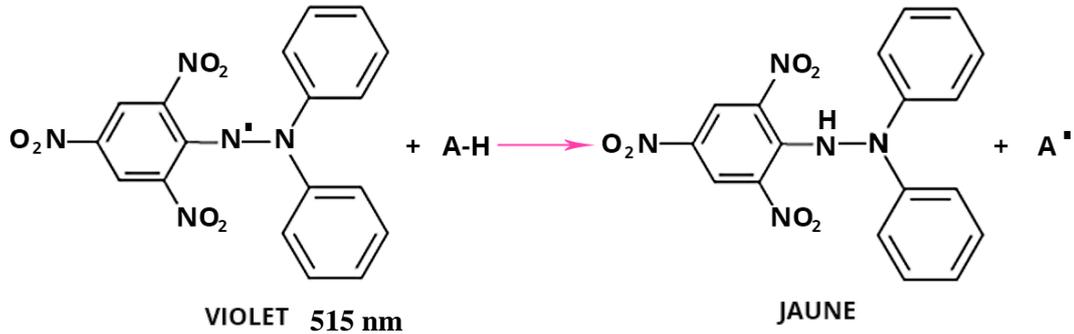


Figure n°27 : Mécanisme réactionnel du test DPPH.

➤ *Mode opératoire*

L'effet antiradicalaire de chaque extrait sur le DPPH a été évalué selon le protocole de **Kumar et al., (2008)**. Après la préparation des extraits dans du méthanol à différentes concentrations (0,5-1000 µg/mL), 50 µL de chaque solution d'extraits a été ajouté à 1950 µL d'une solution méthanolique du DPPH (25 µg/mL). Après agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 515 nm contre un tube blanc pour chaque concentration, et qui contient 50 µL de l'échantillon testé et 1950 µL du méthanol. Le tube contrôle contient 50 µL du méthanol et 1950 µL de la solution du DPPH, son tube blanc contient 2 mL du méthanol.

Dans les mêmes conditions opératoires, différentes molécules antioxydantes de références ont été testés à différentes concentrations (1-4 µg/mL). Il s'agit de l'acide ascorbique, l'acide gallique, la catéchine, l'acide tannique ainsi que le BHT (Butylated hydroxytoluène) et le BHA (Butylated hydroxyanisole).

Les résultats du piégeage du radical DPPH sont exprimés en pourcentage selon la formule suivante:

$$DPPH (\%) = \frac{(Do\ contr) - (Do\ échan)}{(Do\ contr)} \times 100$$

DPPH (%): Pourcentage de réduction du DPPH.

Do contr: Densité optique du tube contrôle.

Do échan : Densité optique de l'échantillon

L'activité anti-radicalaire est aussi exprimée en valeur de IC₅₀ qui représente la concentration du substrat responsable de la réduction de 50% de la forme radicalaire du

DPPH. Cette valeur est déterminée graphiquement ($\%DPPH=f[\text{extrait } \mu\text{g/mL}]$) en utilisant le logiciel statistique Origine 50 version 5.0, 1997.

2.1.2 Evaluation de l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique : test de blanchiment de β -carotène (BCB)

➤ *Principe*

Cette technique spectrophotométrique est basée sur la mesure de la décoloration (blanchiment) du β -carotène suite à son oxydation par des hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique en présence de l' O_2 et à haute température (50°) pour former un radical stable de β -carotène (**fig. n°28**). L'oxydation du β -carotène par ces radicaux libres provoque son blanchiment et la disparition de sa couleur rouge, qui absorbe à 470 nm. La présence des antioxydants peuvent prévenir le blanchiment du β -carotène en neutralisant les radicaux libres issues de linoléate (**Laguerre et al., 2007; Foti et al., 2009; Kadri et al., 2011; Ghedadba et al., 2015**).

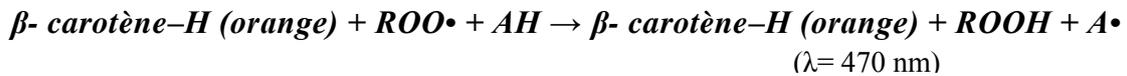
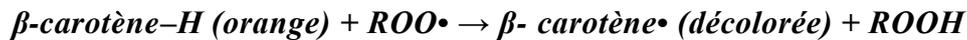


Figure n°28: Réaction du β -carotène avec le radical peroxyde (**Martins et al., 2015**).

➤ *Mode opératoire*

Le test de blanchiment de β -carotène utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des différents extraits a été réalisé selon le protocole de **Koleva et al., (2002) et Ghalem et al., (2014)**. 2 mg du β -carotène est solubilisée dans 20 mL du chloroforme. 4mL de cette solution est déposée dans une fiole contenant préalablement 400 mg du Tween 40 et 40 mg d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapor jusqu'à élimination du chloroforme. Puis, un volume de 100 mL de l'eau saturée en oxygène est ajouté dans la fiole, le mélange résultant est agité vigoureusement. En suite, des aliquots de 3mL de cette émulsion (β -carotène/acide linoléique) sont additionnées à 200 μ L de chaque extrait testé à différentes concentrations (31,2-625 μ g/mL). Des molécules antioxydantes de référence sont également testés comme contrôles positifs aux concentrations 0,5 jusqu'à 1000 μ g/mL : acide ascorbique, acide gallique, catéchine, acide tannique ainsi que les antioxydants de synthèse BHT et BHA.

Après agitation, l'absorbance du tube contrôle dont l'extrait est substitué par le méthanol est mesurée immédiatement ($t=0\text{min}$) à 470nm contre le tube blanc. Les tubes hermétiquement fermés sont incubés à 50°C pendant 120 min, ensuite l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm. L'activité antioxydante des extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition du blanchiment de β -carotène selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(At - Ct)}{(C0 - Ct)} \times 100$$

At: Absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min ;

C0, Ct: Absorbance du contrôle dont l'extrait est substitué par le méthanol à 0 min et à 120 min respectivement.

Les résultats du blanchiment du β -carotène sont également exprimés en valeur de IC_{50} , qui est la concentration de l'échantillon nécessaire pour prévenir 50% de la décoloration du β -carotène. Elle est déterminée graphiquement (**% Inhibition = f [extrait $\mu\text{g/mL}$]**) en utilisant le logiciel statistique Origine 50 version 5.0, 1997.

2.1.3 Evaluation du pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

➤ Principe

Cette technique colorimétrique est basée sur la mesure de la capacité des extraits testés à transférer des électrons par des réactions d'oxydo-réduction, et de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est révélée par l'utilisation du FeCl_3 qui forme avec le fer ferreux (Fe^{2+}) un complexe de couleur bleu-vert appelé le bleu de Prusse (Prussian blue) caractérisé par un maximum d'absorbance à 700 nm (**fig. n°29**). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Chung et al., 2002; Amarowicz et al., 2004; Bougandoura et al., 2013; Kumar et al., 2019**).

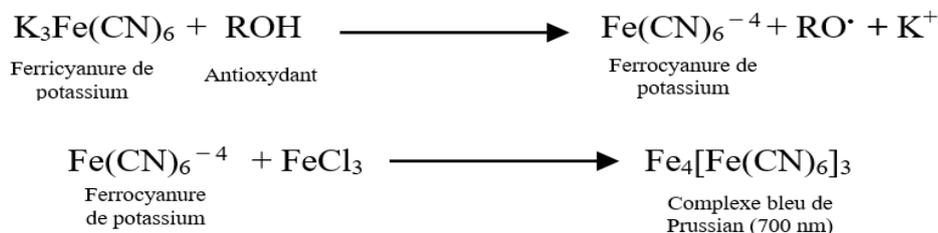


Figure n°29: Mécanisme réactionnel du pouvoir réducteur du fer (FRAP) en utilisant le ferricyanure de potassium (**Apak et al., 2016; Sadeer et al., 2020**).

➤ **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur des extraits est évalué selon le protocole de **Ferreira et al., (2007)**, **Karagözler et al. (2008)** et **Bougandoura et al., (2013)**. 1 mL de chaque extrait à différentes concentrations finales (5 -1000 µg/mL) est mélangé avec 2,5 mL de la solution du tampon phosphate (0,2 M; pH = 6,6) et 2,5 mL d'une solution du ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%, puis les tubes sont incubés à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement des tubes à température ambiante, 2,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% est ajoutée pour arrêter la réaction dans tous les tubes qui sont centrifugés à 1000 tours/min pendant 10 minutes. Puis 2,5 mL du surnageant est mélangé avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5mL de la solution du $FeCl_3$ (0,1 %). L'absorbance de chaque tube a été mesurée à 700 nm contre le tube blanc.

L'acide ascorbique, l'acide gallique, la catéchine, l'acide tannique ainsi que les antioxydants de synthèse BHT et BHA sont utilisés comme molécules antioxydantes de références à différentes concentrations (5-160µg/mL). Les résultats du pouvoir réducteur du fer sont exprimés en valeur de EC_{50} , la concentration de l'extrait fournissant 0,5 d'absorbance déterminée à partir du graphique d'absorbance à 700 nm par rapport à la concentration de l'extrait par le logiciel statistique Origin 50 version 5.0, 1997.

2.1.4 Evaluation de la capacité antioxydante totale (CAT)

➤ **Principe**

Cette technique est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate, en molybdène Mo(V) pour former un complexe vert de phosphomolybdate ($[H_4PMo_8^{VI}Mo_4^VO_{40}]^{3-}$) (**fig. n°30**) à pH acide qui absorbe à 695nm (**Prieto et al., 1999; Phatak et al., 2014; Sadeer et al., 2020**).

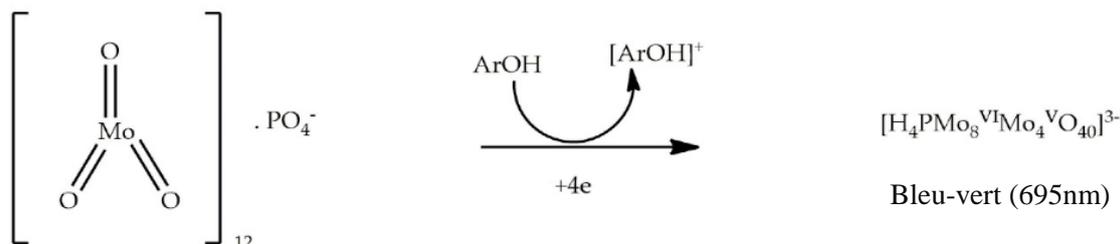


Figure n°30: Mécanisme réactionnel de la capacité antioxydante totale (CAT) en utilisant le phosphomolybdène (**Sadeer et al., 2020**)

➤ **Mode opératoire**

La capacité antioxydante totale des extraits a été réalisée selon le protocole de **Prieto et al., (1999)** et **Phatak et al., (2014)**. Un volume de 0,1 mL de chaque extrait (1 mg/mL) est mélangé avec 1mL du réactif de phosphomolybdène (acide sulfurique (0,6 M), phosphate de sodium (28 mM) et molybdate d'ammonium (4 mM)). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre le tube blanc. La capacité antioxydante totale, déterminée à partir de la gamme étalon de l'acide gallique (0,9-90,9 µg/mL), est exprimée en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg eq AG/mg extrait).

2.2 Evaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*

Pour l'évaluation de l'activité antidiabétique des extraits aqueux et organiques des espèces étudiées nous avons utilisé des tests *in vitro* afin de rechercher leur effet inhibiteur de ;

- L'activité des enzymes intestinales α -glucosidase et α -amylase en point terminal et en cinétique.
- La glycation de l'albumine du sérum bovin (BSA).

2.2.1 Evaluation de l'activité de l' α glucosidase: méthode en point terminal

➤ **Principe**

La mesure de l'activité de l' α -glucosidase est une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du para-nitrophényl- α -D-glucoopyranoside (pNPG). Ce dernier, un glycoside incolore, constitue le substrat de synthèse des α -glucosidases. Son hydrolyse par l' α -glucosidase libère du glucose et du para-nitrophénol (pNP) (**fig. n°31**), un produit qui, en présence du carbonate de sodium, développe une coloration jaune ayant une absorbance à 400 nm (**Dejob et al., 2013; Assefa et al., 2020**). La mesure de la quantité du para-nitrophénol libérée en présence d'un inhibiteur (extrait végétal) est utilisée pour déterminer son effet sur l'activité d' α -glucosidase (**Assefa et al., 2020**).

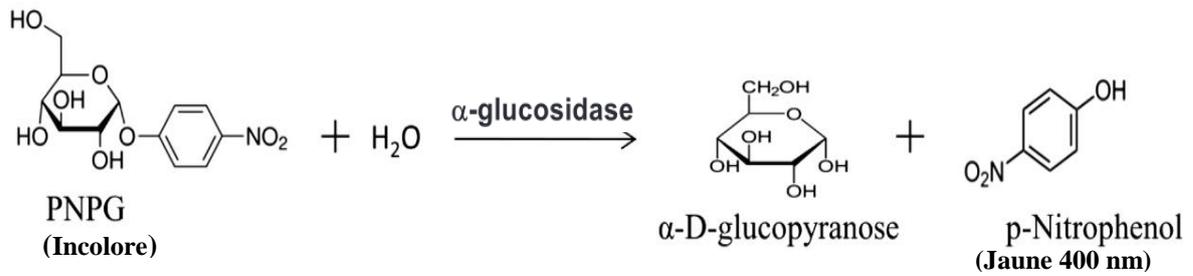


Figure n°31: Réaction d'hydrolyse du pNPG par α-glucosidase (Ashiq *et al.*, 2017).

➤ **Préparation de la solution enzymatique**

L'extrait brut de l'α-glucosidase a été récupéré à partir de la muqueuse intestinale des rats selon le protocole de **Dahlqvist (1964); Bergmeyer *et al.*, (1974)**, réalisé par Mme BECHIRI A. dans le cadre de la préparation de sa thèse de doctorat. Après la récupération de l'extrait brut des enzymes de la muqueuse intestinales des rats, ce dernier a été dosé pour son activité spécifique qui est définie comme suit ;

Une unité d'activité enzymatique (U) = quantité d'enzyme qui libère 1μmol de α-D-glucose par min (à pH 6,8 et à 37°C).

En respectant les conditions opératoires initiales de la saturation de l'enzyme, à partir d'extrait enzymatique brut ayant une activité spécifique moyenne de 0,94 UI/mg protéine, des dilutions dans le tampon phosphate (67mM; pH6,8) ont été préparé afin d'atteindre une activité de 0,2 UI/mL.

➤ **Préparation de la solution du substrat**

Le substrat utilisé est le p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (pNPG), (Sigma. Aldrich), préparé dans le tampon phosphate (67 mM; pH6,8) à une concentration de 3 mg/mL (10 mM).

➤ **Préparation de la solution de l'acarbose**

L'acarbose (Bayer) inhibiteur spécifique de l'α-glucosidase, a été testé à différentes concentrations (0,011-0,117 mg/mL), préparées dans le tampon phosphate (67 mM; pH 6,8).

➤ **Préparation de la solution des extraits**

Les extraits préparés à partir des deux plantes étudiées, ont été testés à différentes concentrations 0,12 à 7,06 mg/mL, solubilisées dans la solution du tampon phosphate (67 mM; pH 6,8).

➤ **Mode opératoire**

Selon le protocole de **Bergmeyer et al., (1974)** et **Kim et al., (2000)**, le milieu réactionnel est composé de 200 µL de la solution de l'extrait ou d'acarbose plus 200 µL de la solution de l'enzyme (0,2 UI/mL) et 300 µL de la solution de substrat (pNPG 3mg/mL). A la fin 1000 µL de la solution du tampon phosphate (67mM, pH6,8) est ajouté dans chaque tube. Après incubation pendant 40 min à 37°C, la réaction est arrêtée par l'addition de 3 mL du carbonate de sodium (100mM). L'absorbance du para-nitrophénol libéré est mesuré au spectrophotomètre à 400 nm contre le tube blanc (milieu réactionnel sans substrat). Les essais ont été répétés trois fois.

➤ **Expression des résultats**

Les résultats de l'effet des extraits testés sur l'activité d' α -glucosidase sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition d}'\alpha - \text{glucosidase} = \frac{(\text{Acontrôle} - \text{Aéchantillon})}{\text{Acontrôle}} \times 100$$

A_{contrôle} : Absorbance de l'activité enzymatique sans inhibiteur

A_{échantillon}: Absorbance de l'activité enzymatique en présence de l'extrait ou d'acarbose

Les résultats sont exprimés également en valeur de IC₅₀: concentration de l'échantillon inhibant 50% de l'activité enzymatique, et qui est déterminée graphiquement à partir des courbes des *pourcentage d'inhibition=f(concentration de l'échantillon)* en utilisant le logiciel statistique Origine 50 version 5.0, 1997.

2.2.2 Evaluation de l'activité de l' α -amylase: méthode en point terminal

➤ **Principe**

L'incubation de la solution d'enzyme α -amylase avec la solution de l'amidon permet l'hydrolyse du substrat et la libération des sucres réducteurs, qui sont déterminés par la méthode de **Bernfeld, (1955)**. Cette méthode colorimétrique est basée sur le caractère réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino5 nitrosalicylique de couleur rouge orange, ce chromogène absorbe à 540 nm (**fig. n°32**). L'intensité de la

coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel.

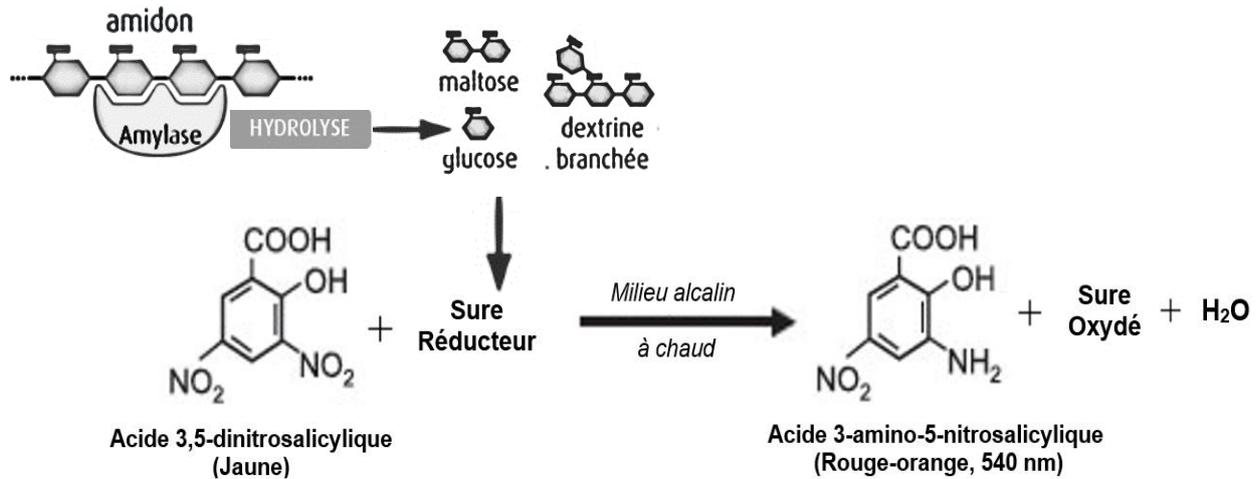


Figure n°32: Réduction du DNSA par les sucres réducteurs.

➤ Préparation de la solution enzymatique

Pour cette activité, nous avons utilisé l' α -amylase pancréatique d'origine porcine (Sigma-Aldrich ; E.C.3.2.1.1) pour l'évaluation de l'effet des extraits des plantes étudiées. Cette enzyme a une structure et une cinétique proche de l' α -amylase humaine responsable de l'hydrolyse des liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidiques, dont les produits libérés sont: des oligosaccharides, dextrans, maltose et glucose.

Au laboratoire, l'enzyme est conservée à 4°C sous forme lyophilisée, ayant un poids moléculaire de 13000 Da et une activité spécifique de 13UI/mg. L'activité est optimale à pH 6,9 et à 37°C.

En respectant les conditions opératoires initiales de la saturation de l'enzyme, la solution d'enzyme utilisée dans cette technique a été préparée à 3,9 UI/mL (qui correspond à 1,3 UI/mL dans le milieu réactionnel) par dissolution de 3 mg d'enzyme lyophilisée dans 10mL du tampon phosphate (0,02 M; 6,7 mM NaCl; pH 6,9). Le NaCl joue le rôle d'activateur de l'enzyme.

➤ Préparation de la solution du substrat

Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre (Merck) à 1% préparé à chaud et sous agitation (50-70°C) dans le tampon phosphate (0,02 M ; 6,7 mM NaCl; pH 6,9).

➤ **Préparation de la solution des extraits et de l'acarbose**

Les extraits de chacune des plantes étudiées sont dissout dans la solution tampon phosphate à différentes croissantes (0,3-3,33 mg/mL). L'acarbose utilisé dans cette étude comme inhibiteur de l' α -amylase a été solubilisé dans le tampon phosphate (0,02 M ; 6,7 mM NaCl; pH 6,9) à différentes concentrations (2 à 667 μ g/mL).

➤ **Préparation de la solution du DNSA**

Pour la préparation du réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA), 30g du tartrate double de sodium et de potassium est solubilisé dans 20mL de la solution NaOH (2N) préalablement chauffée à 60°C sous agitation. 1g du DNSA a été dissoute dans 40mL d'eau distillée préchauffée (40-45°C). Les deux solutions obtenues sont mélangées sous agitation pour obtenir un réactif limpide de couleur jaune-orange. Le volume final est ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à 4°C.

➤ **Mode opératoire**

Selon le protocole **Thalapaneni et al., (2008)**, le milieu réactionnel est constitué de 200 μ L de la solution d'extrait ou d'acarbose plus 200 μ L de la solution d'enzyme. Après incubation pendant 10 min à 37°C, 200 μ L du substrat (amidon) est additionné au milieu réactionnel. Une deuxième incubation des tubes est effectuée pendant 15 min à 37°C. Ensuite, 600 μ L du DNSA est jouté dans chaque tube pour inhiber l'enzyme et révéler les sucres réducteurs. Les tubes sont placés dans un bain-marie bouillant pendant 8 min, afin que le DNSA et les sucres réducteurs issus de l'hydrolyse de l'amidon puissent réagir. Cette réaction est arrêtée par un choc thermique, en plaçant les tubes directement dans un bain d'eau glacée. Enfin, 1mL d'eau distillée est ajouté avant la lecture de la densité optique à 540 nm contre le tube blanc (milieu réactionnel sans enzyme). Les essais on été réalisés en triplicata.

➤ **Expression des résultats**

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α -amylase selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition d}'\alpha - \text{ amylase} = \frac{(\text{A}_{\text{contrôle}} - \text{A}_{\text{échantillon}})}{\text{A}_{\text{contrôle}}} \times 100$$

A_{contrôle} : Absorbance de l'activité enzymatique sans inhibiteur.

A_{échantillon}: Absorbance de l'activité enzymatique en présence d'extrait ou d'acarbose.

Les résultats sont également exprimés en valeur de IC₅₀; concentration de l'échantillon inhibant 50% de l'activité enzymatique. Elle est déterminée graphiquement à partir des courbes du **pourcentage d'inhibition=f(concentration de l'échantillon)** en utilisant le logiciel statistique Origin 50 version 5.0, 1997.

2.2.3 Evaluation de l'activité de l' α -glucosidase: méthode en cinétique enzymatique

➤ *Principe*

L'étude de la cinétique d'une réaction enzymatique permet de déterminer le mécanisme catalytique de l'enzyme et ces paramètres caractéristiques, comme la vitesse de la réaction qui permet de définir l'affinité de l'enzyme à son substrat (Km), ainsi la vitesse catalytique maximale (Vmax) de cet enzyme selon l'équation de Michaelis-Menten:

$$V_{in} = \frac{V_{max} \times [S]}{K_m + [S]}$$

V_{in} : la vitesse initiale

[S] : La concentration du substrat

V_{max} : La vitesse maximale

K_m : La constante de Michaelis

Ces paramètres peuvent être déterminés graphiquement par la représentation de *Lineweaver-Burk* (double inverse) ($1/V_{in}=f(1/[S])$), sachant que la vitesse initiale d'une réaction est la quantité du substrat disparue ou la quantité du produit apparue par unité du temps qui peut être calculée à partir de la pente de la tangente de la courbe $[P]=f(t_{min})$ (Voet et al. , 2016).

Dans cette étude, la cinétique enzymatique a été testée pour les extraits ayant présenté une inhibition enzymatique importante en point terminal. Il s'agit de l'extrait **Acet_{2zj}** préparé aux concentrations finales de 2,4 et 7,1 mg/mL, et l'extrait **EM_{MI}** à 0,24 et 0,71 mg/mL. L'acarbose (inhibiteur) a été testé aux concentrations 0,06 et 0,12 mg/mL. Différentes concentrations du substrat pNPG ont été préparées (0,13; 0,26 et 0,53 mg/mL) en respectant les conditions opératoires initiales de la saturation de l'enzyme. La solution d' α -glucosidase a été utilisée à 0,2 UI/mL.

➤ *Mode opératoire*

Le milieu réactionnel renferme 200 μ L de la solution de l'extrait ou d'acarbose plus 200 μ L de la solution enzymatique et 300 μ L de la solution du substrat, ensuite 1000 μ L d'une

solution du tampon phosphate (67mM, pH6,8) est ajouté dans chaque tube. 50 µL de chaque milieu réactionnel, à différentes concentrations du substrat, et d'inhibiteur, a été prélevé à différents intervalles du temps (0, 5, 10, 15 et 20 min) et mélangé avec 150 µL du carbonate de sodium (100 mM). L'absorbance est mesurée contre le blanc au lecteur de microplaques à 400 nm.

La vitesse initiale de la réaction enzymatique est déterminée à partir de la pente de la courbe $[P]=f(t_{\min})$ après hydrolyse enzymatique du substrat selon la formule suivante:

$$V_{in} = \frac{d[P]}{dt}$$

Vin: Vitesse initiale.

d[P]: Différence entre deux concentrations du produit formé.

dt: Différence entre deux temps de la réaction.

2.2.4 Evaluation de l'activité de l' α -amylase: méthode en cinétique enzymatique

Pour l'étude de la cinétique de l' α - amylase (concentration finale 1,3 UI/mL), nous avons varié les concentrations du substrat, des extraits et de l'acarbose. L'extrait EA_{zj} a été testé aux concentrations 2,5; 5; 10 mg/mL, et l'extrait $Acet_{MI}$ à 0,31; 0,63 et 1,25 mg/mL. 1,25 ; 2,5 et 5 mg/mL sont les concentrations du substrat (amidon). De même l'inhibiteur, l'acarbose, a été testé à trois concentrations 1,25; 2,5 et 5 mg/mL. La solution enzymatique a été préparée à la concentration finale 1,3 UI/mL, en respectant les conditions opératoires initiales de la saturation de l'enzyme. Une gamme étalon du maltose a été préparée à différentes concentrations, pour mesurer le produit de l'hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase.

➤ *Mode opératoire*

Chaque 2 min et pendant 8 min, 600 µL a été prélevé de chaque milieu réactionnel (contenant l'enzyme, l'extrait ou l'acarbose, l'amidon) puis ajouté dans une gamme de tubes contenant 600 µL du DNSA. Après agitation, les tubes sont placés dans un bain mari à 100°C pendant 10 min ; ensuite les tubes sont immédiatement refroidis dans un bain de glace pour arrêter la réaction entre le maltose et le DNSA. Un millilitre d'eau distillée est ajouté dans chaque tube pour mesurer la densité optique au spectrophotomètre à 540 nm de chaque essai (réalisé en triplicata).

La vitesse initiale de la réaction enzymatique est mesurée à partir de la pente de la courbe $[P]=f(t_{\min})$ après hydrolyse enzymatique du substrat.

2.2.5 Evaluation *in vitro* de l'effet antiglycant des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* sur la BSA (Bovine Serum Albumin)

L'hyperglycémie chronique expose les protéines circulantes, principalement l'albumine, à une réaction de glycation non enzymatique, qui correspond à une fixation non enzymatique et irréversible de sucre réducteur (comme le glucose) sur les fonctions amines des protéines (le groupe ϵ -NH₂ de lysine et le groupe guanidine de l'arginines). C'est un mécanisme complexe comprenant plusieurs étapes responsables de la formation de composés de structure complexe, souvent fluorescents, c'est les produits de glycation avancés ou AGE (Advanced Glycation End-products) (Yang *et al.*, 2003; Grzegorzcyk-Karolak *et al.*, 2016; Yeh *et al.*, 2017).

Dans cette étude, la BSA a été choisie comme protéine modèle pour la formation de la glycation protéique.

➤ Principe

L'incubation *in vitro* de l'albumine avec de fortes concentrations de glucose conduit à une glycosylation non enzymatique caractérisée par la production des AGE (fig. n°33). Etant donné que la plupart des AGE ont une fluorescence intrinsèque, l'effet antiglycant est déterminé par la mesure de la fluorescence caractéristique des AGE totaux (Ex/Em 335/440 nm) produits dans le milieu d'incubation (Day *et al.*, 1979; Degenhardt *et al.*, 1998; Niwa, 1999; Sharma *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2003; Grzegorzcyk-Karolak *et al.*, 2016; Yeh *et al.*, 2017).

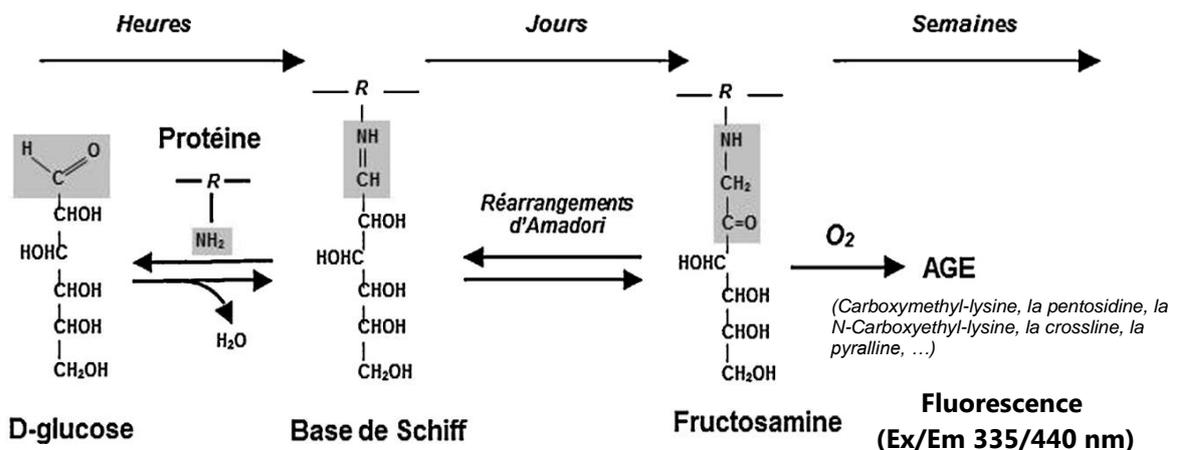


Figure n°33 : Réactions de formation de produits finaux de glycation avancée AGE

(Wautier *et al.*, 2014).

➤ **Mode opératoire**

La glycation de la BSA a été effectuée selon les protocoles de **Bourdon et al., (1999)** ; **Meeprom et al., (2013)**; **Hussain et al., (2015)**; **Grzegorzczuk-Karolak et al., (2016)**. Dans des conditions stériles, les solutions utilisés sont préparées dans un tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,1M) et le milieu réactionnel a été préparé dans des tubes eppendorf, dont 400µL du BSA (10 mg/mL) a été ajouté à 400 µL de glucose (2 et 4 mg/mL) et 400 µL de l'extrait (0,03 ; 0,3 et 3 mg/mL) ou des molécules de références (A. gallique, A. tannique, A. ascorbique et quercétine aux concentrations 0,015 ; 0,15 et 1,5 mg/mL). 100µL de l'azide de sodium NaN₃ (0,02%), utilisé comme agent antimicrobien à a été ajouté dans tous les tubes qui sont incubés à 37°C pendant 3 semaines. Les essais ont été répétés trois fois.

La formation des AGE totaux a été déterminée en utilisant le fluorimètre à une longueur d'onde d'excitation 335 nm et d'émission 440 nm.

➤ **Expression des résultats**

L'effet antiglycation des extraits testés est exprimé en pourcentage d'inhibition de la formation des AGE selon la formule suivante (**Chompoo et al., 2011**):

$$\% \text{ d'inhibition AGE} = \frac{(1 - F_i)}{F_0} \times 100$$

F_i: fluorescence de la solution avec inhibiteur.

F₀: fluorescence de la solution sans inhibiteur.

Les résultats sont exprimées également en concentration de l'échantillon inhibant 50% de la formation des AGE (IC₅₀), qui est déterminée graphiquement à partir des courbes des **pourcentage d'inhibition=f(concentration échantillon)** en utilisant le logiciel statistique Origine 50 version 5.0, 1997.

2.3 Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits préparés

Les différents extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* ont été testé pour leur activité antimicrobienne sur des bactéries (Gram positif et Gram négatif), et des levures. Les références des souches sont indiquées dans le **tableau n°05**. Elles sont fournies par les laboratoires de recherche : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab), et laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), Université de Tlemcen.

Pour l'évaluation de cette activité, nous avons appliqué la méthode de diffusion sur gélose (ou méthode des disques) en mesurant les zones d'inhibition. Les extraits ayant présentés une activité remarquable par la méthode des disques ont été testés par la méthode de microdilution afin de déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).

Tableau n° 05: Les souches des bactéries et des levures utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

	Souches
Bactéries à Gram Positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
Bactéries à Gram Négatif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933
	<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606
Levures	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
	<i>Candida albicans</i> ATCC 26790
	<i>Candida albicans</i> IP 444

2.3.1 Évaluation de l'activité antibactérienne

A. Méthode de diffusion sur gélose

➤ Principe

Le test de sensibilité des souches bactériennes aux extraits des plantes étudiées, adapté selon **CLSI, 2015**, a été effectué par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé de Mueller Hinton préparé à pH $7,2 \pm 0,2$. Cette méthode, est basée sur la capacité de diffusion des extraits testés dans le milieu en inhibant la croissance des bactéries par formation des zones d'inhibition de diamètres variables autour du dépôt de l'extrait.

Selon **Lee et al., (2007)** une échelle de diamètres des zones d'inhibition, exprimées en mm, permettent de distinguer l'effet antibactérien :

- Diamètre $\leq 6,4$ mm \rightarrow pas d'activité antibactérienne ;
- Diamètre entre 6,5 et 6,9 mm \rightarrow activité antibactérienne faible ;
- Diamètre entre 7 et 7,9 mm \rightarrow activité antibactérienne moyenne ;
- Diamètre ≥ 8 mm \rightarrow activité antibactérienne importante.

➤ **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture jeune de 18 heures sur milieu gélosé non sélectif. Quelques colonies de la culture sont suspendues dans de l'eau physiologique à 0,85%. L'absorbance de la suspension est ensuite ajustée au standard 0,5 McFarland au spectrophotomètre à 625 nm. Dans cette étude les extraits sont préparés à une concentration de 1000 mg/mL dans l'eau distillée. La gentamicine (10 μ g/disque) utilisée comme antibiotique de référence (contrôle positif). L'eau distillée est utilisé comme témoin négatif.

L'ensemencement de l'inoculum se fait par écouvillonnage sur la gélose. Des disques en papier filtre Wattman N°4 de 6 mm de diamètre stérilisés, sont imprégnés de 20 μ L de la solution des extraits. Les disques du témoin négatif, contrôle positif et extraits, sont placés aseptiquement sur la gélose préalablement inoculée. Après 15 minutes à température ambiante, afin de favoriser la diffusion des extraits, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques (mm).

B. Méthode de microdilution

La détermination de la CMI des extraits a été faite par la méthode de microdilution en milieu liquide selon les recommandations de (CLSI, 2015). Le milieu de culture recommandé pour cette technique est le bouillon Mueller Hinton à un pH de $7,2 \pm 0,2$.

La première étape de cette manipulation est l'ajustement de la concentration de la suspension bactérienne à 0,5 McFarland. Nous avons utilisé dans ce test des microplaques stériles à 96 puits. Les extraits sont préparés dans le bouillon Mueller Hinton pour obtenir une gamme de concentrations décroissantes allant de 450 à 110 mg/mL.

180 μ L de chaque extrait à différentes concentrations sont déposés dans chaque puits, puis 20 μ L de l'inoculum sont ajoutés pour avoir une concentration finale de 5.10^4 cellules/mL.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, la lecture est effectuée à l'œil nu. La CMI est la plus faible concentration de l'extrait testée pour laquelle aucun trouble visuel n'est observé.

2.2.3 Evaluation de l'activité antifongique *vis-à-vis* des levures

A. Méthode de diffusion sur gélose :

La méthode de diffusion sur un milieu solide est une technique standardisée par le NCCLS (2004). Le milieu de culture utilisé est le Mueller Hinton Agar supplémenté de 2% de glucose et 0,5 µg/mL de bleu de méthylène à un pH de 7,2 ±0,2. L'inoculum équivalent à 0,5 McFarland a été réalisé dans les mêmes conditions précédant sachant que l'absorbance est mesurée à 530 nm. L'ensemencement est effectué par écouvillonnage. Les disques immergés par les extraits à 1000 mg/mL sont déposés dans les boîtes préalablement ensemencées. Après un temps de diffusion de 15 minutes à température ambiante, les boîtes sont incubées à 35°C pendant 24 heures. L'effet antifongique est déterminé par mesure des diamètres des zones d'inhibition.

3. Analyse statistique

Des études statistiques ont été réalisées afin de pouvoir comparer les différents résultats qui sont exprimés sous forme de moyennes ± l'erreur standard à la moyenne ($\bar{X} \pm ES$).

La moyenne (\bar{x}) $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$

La variance (V_x) $V_x = \frac{1}{n} \sum_i (x_i - \bar{x})^2$

L'écart type (σ_x) $\sigma_x = \sqrt{V_x}$

L'erreur standard de la moyenne (ES) $ES = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

Résultats et interprétations

1. Etude phytochimique

1.1 Caractéristiques des extraits de plantes *Z. jujuba* et *M. inodora*

Après évaporation à sec des solvants d'extraction, les différents extraits ont été récupérés sous forme solide, une poudre ou une pâte hygroscopique. Les **tableaux n°06** et **n°07** résument quelques caractéristiques de ces extraits.

Les résultats résumés dans le **tableau n°06** montrent que l'ensemble des extraits et des fractions préparés à partir du fruit de *Ziziphus jujuba* sont récupérés sous forme de pâte de couleur marron. Le rendement d'extraction varie selon le solvant d'extraction utilisé. L'extrait aqueux présente le rendement le plus élevé (46,03%) suivi par l'extrait eau-acétone (36,08%), l'extrait eau-méthanol (35,36%), et les fractions n-butanol **n-but_{1zj}** (8,17%) et **n-but_{2zj}** (5,87%). Tandis que les deux fractions acétate d'éthyle **Acet_{1zj}** et **Acet_{2zj}** montrent le plus faible rendement 1,52% et 2,19%, respectivement.

Tableau n°06 : Caractéristiques des extraits du fruit de *Z. jujuba*.

Extraits	Aspect physique	Couleur	Rendement %
Aq_{zj}	Solide	Marron	46,03±0,48
EA_{zj}	Solide	Marron	36,08±1,93
EM_{zj}	Solide	Marron	35,36±0,15
Acet_{1zj}	Solide	Marron	1,52±0,36
n-but_{1zj}	Solide	Marron	8,17±0,79
Acet_{2zj}	Solide	Marron	2,19±0,9
n-but_{2zj}	Solide	Marron	5,87±0,39

Aq_{zj} : Extrait aqueux de *Z. jujuba*

EM_{zj} : Extrait eau-méthanol de *Z. jujuba*

EA_{zj} : Extrait eau -acétone de *Z. jujuba*

Acet_{1zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*

n-but_{1zj} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*

Acet_{2zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

n-but_{2zj} : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

(±) : Erreur standard (ES) (n=3)

Le **tableau n°07** montre que l'ensemble des extraits et des fractions préparés à partir de la partie aérienne de *Micromeria inodora* ont été récupérés sous forme de poudre de couleur marron, avec un faible rendement d'extraction qui varie entre les extraits. L'extrait eau-méthanol révèle le rendement le plus élevé (3,84%) suivi par l'extrait aqueux (3,64%),

l'extrait eau-acétone (2,16%) et la fraction n-butanol (1,91%). La fraction acétate d'éthyle montre le plus faible rendement (0,87%) par rapport aux autres extraits.

Tableau n°07: Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de *M. inodora*

Extraits	Aspect physique	Couleur	Rendement %
Aq_{MI}	Poudre	Marron	3,64±1,09
EA_{MI}	Poudre	Marron-vert	2,16±0,4
EM_{MI}	Poudre	Marron	3,84±0,52
Acet_{MI}	Poudre	Marron	0,87±0,2
n-but_{MI}	Poudre	Marron	1,91±0,3

Aq_{MI} : Extrait aqueux de *M.inodora*
EM_{MI} : Extrait eau-méthanol de *M.inodora*
EA_{MI} : Extrait eau-acétone de *M.inodora*
Acet_{MI} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M.inodora*
n-but_{MI} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M.inodora*
 (±) : Erreur standard (ES) (n=3)

1.2 Screening phytochimique des extraits préparés

Les résultats du screening phytochimique réalisé sur les différents extraits et fractions des deux espèces étudiées sont indiqués dans les **tableaux n°08** et **n°09**. L'apparition d'une coloration ou d'une précipitation par l'intermédiaire de certains réactifs spécifiques témoigne la présence de certaines familles de composés chimiques dans les extraits et les fractions testés.

Le screening phytochimique réalisé sur les différents extraits du fruit de *Z. jujuba* (**Aq_{zj}**, **EM_{zj}**, **EA_{zj}**, **Acet_{1zj}**, **n-but_{1zj}**, **Acet_{2zj}**, **n-but_{2zj}**) indiquent la présence des flavonoïdes, des tanins et des quinones. Tandis que les alcaloïdes, terpenoïdes, coumarines et anthraquinones présentent des réactions négatives.

Tableau n°08 : Screening phytochimique des extraits des fruits de *Z. jujuba*

	Aq _{zj}	EM _{zj}	EA _{zj}	Acet _{1zj}	n-but _{1zj}	Acet _{2zj}	n-but _{2zj}
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-
Terpenoïdes	-	-	-	-	-	-	-
Saponosides	-	-	-	-	+	-	+
Coumarines	-	-	-	-	-	-	-
Quinones	+	+	+	+	+	+	+
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-	-

Aq_{zj} : Extrait aqueux de *Z. jujuba*
EM_{zj} : Extrait eau-méthanol de *Z. jujuba*
EA_{zj} : Extrait eau -acétone de *Z. jujuba*
Acet_{1zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
n-but_{1zj} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
Acet_{2zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
n-but_{2zj} : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
 (+) : Test positif. (-): Test négatif.

Dans le **tableau n°09** nous constatons que les résultats du screening phytochimique effectué sur les extraits de *Micromeria inodora* ont révélé la présence des flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponosides et quinones. Nous avons noté également l'absence des terpenoïdes, les coumarines et des anthraquinones.

Tableau n°09: Screening phytochimique des extraits de la partie aérienne de *M. inodora*.

	Aq _{MI}	EM _{MI}	EA _{MI}	Acet _{MI}	n-but _{MI}
Flavonoïdes	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	+	+	+
Terpenoïdes	-	-	-	-	-
Saponosides	+	+	+	-	-
coumarines	-	-	-	-	-
Quinones	+	+	+	-	+
Anthraquinones	-	-	-	-	-

Aq_{MI} : Extrait aqueux de *M.inodora*
EM_{MI} : Extrait eau-méthanol de *M.inodora*
EA_{MI} : Extrait eau-acétone de *M.inodora*
Acet_{MI} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M.inodora*
n-but_{MI} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M.inodora*
 (+) : Test positif. (-): Test négatif.

1.3 Analyse chromatographique des composés phénoliques et des flavonoïdes

L'analyse chromatographique par RP-HPLC-PDA a été appliquée pour les extraits des deux espèces *Z. jujuba* et *M. inodora* ayant présenté des résultats importants concernant les activités biologiques testés. Il s'agit des extraits EA_{zj}, Acet_{2zj}, Acet_{1zj}, Aq_{MI}, Acet_{MI} et n-but_{MI}.

Les spectres chromatographiques des extraits du fruit de *Z. jujuba* représentés dans la **fig. n°34** ont montré la présence de l'acide gallique et de la quercétine dans trois extraits, eau-acétone (EA_{zj}), acétate d'éthyle récupéré à partir de l'extrait eau-acétone (Acet_{2zj}) et acétate d'éthyle récupéré à partir de l'extrait aqueux (Acet_{1zj}); tandis que la rutine a été déterminée uniquement dans l'extrait Acet_{2zj}.

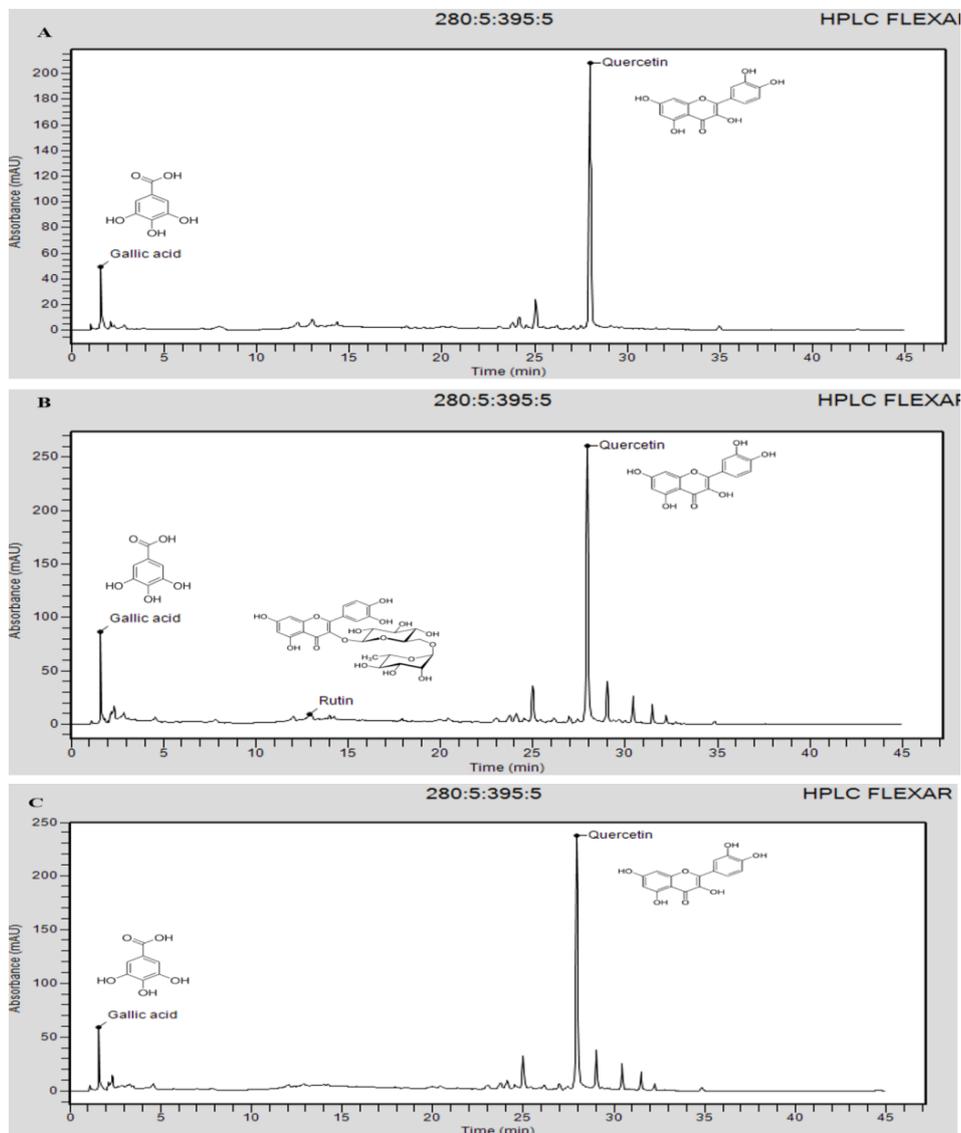


Figure n°34 : Spectres chromatographiques des extraits du fruit de *Z. jujuba* (280nm) l'extrait EA_{zj} (A), Acet_{2zj} (B) et Acet_{1zj} (C).

En ce qui concerne l'analyse chromatographique des extraits de la partie aérienne de la plante *M. inodora*, les spectres obtenus (**fig. n°35**), révèlent un pic important correspond à la quercétine dans les trois extraits analysés **Aq_{MI}**, **Acet_{MI}** et **n-but_{MI}**. D'autres pics d'une allure moins importante qui correspond à quatre composés : l'acide gallique ; la vanilline ; la rutine et la naringénine ont été également observé dans le spectre chromatographique de l'extrait **Acet_{MI}** à différents temps de rétention (1,6 ; 6,9 ; 12,8 et 18,37 min, respectivement). Le spectre chromatographique de l'extrait **n-but_{MI}** montre la présence de la rutine en plus de la quercétine. L'extrait brut aqueux semble contenir le composé A. gallique.

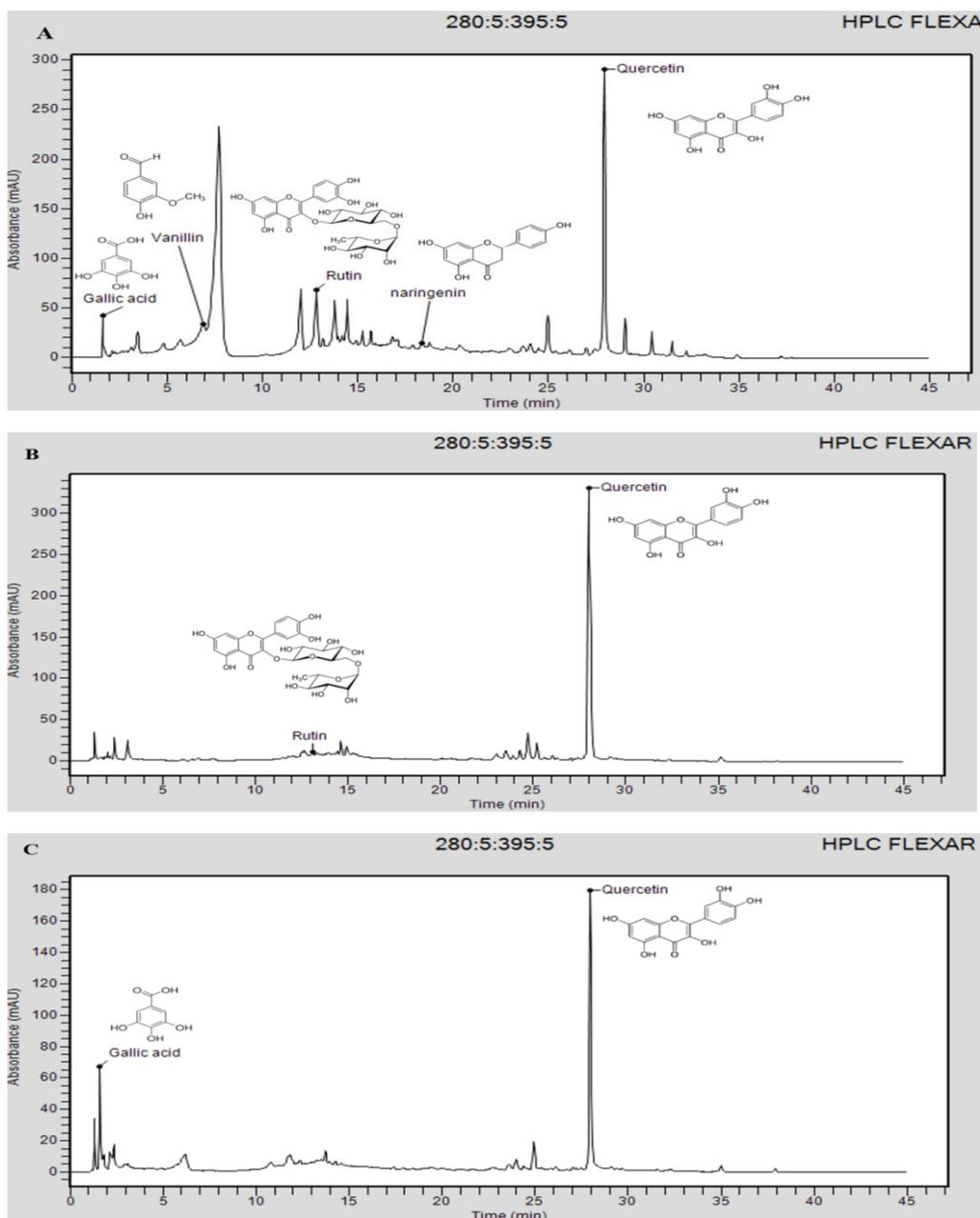


Figure n°35 : Spectres chromatographiques des extraits de la partie aérienne de *M. inodora* (280nm) l'extrait **Acet_{MI}**(A), **n-but_{MI}**(B) et l'extrait **Aq_{MI}**(C).

1.4 Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux

La teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits et les fractions préparés à partir des fruits de *Ziziphus jujuba* et la partie aérienne de *Micromeria inodora* a été quantifiée par un dosage colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le réactif de chlorure d'aluminium, respectivement. Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait sec ($\mu\text{g eq AG/mg Es}$) et en microgrammes équivalent de catéchine par milligrammes d'extrait sec ($\mu\text{g eq Cat /mg Es}$) (**fig. n° 36 A et B**).

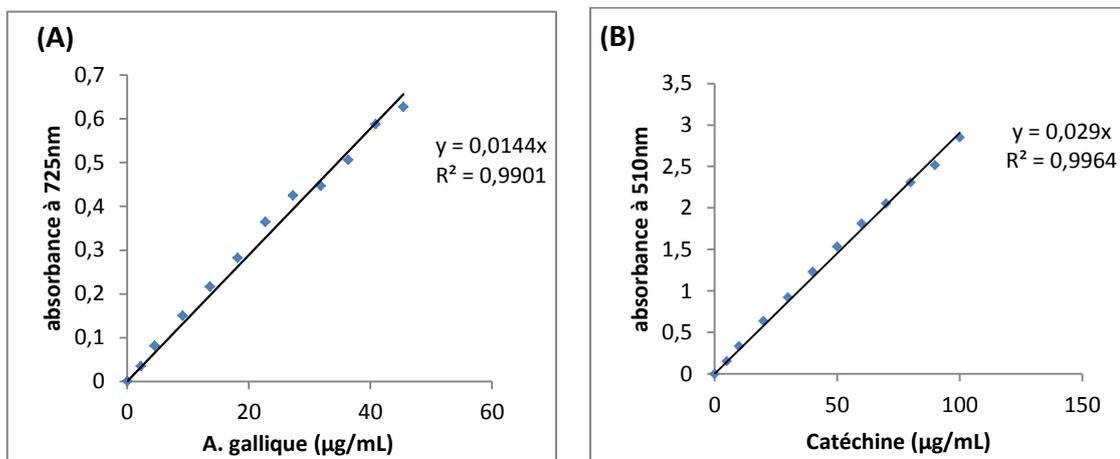


Figure n°36: Courbes étalon d'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux (A) et de catéchine pour le dosage de flavonoïdes totaux (B).

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits de *Ziziphus jujuba* et *Micromeria inodora* sont regroupés dans le **tableau n°10**. Les résultats obtenus montrent des teneurs variables dans les différents extraits. La fraction **Acet_{1zj}** de *Z. jujuba* renferme le taux le plus élevé en polyphénols $94,70 \mu\text{g eq AG/mg Es}$ et en flavonoïdes $427,33 \mu\text{g eq Cat /mg Es}$. Concernant les extraits bruts aqueux, eau-méthanol et eau-acétone des teneurs de $48,59$; $49,10$; $50,96 \mu\text{g eq AG/mg Es}$ et $47,08$; $62,08$; $75,73 \mu\text{g eq Cat/mg Es}$ ont été notées.

Tableau n°10: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les extraits du fruit *Z. jujuba*

Extraits	Polyphénols ($\mu\text{g eq AG/mg Es}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g eq Cat/mg Es}$)
Aq_{zj}	48,59 \pm 0,01	47,08 \pm 0,01
EA_{zj}	50,96 \pm 0,02	75,73 \pm 0,01
EM_{zj}	49,10 \pm 0,01	62,08 \pm 0,03
Acet_{1zj}	94,70 \pm 0,02	427,33 \pm 0,07
n-but_{1zj}	58,3 \pm 0,01	84,66 \pm 0,01
Acet_{2zj}	48,74 \pm 0,03	378,66 \pm 0,13
n-but_{2zj}	42,84 \pm 0,01	248,25 \pm 0,03

Aq_{zj} : extrait aqueux de *Z. jujuba*

EM_{zj} : Extrait eau-méthanol de *Z. jujuba*

EA_{zj} : Extrait eau -acétone de *Z. jujuba*

Acet_{1zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*

n-but_{1zj} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*

Acet_{2zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

n-but_{2zj} : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

(\pm) : Erreur standard (ES) (n=3)

Le **tableau n°11** rapporte le taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans les extraits de *M. inodora*. Nous remarquons dans ces extraits une teneur en polyphénols qui varie de 175,50 à 332,62 $\mu\text{g eq AG/mg Es}$ dont l'extrait **EA_{MI}** comporte le taux le plus élevé. Les extraits bruts aqueux, eau-méthanol et eau-acétone renferment 86,30 ; 79,90 et 70,22 $\mu\text{g eq Cat/mg Es}$ respectivement. Tandis que les taux les plus faibles sont enregistrés dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol (67,26 ; 65,38 $\mu\text{g eq Cat/mg Es}$).

Tableau n°11: Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits de la partie aérienne de *M. inodora*.

Extraits	Polyphénols ($\mu\text{g eq AG/mg Es}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g eq Cat/mg Es}$)
Aq_{MI}	296,79 \pm 18,91	86,30 \pm 8,96
EA_{MI}	332,62 \pm 9,95	70,22 \pm 3,57
EM_{MI}	288,67 \pm 2,57	79,90 \pm 7,34
Acet_{MI}	216,95 \pm 10,40	67,26 \pm 2,41
n-but_{MI}	175,50 \pm 7,05	65,38 \pm 2,04

Aq_{MI} : Extrait aqueux de *M. inodora*

EM_{MI} : Extrait eau -méthanol de *M. inodora*

EA_{MI} : Extrait eau -acétone de *M. inodora*

Acet_{MI} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M. inodora*

n-but_{MI} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M. inodora*

(\pm) : Erreur standard (ES) (n=3)

2. Evaluation *in vitro* des activités biologiques des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*

L'objectif de la présente étude est basé sur l'évaluation de quelques activités biologiques des différents extraits isolés des plantes étudiées, de ce fait nous nous sommes principalement intéressés à la recherche de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne.

2.1 Activité antioxydante des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*

Plusieurs tests *in vitro* sont utilisés pour déterminer l'efficacité antioxydante des molécules. Ces tests diffèrent par leur mécanisme d'action et les espèces cibles. Dans le présent travail, nous avons choisi quatre tests complémentaires afin de rechercher un effet antioxydant des plantes étudiées.

Concernant les tests réalisés sur les extraits préparés, nous avons testé l'effet piègeur des radicaux libres en utilisant le DPPH, le pouvoir réducteur du fer au ferricyanure de potassium, l'effet anti-péroxydation lipidique en utilisant la méthode de blanchiment de β -carotène, et la capacité à réduire le molybdène Mo (VI).

2.1.1 Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits ainsi que de certaines molécules antioxydantes de références exprimées en pourcentage de réduction et en IC_{50} (la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% du DPPH[•]), sont regroupés dans les **tableaux n° 12, 13 et 14**.

Dans le **tableau n°12**, nous avons remarqué une forte activité antiradicalaire de l'A. gallique sur le DPPH avec une valeur de IC_{50} de 1,28 μ g/mL suivi par l'A. ascorbique (1,7 μ g/mL), la catéchine (2,85 μ g/mL), le BHA (2,69 μ g/mL) et l'A. tannique (2,59 μ g/mL) tandis que le BHT semble avoir une activité antiradicalaire moyennement faible avec une IC_{50} de 4,7 μ g/mL.

Tableau n°12: Effet antiradicalaire des molécules antioxydantes de références sur la réduction du DPPH.

	Concentration $\mu\text{g/mL}$							IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	
A. ascorbique	27,69 $\pm 0,01$	44,66 $\pm 0,01$	55,17 $\pm 0,01$	71,35 $\pm 0,01$	87,37 $\pm 0,03$	93,72 $\pm 0,01$	94,24 $\pm 0,01$	1,77 $\pm 0,03$
Catéchine	10,73 $\pm 0,01$	25,74 $\pm 0,01$	34,6 $\pm 0,01$	42,65 $\pm 0,01$	52,96 $\pm 0,01$	59,00 $\pm 0,02$	69,7 $\pm 0,02$	2,85 $\pm 0,05$
BHA	8,48 $\pm 0,01$	22,73 $\pm 0,01$	34,31 $\pm 0,01$	46,59 $\pm 0,01$	55,16 $\pm 0,01$	56,09 $\pm 0,02$	63,16 $\pm 0,01$	2,69 $\pm 0,09$
BHT	5,63 $\pm 0,01$	12,24 $\pm 0,03$	28,6 $\pm 0,02$	31,35 $\pm 0,02$	30,66 $\pm 0,01$	37,27 $\pm 0,01$	47,34 $\pm 0,02$	4,7 $\pm 0,05$
A. gallique	36,45 $\pm 0,01$	60,48 $\pm 0,01$	79,76 $\pm 0,01$	92,44 $\pm 0,01$	96,47 $\pm 0,01$	94,10 $\pm 0,01$	91,48 $\pm 0,01$	1,28 $\pm 0,01$
A. tannique	13,16 $\pm 0,01$	29,96 $\pm 0,01$	42,91 $\pm 0,01$	45,80 $\pm 0,02$	64,83 $\pm 0,02$	74,54 $\pm 0,02$	92,70 $\pm 0,01$	2,59 $\pm 0,11$

(\pm) : Erreur standard (ES) (n=3)

Le **tableau n°13** montre que les différents extraits de *Z. jujuba* présentent un effet antiradicalaire croissant et proportionnel à la concentration de chaque extrait. Les extraits bruts **Aq_{zj}** ; **EM_{zj}** et **EA_{zj}**, à faible concentration 75 $\mu\text{g/mL}$, révèlent une inhibition de la réduction du DPPH de 3% à 13% ; tandis que les fractions acétate d'éthyle: **Acet_{1zj}**, **Acet_{2zj}** et la fraction **n-but_{2zj}** à cette même concentration arrivent à 86%, 95% et 62%, respectivement. La comparaison des valeurs d'IC₅₀ nous a permis de distinguer l'effet antiradicalaire de ces extraits notamment les fractions acétate d'éthyle (**Acet_{1zj}**, **Acet_{2zj}**) et n-butanol (**n-but_{2zj}**) qui ont montré de faibles valeurs (34,4 ; 12 et 60 $\mu\text{g/mL}$, respectivement) par rapport aux autres extraits qui présentent des concentrations supérieures à 240 $\mu\text{g/mL}$. Ces valeurs restent supérieures à celle des molécules antioxydantes (**tableau n°12**).

Tableau n°13: Effet antiradicalaire des extrais du fruit de *Z. jujuba* sur la réduction du DPPH.

	Concentration µg/mL								IC ₅₀ µg/mL
	75	250	425	625	750	875	925	1000	
Aq_{zj}	13,01 ± 0,02	45,73 ± 0,02	67,81 ± 0,02	91,58 ± 0,03	92,64 ± 0,01	93,92 ± 0,01	94,47 ± 0,02	91,18 ± 0,01	294,80 ± 2,67
EA_{zj}	3,05 ± 0,01	27,65 ± 0,02	45,37 ± 0,01	57,60 ± 0,02	60,64 ± 0,02	73,11 ± 0,01	75,55 ± 0,02	95,89 ± 0,01	503,60 ± 1,73
EM_{zj}	6,81 ± 0,03	35,78 ± 0,03	60,63 ± 0,03	75,21 ± 0,02	83,77 ± 0,02	91,17 ± 0,01	91,26 ± 0,01	90,00 ± 0,01	362,40 ± 5,69
Acet_{1zj}	86,56 ± 0,03	78,62 ± 0,04	88,12 ± 0,02	94,67 ± 0,01	91,31 ± 0,02	91,89 ± 0,01	94,09 ± 0,02	97,10 ± 0,01	34,40 ± 2,89
n-but_{1zj}	4,51 ± 0,01	51,35 ± 0,01	76,90 ± 0,01	92,59 ± 0,01	89,71 ± 0,02	91,96 ± 0,01	87,70 ± 0,01	88,93 ± 0,01	246,90 ± 0,33
Acet_{2zj}	95,83 ± 0,01	98,09 ± 0,01	95,19 ± 0,01	83,49 ± 0,00	85,75 ± 0,01	96,47 ± 0,01	92,96 ± 0,01	81,98 ± 0,02	12,00 ± 1,00
n-but_{2zj}	62,81 ± 0,02	77,12 ± 0,05	89,34 ± 0,02	92,99 ± 0,01	92,87 ± 0,01	92,01 ± 0,01	97,74 ± 0,01	ND	60,00 ± 3,46

Aq_{zj} : Extrait aqueux de *Z. jujuba*
EM_{zj} : Extrait eau -méthanol de *Z. jujuba*
EA_{zj} : Extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
Acet_{1zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
n-but_{1zj} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
Acet_{2zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
n-but_{2zj} : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
(±) : Erreur standard (ES) (n=3)

Les résultats illustrés dans le **tableau n°14** révèlent que les différents extraits de *M. Inodora* présentent un effet antiradicalaire intéressant à faible concentration. À 25 µg/mL la majorité des extraits testés arrivent à un pourcentage de réduction du DPPH de plus de 85%. En termes de valeur de IC₅₀ les extraits **Acet_{MI}**, **n-but_{MI}** et **Aq_{MI}** présentent les valeurs les plus faibles 1,5 µg/mL, 4,1 µg/mL et 7,4 µg/mL, respectivement. La fraction acétate d'éthyle présente une très forte activité antiradicalaire parfois supérieure à celles des molécules antioxydantes de référence : A. ascorbique (1,77 µg/mL), A. tannique (2,59 µg/mL), BHA (2,69µg/mL), catéchine (2,85µg/mL) et BHT (4,7µg/mL).

Tableau n°14: Effet antiradicalaire des extraits de *M. inodora* sur la réduction du DPPH.

	Concentration µg/mL						IC ₅₀ µg/mL
	0,5	6,25	12,5	25	75	250	
Aq_{MI}	ND	40,87 ±0,006	81,32 ±0,03	90,13 ±0,006	91,28 ±0,003	82,55 ±0,001	7,4 ±0,001
EA_{MI}	ND	15,56 ±0,01	33,60 ±0,02	66,44 ±0,01	82,71 ±0,004	89,21 ±0,009	18,9 ±0,001
EM_{MI}	ND	37,23 ±0,006	57,25 ±0,009	89,72 ±0,01	89,84 ±0,007	90,99 ±0,003	9,9 ±0,001
Acet_{MI}	47,25 ±0,003	65,02 ±0,008	92,59 ±0,003	94,32 ±0,004	96,87 ±0,004	ND	1,5 ±0,001
n-but_{MI}	31,25 ±0,01	61,46 ±0,004	82,55 ±0,008	91,10 ±0,000	97,12 ±0,002	ND	4,1 ±0,002

Aq_{MI} : Extrait aqueux de *M. inodora*
EM_{MI} : Extrait eau -méthanol de *M. inodora*
EA_{MI} : Extrait eau -acétone de *M. inodora*
Acet_{MI} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M. inodora*
n-but_{MI} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M. inodora*
 (±) : Erreur standard (ES) (n=3)
 ND : Non déterminée.

Selon l'analyse des résultats, nous avons constaté que les extraits de deux espèces étudiées présentent un effet antioxydant par piégeage des radicaux libres, dont les extraits de *M. inodora* présentent un effet prometteur par rapport aux extraits de *Z. jujuba*.

2.1.2 Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique: test de blanchiment de β-carotène (BCB)

Les résultats obtenus concernant l'effet des extraits testés et les molécules antioxydantes de référence sur la peroxydation lipidique en utilisant le test de blanchiment du β-carotène (BCB) sont représentés dans les **tableaux n°15, 16 et 17**.

En ce qui concerne les molécules antioxydantes de références testées pour leur effet inhibiteur de la peroxydation lipidique (**tableau n°15**) le BHA et le BHT présentent un effet intéressant avec des valeurs de IC₅₀ remarquable (0,6 et 2 µg/mL), suivis par l'acide tannique (3,6 µg/mL) et la catéchine (7 µg/mL). L'acide ascorbique semble le moins actif dans cet essai, il présente une valeur d'IC₅₀ relativement élevée 461 µg/mL.

Tableau n°15: Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des molécules antioxydantes de références (test de β -carotène).

	Concentration $\mu\text{g/mL}$				IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
	100	250	500	1000	
A.ascorbique	14,67±0,02	41,48±0,01	51,72±0,03	68,77±0,01	461±0,03
	Concentration $\mu\text{g/mL}$				IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
	5	10	25	50	
Catéchine	45,47±0,01	56,66±0,02	75,28±0,01	76,40±0,01	07,00±0,002
A.gallique	15,46±0,01	28,18±0,02	42,01±0,03	50,61±0,03	48,00±0,01
A.tannique	63,33±0,01	63,61±0,01	65,28±0,01	ND	03,60±0,000
	Concentration $\mu\text{g/mL}$				IC ₅₀ $\mu\text{g/mL}$
	0,5	1	2,5	5	
BHA	47,22 ± 0,04	56,39 ± 0.05	74,5± 0,01	76,81 ± 0,01	0,60±0,000
BHT	24,44 ± 0,02	46,67 ± 0.04	51,74 ± 0,06	72,64 ± 0,03	02,00±0,001

(±) : Erreur standard (ES) (n=3) ND : Non déterminé.

Dans le **tableau n°16** nous remarquons un effet inhibiteur de l'oxydation du β -carotène proportionnelle à la concentration des extraits de *Z. jujuba*. Les fractions acétate d'éthyle (**Acet_{1zj}** et **Acet_{2zj}**) assurent une forte inhibition qui arrive à 82 et 83%, avec des valeurs de IC₅₀ de 60 et 61 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. L'extrait **n-but_{2zj}** révèle une activité intéressante avec une IC₅₀ de 48 $\mu\text{g/mL}$.

Tableau n°16: Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des extraits de *Z. jujuba* (test de β -carotène).

Extraits	Concentration $\mu\text{g/mL}$			IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	100	250	500	
Aq_{zj}	39,86±0,01	51,53±0,01	60,97±0,01	231,00±7,5
EA_{zj}	38,75±0,01	60,00±0,01	71,94±0,01	180,00±5,5
EM_{zj}	61,24±0,01	63,19±0,01	67,10±0,01	78,00±4,93
Acet_{1zj}	59,28±0,01	60,91±0,01	82,08±0,01	60,00±5,23
n-but_{1zj}	25,08±0,01	43,65±0,01	51,14±0,01	462,00±13,65
Acet_{2zj}	62,21±0,01	78,83±0,01	83,71±0,01	61,00±3,23
n-but_{2zj}	64,82±0,01	71,34±0,01	85,02±0,01	48,00±5,04

Aq_{zj} : Extrait aqueux de *Z. jujuba*

EM_{zj} : Extrait eau-méthanol de *Z. jujuba*

EA_{zj} : Extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

Acet_{1zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*

n-but_{1zj} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*

Acet_{2zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

n-but_{2zj} : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*

(±) : Erreur standard (ES) (n=3)

Les résultats de l'effet des extraits de *M. inodora* sur le blanchiment du β -carotène illustrés dans le **tableau n°17** montrent un effet intéressant avec de faibles valeurs de IC_{50} . Les valeurs les plus faibles sont notés principalement dans la fraction acétate d'éthyle (28 $\mu\text{g/mL}$) et l'extrait eau-acétone (32 $\mu\text{g/mL}$). En revanche la fraction n-butanol assure une protection du β -carotène ($IC_{50} = 128 \mu\text{g/mL}$) supérieur à celle des extraits bruts aqueux (260 $\mu\text{g/mL}$) et eau-méthanol (356 $\mu\text{g/mL}$).

Tableau n°17: Effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des extraits de *M. inodora* (test de β -carotène).

	Concentration $\mu\text{g/mL}$				IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	31,2	62,5	187,5	625	
Aq_{MI}	3,77 \pm 0,01	17,84 \pm 0,003	47,12 \pm 0,01	95,72 \pm 0,007	260 \pm 0,08
EA_{MI}	48,19 \pm 0,01	78,45 \pm 0,01	ND	ND	32 \pm 0,006
EM_{MI}	1,30 \pm 0,01	ND	42,01 \pm 0,02	63,73 \pm 0,002	356 \pm 0,03
Acet_{MI}	52,42 \pm 0,02	62,96 \pm 0,01	77,08 \pm 0,01	78,09 \pm 0,01	28,1 \pm 0,006
n-but_{MI}	14,62 \pm 0,01	32,08 \pm 0,007	65,96 \pm 0,005	99,52 \pm 0,01	128,3 \pm 0,01

Aq_{MI}: Extrait aqueux de *M. inodora*
EM_{MI}: Extrait eau-méthanol de *M. inodora*
EA_{MI}: Extrait eau-acétone de *M. inodora*
Acet_{MI}: Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M. inodora*
n-but_{MI}: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M. inodora*
 (\pm): Erreur standard (ES) (n=3)
 ND: Non déterminé

A la lumière des résultats obtenus nous avons constaté que la majorité des extraits des deux espèces végétales étudiées dans ce travail présentent un effet inhibiteur de la peroxydation des lipides (révélé par le blanchiment du β -carotène), en précisant l'effet éminent des extraits de *M. inodora* par rapport aux extraits de *Z. jujuba*, mais qui reste inférieur à l'effet des molécules antioxydantes de références.

2.1.3 Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le pouvoir réducteur du fer est exprimé en valeur de EC_{50} , la concentration efficace, de l'extrait ou des molécules antioxydantes de référence correspondante à une absorbance de 0,5 à 700 nm. Les résultats obtenus concernant cette activité sont exposés dans le **tableau n°18**.

Selon les résultats obtenus nous avons remarqué que l'acide gallique présente un effet réducteur du fer remarquable ($EC_{50}=4,81\mu\text{g/mL}$) par rapport aux autres molécules antioxydantes de référence, suivi par l'acide tannique ($6,96\mu\text{g/mL}$), le BHT ($7,53\mu\text{g/mL}$) et le BHA ($7,61\mu\text{g/mL}$)

Dans le cas des extraits, nous avons observé que les extraits de *M. inodora* sont plus efficaces par rapport aux extraits de *Z. jujuba*, car l'ensemble des valeurs de EC_{50} déterminées pour ces extraits varient de 7,5 à 23,3 $\mu\text{g/mL}$, notamment pour l'extrait **Acet_{MI}** qui présente une valeur comparable à celles des molécules antioxydantes de références. Tandis que les valeurs déterminées pour les différents extraits de *Z. jujuba* sont significativement élevées et évoluent de 95,80 à 782,10 $\mu\text{g/mL}$.

Tableau n°18: Pouvoir réducteur du fer des extraits de *Z. jujuba*, *M. inodora* et des molécules antioxydantes de références.

Extraits	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Extraits	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Molécules antioxydantes	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Aq_{zj}	554,50±21,01	Aq_{MI}	11±0,001	A. ascorbique	14,45±0,12
EA_{zj}	645,70±24,18	EA_{MI}	23,3±0,001	Catéchine	12,71±0,38
EM_{zj}	607,10±23,58	EM_{MI}	11±0,001	A. gallique	4,81±0,00
Acet_{1zj}	95,80±3,00	Acet_{MI}	7,5±0,001	A. tannique	6,96±0,06
n-but_{1zj}	782,10±29,00	n-but_{MI}	13,6±0,001	BHA	7,61±0,17
Acet_{2zj}	109,70±3,28			BHT	7,53±0,07
n-but_{2zj}	190,20±5,93				

Aq_{zj}: Extrait aqueux de *Z. jujuba*
EM_{zj}: Extrait eau -méthanol de *Z. jujuba*
EA_{zj}: Extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
Acet_{1zj}: Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
n-but_{1zj}: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
Acet_{2zj}: Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
n-but_{2zj}: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
 (±) : Erreur standard (ES) (n=3)

Aq_{MI}: Extrait aqueux de *M. inodora*
EM_{MI}: Extrait eau -méthanol de *M. inodora*
EA_{MI}: Extrait eau -acétone de *M. inodora*
Acet_{MI}: Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M. inodora*
n-but_{MI}: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M. inodora*

2.1.4 La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de *M. inodora* et *Z. jujuba* : test de phosphomolybdène

Les résultats obtenus concernant la capacité antioxydante totale des extraits du fruit de *Z. jujuba* et de *M. inodora* exprimés en μg acide gallique équivalent par mg d'extrait (μg eq AG/mg extrait) déduits à partir de la courbe d'étalonnage (**fig. n°37**) sont regroupés dans le **tableau n°19**.

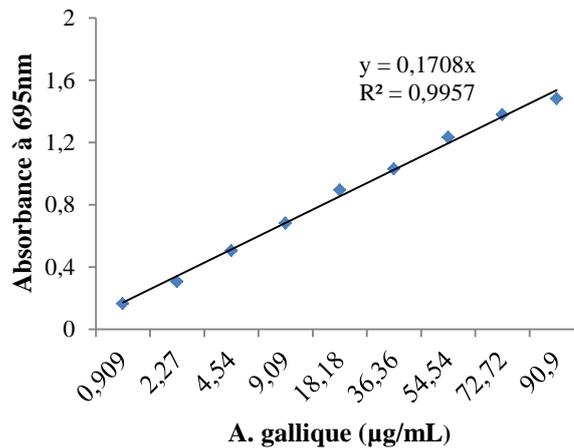


Figure n°37: Courbe étalon d'acide gallique.

Selon les résultats obtenus nous avons remarqué que les différents extraits de *M. inodora* présentent un effet relativement intéressant par rapport à l'effet des extraits de *Z. jujuba*. La plus forte capacité antioxydante a été enregistrée principalement dans la fraction **Acet_{MI}** (102,83 μg eq AG/mg extrait), la fraction **n-but_{MI}** (78,76 μg eq AG/mg extrait) et l'extrait **Aq_{MI}** (76,90 μg eq AG/mg extrait). Les extraits bruts **EM_{MI}** (72,61 μg eq AG/mg extrait) et **EA_{MI}** (65,54 μg eq AG/mg extrait) présentent les plus faibles valeurs de la capacité antioxydante totale.

En revanche, les fractions **Acet_{1zj}** (71,98 μg eq AG/mg extrait), **Acet_{2zj}** (64,62 μg eq AG/mg extrait) et l'extrait **Aq_{zj}** (63,04 μg eq AG/mg extrait) de *Z. jujuba* ont présenté des valeurs intéressantes mais qui restent inférieure à celle des extraits de la deuxième plante. L'extrait **EA_{zj}** donne la plus faible valeur de la capacité antioxydante (19,33 μg eq AG/mg extrait).

Tableau n°19: La capacité antioxydante totale des extraits de *Z. jujuba* et de *M. inodora*

Extraits <i>Z. jujuba</i>	CAT (µg eq AG/mg extrait)	Extraits <i>M.</i> <i>inodora</i>	CAT (µg eq AG/mg extrait)
Aq_{zj}	63,04±0,43	Aq_{MI}	76,9±0,02
EA_{zj}	19,33±0,15	EA_{MI}	65,54±0,01
EM_{zj}	41,06±0,30	EM_{MI}	72,61±0,001
Acet_{1zj}	71,98±0,49	Acet_{MI}	102,83±0,02
n-but_{1zj}	30,18±0,21	n-but_{MI}	78,76±0,03
Acet_{2zj}	64,62±0,38		
n-but_{2zj}	31,04±0,21		

Aq_{zj} : Extrait aqueux de *Z. jujuba*
EM_{zj} : Extrait eau-méthanol de *Z. jujuba*
EA_{zj} : Extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
Acet_{1zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
n-but_{1zj} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba*
Acet_{2zj} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
n-but_{2zj} : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
(±) : Erreur standard (ES) (n=3)

Aq_{MI} : Extrait aqueux de *M. inodora*
EM_{MI} : Extrait eau-méthanol de *M. inodora*
EA_{MI} : Extrait eau-acétone de *M. inodora*
Acet_{MI} : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M. inodora*
n-but_{MI} : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M. inodora*

2.2 Effet antibactérien et antifongique des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*

L'effet antibactérien et antifongique des différents extraits des plantes étudiées a été testé sur cinq souches bactériennes de référence : trois souches Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633), deux Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25933, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606) et trois souches de référence de *Candida albicans* (ATCC10231, IP 444 et ATCC 26790). Les extraits ayant présentés un effet inhibiteur de la croissance bactérienne ont fait l'objet de la technique de microdilution.

2.3.1 Méthode de diffusion sur milieu solide

Les résultats de l'effet antibactérien et antifongique des extraits du fruit de *Z. jujuba* testés à forte concentration (1000mg/mL) par la méthode de diffusion sur milieu solide, et exprimés en diamètres des zones d'inhibition sont regroupés dans le **tableau n°39**. Dans ce dernier nous avons remarqué que l'ensemble des extraits testés présentent une faible activité antibactérienne avec des zones d'inhibition nettement inférieures à celle de l'antibiotique. Un diamètre de 6,5 mm a été globalement mentionné pour tous les extraits à l'exception des

fractions n-butanol (**n-but_{1zj}**, **n-but_{2zj}**) qui ont marqué un diamètre de 9mm chez *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La sensibilité des souches bactérienne à l'antibiotique de référence la gentamicine a été traduite par des diamètres d'inhibitions comprises entre 17 et 22 mm.

Concernant l'effet antifongique, les extraits du fruit de la plante *Z. jujuba* à la concentration 1000mg/mL sont inactifs *vis-à-vis* les souches testées de *Candida* par rapport à l'amphotéricine B (30-32 mm), qui est un antifongique de référence.

Tableau n°39: Effet antibactérien et antifongique des extraits de *Z. jujuba* exprimé en diamètres des zones d'inhibition (en mm).

		Extraits (1000mg/mL)							Gent (10µg/dis)	AmB (10µg/dis)
		Aq _{zj}	EM _{zj}	EA _{zj}	Acet _{1zj}	nbut _{1zj}	Acet _{2zj}	n-but _{2zj}		
Bactéries à Gram +	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,5±0,1	6,5±0,2	8±0,8	6,5±0,6	9±1,0	7±0,33	9±2,5	22	ND
	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	6,5±0,1	-	-	-	-	-	6,5±0,0	18	ND
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6,5±2,5	-	-	-	-	6,5±0,19	6,5±0,6	17	ND
Bactéries à Gram-	<i>E. coli</i> ATCC 25933	6,5±0,1	6,5±0,2	6,5±0,0	6,5±0,0	6,5±0,2	-	6,5±0,1	18	ND
	<i>A.baumannii</i> ATCC 19606	6,5±0,2	-	-	-	6,5±0,0	-	-	17	ND
Levures	<i>C. albicans</i> ATCC10231	-	-	-	-	-	-	-	ND	32
	<i>C. albicans</i> IP 444	-	-	-	-	-	-	-	ND	30
	<i>C.albicans</i> ATCC 26790	-	-	-	-	-	-	-	ND	30

Aq_{zj}: Extrait aqueux de *Z. jujuba* *EM_{zj}: Extrait eau-méthanol de *Z. jujuba* *EA_{zj}: Extrait eau-acétone de *Z. jujuba*
*Acet_{zj}: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba* *n-but_{1zj}: fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba* *Acet_{2zj}: Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba* *n-but_{2zj}: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*. **Gent**: Gentamicine. **AmB**: Amphotéricine B. — : Aucune activité. **ND**: Non déterminé.

(±) : Erreur standard (ES) (n=3)

Les résultats de l'effet antibactérien et antifongique des extraits de la partie aérienne de *M. inodora* (**tableau n°40**) ont révélé que la majorité des extraits testés à 1000 mg/mL présentent une très faible activité antibactérienne avec des zones d'inhibition (6,5 mm) inférieur à celle de l'antibiotique (17 et 22 mm). Les extraits aqueux, eau-acétone et acétate d'éthyle ne montrent aucune zone d'inhibition.

Pour l'activité antifongique, ces extraits (1000mg/mL) n'ont révélé aucune inhibition de la croissance des souches de *Candida* en comparaison avec l'amphotéricine B (30-32mm).

L'eau distillée, le solvant utilisé pour solubiliser les extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*, n'a révélé aucun effet *vis-à-vis* les souches bactériennes et fongiques testées.

Tableau n°40: Effet antibactérien et antifongique des extraits de *M. inodora* exprimé en diamètres des zones d'inhibition (en mm).

		Extraits (1000mg/mL)						Gent (10µg/disque)	AmB (10µg/disque)
		Aq _{MI}	EM _{MI}	EA _{MI}	Acet _{MI}	nbut _{MI}			
Bactéries à Gram +	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	6,5±0,19	-	-	6,5±0,17	22	ND	
	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	-	-	-	-	-	18	ND	
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	17	ND	
Bactéries à Gram -	<i>E. coli</i> ATCC 25933	-	6,5±0,25	-	-	6,5±0,25	18	ND	
	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	-	-	-	-	-	17	ND	
Levures	<i>C. albicans</i> ATCC10231	-	-	-	-	-	ND	32	
	<i>C. albicans</i> IP 444	-	-	-	-	-	ND	30	
	<i>C. albicans</i> ATCC 26790	-	-	-	-	-	ND	30	

* Aq_{MI} : Extrait aqueux de *M.inodora* * EM_{MI} : Extrait eau-méthanol de *M.inodora* *EA_{MI} : Extrait eau-acétone de *M.inodora* *Acet_{MI}: Fraction Acétate d'éthyle récupéré à partir de l'extrait aqueux de *M.inodora* * n-but_{MI} : Fraction n-butanol récupéré à partir de l'extrait aqueux de *M.inodora* *Gent: Gentamicine * — :Aucune activité. ND : Non déterminé. (±) : Erreur standard (ES) (n=3)

2.3.2 Méthode de microdilution

En se basant sur les résultats obtenus par la technique sur milieu solide, nous avons déterminé les CMI des extraits ayant révélé un effet antibactérien (**tableau n° 41 et 42**). Les souches de levures qui ont montré une résistance totale aux extraits, n'ont pas fait l'objet d'évaluation par la méthode de microdilution.

Selon les résultats mentionnés dans le **tableau n°41** nous avons remarqué une faible activité antibactérienne de certains extraits de *Z. jujuba*, dont les valeurs de CMI varient de 110 à 450 mg/mL; voire absente pour d'autres extraits. L'extrait aqueux (Aq_{zj}) a présenté une CMI de

450 mg/mL *vis-à-vis* la souche *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ATCC 25933 tandis que l'extrait n-butanol (**n-but_{2zj}**) a présenté une CMI de 110 mg/mL *vis-à-vis* ces souches. Ces mêmes extraits ont montré une CMI de 230 mg/mL pour les souches *Bacillus*.

Tableau n°41: Effet antibactérien des extraits de *Z. jujuba* exprimé en concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).

	Extraits et CMI (mg/mL)							Gent (µg/mL)
	Aq _{zj}	EM _{zj}	EA _{zj}	Acet _{1zj}	n-but _{1zj}	Acet _{2zj}	n-but _{2zj}	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	450 ±0,00	110 ±0,00	110 ±0,00	230 ±0,00	110 ±0,00	230 ±0,00	110 ±0,00	0,19
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	230 ±0,00	—	—	—	—	—	230 ±0,00	0,19
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	230 ±0,00	—	—	—	—	110 ±0,00	230 ±0,00	5,20
<i>E. coli</i> ATCC 25933	450 ±0,00	110 ±0,00	110 ±0,00	110 ±0,00	110 ±0,00	—	110 ±0,00	0,32
<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	230 ±0,00	—	—	—	110 ±0,00	—	—	0,65

Aqzj: extrait aqueux de *Z. jujuba* **EMzj*: Eau-méthanol de *Z. jujuba* **EAzj*: Eau-acétone de *Z. jujuba* **Acetzj*: fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *Z. jujuba* **n-but1zj*: fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *Z. jujuba* **Acet2zj*: fraction Acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba* **n-but2zj*: fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba*. **Gent**: Gentamicine. — : aucune activité. (±) : Erreur standard (ES) (n=3).

D'après les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de *M. inodora* résumés dans le **tableau n°42**, nous avons constaté que les extraits aqueux, eau-acétone et acétate d'éthyle n'ont présenté aucune activité antibactérienne ; tandis que les extraits eau-méthanol et n-butanol ont présenté des CMI de 110, 230 et 450 mg/mL sur les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, respectivement.

Tableau n°42: Effet antibactérien des extraits de *M. inodora* exprimé en Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).

	Extraits et CMI (mg/mL)					
	Aq _{MI}	EM _{MI}	EA _{MI}	Acet _{MI}	n-but _{MI}	Gent (µg/mL)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	—	110 ±0,00	—	—	230 ±0,00	0,19
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	—	—	—	—	—	0,19
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	—	—	—	—	—	5,20
<i>E. coli</i> ATCC 25933	—	110 ±0,00	—	—	450 ±0,00	0,32
<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	—	—	—	—	—	0,65

* **AqMI** : Extrait aqueux de *M.inodora* * **EMMI** : Extrait eau-méthanol de *M.inodora* * **EAMI** : Extrait eau-acétone de *M.inodora* * **AcetMI** : Fraction Acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *M.inodora* * **n-butMI** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *M.inodora* * **Gent**: Gentamicine * — :Aucune activité. (±) : Erreur standard (ES) (n=3).

Discussion

La valorisation des plantes médicinales et aromatiques suscite un intérêt croissant dans la recherche scientifique à l'échelle internationale, et sont de plus en plus exploitées dans le domaine pharmaceutique à des fins thérapeutiques et cosmétiques. L'Algérie, par sa biodiversité climatique et végétale, constitue un véritable réservoir des espèces végétales, dont un grand nombre de plantes sont considérées comme aromatiques et médicinales. La majorité de ces espèces reste méconnue jusqu'à nos jours, car seulement 146 plantes sont dénombrées comme médicinales (**Hamel et al., 2018**).

L'objectif de la présente étude porte sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits aqueux et organiques du fruit de *Z. jujuba* (famille des Rhamnaceae), et la partie aérienne de *M. inodora* (famille des Lamiaceae). L'approche expérimentale de cette étude regroupe deux grandes parties ; la première partie consiste à l'étude phytochimique des extraits préparés en déterminant le taux de polyphénols et de flavonoïdes dans chaque extrait, ainsi que l'analyse RP-HPLC-PDA des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de certains extraits. La deuxième partie consiste à l'évaluation *in vitro* de certaines activités biologiques des plantes étudiées : antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne.

Dans la partie phytochimique nous avons procédé à la préparation par macération pendant 72h des extraits bruts à partir des deux plantes étudiées : extrait aqueux, eau-acétone et eau-méthanol. L'extrait aqueux et eau-acétone de *Z. jujuba* ont subi un fractionnement par extraction liquid-liquid en utilisant l'acétate d'éthyle et le n-butanol, dans le cas de *M. inodora* seul l'extrait aqueux a subi le fractionnement par ces solvants. L'ensemble des extraits et les fractions préparés sont récupérés sous forme solide de couleur marron, dont leur rendement d'extraction varie en fonction du solvant d'extraction utilisé, sachant que les extraits bruts révèlent le meilleur rendement par rapport aux fractions.

En phytochimie différentes procédures d'extraction sont appliquées, macération, infusion, décoction ou hydrodistillation en utilisant des solvants à différentes polarités afin de préparer différentes formes d'extraits, aqueux, organiques ou hydro-organiques. Les paramètres de base influençant la qualité d'un extrait sont principalement le stade de maturation de la plante étudiée (fraîche, sèche, en floraison, en fructification...), la partie utilisée de la plante (fleurs, feuilles, tiges, racines, ...), le solvant (polarité et miscibilité), la méthode et le temps d'extraction utilisés (**Ahmad et al., 2013**). Les solvants polaires, tels que l'eau-distillée, le méthanol, l'éthanol et l'acétone assurent un rendement d'extraction total plus élevé et sont les

plus utilisés pour l'extraction des molécules bioactives polaires (**Wang et al., 2011;** **Altemimi et al., 2017**).

Nos résultats du criblage phytochimique des extraits des fruits de *Z. jujuba* ont révélé la présence de flavonoïdes, tanins et quinones dans tous les extraits. Cependant, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les coumarines et les anthraquinones étaient totalement absents. Les saponosides ont été révélés uniquement dans la fraction **n-but_{1zj}** et **n-but_{2zj}**. Selon la bibliographie, les principaux composants biologiquement actifs caractéristiques de *Z. jujuba* sont principalement la vitamine C, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les acides triterpéniques et les polysaccharides (**Tripathi et al., 2014**). En ce qui concerne les extraits de *M. inodora* le screening phytochimique a montré la présence de flavonoïdes, tanins et alcaloïdes dans tous les extraits ; tandis que, les terpénoïdes, les coumarines et les anthraquinones étaient totalement absents. Les saponosides ont été observées seulement dans les extraits bruts **Aq_{MI}**, **EM_{MI}** et **EA_{MI}**.

Au cours de notre étude phytochimique nous avons déterminé la teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les différents extraits récupérés à partir des deux plantes étudiées. Pour *Z. jujuba* un taux en polyphénols qui varie de 42,84 à 94,70 µg Eq AG/mg d'extrait sec a été obtenu dans les extraits. Les flavonoïdes affichent des taux élevés variables de 47,08 à 427,33 µg Eq Cat/mg d'extrait sec, dont les extraits **Acet_{1zj}**, **Acet_{2zj}** et **n-but_{2zj}** présentent les valeurs les plus élevées. Concernant les résultats du taux de polyphénols et de flavonoïdes dans les extraits de *M. inodora*, il a été démontré que les extraits de cette plante renferment des teneurs élevées en polyphénols totaux variables de 175,50 à 332,62 µg Eq AG/mg d'extrait sec. Tandis que, les résultats du taux de flavonoïdes ont affiché des valeurs variables de 65,38 à 86,30 µg Eq Cat/mg d'extrait sec.

Selon la bibliographie, plusieurs études ont révélé la richesse des extraits du fruit du jujubier en polyphénols, dont le taux varie de 275,6 à 541,8 mg Eq AG / 100 g (**Gao et al., 2013**) et 42,6-55,4 mg Eq AG /g de matière sèche (**Xue et al., 2009**). **Trifonova et al., (2021)** ont révélé dans l'extrait hydro-ethanolique du fruit (extraction liquide sous pression) un faible taux de polyphénols de 21 mg Eq AG/g d'extrait, et de flavonoïdes 2,48 mg Eq Cat/g d'extrait. Cette différence de résultats est principalement liée à la méthode d'extraction utilisée pour la préparation des extraits. De même, et selon **Gao et al., (2013)** le contenu en composés phénoliques de ce fruit est influencé par les conditions environnementales comme, la diversité génétique, l'altitude, les précipitations annuelles et le stade de maturation du fruit.

En ce qui concerne *M. inodora*, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont en accord avec les travaux de **Brahmi et al., (2017)** qui ont révélé que la macération de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Micromeria graeca* récoltée en Algérie renferme une teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux de 430 mg Eq AG /100 g de poids sec et 190 mg Eq Quercétine/100 g de poids sec, respectivement. Tandis que, ces valeurs sont nettement supérieures à celles déterminés par **Vladimir-Kneževic et al., (2011)** sur trois espèces de la Croatie (*Micromeria croatica*, *Micromeria juliana* et *Micromeria thymifolia*, qui ont montré la richesse de ces plantes en polyphénols (9,7% à 13,1%), en flavonoïdes (0,01 à 0,09%) ; en acides phénoliques (5,3 à 6,8%) et en tanins (3,1 à 6,1%).

Les teneurs en composés phénoliques sont liées au solvant d'extraction utilisé qui influence la quantité et la qualité des substances phytochimiques à extraire. Selon la littérature, les solvants polaires comme, l'eau, le méthanol et l'acétone sont fréquemment utilisés pour l'extraction des polyphénols (**Sultana et al., 2009; Tiwari et al., 2011**). Certains solvants organiques peuvent assurer l'extraction sélective des flavonoïdes comme isoflavones, flavanones et flavonols qui sont récupérés généralement dans le chloroforme, dichlorométhane et l'acétate d'éthyle, alors que les alcools ou les mélanges eau-alcools (méthanol, éthanol) assurent l'extraction des flavonoïdes plus polaires et des flavonoïdes glycosides ; Les flavan-3-ols (catéchines, proanthocyanidines et tanins condensés) sont souvent extraites directement dans l'eau distillée (**Marston et al., 2006; Tiwari et al., 2011**).

Parallèlement à la détermination du taux de polyphénols et de flavonoïdes dans l'ensemble des extraits récupérés à partir des deux plantes étudiées, nous avons procédé à la caractérisation des composés phénoliques par la technique RP-HPLC-PDA de certains extraits ayant présenté un taux élevé en composés phénoliques et une activité antioxydante intéressante. Les profils chromatographiques des extraits du fruit *Z. jujuba* ont montré la présence de l'acide gallique et de la quercétine dans les trois extraits **EA_{zj}**, **Acet_{2zj}** et **Acet_{1zj}** où la quercétine présente le pic le plus important par rapport à celui de l'acide gallique. La rutine a été également détectée (un pic infime) dans l'extrait **EA_{zj}**. En ce qui concerne les extraits de *M. inodora*, notre identification préliminaire de l'extrait **Aq_{MI}** et ses fractions **Acet_{MI}** et **n-but_{MI}** a montré la présence de plusieurs composés phénoliques dont la quercétine, l'acide gallique, la rutine, la vanilline et la naringinine. Notre analyse des composés phénoliques a révélé la présence de l'acide gallique et la quercétine comme molécules

communes présentent dans les extraits des deux plantes, dont la quercétine est le composé majoritaire.

Nos résultats sont en accord avec celle de **San et al., (2010)** et **Shi et al.,(2018)** qui ont révélé la présence de la catéchine, l'épicatéchine, l'acide caféique, la rutine, l'apigénine-7-glucoside, l'acide chlorogénique, l'acide syringique, acide *p*-coumarique, l'acide férulique, la procyanidine et la quercétine dans les feuilles et les fruits du jujubier. Les travaux de **Pawlowska et al., (2009)**, **San et al., (2010)**, **Damiano et al., (2017)** et **Xie et al., (2017)** ont également montré que les fruits et les feuilles du jujubier sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes, en particulier la rutine et apigénine-7-glucoside au niveau des feuilles ; la catéchine, la rutine, le kaempférol, la quercétine 3-O-robinobioside et la quercétine 3-O-rutinoside au niveau des fruits, qui sont également riches en α -tocophérol et β -carotène. D'autres analyses ont mis en évidence autres flavonoïdes, acides phénoliques et terpénoïdes comme l'acide bétulinique, l'acide oléanolique, l'acide ursolique, l'acide gallique, l'acide protocatéchique, la magnoflorine, la spinosine, l'isospinosine, la jujuboside A et B (**Guo et al., 2010**; **Zhang et al., 2010**; **Liao et al., 2012**; **Wang et al., 2014**).

Selon les résultats de **Brahmi et al., (2017)**, l'analyse de l'extrait éthanolique brut de la partie aérienne de *Micromeria graeca* par chromatographie sur couche mince a indiqué la présence des acides phénoliques représentés par leurs bandes fluorescentes bleues intenses sous la lumière UV à 365 nm ; et des flavonoïdes sous forme de tâches jaune-orange. Ces composés ont été identifiés par HPLC comme acide rosmarinique, acide caféique, acide chlorogénique, et acide gallique, ainsi que l'apigénine et la diosmine. D'autres espèces de *Micromeria* sont riches en acides vanilique, hydroxy benzoïque, sinapique, férulique, *p*-coumarique, cinnamique et ellagique (**Brahmi et al., 2017**).

La deuxième partie de notre étude, complémentaire à l'analyse phytochimique des extraits préparés, consiste à la recherche et l'évaluation *in vitro* de certaines activités biologiques des extraits préparés, notamment l'activité antioxydante qui a été réalisée par l'utilisation des tests du DPPH, FRAP, β -carotène et CAT; l'activité antidiabétique évaluée par le test des extraits sur l'activité des enzymes intestinales α -amylase et α -glucosidase en point terminale et en cinétique, ainsi que l'évaluation de l'effet antiglycant de l'albumine (BSA) et enfin l'activité antimicrobienne testée par la méthode de diffusion et de microdilution.

Différentes méthodes ont été développées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'effet d'un antioxydant. Il n'existe pas une méthode simple et universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise, le plus souvent il faut combiner les réponses de différents tests complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon testé (Popovici et al., 2009).

De ce fait au cours de notre étude nous avons combiné quatre méthodes afin d'évaluer la capacité antioxydante des extraits des deux plantes étudiées *Z. jujuba* et *M. inodora*. Le potentiel antiradicalaire a été évalué par la méthode de piégeage du radical DPPH• qui est recommandé pour des composés contenant les groupements SH, NH et OH ; suivi par l'évaluation du pouvoir réducteur du fer par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). L'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique a été évaluée par le test de blanchiment du β -carotène, et en fin la capacité antioxydante totale (CAT).

Selon nos résultats concernant le pouvoir antiradicalaire nous avons constaté que l'ensemble des extraits de fruits de *Z. jujuba* et la partie aérienne de *M. inodora* ont montré un pourcentage d'inhibition du DPPH proportionnel à la concentration de chaque extrait, dont les fractions acétate d'éthyle et n-butanol ont assuré une forte inhibition. La comparaison des valeurs de IC₅₀ a révélé un effet piègeur du DPPH intéressant au niveau des extraits de *M. inodora* par rapport aux extraits de *Z. jujuba*, qui a enregistré des valeurs de 4,1 $\mu\text{g/mL}$ et 1,5 $\mu\text{g/mL}$ contre 12; 34,4 et 60 $\mu\text{g/mL}$. Les valeurs de *M. inodora* sont comparables à celles de certains témoins antioxydants, acide gallique (1,28 $\mu\text{g/mL}$), acide ascorbique (1,77 $\mu\text{g/mL}$), acide tannique (2,59 $\mu\text{g/mL}$), BHA (2,69 $\mu\text{g/mL}$), catéchine (2,85 $\mu\text{g/mL}$) et BHT (4,70 $\mu\text{g/mL}$).

Nos résultats sont en accord avec la bibliographie qui a affiché un effet antiradicalaire important de l'extrait acétone de l'épicarpe du fruit de *Z. jujuba* par rapport aux extraits de la pulpe (Lupea et al., 2008; Xue et al., 2009). L'effet de l'extrait méthanolique de la pulpe est plus intéressant (IC₅₀ = 53,97 $\mu\text{g/ml}$) que celui de l'extrait des graines (IC₅₀ = 88,68 $\mu\text{g/ml}$) (Rajaei et al., 2021). Plus le fruit est mature de couleur rouge sombre plus il est riche en phytoconstituants bioactives et son activité antiradicalaire sur le DPPH est importante (Xie et al., 2017; Shi et al., 2018; Reche et al., 2021).

Micromeria inodora est une espèce endémique en Algérie, aucune étude n'a été réalisée jusqu'à présent sur les propriétés biologiques de cette plante ; seule l'étude de **Benomari et al., (2016)** a été réalisée sur les propriétés antibactérienne et la composition chimique de l'huile essentielle de *M. inodora* récoltée sur 24 stations du littoral de Tlemcen. De ce fait, notre comparaison avec la bibliographie porte essentiellement sur d'autres espèces du genre *Micromeria*. Nos résultats sont en accord avec les résultats publiés par **Vladimir-Knežević et al., (2011)** qui ont mis en valeur un effet antiradicalaire des extraits éthanoliques de trois espèces ayant présenté de très faibles valeurs de IC₅₀, *M. croatica* (4,67 µg/mL), *M. juliana* (7,95 µg/mL) et *M. thymifolia* (8,33 µg/mL). **Brahmi et al., (2017)** ont noté une IC₅₀ de 65,8 µg/mL pour l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *M. graeca* (récoltée en Algérie). L'extrait acétonique de *M. nervosa* (récoltée en Egypte) a montré un effet réducteur du DPPH' avec une IC₅₀ de 73 µg/mL (**Abdelwahab et al., 2015**).

Selon la littérature, parmi les valeurs de IC₅₀ citées pour les différentes espèces de *Micromeria* (**Güllüce et al., 2004; Abdelwahab et al., 2015; Vladimir-Knežević et al., 2011; Brahmi et al., 2017**), *M. inodora* a révélé les valeurs les plus faibles ce qui confirme l'effet antiradicalaire prometteur de cette plante.

D'autre part, dans la présente étude nous avons évalué la capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique de nos extraits en utilisant le test de blanchiment du β-carotène (BCB). Les principaux résultats ont montré que les extraits de *Z. jujuba* **Acet_{1z}**, **Acet_{2zj}** et **n-but_{2zj}** ont fortement inhibé l'oxydation du β-carotène (85%) avec des valeurs de IC₅₀ variables de 48 à 60 µg/mL. En ce qui concerne *M. inodora*, l'ensemble des extraits ont montré une inhibition de la peroxydation lipidique dose-dépendante. Les extraits **Acet_{MI}** et **EA_{MI}** ont fortement inhibé l'oxydation du β-carotène (81-78%) avec des valeurs d'IC₅₀ de 28 et 32 µg/mL, respectivement. Les molécules antioxydantes de références BHA et BHT ont présenté les plus faibles valeurs de IC₅₀ 0,6 et 2 µg/mL par rapport à l'acide tannique (3,6 µg/mL) et à la catéchine (7 µg/mL).

Suivant la bibliographie, les travaux de **Gao et al., (2011)** ont montré que l'extrait méthanolique de *Z. jujuba* a assuré une inhibition significative du blanchiment du β-carotène. Les extraits de racines de *Ziziphus lotus* (1 mg/mL) ont révélé des valeurs de IC₅₀ variables de 0,123 à 0,850 mg/mL contre 0,433 mg/mL obtenu par l'acide gallique. (**Ghalem et al., 2014**). De même, d'autres études ont confirmé l'efficacité de différentes espèces de *Micromeria* dans

l'inhibition de la peroxydation lipidique (**Öztürk et al., 2011; Abdelwahab et al., 2015; Brahma et al., 2017**).

Le pouvoir réducteur du fer est l'un des mécanismes d'action des antioxydants. Dans la méthode FRAP (Ferric reducing antioxidant power), le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ fournit les ions ferrique (Fe^{3+}) qui seront réduits en forme ferreux (Fe^{2+}) en acceptant un électron cédé par les antioxydants. Le complexe bleu de Prusse formé après l'ajout du $FeCl_3$ absorbe à 700 nm, dont une absorbance élevée indique un pouvoir réducteur du fer (**Karagözler et al., 2008; Li et al., 2008; Bursal et al., 2011**).

Les extraits des fruits de *Z. jujuba* testés par la méthode du FRAP ont montré que les fractions acétate d'éthyle (**Acet_{1zj}** et **Acet_{2zj}**) ainsi que la fraction (**n-but_{2zj}**) ont présenté une puissance de réduction du fer plus élevée que les extraits bruts (**Aq_{zj}**, **EM_{zj}** et **EA_{zj}**). En termes de valeurs d' EC_{50} , l'extrait **Acet_{1zj}** a révélé la valeur la plus faible (95,8 $\mu g/mL$) suivi par l'extrait **Acet_{2zj}** (109,7 $\mu g/mL$). Concernant les extraits de *M. inodora*, l'extrait **Acet_{MI}** ($EC_{50}=7,5 \mu g/mL$) a présenté le meilleur pouvoir réducteur du fer, suivi par les extraits bruts **Aq_{MI}** et **EM_{MI}** (11 $\mu g/mL$). Les molécules antioxydantes de référence ont présenté des valeurs très faibles, dont l'acide gallique (4,81 $\mu g/mL$) paraît le plus puissant. Aucun travail scientifique n'a été publié concernant le pouvoir réducteur du fer de *M. inodora*, tandis que les travaux de **Xue et al., (2009)** ; **Gao et al., (2011)** et **Shi et al., (2018)** ont également révélé une capacité réductrice du fer des extraits du fruit *Z. jujuba*. De même, **Chang et al., (2010)** ont révélé un pouvoir chélateur des ions de fer par la fraction de polysaccharides acides des fruits du jujubier.

La capacité antioxydante totale (**CAT**) a été également évaluée au cours de notre étude par la méthode au phosphomolybdène. L'ensemble des extraits du fruit de *Z. jujuba* ont révélé une capacité antioxydante totale variable de 19,33 à 71,98 μg eq AG/mg extrait, tandis que les extraits de la partie aérienne de *M. inodora* montrent des valeurs plus élevées de 65,54 à 102,83 μg eq AG /mg d'extrait notamment dans la fraction acétate d'éthyle.

En résumé, les résultats obtenus au cours de notre étude concernant la mise en valeur du pouvoir antioxydants des extraits aqueux et organiques des deux plantes *Z. jujuba* et *M. inodora* en utilisant quatre tests complémentaires, ont révélé un effet positif de l'ensemble des extraits dont les extraits de *M. inodora* ont présenté un effet remarquable dans la majorité des tests par rapports aux extraits de *Z. jujuba*, notamment la fraction acétate d'éthyle. Ces

fractions sont riches en composés phénoliques et ils renferment la quercétine, l'acide gallique, la rutine, la naringinine et la vanilline. La présence de ces composés et d'autres composés phénoliques sont principalement responsables du pouvoir antioxydant de nos extraits.

Suivant leurs mécanismes d'action les antioxydants peuvent agir de deux manières différentes, soit ils inactivent les radicaux libres et permettent directement l'interruption de la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres, c'est le cas de la réaction du DPPH ; soit ils préviennent ou empêchent la formation des radicaux libres, et ils forment des complexes avec les métaux pro-oxydants comme le fer et le cuivre par transfert d'électrons (**Rolland, 2004; Laguerre et al., 2007**).

Les composés phénoliques sont parmi les antioxydants les plus puissants, ceci grâce à leur capacité importante de piéger les radicaux libres et les espèces oxygénés réactives et également de réduire et de chélater les ions de transition. Le potentiel antioxydant des flavonoïdes réside dans leur capacité à céder un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle et piéger les radicaux libres en formant une molécule stable (**RH**) et un radical flavoxyle (**FLO[•]**) moins réactifs et qui va subir un changement de structure par résonance, redistribution des électrons impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux radicaux libres (**R[•]**); en outre les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs (**FLO-R**). Les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques qui sont à l'origine d'une peroxydation lipidique comme le Cu^{2+} qui est un stimulateur de la peroxydation des LDL en créant des composés complexes inactifs (**Chira et al., 2008; Kumar et al., 2013; Kabera et al., 2014; Nde et al., 2015; Vermerris et al., 2008; Ganeshpurkar et al., 2017; Mauludin et al., 2013**).

Cependant la forme glycosylé des flavonoïdes peut influencer cette activité, un potentiel d'oxydation accru et une activité antioxydante réduite a été révélé pour la quercétine lorsqu'elle est glycosylée en position 3-OH, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine (**La Casa et al., 2000; Aaby et al., 2004; Bouzid et al., 2017**). De plus, la présence d'un groupe hydroxyle en position 5' a un effet inhibiteur de l'activité antioxydante, tandis que sa présence en position 3 et 3' améliore cette activité (**Lupea et al., 2008; Schaich et al., 2015**).

Burda et al., (2001) ont rapporté que les flavonoles avec un groupe hydroxyle en position C-3 du squelette de base présentent une forte inhibition de l'oxydation du β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique ; tandis que la réduction du nombre de substitution des groupes OH et 3-OH par un groupe méthyle ou glycosyle diminue cette activité.

Parallèlement à l'évaluation de l'activité antioxydante, les extraits aqueux et organiques des deux plantes *Z. jujuba* et *M. inodora* ont été évalués *in vitro* pour leur activité antidiabétique, en mesurant leur effet sur l'activité de l' α -glucosidase et l' α -amylase en point terminal et en cinétique.

La digestion des glucides alimentaires fait appel aux glucosidases de la lumière intestinale ; les α -amylases pancréatiques et les α -glucosidases de la bordure en brosse. Les α -amylases hydrolysent les liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ de l'amidon, à l'exception des liaisons $\alpha(1\rightarrow6)$, pour former du maltose, du maltotriose et α -dextrines limites comportant cinq à huit unités de glucose autour d'une liaison $\alpha(1\rightarrow6)$ (**Blicklé et al., 1999; Sun et al., 2019**). Les α -glucosidases assurent l'hydrolyse des disaccharides alimentaires, elles regroupent la maltase qui hydrolyse les liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ y compris les liaisons terminales conduisant à la formation du glucose, et l' α -dextrinase (isomaltase) qui hydrolyse les liaisons $\alpha(1\rightarrow6)$ des dextrines limites (**Blicklé et al., 1999; Chaudet et al., 2019**). Les sucres simples issus de l'hydrolyse de l'amidon diffusent à travers la membrane luminale des entérocytes par des transporteurs membranaires sodium dépendant **SGLT1** (sodium glucose co-transporter) et sodium indépendant **GLUT2** (**Karp, 2010; Lieberman et al., 2009**)

Les inhibiteurs de ces enzymes est une approche thérapeutique qui consiste à réduire l'hyperglycémie post-prandiale chez les diabétiques de type II. Certains médicaments pharmaceutiques comme l'acarbose, le miglitol et le voglibose sont utilisés comme inhibiteurs de l' α -glucosidase et de l' α -amylase. Le principal inconvénient de ces médicaments est leurs effets secondaires tels que le ballonnement, le météorisme, les flatulences et éventuellement les diarrhées (**Nair et al., 2013; Salehi et al., 2013; Watcharachaisoponsiri et al., 2016**).

De nombreux travaux scientifiques, dans le but du développement de nouveaux antidiabétiques alternatifs, ont mis en valeur un effet prometteur de certains phytoconstituants sur le retardement ou l'inhibition de la glycémie post-prandiale via l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase et l' α -amylase (**Benalla et al., 2010; Thilagam et al., 2013**).

Dans notre étude, les résultats obtenus ont montré que l'ensemble des extraits ont présenté *in vitro* une activité inhibitrice de ces enzymes proportionnelle à la concentration de chaque extrait. L'effet inhibiteur sur l'activité de l' α -glucosidase était très significatif pour les extraits *M. inodora* par rapport aux extraits de *Z. jujuba* (2,81 mg/mL <IC₅₀> 6,48 mg/mL), dont les valeurs de IC₅₀ varient de 0,46 à 0,74mg/mL. Les extraits de *Z. jujuba* ont présenté sur l' α -amylase un effet légèrement supérieur à celui des extraits de *M. inodora* (0,76 mg/mL <IC₅₀> 2,29 mg/mL), dont leurs valeurs d'IC₅₀ déterminées varient de 0,90 à 1,11 mg/mL. Ces valeurs déterminées pour les deux enzymes restent faiblement supérieures à celles de l'acarbose (inhibiteur de référence), 0,006 mg/mL pour l' α -amylase et 0,074 mg/mL pour l' α -glucosidase. Les paramètres de la cinétique enzymatique ont permis la détermination d'une inhibition non compétitive de l' α -glucosidase par la fraction acétate d'éthyle récupérée à partir de l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba* (**Acet_{ZJ}**) et l'extrait eau-méthanol de *M. inodora* (**EM_{MI}**). Dans le cas de l' α -amylase, l'extrait eau-acétone de *Z. jujuba* (**EA_{ZJ}**) et la fraction acétate d'éthyle récupérée à partir de l'extrait aqueux de *M. inodora* (**Acet_{MI}**) ont présenté une inhibition non compétitive de cette enzyme. L'acarbose a présenté une inhibition compétitive de l' α -amylase et de l' α -glucosidase.

Nos résultats sont confirmés par plusieurs travaux qui ont mis en valeur l'effet inhibiteur du jujubier (**Meng et al., 2016; Holaly et al., 2017; Marmouzi et al., 2019; Rocchetti et al., 2019**). **Jo et al., (2017)** ont révélé une inhibition non compétitive mixte de l' α -glucosidase par l'extrait de feuilles avec une IC₅₀ de 0,37 mg/mL. L'extrait hydro-éthanolique (30/70) du fruit (extraction liquide sous pression) a assuré une inhibition non compétitive-incompétitive mixte de l' α -amylase (70,94%) et de l' α -glucosidase (56,08%) (**Trifonova et al., 2021**). De même, les extraits éthanolique et méthanolique du fruit ont présenté une inhibition de l' α -glucosidase (IC₅₀= 815µg/mL) et de l' α -amylase avec une IC₅₀ de 867 µg/mL (**Afrisham et al., 2015; Sadegh-nejadi et al., 2016**).

En ce qui concerne l'effet inhibiteur des enzymes digestives par les extraits de *M. inodora*, le travail de thèse de doctorat de **Bechiri-abbes Asma (2016)** a révélé un effet inhibiteur *in vitro* de l' α -glucosidase (IC₅₀ non déterminée) et de l' α -amylase (IC₅₀= 666 µg/mL).

Certains produits naturels ont montré un effet inhibiteur de l' α -amylase et de l' α -glucosidase comme les terpénoïdes, les alcaloïdes, les polysaccharides, les composés phénoliques et les flavonoïdes (**Mentreddy, 2007; Tundis et al., 2010; de Sales et al., 2012**). Sachant que les composés phénoliques notamment les flavonoïdes sont les meilleurs

inhibiteurs (**Xiao et al., 2013; Sun et al., 2019**). La myricétine, la lutéoline, la naringinine, et l'épigallocatechine-gallate sont des inhibiteurs non compétitifs de l' α -glucosidase de levures (**Indrianingsih et al., 2015; Tadera et al., 2006; Watcharachaisoponsiri et al., 2016**), tandis que l'acide caféique, l'épicatéchine, l'acide férulique, l'acide rosmarinique, la quercétine et le resvératrol sont des inhibiteurs compétitifs (**de Sales et al., 2012; Rasouli et al., 2017**). De même, d'autres études ont déterminé les valeurs de IC_{50} de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase par, la vasicine (125 μ M), la quercétine (7 μ M), la cyanidine (4 μ M), l'épicatéchine (0,31 μ M), et l'acide férulique (4,9mM) (**Assefa et al., 2020**). La myricétine (151,12 μ g/mL), la quercétine (120,93 μ g/mL), la lutéoline (103,05 μ g/mL), l'acide bétulinique et la cyanidine-3-rutinoside inhibent compétitivement l' α -amylase pancréatique porcine (**Tadera et al., 2006; Ratna Wulan et al., 2015; Sui et al., 2016; Watcharachaisoponsiri et al., 2016**).

La structure chimique des flavonoïdes, le nombre de cycles, et la position de leurs groupes hydroxyles dans la molécule influencent l'inhibition de ces enzymes. De nombreuses études ont révélé que l'hydroxylation des flavonoïdes notamment du cycle B améliore l'effet inhibiteur sur l' α -amylase ; tandis que la présence d'une liaison 2,3 insaturée en conjugaison avec un groupe 4-carbonyle est associée à une inhibition plus forte. La glycosylation des flavonoïdes ainsi que la méthylation et la méthoxylation diminuent l'effet inhibiteur sur l' α -amylase (**Kim et al., 2000; Tadera et al., 2006; Williamson, 2013 ; Xiao et al., 2013**). Les groupes hydroxyle (-OH) des flavonoïdes sont essentiels pour l'inhibition de l' α -amylase, en formant des liaisons hydrogène entre les groupes -OH et les chaînes latérales des acides aminés du site actif de l'enzyme tels que Asp¹⁹⁷ et Glu²³³ (**Xiao et al., 2013; Ng et al., 2015; Nyambe-Silavwe et al., 2015**). La prédiction des types d'interactions conformationnelles en utilisant le docking moléculaire a révélé que la majorité des composés phénoliques établissent des liaisons -H avec les sites actifs des enzymes digestives (**Rasouli et al., 2017; Abdelli et al., 2020**). Le résidu Glu³⁰⁴ de l' α -glucosidase accepte des liaisons hydrogènes du substituant 7-OH des flavonoïdes, les résidus Asp²¹⁴, Glu²⁷⁶ et Arg⁴³⁹ s'engagent dans des liaisons -H avec les groupes hydroxyle du cycle B (**Şöhretoğlu et al., 2020**). De fortes interactions s'établissent entre l'acide tannique et les résidus Asp¹⁹⁷ et Glu²³³ du site actif de l' α -amylase, ainsi que les résidus Asp²¹⁵ et Gln²⁹⁷ de l' α -glucosidase. L'acide gallique forme des liaisons donneur -H avec les résidus Asp¹⁹⁷, Arg¹⁹⁵ et ioniques avec His²⁹⁹ de l' α -amylase, il forme également des liaisons donneur -H avec Asp^{69, 352} de l' α -glucosidase. De même, la quercétine

forme ces liaisons avec le résidu Glu²³³ de l' α -amylase, et avec les résidus Asp^{215, 69} de l' α -glucosidase et des liaisons accepteurs -H avec His³⁵¹ (**Abdelli et al., 2020**).

Selon la bibliographie certains auteurs ont rapporté que les polyphénols modulent la digestibilité de l'amidon via soit une inhibition directe des enzymes digestives (l' α -glucosidase et l' α -amylase) et/ou la formation de complexes d'inclusion et de non-inclusion avec l'amidon. Concernant ce dernier processus, des recherches scientifiques récentes ont déterminé des liaisons non covalentes hydrogènes et hydrophobes entre les polymères glucidiques et différents polyphénols principalement les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins (**Zhu, 2015; Takahama et al., 2018; Giuberti et al., 2020**). Ces interactions des polyphénols qui exercent une inhibition concomitante sur l' α -glucosidase et l' α -amylase pourraient représenter une nouvelle stratégie dans le traitement du diabète de type II ou de l'obésité (**Rasouli et al., 2017; Giuberti et al., 2020**)

Le traitement antidiabétique est nécessaire à la correction et la prévention des complications du diabète sucré. L'hyperglycémie chronique favorise la génération des radicaux libres et expose les protéines plasmatiques de manière cumulative et irréversible à un vieillissement moléculaire, qui contribuent progressivement à l'altération de leurs propriétés structurales et fonctionnelles (**Jaisson et al., 2018**). Majoritairement ces altérations sont causées par des modifications post-traductionnelles non enzymatique, comme l'oxydation, la glycation, ou la carbonylation, qui correspondent le plus souvent à la fixation non enzymatique de métabolites simples sur les groupements fonctionnels des protéines (**Jaisson et al., 2019**). La réaction de glycation non enzymatique des protéines correspond à la fixation d'oses, et en particulier de glucose, sur les groupements aminés libres des protéines, en formant de nombreux produits de glycation, ce processus est directement dépendant de la glycémie (**Jaisson et al., 2019**). Il s'agit d'un mécanisme complexe comprenant plusieurs étapes, dont les phases tardives génèrent un groupe hétérogène de composés appelés AGE «Advanced Glycation End-products» ou Produits Terminaux de la Glycation (PTG) (**Jaisson et al., 2018**).

De nombreuses études ont porté sur le développement de stratégies thérapeutiques visant à limiter la formation et l'accumulation des produits terminaux de la glycation. Récemment, un nombre considérable de travaux scientifiques ont révélé que certains phytoconstituants sont de puissants inhibiteurs de la glycation (**Schlienger, 2013; Jaisson et al., 2018; Safari et al., 2018; Dariya et al., 2020**).

Dans cette approche, nous avons évalué *in vitro* l'effet antiglycant des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* sur la glycation de l'albumine. Les résultats du pourcentage d'inhibition des AGE en présence de différentes concentrations des extraits et du glucose ont montré une augmentation dose-dépendante. En termes de valeurs de IC₅₀, et en présence de 4mg/mL de glucose, les résultats révèlent que les extraits de *Z. jujuba* ont assuré l'inhibition de la formation des AGE ($0,85 \leq IC_{50} \leq 5,10$) mg/mL). De même, les extraits de *M. inodora* ont présenté des valeurs de IC₅₀ de 0,3 mg/mL (**n-but_{MI}**) et 3,6 mg/mL (**Aq_{MI}**).

Selon la bibliographie, les extraits du jujubier ont montré un effet inhibiteur de la formation des AGE. L'étude de **Siriamornpun et al., (2015)** a révélé que l'extrait aqueux de la pulpe assure un pourcentage d'inhibition qui varie de 51% à 62%. De même, l'extrait hydro-alcoolique du fruit présente une inhibition de la glycation ainsi que de l'aldose réductase, enzyme impliquée dans ce processus, avec des valeurs de IC₅₀ de 31,72 et 42,66 µg/mL, respectivement (**Gaviraj et al., 2019**). D'autres espèces de *Ziziphus* ont montré un effet antiglycant, comme l'extrait acétate d'éthyle de *Z. oxyphylla* qui a assuré une IC₅₀ variable de 530 à 818 µM contre 510 µM pour l'aminoguanidine, molécule pharmaceutique inhibitrice de la glycation des protéines sériques (**Ahmad et al., 2016; Ahmad et al., 2017**).

Les revues bibliographiques ont affiché que certaines molécules bioactives sont de puissants inhibiteurs de la glycation des protéines, caractérisées par leurs valeurs intéressantes de IC₅₀, comme l'acide ascorbique (16,3 µM), la carnosine (13,3 µM), l'aminoguanidine (63 µM), la niacinamide (17,8 µM), la quercétine (65 µM), la catéchine (112 µM) et la rutine (98,01 µM) (**Choudhary et al., 2011; Abbas et al., 2016; Grzegorzczuk-Karolak et al., 2016; Win et al., 2019**). Parmi ces molécules, les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes et les acides phénoliques présentent une forte affinité d'association avec l'albumine, et qui sont capables d'agir par inhibition à différents niveaux du processus de la formation des AGE (**Elosta et al., 2012; Yeh et al., 2017; Tang et al., 2020**). L'acide oléanolique et la rutine sont des inhibiteurs de l'interaction du glucose avec les protéines, alors que la quercétine, la catéchine et l'acide gallique sont des inhibiteurs de la formation de la base de Schiff. La myricétine, la lutéine, et l'apigénine sont des inhibiteurs de la formation des produits d'Amadori ; tandis que le kaempférol et l'épigallocatechine gallate sont des inhibiteurs des RAGE, récepteurs des AGE au niveau tissulaire (**Elosta et al., 2012; Chinchansure et al., 2015; Yeh et al., 2017**).

La structure moléculaire des polyphénols influence leur pouvoir inhibiteur de la formation des AGE de différentes manières. L'hydroxylation des cycles A et B améliore l'activité inhibitrice des AGE, tandis que l'hydroxylation sur le cycle C diminue cette activité. La méthylation et la glycosylation des groupes hydroxyles des flavonoïdes diminuent leur effet antiglycant. De même; l'hydrogénation de la double liaison C2=C3 des flavones légèrement affaibli leur activité, alors que les acides phénoliques avec plusieurs hydroxyles, les acides ellagiques, et les ellagitanins ont montré une forte inhibition (Xie et al., 2017; Dariya et al., 2020).

La dernière activité biologique mise en évidence dans la présente étude concerne l'évaluation du pouvoir antibactérien et antifongique des différents extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora* en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide et la méthode de microdilution en milieu liquide.

Les résultats obtenus ont affiché une faible activité antibactérienne en milieu liquide et en milieu solide des extraits de *Z. jujuba* et *M. inodora*. Seules les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25933 semblent les plus sensibles aux extraits de *Z. jujuba* (CMI variable de 110 à 450 mg/mL). Ces extraits n'ont présenté aucun effet inhibiteur de la croissance des souches de *Candida*.

Suivant la bibliographie; l'extrait méthanolique de graines et de la pulpe du fruit de *Z. jujuba* présente un effet antibactérien sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 20 mg/mL (Rajaei et al., 2021). De même, l'extrait éthanolique du fruit a montré une large activité antibactérienne contre *Escherichia coli* (CMI=0,65 mg/mL), et antifongique sur *Candida albicans* (CMI=2,35 mg/mL) et *Aspergillus fumigatus* (CMI=2,86 mg/mL), tandis que *Staphylococcus aureus* était une souche résistante à cet extrait (CMI=2,26 mg/mL) (Daneshmand et al., 2013). L'extrait aqueux des feuilles de *Z. jujuba* présente un effet antibiofilm sur la souche *Streptococcus mutans* responsable de la carie dentaire humaine (Damiano et al., 2017). Liu et al., (2021) ont montré que l'extrait éthanolique des racines du jujubier (1 et 2 mg/mL) assure un effet antifongique sur *C. tropicalis*, *C. albicans*, *Aspergillus niger* et *A. flavus*.

En ce qui concerne *M. inodora*, les résultats publiés à propos de son pouvoir antimicrobien ne concerne que les huiles essentielles, qui ont révélé un effet prometteur et qui confirme leur responsabilité de l'effet antimicrobien et antioxydant de cette plante par rapport aux autres

métabolites (Benomari et al., 2016; Bouriah et al., 2021). L'étude de Benomari et al., (2016) a démontré un effet antibactérien important des huiles essentielles de la partie aérienne de *M. inodora* sur les souches *S. aureus* ATCC 29213 (22mm, CMI=60 µg/mL), *B. cereus* ATCC 11778 (19 mm, CMI=500 µg/mL), et un effet antifongique modéré sur *C. albicans* IP 444 (13mm, CMI=1000µg/mL). D'autres études portées sur les huiles essentielles des espèces de *Micrmeria* ont montré un pouvoir antibactérien et antifongique intéressant sur les souches Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*), Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*), et sur des levures (*Candida albicans*) (Stojanovi et al., 2008; Azab, 2016; Brahmi et al., 2017).

Plusieurs travaux scientifiques ont déterminé le mécanisme d'action antimicrobien des phytoconstituants dans le but de mettre en valeur de nouveaux médicaments anti-infectieux, sachant que ces métabolites sont considérés comme antimicrobiens quand leur CMI est variable entre 100 et 1000 µg/mL (Patra, 2012; Simões et al., 2012). Le screening microbiologique effectué sur les produits naturels a démasqué leur pouvoir antibactérien, antifongique et antiviral, en précisant que ces métabolites peuvent agir sur plusieurs cibles dans la cellule procaryote, et que les composés terpéniques sont les plus puissants, suivis par les composés phénoliques, les quinones et les alcaloïdes (Cowan, 1999; Simões et al., 2009; Saleem et al., 2010; Zida et al., 2017). Pour ces derniers, la berbérine et la pipérine sont de puissants inhibiteurs de la division cellulaire, de la pompe à efflux, de la synthèse des protéines et de l'ADN chez *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* (Simões et al., 2012; Cushnie et al., 2014; Khameneh et al., 2019).

Certains composés terpéniques sont caractérisés par leur pouvoir antibactérien et antifongique marqué par la déstabilisation des protéines membranaires ce qui augmente la fluidité et la perméabilité de la membrane microbienne, l'inhibition de la chaîne respiratoire, et l'altération du transport membranaire chez les bactéries Gram positif et négatif (Cowan, 1999; Saleem et al., 2010; Simões et al., 2012). C'est le cas du thymol (49,37 µg/mL) qui inhibe la pompe ATPase H⁺ chez *C. albicans*, et le carvacrole (50-200 µg/mL) qui inhibe la pompe à efflux et perturbe la membrane cellulaire de *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *S. aureus*, *A. niger* et *Fusarium oxysporum* (Simões et al., 2012). De même, l'eugénole (300-700 µg/mL) augmente la perméabilité membranaire chez *Aspergillus niger* et *Penicillium italicum* (Cushnie et al., 2014; Khameneh et al., 2019; Prakash et al., 2020).

Les composés phénoliques de faible poids moléculaire comme les acides phénoliques et les flavonoïdes sont plus actifs par rapport aux tanins. Leur mécanisme d'action contre différentes souches microbiennes s'exerce de différentes manières; allant d'une déstabilisation de la perméabilité membranaire via une inhibition des pompes à efflux, une inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire, une perturbation directe du métabolisme microbien, jusqu'à l'inhibition de certaines enzymes critiques comme l'alcool déshydrogénase, la thiorédoxine réductase, l'uréase, la dihydrofolate réductase, et ARN polymérase (**Simões et al., 2009; Daglia, 2012; Simões et al., 2012; Khameneh et al., 2019**). De plus, les groupements OH du cycle B des flavonoïdes peuvent établir des liaisons hydrogènes avec les bases des acides nucléiques, ce qui explique leur action inhibitrice sur l'ADN et sur la synthèse de l'ARN (**Simões et al., 2012; Cushnie et al., 2014; Khameneh et al., 2019; Prakash et al., 2020**). La quercétine (75 µg/mL), la myricétine (32 µg/mL) et le kaempférol (125 µg/mL) sont des flavonoles responsables de l'inhibition de la pompe à efflux chez *S. aureus* et *C. albicans* (**Khameneh et al., 2019**). L'acide gallique, acide férulique, et acide chlorogénique augmentent la perméabilité de la membrane externe chez *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, et *P. aeruginosa* (**Daglia, 2012; Patra, 2012**). Tandis que, les tanins hydrolysables et condensés sont des inhibiteurs de *S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Helicobacter* et *Candida parapsilosis* (**Daglia, 2012**).

L'effet synergique des composés phytochimiques et des antibiotiques a suscité l'intérêt de nombreux travaux scientifiques qui ont démontré un effet potentialisateur intéressant contre plusieurs pathogènes à Gram négatif et positif résistantes en augmentant leurs sensibilité aux antibiotiques, c'est le cas de la berbérine qui en association avec l'ampicilline ou l'oxacilline améliore potentiellement la sensibilité des *S. aureus* à ces antibiotiques (**Saleem et al., 2010; Patra, 2012; Simões et al., 2012; Ayaz et al., 2019; Prakash et al., 2020**).

Conclusion générale et perspectives

La présente étude est une contribution à l'étude phytochimique et à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits bruts aqueux et organiques ainsi que leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol, du fruit de *Ziziphus jujuba* (famille des Rhamnacées) et la partie aérienne de *Microméria inodora* (famille des lamiacées), récoltées dans la région de Tlemcen.

Au cours de notre étude phytochimique, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux déterminées dans les différents extraits ont révélé que *M. inodora* renferme un taux élevé en polyphénols par rapport aux extraits de *Z. jujuba* ; tandis que, le taux de flavonoïdes est nettement inférieur à celui de *Z. jujuba*, notamment dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. L'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA a déterminé la présence de l'acide gallique et la quercétine comme molécules communes présentent dans les extraits des deux plantes, dont la quercétine est le composé majoritaire. L'extrait Acet_{MI} de *M. inodora* renferme en plus, la rutine, la vanilline et la naringinine.

La présence de ces composés, et éventuellement d'autres phytoconstituants sont responsables de certaines propriétés biologiques des extraits des plantes étudiées. Les résultats obtenus concernant l'activité antioxydante ont révélé un effet positif de l'ensemble des extraits, dont les extraits de *M. inodora* ont présenté un effet remarquable pour la majorité des tests (DPPH, FRAP et β -carotène) par rapports aux extraits de *Z. jujuba*, en particulier les fractions acétate d'éthyle et n-butanol.

Ces extraits ont présenté également *in vitro* une inhibition non compétitive de l' α -glucosidase et de l' α -amylase, ainsi que l'inhibition de la glycation de la BSA.

Les résultats de l'activité antibactérienne en milieu liquide et en milieu solide ont montré une sensibilité de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25933 aux extraits de *Z. jujuba*. Les extraits testés n'ont présenté aucun effet inhibiteur de la croissance de certaines souches de *Candida*.

A la lumière des résultats obtenus, il serait intéressant de mener d'autres études afin de compléter et d'approfondir ce présent travail, et qui peuvent s'intéresser à ;

Fractionnement et analyse structurale des différents extraits, notamment l'extrait acétate d'éthyle de *M. inodora*, qui a assuré une activité antioxydante et antidiabétique importante, afin de caractériser et identifier ses composants phytochimiques responsables de ces activités,

et la détermination de son mécanisme d'action à travers la détermination de la relation structure chimique-activité biologique.

Evaluation de l'activité antioxydante en utilisant d'autres tests *in vitro* : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter), ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) et *in vivo* en mesurant l'activité des enzymes antioxydantes (Catalase, Superoxyde dismutase).

Evaluation de l'activité antidiabétique de ces extraits, *in vivo* chez les rats diabétiques en mesurant les paramètres liés au diabète sucré, biochimiques (glycémie, insulinémie, lipidémie), enzymatiques (glucose 6-phosphatase, glycogène synthase) et cytotoxiques (LDH, transaminases) ; et *in vitro* en mesurant l'effet de ces plantes sur la stimulation de la sécrétion de l'insuline (effet insulinothèque) dans les cellules β -pancréatiques isolées, et sur la stimulation de la captation et le stockage du glucose par les cellules cibles de l'insuline, cellules musculaires, adipeuses et hépatiques (effet extra-pancréatique).

La recherche d'autres activités biologiques, comme l'activité anti-inflammatoire, et anticancéreuse.

Publications et communications

Publications

S. ADJDIR, N. BENARIBA, H. LAOUFI, R.DJAZIRI, (2018), Phenolic content and antioxidant activity of *Ziziphus jujuba* Mill. fruit extracts. *Phytothérapie*, 17(2), 74-82. DOI 10.3166/phyto-2018-0033.

S. ADJDIR, N. BENARIBA, I. A. EL HACI, K. OUFFAI, F. ATIK BEKKARA, R. DJAZIRI, (2019), Antioxidant activity and phenolic compounds identification of *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. from Western Algeria, *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2019.1678612.

S. ADJDIR, N. BENARIBA, H. ADIDA, , K. GHEFFOUR , I. A.EL HACI, M. TERKI, Z. FEKHIKHER, H. BERRAMDAN, F. ATIK BEKKARA & R. DJAZIRI, (2021). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of *Ziziphus jujuba* Mill. Fruit from Tlemcen(Algeria). *Journal of Biochemical Technology*,12(1), DOI.org/10.51847/mAJJfuBvan.

Communications

S. ADJDIR, N.BENARIBA, R.DJAZIRI, (2015), Effet antioxydant de l'extrait eau-acétone du fruit de *Ziziphus vulgaris*, Deuxième journée nationale du département de Pharmacie, Tlemcen-Algérie

S. ADJDIR, N.BENARIBA, R.DJAZIRI, (2015), Effet antiradicalaire de l'extrait aqueux du fruit de *Ziziphus vulgaris*. The First International Congress of Nutrition and Food Science The first international congress of Nutrition and Food Science- Tlemcen (Algeria)

S.ADJDIR, N.BENARIBA, K.OUFFAI, R.DJAZIRI, (2017), Effet antioxydant de l'extrait aqueux de *M.inodora*, congré internationale d'alimentation et nutrition, Constantine (Algérie)

S.ADJDIR, N.BENARIBA, R.DJAZIRI, (2019) Antioxydant and antiglycation activities of *M.inodora* extracts, congrès Advances in the study of lipid and protein oxidation, Ghent (Belgium).

S.ADJDIR, N.BENARIBA, K.OUFFAI, R.DJAZIRI, (2019), screening phytochimique et effet de l'extrait aqueux de *Micromeria inodora* et ses fractions organiques sur l'activité de l'alpha amylase, second international symposium, Tozeur (Tunisia)

S.ADJDIR, N.BENARIBA, K.OUFAI, R.DJAZIRI, (2019), contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits du fruit de *ziziphus jujuba*, second international symposium, Tozeur (Tunisia).

S.ADJDIR, N.BENARIBA, ADIDA H., GHEFFOUR K., TERKI M., R.DJAZIRI, (2019), Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanolique de *Micromeria inodora*, 2eme workshop international sur l'hygiène des process Agroalimentaires, Tlemcen, Algérie.

S.ADJDIR, N.BENARIBA, IA. EI HACI., , K.OUFAI, A.BECHIRI, F ATIK BEKKARA, R.DJAZIRI, (2019), antioxydant activity and phenolic compounds identification of *Micromeria inodora*, 2nd international conference on traditional medicine, phytochemistry, and medicinal plant, Berlin, Germany.

Autres publications et communications

LAOUFI, H., BENARIBA, N., **ADJDIR**, S., & DJAZIRI, R. (2017). In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. J. Appl. Pharm. Sci, 7, 191-198.

ABDELLI, I., BENARIBA, N., **ADJDIR**, S., FEKHIKHER, Z., DAOUD, I., TERKI, M., ... & GHALEM, S. (2021). In silico evaluation of phenolic compounds as inhibitors of α -amylase and α -glucosidase. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 39(3), 816-822.

N.Benariba, , **S. Adjdir**, , A. Hadj Moussa, B. Hadj Said, S.chikh, K. Boudjemaa, F.Z. Sekkal & R. Djaziri, (2015), free radical scavenging activity of *retama raetam* leaves and seeds extracts, the 19TH international congress PHYTOPHARM, Bonn, (Germany).

K. OUFAI, R. AZZI, F. ABBOU, **S.ADJDIR**, R. DJAZIRI, (2017), l'étude de l'activité antioxydante et l'effet inhibiteur de l'enzyme α amylase de la partie aérienne de *Globularia alypum*, Boumerdes, (Algérie).

K. OUFAl, R. AZZI, **S.ADJDIR**, F. ABBOU, R.DJAZIRI,(2017), activité anti-inflammatoire et antioxydante des polyphénols de *Salvia officinalis* chez les rats wistar, congré internationale d'alimentation et nutrition, Constantine (Algérie)

K. OUFAl, R. AZZI, F. ABBOU, **S.ADJDIR**, R.DJAZIRI ,(2017), recherche d'activité antioxydante et anti-hémolytique des extraits aqueux de *Zygophyllum album*, 2eme séminaire national Biologie et Santé, Sidi-Bel abbès(Algérie).

K. OUFAl, R. AZZI, F. ABBOU, **S.ADJDIR**, F. MODERAS, R.DJAZIRI ,(2017), valorisation de la composition chimique et l'activité antioxydante de *Globularia alypum* et *Zygophyllum album*, étude comparative, Veme congrès international de la biotechnologie et valorisation des bio-ressources, Tabarka (Tunisie).

K. OUFAl, R. AZZI, F. LAHFA, **S.ADJDIR**, F. MODERAS, F. ABBOU, R.DJAZIRI ,(2017), valorisation de la composition chimique et l'activité antioxydante de *Globularia alypum* et *Zygophyllum album*, étude comparative, séminaire national de biologie, Naama (Algérie).

K. OUFAl, R. AZZI, F. ABBOU, **S.ADJDIR**, R.DJAZIRI ,(2018), screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et anti-hémolytique des extraits aqueux de de la partie aérienne de *Zygophyllum album*, séminaire international sur les plantes médicinales, El Oued, Algérie.

K. OUFAl, R. AZZI, F. ABBOU, **S.ADJDIR**, R.DJAZIRI ,(2018), dosage des composés phénoliques et l'étude de l'effet inhibiteur de l'enzyme alpha amylase de la partie aérienne de *Globularia alypum*, international workshop on the science of agriculture, Tlemcen(Algérie).