

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie et biologie moléculaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de l'activité anti-oxydante des extraits des
feuilles d'*Eriobotrya japonica* L.**

Présenté par :

M^{elle} Ait mouhoub Sabrina & M^{elle} Bouzerar Naima

Soutenu le 19 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme Ouahamed-Boudaoud H.	MCB	Présidente
Melle Adrar S.	MAB	Encadreur
Mme Mahdid A.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Tout d'abord, on aimerait remercier dieu le tout puissants de nous avoir donné la force et la patience de pouvoir mener ce travail à terme.

On voudrait témoigner notre reconnaissance à M^{elle} Adrar S. pour avoir encadré ce mémoire. On la remercie particulièrement pour son souci de formation, sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ces encouragements, ces conseils et suggestions et tout ca dans la bonne humeur.

Nos remerciements :

M^{me} Ouahmed-Boudaoud H. pour avoir accepté de présider le juré de ce mémoire, et pour le temps qu'il nous a bien voulu nous consacrer pour ce mémoire.

M^{me} Mahdide A. pour nous avoir fait l'honneur de juger ce modeste travail et de nous faire ainsi bénéficier de leur compétence.

Nos remerciement également tous les étudiants de notre promotion biochimie et biologie moléculaire.

Nous exprimons notre gratitude à tous nos enseignants rencontrés tout au long de nos années d'étude.

Dédicace

A l'aide de DIEU, le tout puissant m'accordé la force et la patience de pouvoir mener Ce travail que je dédie à :

Mes chers parents qui ont toujours été présent et qui m'ont Encouragé et leurs Grand sacrifices depuis mon jeune âge pour créer le climat affectueux à la poursuite de Mes études.

A mes très chères sœurs : Sonia, Lydia et Yasmine.

A mon très chère frère : Arezki.

A mes chères tantes et oncles.

A mes chères cousines et cousins.

A ma chère binôme Naïma et sa famille

A tous mes chères amie(s)

A toute la promotion de biochimie et biologie moléculaire

Et à tous ceux qui m'en encouragé.

Sabrina. A

Dédicace

Je dédie ce travail Aux êtres les plus chers : Mes parents

A mon père,

Pour sont

*Enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et
Pour ses précieux conseils.*

*J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle
soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

A ma mère,

*Pour sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute
permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus
difficiles de ma vie.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHÈRES
PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.*

A mes chers frères : ahlem, hakim, kenza, latifa, saïde.

et mais chère tantes.

*A la mémoire de mes grands-parents saliha et houcin que
dieu les bénisse dans son vaste paradis*

Et toute ma famille et sons oublier mes amis et collègues

A ma chère binôme sabrina et sa famille.

A toute la promotion de biochimie et biologie moléculaire

Naima .B

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I: Eriobotrya japonica

I-1- Description3

I-2- Systématique.....4

I-3- composition biochimique.....4

I-4- Utilisation..... 6

I-5- Activités biologiques.....6

II: Radicaux libres

II-1- Définition.....7

II-2- Espèces oxydantes en biologie.....7

II-3- Rôle physiologique des radicaux libres8

II-3- Stress oxydant..... 8

II-3-1- Définition..... 8

II-3-2- conséquences du stress oxydant 9

II-3-3- Pathologie liées au stress oxydant..... 9

II-4- Antioxydants..... 9

II-4-1- Définition..... 9

II-4-2- Types..... 10

II-4-2-a : Antioxydants enzymatiques..... 10

II-4-b : Antioxydants non enzymatiques.....	10
II-5- Composés phénoliques.....	12
II-5-1- Définition.....	12
II-5-2- classes	13
II-5-3- Activités antioxydantes des polyphénols.....	14

Chapitre II : Matériels et méthodes

I- Préparation du matériel végétal

I-1-séchage et broyage.....	15
-----------------------------	----

II –Méthodes

II-1-Extraction des composés phénoliques	16
II-2-dosage des composés phénoliques	17
II-2-1-Dosage des phénols totaux	17
II-2-2-Dosage des flavonoïdes	18
II-2-3-Dosage des tanins condensés	19
II -3-Activité antioxydants des extraits	20
II-3-1-Activité scavenging du radical DPPH.....	20
II-3-2-Activité scavenging du radical ABTS.....	21
II-3-3-Pouvoir réducteur	22
II-3-4-Chélation du fer	23

Chapitre III : Résultats et discussion

I-Dosage des composés phénoliques	25
I-1-Dosage des phénols totaux	25
I-2-Dosage des flavonoïdes	26
I-3-Dosage des tanins condensés	27
II-Activité antioxydants des extraits	28
II-1-Activité scavenging du radical DPPH	28

II-2-Activité scavenging du radical ABTS	31
II-3-Pouvoir réducteur.....	33
II-4-Chélation du fer	34
Conclusion et perspectives	36
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ABTS⁺ : Acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

BHA : Butyl hydroxy anisol.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl.

ERO: Espèce réactive oxygénée.

EDTA : Acide éthylène diamine tétraacétique.

EQ : Equivalent quercétine.

EC : Equivalent catéchine.

EAG : Equivalent acide gallique.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

GSH : Glutathion.

GSSH : Glutathion disulfure.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène .

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance.

IC₅₀ : Concentration de l'extrait inhibitrice de 50% des radicaux libres.

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium .

LPS : Lipopolysaccharide.

NO[•] : Monoxyde d'azote .

NO :Espèce réactive non oxygénée.

OH[•] : Radical hydroxyle .

O₂ :Oxygène.

O₂^{•-} : Superoxyde.

ONOOH : Peroxynitrite.

RL : Radicale libre.

ROO[•] : Radicaux libre peroxydes.

ROS : Réactive Oxygène Species.

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloracétique .

Trolox : Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique.

Liste des figures

Figure n°1 : Partie aérienne d' <i>Eriobotrya japonica</i>	3
Figure n°2 : Distribution géographique d' <i>Eriobotrya japonica lind</i>	3
Figure n°3 : Structures chimiques de l'acide corosolique (CA), acide ursolique (UA), l'acide maslinique (MA) et l'acide oleanilique (OA)	4
Figure n°4: Structure des sesquiterpènes.....	5
Figure n°5 : Structure des flavonoïdes glycosidiques.....	5
Figure n°6 : Espèces oxygénées activées produites en cascade à partir de l'oxygène.	8
Figure n°7: Mode d'action espèce réactive oxygéné (ERO).....	9
Figure n°8 : Structure de l'acide ascorbique.....	11
Figure n°9 : Structure chimique de vitamine E	11
Figure n°10 : Structure des caroténoïdes	11
Figure n°11 : Schéma représentants des classes des composés phenolique.....	12
Figure n°12 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.....	14
Figure n°13 : Photographie de la partie aérienne d' <i>Eriobotrya japonica L.</i>	15
Figure n°14 : la photographie personnelle des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica L</i> (A) et de la poudre obtenue des feuilles (B).	15

Figure n°15: le protocole d'extraction des différentes phases.....	16
Figure n°16 : protocole de dosage des polyphénols totaux	17
Figure n°17 : protocole de dosage des flavonoïdes	18
Figure n°18: protocole de dosage des tanins condensés	19
Figure n°19: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	20
Figure n°20 : Représentation graphique du taux de composés phénoliques des extraits d' <i>Eriobotrya japonica L.</i>	25
Figure n°21 : Représentation graphique des teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	26
Figure n°22 : Représentation graphique des Teneurs en proantocyanidines des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica L</i>	27
Figure n°23 : Activité scavenging du radical DPPH des extraits d' <i>Eriobotrya japonica L</i> et des standards (BHA et l'acide ascorbique).....	28
Figure n°24 : Activité scavenging du radical DPPH° à différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme d' <i>Eriobotrya japonica</i>	30
Figure n°25 : Activité scavenging du radical DPPH° à différentes concentrations de l'acide ascorbique et de la BHA.....	30
Figure n°26 : Activité inhibitrice du radical ABTS° par les extraits d' <i>Eriobotrya japonica L.</i>	31
Figure n°27 : activité inhibitrice du radical ABTS° à différentes concentrations d'extrait éthanolique des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica L</i>	32
Figure n°28 : Activité inhibitrice du radical ABTS à différentes concentrations la concentration de Trolox.....	32

Figure n°29 : Représentation graphique de pouvoir réducteur des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica L* et de standard BHA. 33

Figure n °30 : Représentation graphique du chélation de fer des extraits des feuilles d'*eriobotrya jaoinica L* et le standard EDTA. 34

Introduction

INTRODUCTION

L'oxygène est un des phénomènes les plus curieux de la nature, indispensable à la vie et susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (**Haleng et al.,2007**).

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être des radicaux libres ou des molécules non radicalaires qui oxydent lentement nos molécules biologiques. Heureusement, notre organisme dispose d'un vaste système de défenses d'antioxydante enzymatiques directement synthétisées par l'organisme et non enzymatiques qui est apporté par notre alimentation, Ces systèmes antioxydants interviennent dans la réparation des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres (**Greet et al.,2004**).

Le déséquilibre de la balance entre la production d'EOA et les systèmes de défenses antioxydante provoque Le stress oxydant qui est potentiellement impliqué dans le vieillissement ou le développement des pathologies associées (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) (**Greet et al.,2004 ; Pincemail et al .,2009**).

Eriobotrya japonica est une plante médicinale appartenant à la famille des Rosaceae , elle est originaire de la chine et du japon ,se retrouvant abondamment dans les régions méditerranéennes .

Cette plante à un effet anti-inflammatoire, antidiabétique ,anti-cancéreus...(**Takuhiro et al 2013**).

les traitements à base des plantes médicinales sont efficaces, car les médicaments contenant les antioxydants, les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants permettant d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules.(**Adéoti et al.,2016**).

Notre travail portera sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* .il sera subdivisé en deux chapitres :

Chapitre I : il englobe des généralités sur la plant *Eriobotrya japonica L* ainsi que les effets néfastes de radicaux libre sur l'organisme et les antioxydants qui sont destinés à la neutralisation de ce derniers d'une part et le déséquilibre entre le radicaux libre et les antioxydants qui cause le stress oxydant d'autre part .

Chapitre II : il résumera la partie pratique qui aura pour objectif la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénol totaux, flavonoïde, tanins condensés) à partir des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* et l'évaluation de l'activité antioxydante vis-à-vis du radicale DPPH, ABTS, pouvoir réducteur et FRAP (chélation du fer).

Chapitre I

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I- *Eriobotrya japonica* L.

I-1- Description:

Le néflier du Japon (*Eriobotrya japonica*) ou bibacier peut être un arbre fruitier à feuille persistante ou bien un petit arbre, avec des feuilles étroites (Kammoun et al.,2015 ;cuevas et al.,2003), dépassant rarement 8 mètres de hauteur et qui mesure généralement de 5 à 6 mètres (Orwa et al 2009). Il fleurit en automne ou au début de l'hiver et son fruit mûrit en hiver ou en printemps (delfanian et al.,2015). Il se développe dans les sols acides et alcalins (Figure1) (Orwa et al.,2009).



Figure n°1 : Partie aérienne d'*Eriobotrya japonica* (Orwa et al.2009).

Eriobotrya japonica est originaire du Japon et du sud de la Chine. Elle se développe dans un climat doux et subtropical. (Orwa et al.,2009 ;vilanova et al.,2001). Actuellement, elle est cultivée dans des régions méditerranéennes (vilanova et al.,2001) et dans d'autres secteurs tels que : l'Afrique de sud, Amérique de sud, Australie et la Californie (Figure2) (delfanian et al.,2015).

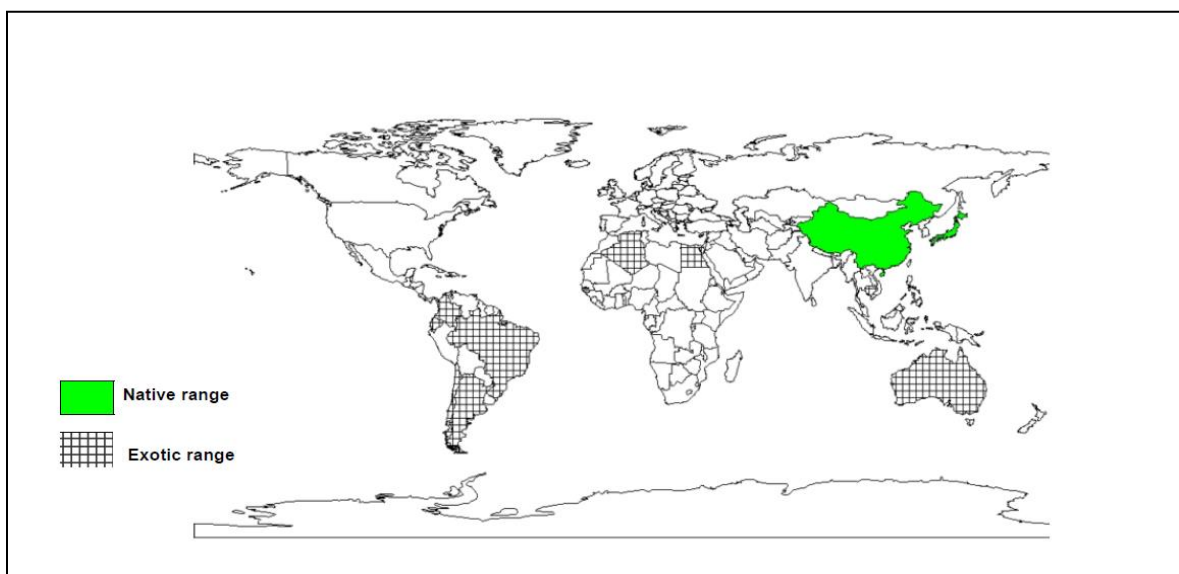


Figure n°2 : Distribution géographique d'*Eriobotrya japonica* lind (Orwa et al.,2009).

I-2- Systématique :

- Règne : Végétale.
- Classe : Dicotylédones (Tonellie et al.,2013).
- Ordre : Pomée (Tonellie et al.,2013).
- Famille : Rosaceae (Shahi -Gharahlar et al .,2009).
- Sous famille : Maloideae (Sunil et al ., 2013).
- Genre :Eriobotrya (Yanping et al.,2008).
- Espèce : *Eriobotrya japonica* L.

I-3- Composition biochimique :

➤ Feuilles

Divers composés ont été trouvés dans les feuilles d'*Eriobotrya japonica* tels que : triterpènes, sesquiterpènes, flavonoïdes, tanins et des glucosides (Kammoun et al.,2015).

✓ Triterpènes :

Les feuilles de cette plante contient de nombreux triterpènes (l'acide corosolique (CA) , l'acide ursolique (UA) , l'acide maslinique (MA) , l'acide oléanolique (OA)) (Figure 3) (Takuhiro et al .,2013 ;Hui-ya et al.,2010).

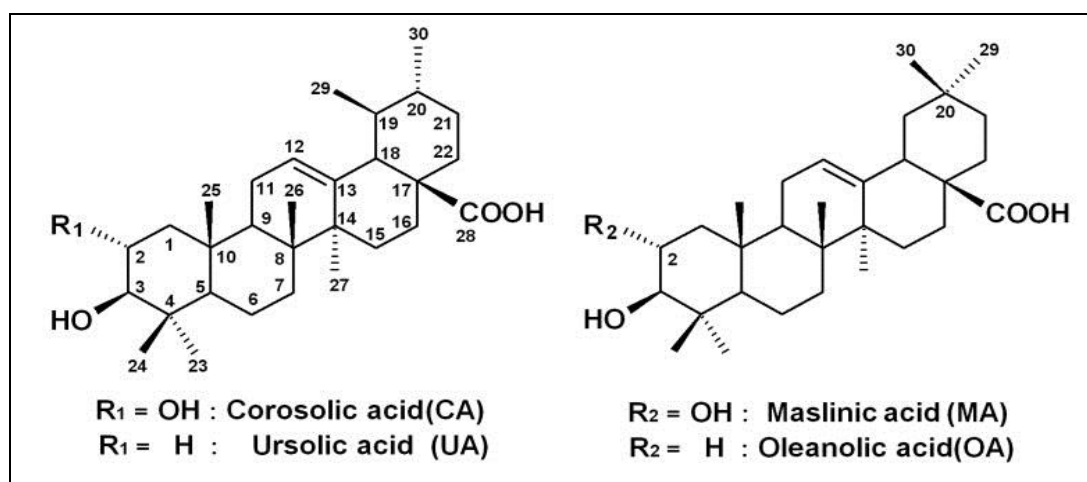


Figure n°3 : Structures chimiques de l'acide corosolique (CA), acide ursolique (UA), l'acide maslinique (MA) et l'acide oleanilique (OA) (Takuhiro et al .,2013).

✓ **Sesquiterpènes :**

Eriobotrya japonica est très riche en sesquiterpènes (Zhao et al., 2015) et par une chaîne oligosaccharidique ramifiée qui constitue de β D-glicopyranosyl et d' α -rhamnopyranoxyl (Figure 4) (chen et Li et al., 2008).

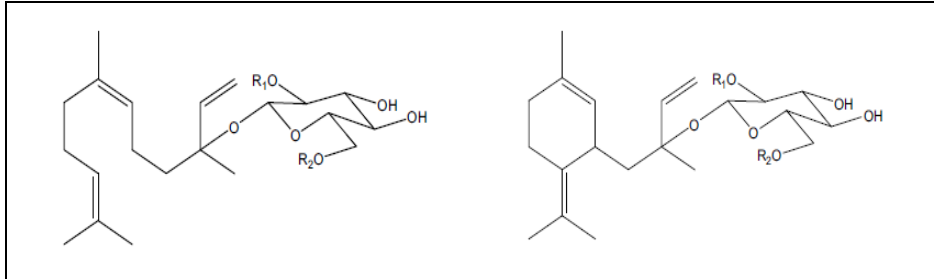


Figure n°4: Structure des sesquiterpènes (chen et Li et al., 2008).

✓ **Polyphénols :**

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont riches des composés phénoliques tels que les flavonoïdes glycosidiques (figure 5) (chen et Li et al., 2008).

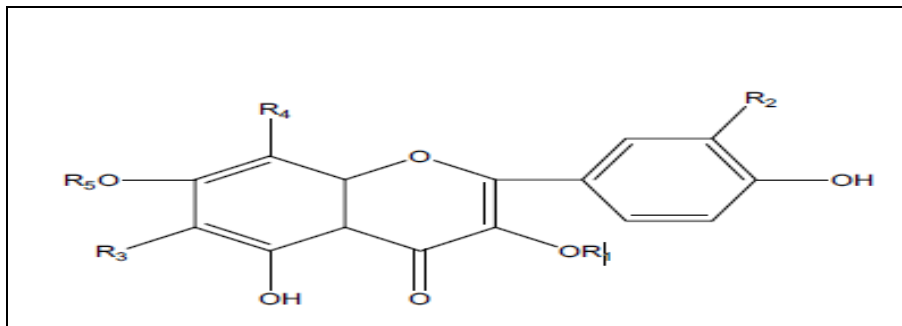


Figure n°5 : Structure des flavonoïdes glycosidiques. (chen et Li et al., 2008).

✓ **Huiles essentielles :**

Plusieurs types des huiles essentielles existent dans les feuilles d'*Eriobotrya japonica* tel que : farnesol , nerolidol , α -pinen et β -pinene, camphène , la β -myrcène, le p-cymère, linalool... (chen et Li et al., 2008).

I-4 – Utilisation :

Eriobotrya japonica est une plante à haute valeur médicinale. Leur extraits ont été utilisés pour le traitement de la toux, La bronchite chronique (CB), l'inflammation, le diabète, le cancer, l'infection bactérienne, le vieillissement, la douleur, l'allergie et d'autres problèmes de santé (**Edward et al .,1993**).

I-5 – Activités biologiques :

Les feuilles et les fleurs d'*Eriobotrya japonica* sont riches en composés phénoliques et en triterpènes. Certains de ces composants ont des propriétés Anti-tumorales, antivirales, hypoglycémiques, antioxydants, anti-inflammatoires, Antidiabétique,... (**Kammoun et al.,2015 ;Edward et al.,1993**).

➤ Activité antioxydant :

Les extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* ont démontré une capacité radicale de balayage de DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) et des effets protecteurs contre les ERO cellulaires (**pietta et al .,2000 ; kammoun et al.,2015 ; jung et al .,1999**).

➤ Activité anticancéreuse :

Selon (**liu et al .,2016 ; Takuhiro et al .,2013**), Les extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* ont une forte cytotoxicité dans le cancer de sein, poumon. ils empêchent l'invasion et la migration du cancer du sein .Les triterpènes des feuilles d'*Eriobotrya japonica* ont une activité antiproliférative sur des cellules humaines de leucémie (**Takuhiro et al .,2013**).

➤ Activité anti-inflammatoire :

Les extraits des feuilles d'*Eriobotrya* enrichis avec des acides de triterpènes qui sont des composés qui permettent l'inhibition de la réponse inflammatoire induit par les LPS (lipopolysaccharides) (**liu et al .,2016 et kammoun et al .,(2015)**).

➤ **Activité antidiabétiques :**

Les sesquiterpènes glycosidiques et les triterpènes des feuilles d'*Eriobotrya* abaissent les niveaux du glucose de plasma chez les souris alloxane-diabétiques. En plus tous les triterpènes causent des effets hypoglycémiques et hypolipidémiques sur les rats normales (liu et al .,2016 ;chen et Li et al., 2008).

II- Radicaux libres :

II-1-Définition :

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié (célibataire). Ce déséquilibre n'est que transitoire et comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso et al., 2007).

Les radicaux libres sont des dérivés réactifs de l'oxygène. Ils sont produits naturellement par notre organisme, mais ils peuvent aussi provenir de sources extérieures comme le tabac, l'exposition aux UV, la pollution, le stress, etc (Baudoin et al.,2009).

II-2- Espèces oxydantes en biologie :

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être des radicaux libres (O_2^- : anion superoxyde, OH^\bullet radical hydroxyle) ou des molécules non radicalaires (oxygène singulet, peroxyde d'hydrogène). La plupart des radicaux libres proviennent de la chaîne respiratoire, du NADPH, et de l'activité de la xanthine oxydase, alors que les espèces réactives du NO sont essentiellement produites par la NO-synthase (Figure n°6) (Berger et al.,2006 ; Gardès-Albert et al .,2003).

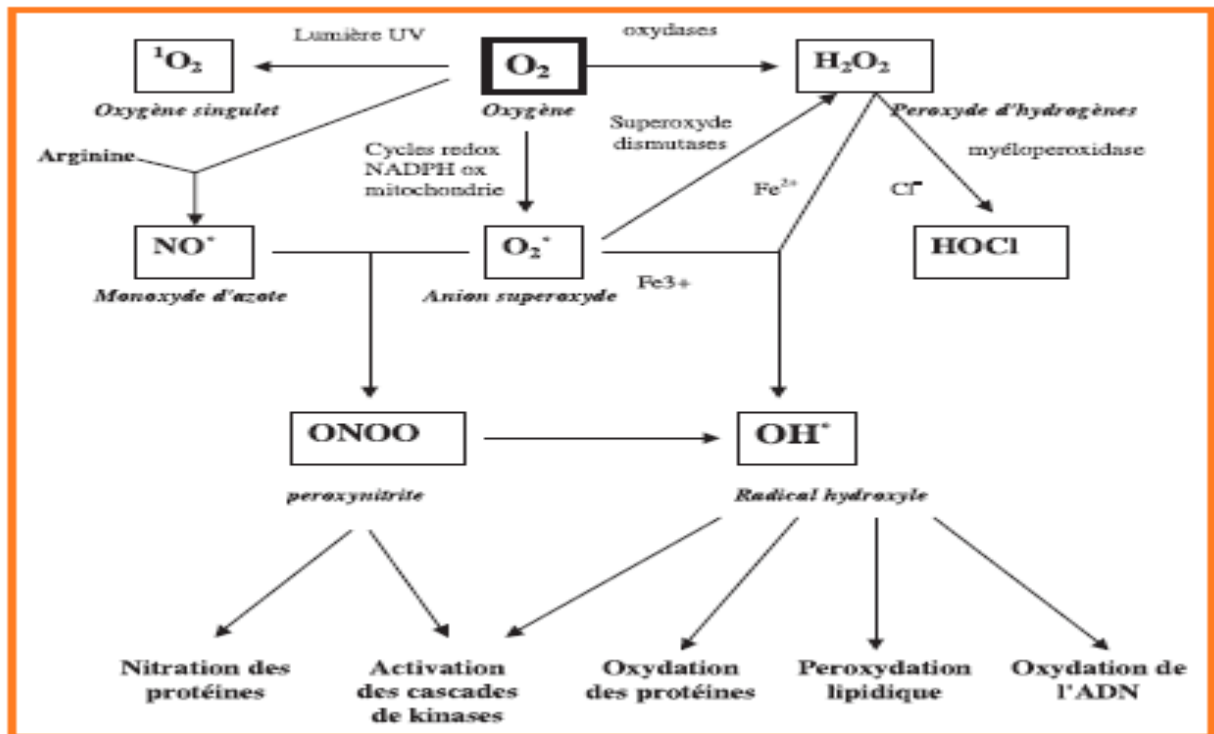


Figure n°6 : Espèces oxygénées activées produites en cascade à partir de l'oxygène.

(favier et al., 2003).

II-3- Rôle physiologique des radicaux libres :

Dans un système biologique, les ERO libres peuvent avoir des effets opposés, et en fonction de leur lieu de formation et des quantités produites (Flourie et al., 2006).

Les ERO, lorsqu'elles sont formées en faibles concentrations, représentent des régulateurs des voies de signalisation et de l'expression des gènes au niveau des cellules vasculaires, jouant ainsi un rôle important comme seconds messagers, dans le contrôle des processus cellulaires physiologiques tels que la croissance, la migration, la sénescence, l'apoptose ou la survie des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses (Bonfont-Rousselot et al., 2002; Huet et Duranteau, 2008), aussi bien que dans les fonctions de : phagocytose, bactéricidie et stimulation des lymphocytes T (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

II-4- Stress oxydant :

II-4-1-Definition :

Le stress oxydant (SO) est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de substances oxydantes qui sont principalement des dérivés réactifs de l'oxygène et leur neutralisation par des antioxydantes (Fraipont et al., 2016 ; collard et al., 2014).

II-4-2- Conséquences du stress oxydant :

Lors d'un stress oxydant, les ERO non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN (Figure n°7). (collard *et al.*,2014).

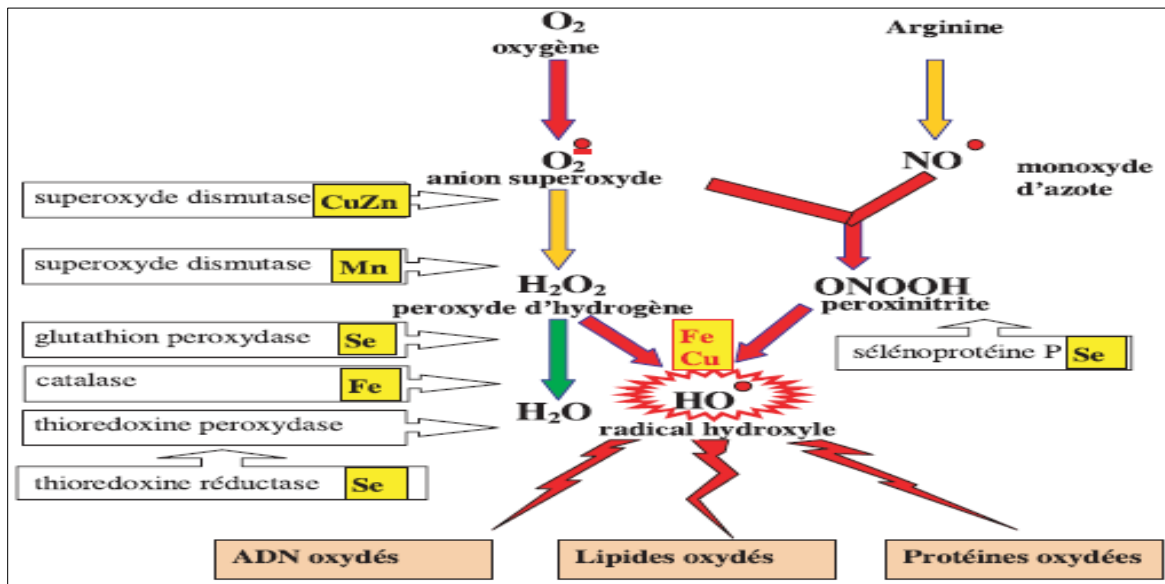


Figure n°7 : Mode d'action des espèces réactives oxygénées (ERO) (Favier *et al.*,2003).

II-4-3- Pathologies liées au stress oxydant :

Les modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par un stress oxydant ont été impliquées dans le développement de différentes pathologies. Ainsi, l'oxydation des lipides et de l'ADN est un facteur primordial dans l'augmentation des maladies cardiovasculaires et des cancers (Favier *et al.*,2003). Le stress oxydant est également impliqué dans des affections aussi diverses que l'arthrite, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer et le vieillissement physiologique.(Koechlin-Ramonatxo *et al.*,2006).

II-5- Antioxydants :

II-5-1-Définition :

Les antioxydantes sont des molécules qui neutralisent les radicaux libres dans une réaction d'oxydation, On les trouve principalement dans les fruits et légumes (Krishnaiah *et al.* ,2007).

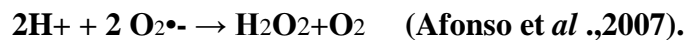
Notre organisme est équipé d'un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (Mette et al., 2006).

II-5-2- Types :

II-5-2-a- Antioxydants enzymatiques :

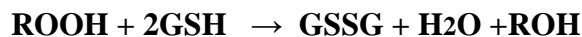
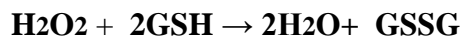
➤ Superoxydant dismutase (SOD) :

L'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation selon la réaction suivant :



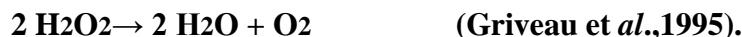
➤ Glutathion peroxydase (GPx) :

La GPx catalyse la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et hydroperoxyde, en utilisant le glutathion (GSH) qui jouent un rôle comme donneur d'hydrogène et les transforme en glutathion oxydé (GSSG) (Griveau et al., 1995). Le H_2O_2 et l'hydroperoxyde sont des facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. (Haleng et al., 2007).



➤ Catalase :

La catalase est localisée dans le peroxysome. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.



II-5-2-b- Antioxydants non enzymatiques :

➤ Vitamine C :

La vitamine C est l'acide ascorbique ($C_6H_8O_6$) (Figure n°8) (Krishnaiah et al., 2007). C'est une vitamine hydrosoluble. Elle n'est pas synthétisée par l'organisme et doit être apportée par l'alimentation. Son rôle essentiel est de piéger des ROS et régénérer la vitamine E, en favorisant la réaction de fenton (Podsedek et al., 2007).

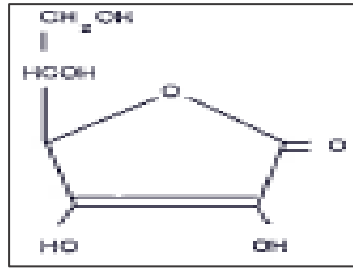


Figure n°8 : Structure de l'acide ascorbique. (Gardès-Albert *et al.*,2003).

➤ **Vitamine E :**

La vitamine E est l' α -tocophérol (C₂₉H₅₀O₂) (Figure n°9) (Krishnaiah *et al.*, 2007) cette vitamine est un antioxydant liposoluble et inhibiteur de la peroxydation lipidique. les radicaux tocophéroxyls doivent être réduits pour régénérer l' α - tocophérol . Cette réduction est réalisée par des antioxydantes de vitamines C et GSH (Podsdek *et al.*, 2007).

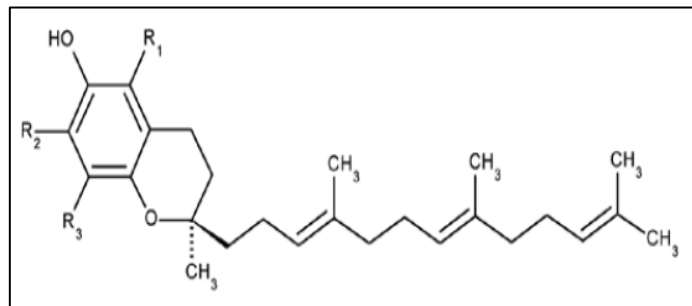


Figure n°9 : Structure chimique de la vitamine E (Zielinska *et al.*, 2014).

➤ **Caroténoïdes (Provitamine A) :**

Les caroténoïdes sont des molécules liposolubles et tétraterpénoides (C₄₀) (Figure n°10) (Eldahshan *et al.*, 2013). Le β -carotène fixe les radicaux libres peroxydes ROO[•] et neutralise l'oxygène singulet (Nicol *et al.*, 2000).

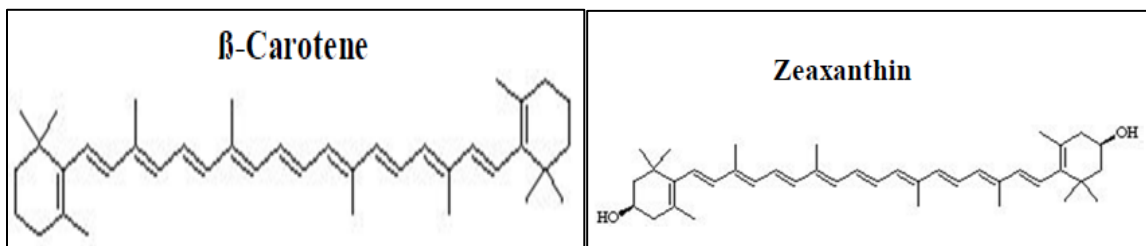


Figure n°10 : Structure des caroténoïdes (Eldahshan *et al.*, 2013).

➤ **Oligoéléments :**

- **Le sélénium :** est un Co-facteur des différentes glutathion peroxydases(GPx) (Haleng et *al.*,2007).
- **Le Cuivre:** est un co-facteur de la SOD (Haleng et *al.*,2007).
- **Le Zinc :** est un co-facteur de la superoxyde dismutase (SOD) et qui inhibe les réactions d'oxydation induites par le cuivre (Haleng et *al.*,2007).

II-6- Composés phénoliques :

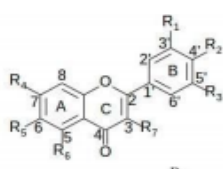
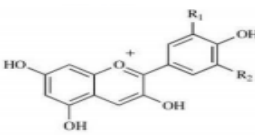
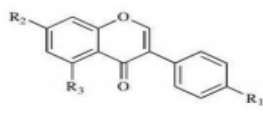
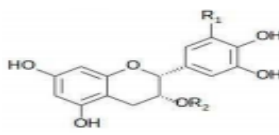
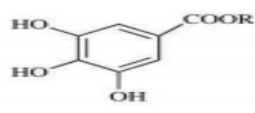
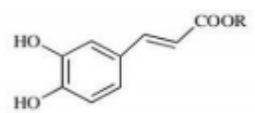
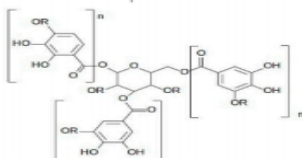
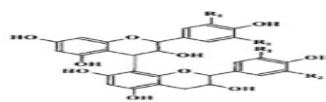
II-6-1 – Définition :

Les composés phénoliques ont été décrits et caractérisés chez les végétaux .Ils désigne un vaste ensemble de substance qui possède un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils sont classés selon le nombre d'atome de carbone constitutifs et la structure de base du squelette de carbone (Jean-jacques et *al.*,1996).

Le groupe le plus répandu des polyphénols sont les flavonoïdes qui possèdent différentes activités biologiques, mais la plus importante est l'activité antioxydant (Podsedek et *al.*,2007).

II-6-2 – Classes :

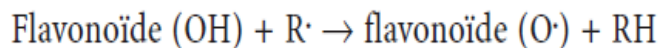
Tableau IV : Classes des composés phénoliques. (Kelly et al.,2002 ;Hagerman et al.,2010 ; Vivas et al.,2000 ;Laguerre et al .,2007).

Classe	Sous-classe	Structure	Référence
Flavonoïdes	Flavonols		Kelly et al.,2002
	Flavones		
	Flavonones		
	Anthocyanidine		Laguerre et al .,2007
	Isoflavones		
	Catéchines		
Acides phénoliques	Acide Hydroxybenzoïque		Hagerman et al.,2010
	Acide hydroxycinnamique		
Tannins	Tannins hydroxylables		Vivas et al.,2000
	Tanins condensés		

II-6-3 –Activités antioxydantes des polyphénols :

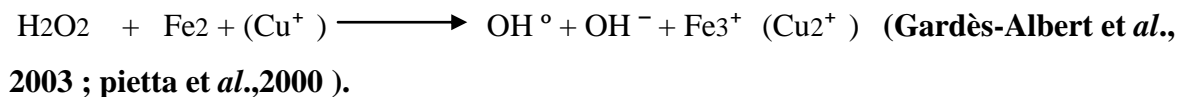
➤ Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes ont une capacité de piéger les radicaux libres (radicaux hydroxyles (OH^\bullet), anions superoxydes (O_2^\bullet) et radicaux peroxylipidiques), selon la réaction suivante : (Ghedira *et al.*, 2005).



➤ Chélation des métaux :

Les flavonoïdes sont des bons chélateurs du Fer et du cuivre, piégeurs d'anions superoxydé et donneur d'hydrogène (Ashok *et al.*, 2001 ; Cillard *et al.*, 2006). Qui permet de former des complexes stables avec des ions métalliques et l'inhibition de la réaction de Fenton et ainsi d'empêcher la production de ROS selon la réaction suivant :



La chélation des ions métalliques se fait par les groupements carbonyles et hydroxyles des flavonoïdes, qui nécessite trois sites principaux (Figure n°12) (pietta *et al.*,2000 ; Ashok *et al.*, 2001).

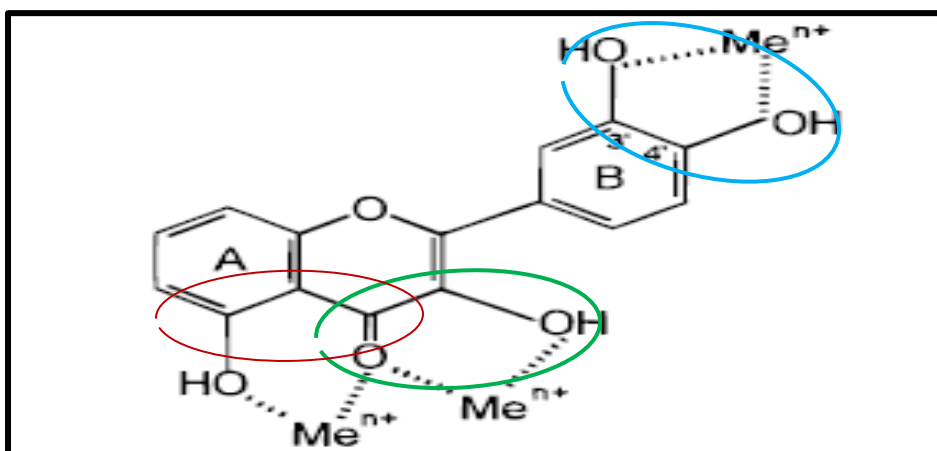


Figure n°12 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (pietta *et al.*.,2000).

➤ **Inhibition d'enzymes :**

Les flavonoïdes agissent comme des antioxydantes non seulement par l'élimination des radicaux libres, mais aussi par l'inhibition d'enzymes tels que :

-NADPH Oxydase dans les neutrophiles humains.

- succinoxydase mitochondriale.

- NADH oxydase (Ashok *et al.*, 2001).

Chapitre II

*MATERIES
ET
METHODES*

I- Préparation de matériel végétale :

Notre étude est basée sur les feuilles d'*Eriobotrya japonica* qui ont été récoltées au mois de février 2017 à Bejaia.



Figure n°13 : photographie de la partie aérienne d'*Eriobotrya japonica L.*

I-1-Séchage et broyage :

La plante fraîchement récoltée, a été lavée afin de la débarrasser de poussière et d'autres particules. Les feuilles sont séchées à l'air libre puis 24 h à l'étuve, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine selon la Figure n°14.



Figure n°14 : la photographie personnelle des feuilles d'*Eriobotrya japonica L* (A) et de la poudre obtenue des feuilles (B).

II- Méthodes

II-1-Extraction des composés phénoliques simples :

a-principe :

Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction sélective des composés phénoliques en utilisant des différents solvants comme : l'éthanol, l'eau, chloroforme, selon le protocole de (Chiang *et al.*, 1994) .

b-Mode opératoire

Les différentes étapes du protocole d'extraction sont représentées dans la figure n° 15 :

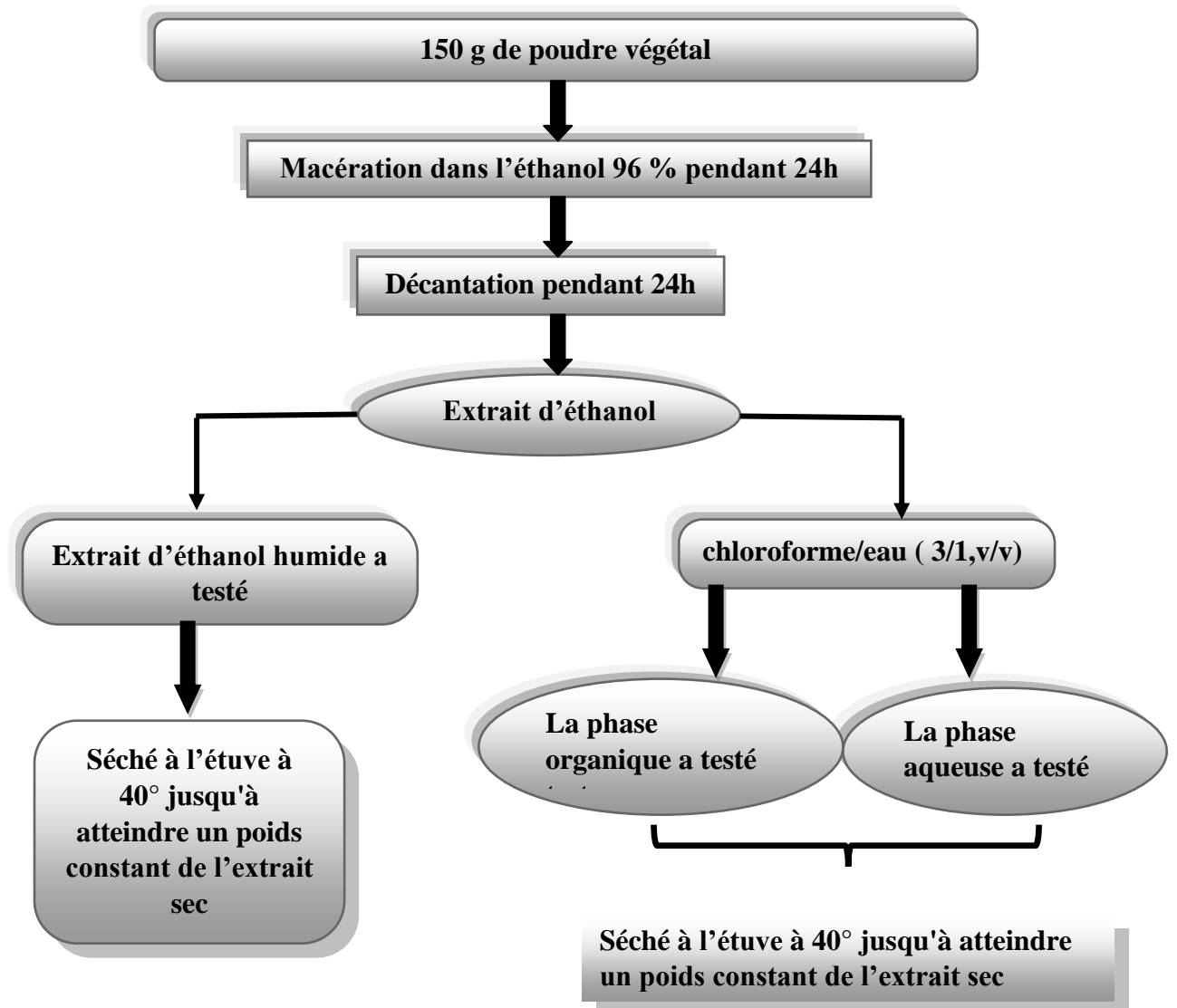


Figure n°15 : le protocole d'extraction des différentes phases (Chiang *et al.*.,1994).

II-2-Dosage des composés phénoliques :

II-2-1-Dosage des phénols totaux :

a- Principe :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de (Yap et al., 2009) avec quelque modification .

Le test Folin (Folin-Ciocalteu) permet de mesurer la teneur en composés phénoliques d'un extrait, ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃ PMO₁₂ O₄₀) initialement jaune, qui oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'extrait végétal et réduit en un mélange d'oxydes métalliques vertes bleus (W₈O₂₃ et MO₈O₂₃).

La coloration produite, mesurée à l'absorbance maximale de 765 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présente dans les extraits végétaux (Khadhri et al., 2012).

b-Mode opératoire :

Le protocole de dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la figure n°16 (Yap et al., 2009).

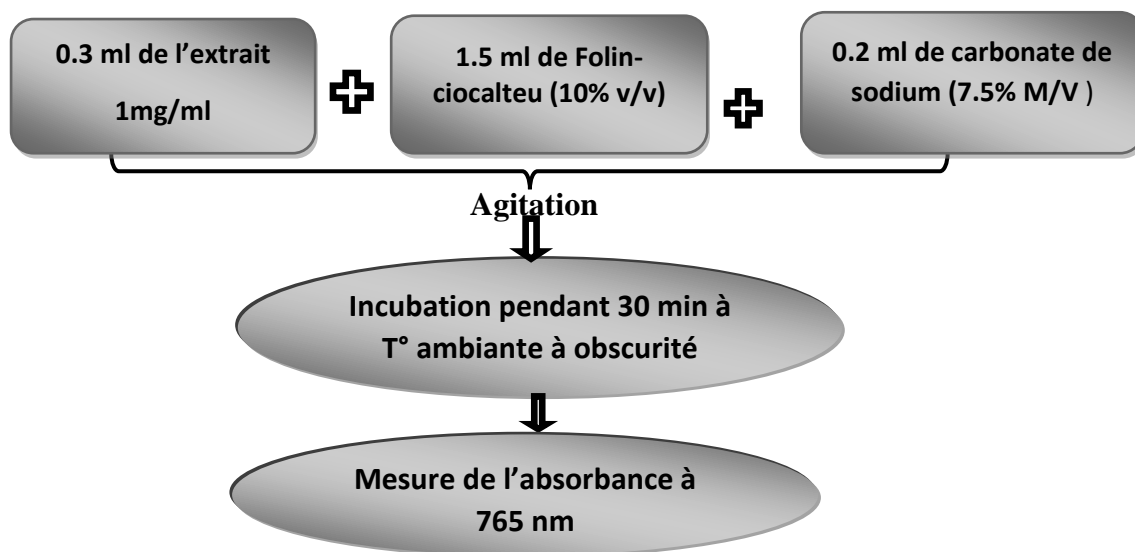


Figure n°16 : protocole de dosage des polyphénols totaux (Yap et al., 2009).

- ❖ **Préparation du blanc** : 0.3ml de méthanol +1.5 ml de folin-caocalteu + 0.2 de carbonate.

c-Expression des résultats :

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard afin de déterminer les concentrations en phénols totaux des extraits exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

II-2-2-Dosage des flavonoïdes :

a-Principe :

La méthode utilisée pour l'estimation des taux des flavonoïdes est celle décrite par (Abdou et al., 2010) avec quelque modification .

Le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les atomes d'hydrogène des flavonoïdes, Ce complexe jaune absorbe à la lumière visible et à une longueur d'onde 430 nm. (Talbi et al.,2015).

b- Mode opératoire :

Le protocole de dosage des flavonoïdes est schématisé dans la figure n°17 (Abdou et al., 2010).

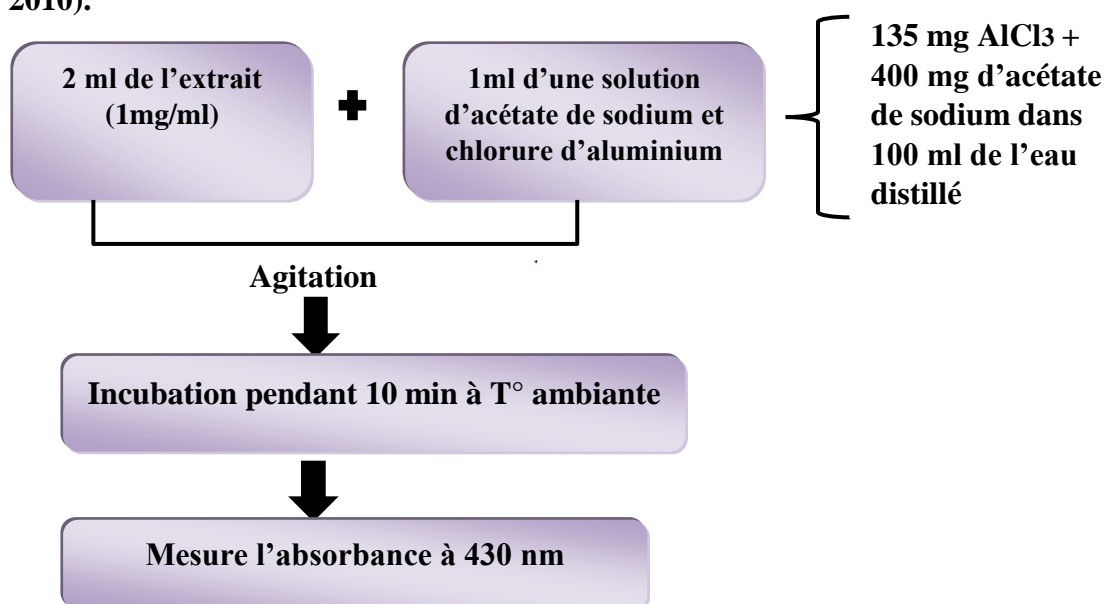


Figure n°17 : protocole de dosage des flavonoïdes (Abdou et al., 2010).

- ❖ **Préparation du blanc** : on mélange 2 ml de solution d'extrait avec 1 ml d'eau distillé.

c- Expression des résultats :

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant la quercétine comme standard étalon a différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent quercétine par gramme de poids sec d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

II-2-3- Dosage des tanins condensés (proanthocyanidines) :

a-Principe :

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de (Oyedmi et Afolayan et al., (2011) avec quelques modifications.

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré rouge mesuré à 500 nm (Khady et al.,2010).

b-Mode opératoire :

Les tanins condensés ont été dosé selon le protocole schématisé dans la figure n°18 (Oyedmi et afolayan et al.,2011).

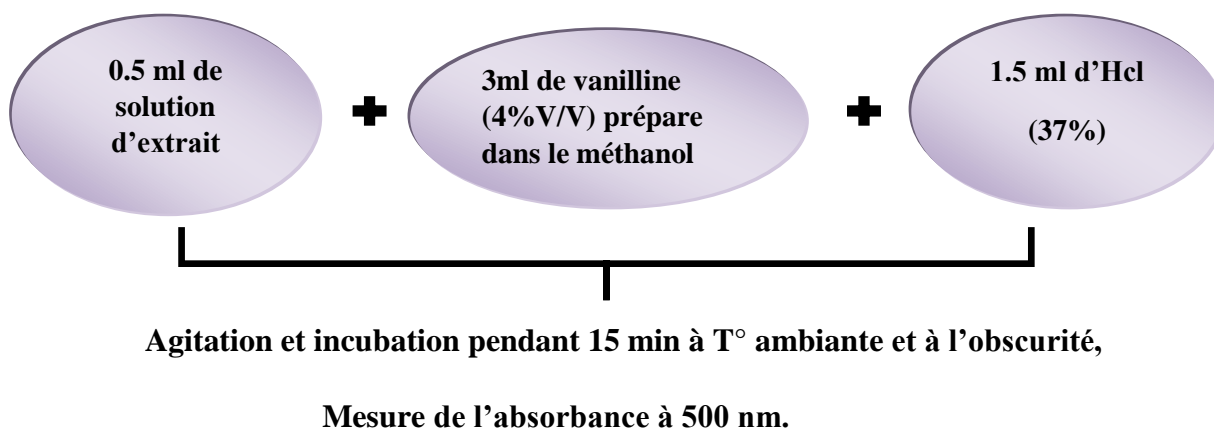


Figure n°18 : protocole de dosage des tanins condensés (Oyedmi et afolayan et al., 2011).

- ❖ **Préparation du blanc** : 0.5 ml de l'extrait +3 ml de méthanol +1.5 de HCl.

c-Expression des résultats :

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine comme standard et la concentration a été exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g d'extrait).

II-3-Activités antioxydant des extraits :**II-3-1- Activité scavenging du radical DPPH° :****a-Principe :**

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des extraits d'*Eriobotrya Japonica* on a utilisé le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable. selon le protocole **hamalatha et al.,2010**.

Au cours de ce test, l'évaluation de l'activité antioxydante est fondée sur la capacité d'un antioxydant à donner un électron singulet au radical synthétique DPPH (radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle), de coloration violette, pour les stabiliser en DPPH de coloration jaune qui est mesurée à 517 nm, selon la Figure n°19 suivant (**Talbi et al.,2015**).

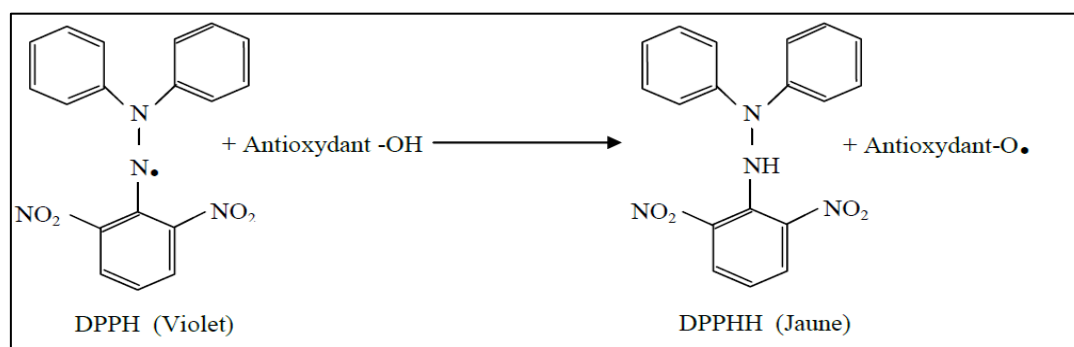


Figure n°19 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (**Talbi et al.,2015**).

b-Mode opératoire :

Dans cette méthode pour chaque extrait, des concentrations ont été testées (entre 1 et 10 mg/ml).on a utilisé 3 ml de solution d'extrait (100 µg/ml) avec 1 ml de solution de DPPH (0.1 mM préparée dans du méthanol), La lecture de l'absorbance est faite contre

un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante et un blanc général.

Préparation du blanc : 3 ml du méthanol avec 1 ml de solution de DPPH.

Préparation d'extrait : 1ml du méthanol avec 3ml de solution d'extrait.

Préparation du Teste : 3ml de solution d'extrait avec 1ml de solution de DPPH.

c-Expression des résultats :

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (%) est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité scavenging du radical DPPH} = [Ab - (At - Ae)] / Ab \times 100$$

Ab : absorbance du blanc.

At : absorbance du teste.

Ae : absorbance d'extrait.

NB : l'acide ascorbique et la BHA ont été utilisés comme standards et à différent concentration.

II-3-2-Activité scavenging du radical ABTS' :

a-Principe :

L'ABTS (l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un radical stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium et ce radical présente un spectre d'absorption à 734 nm. Le radical ABTS⁺ de couleur bleue verte, sera réduit par l'ajout d'un antioxydant et il y'aura décoloration transparente du mélange par piégeage d'un proton (**Liang et al ., 2014**) selon le protocole (**Le et al., 1999**) avec quelques modifications .

b- Mode opératoire :

La solution de l'ABTS⁺ a été préparée avec (72 mg) de l'ABTS à 7mM avec (13.24 mg) de persulfate de potassium à 2.4 Mm dans 20 ml d'eau distillée. Le mélange réactionnel est mis en incubation, à l'obscurité, pendant 16 h à température ambiante. La solution de l'ABTS⁺ (7mM) est diluée avec l'eau distillée afin d'obtenir une absorbance de (0.7 ± 0.02) à 734 nm.

600 µl d'extrait à différentes concentration sont ajoutés à 1.9 ml de la solution radicalaire d'ABTS, le mélange est incubé pendant 7 min à température ambiante puis mesure de l'absorbance à 734 nm.

Le blanc est préparé avec le méthanol à la place de la solution d'extrait.

Le Trolox (acide 6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique) analogue de la vitamine E est utilisé comme standard à différentes concentrations (Miller et al., 1997).

C- Expression des résultats :

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de l'activité scavenging de l'ABTS}^+ = [\text{Ac} - \text{At}] / \text{Ac} \times 100$$

Ac : absorbance du blanc

At : absorbance du test.

II-3-3- Pouvoir réducteur :**a-Principe :**

L'analyse du pouvoir réducteur de l'extrait d'*Eriobotrya japonica* a été réalisée par le protocole d'Oyaizu.(1986) et Ogunlana.(2008) avec quelques modifications .

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydo-réduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, le ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ fournit des ions Fe³⁺ qui seront réduit en Fe²⁺ par les antioxydants présents dans l'extrait

végétal, pour donner un complexe ferrique ferreux mesurable à 700 nm (**Khadhri et al .,2012**).

b-Mode opératoire :

Cette méthode consiste à mélanger 1ml de solution d'extrait (100 µl /ml) avec 2.5 ml de solution tampon phosphate a (0.2 M ; PH=6.6) et 2.5 ml de solution de Ferricyanure de potassium à 1% [k₃Fe(CN) 6].

Le mélange obtenu est incubé pendant 20min à 50°C, puis 2,5ml d'acide trichloracétique(TCA) à 10% sont ajoutés pour arrêter la réaction.

2,5 ml du surnageant sont additionnés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5ml de FeCl₃ à 0,1% (m/v). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm.

Pour la préparation d'un blanc on remplace l'extrait par le méthanol, et la BHA (butyl hydroxy anisol) a été utilisée comme standard .

c-Expression des résultats :

Pour chaque concentration, une absorbance est mesurée et les résultats sont représentés sous forme de graphique.

II-3-4- la chélation du fer :

a-Principe :

L'activité chélatrice de fer des extraits d'*Eriobotrya japonica* a été déterminée selon le protocole de **Dinis et al.,(1994)**.avec quelques modifications .

Le composé stable le plus utilisé est la ferrozine, ce dernier forme avec le fer libre présent dans un milieu réactionnel un complexe ferrozine-Fe²⁺ de couleur violette intense. La quantification de ce complexe est à 562 nm (**Khadhri et al .,2012**).

b- Mode opératoire :

1ml de solution d'extrait (0.1 mg/ml) est mélangé avec 400µl de solution de FeCL₂ (0.2mM) et 1ml d'eau distillée. Après une agitation, 400µl de ferrozine (5mM) sont ajoutés au mélange.

Une deuxième agitation et incubation pendant 10 min, on mesure l'absorbance à 562 nm.

L'EDTA est utilisé comme standard à différents concentrations (0.1 mg / ml et 1 mg/ml).

Un contrôle est préparé en remplaçant la solution d'extrait par du méthanol.

- ❖ **Préparation d'un blanc d'extrait** : 1.8 ml d'eau distillée avec 1ml de solution d'extrait.

c- Expression des résultats :

Le pouvoir chélateur du fer est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ de chélation} = [Ac (At - Ac)] / Ac \times 100$$

Ac : absorbance du control.

At : absorbance du test.

Etude statistique :

Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillon analysé et les résultats ont été exprimés sous la forme : moyenne \pm écartype .Des comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant le test statistique de Anova.les différences ont été vérifiées d'être significative à $\alpha=0.05$. Les valeurs des IC₅₀ ont été calculées en utilisant le logiciel origine 8.

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSION

I- Dosage des composés phénoliques

I-1- Dosage des phénols totaux

Les résultats de dosage des polyphénols totaux obtenus sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g d'extrait), et sont représentées dans la Figure n° 20.

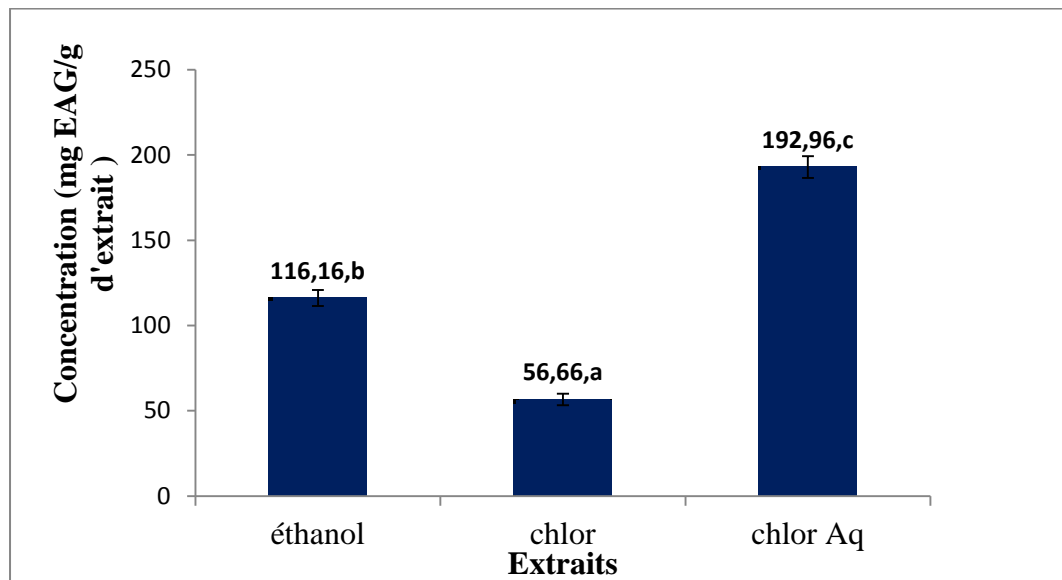


Figure n°20 : Représentation graphique du taux des composés phénoliques des extraits d'*Eriobotrya japonica L.*

L'étude statistique montre que les teneurs en tanin condensé des différents extraits ont présenté des différences significatives ($p < 0.05$) (figure n°20).

Les teneurs les plus élevées ont été présentées par aqueux du chloroforme (192.96 ± 6.36 mg EAG/g d'extrait). Suivi par l'extrait éthanolique (116.16 ± 4.66 mg EAG/g d'extrait) et enfin l'extrait du chloroforme (56.66 ± 3.39 mg EAG/g d'extrait).

Cela semble évident étant donné que les polyphénols sont des composés très polaires vu leur richesse en groupements hydroxyles, donc ils se solubilisent dans les solvants polaires, il est à signaler que l'extrait éthanolique a donné une teneur en phénols totaux significativement inférieure à celle des autres extraits. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'il soit l'extrait brut donc il contient beaucoup des composés phytochimiques qui engendrerait un encombrement stérique ce qui empêcherait la révélation des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu.

L'étude de bitis et al .,(2016), a montré que l'extrait des feuilles de la famille des Rosacée a laissé apparaitre une teneur en phénols totaux de 203.8 ± 4.28 mg EAG/g d'extrait qui est proche de celle obtenue par notre étude qui est de 192.96 ± 6.36 mg EAG/g d'extrait aqueux chloroforme.

I-2- Dosage des flavonoïdes

Les concentrations des flavonoïdes dans les différents extraits d'*Eriobotrya japonica* représentée dans la Figure n°21, calculée à partir des valeurs des absorbances à une longueur d'onde 430 nm.

Les résultats des flavonoïdes obtenus sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

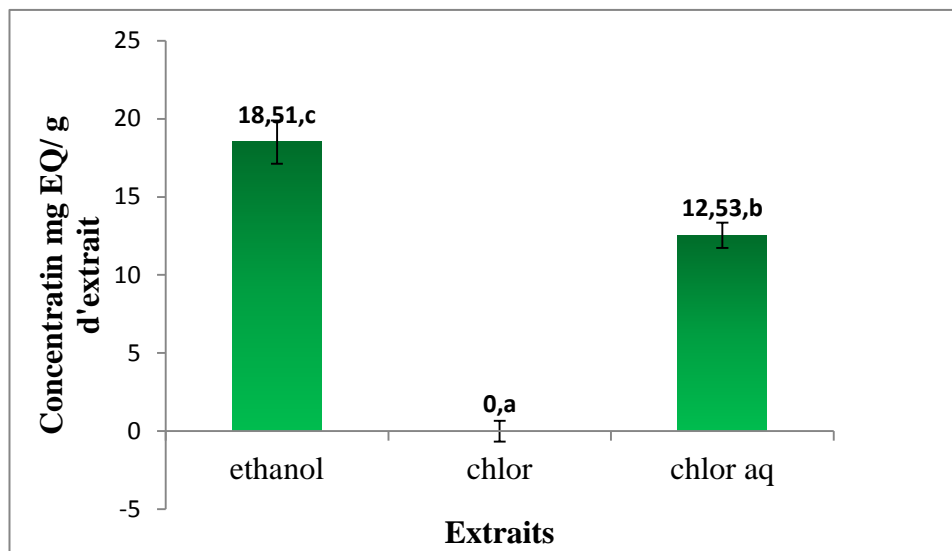


Figure n°21 : Représentation graphique des teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* .

L'étude statistiques montre que les teneurs en flavonoïde des différentes extraits ont présentés des différentes significatives ($p < 0.05$) (figure n°21).

Les teneurs les plus élevée ont été présentées par l'extrait éthanolique (18.51 ± 1.39 mg EQ/g d'extrait), Suive par l'extrait aqueux du chloroforme (12.53 ± 0.80 mg EQ/g d'extrait) enfin l'extrait organique du chloroforme (0 ± 0.67 mg EQ/g d'extrait).

une étude réalisée par Kammoun et *al.*, 2015 a montré que l'extrait des feuilles d'*Eriobotrya japonica* L a laissé apparaître une teneur en flavonoïde de 7 ± 0.52 mg EQ /g d'extrait qui est proche de celle obtenue par l'extrait aqueux du chloroforme de notre étude (12.53 ± 0.80 mg EQ/g d'extrait).

Par ailleurs, nous remarquons que c'est l'extrait éthanolique qui a donné la concentration en flavonoïdes la plus élevée (18.51 ± 1.39 mg EQ/g d'extrait), étant donné que c'est l'extrait brut, donc il contient la totalité des composés phénoliques.

Nous faisons remarques également que les flavonoïdes ce sont concentrés dans l'extrait aqueux du chloroforme, car les flavonoïdes sont des petites molécules hydrosolubles riches en groupements hydroxyles donc se solubilisent dans les solvants polaires.

I-3- Dosage des Tanins condensés :

Les résultats du dosage des tanins sont exprimés en milligramme (mg) équivalent catéchine par gramme d'extraits, représenté dans l'histogramme suivant :

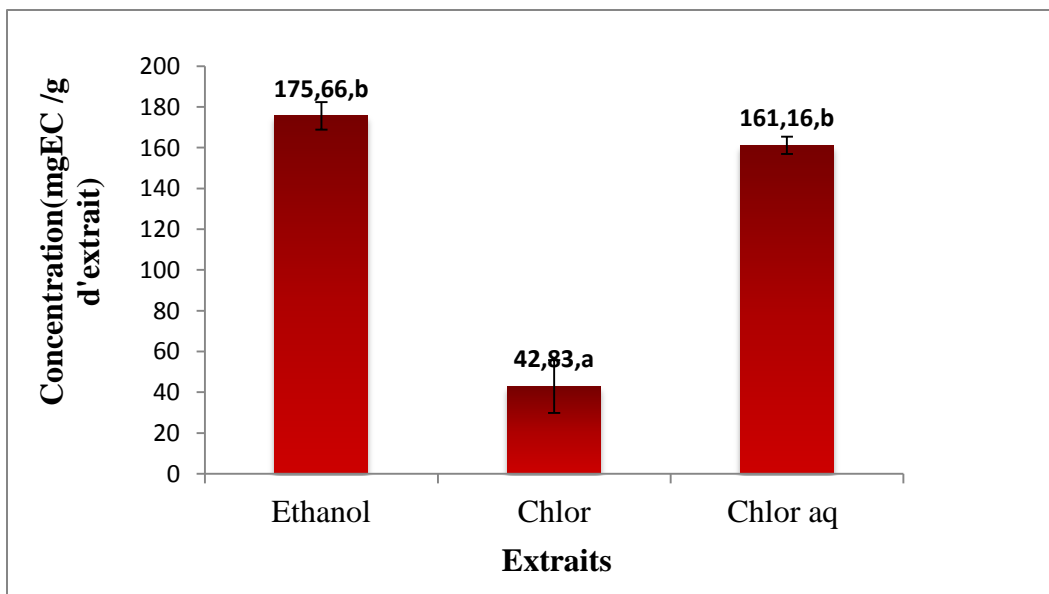


Figure n°22 : Représentation graphique des Teneurs en proanthocyanidines des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* L.

D'après cette figure, et des études statistiques nous ne déduisons que notre plante à des valeurs variant entre 42.83 ± 12.94 à 175.66 ± 6.75 mg EC/g d'extrait.

C'est l'extrait éthanolique qui a montré la teneur la plus élevée (175.66 ± 6.75 mg EC/g d'extrait) étant donné que c'est l'extrait brut.

En outre, c'est l'extrait aqueux du chloroforme qui a donné la teneur la plus élevée par rapport à l'extrait organique du chloroforme. Cela serait au fait que les tanins condensés constituent des polymères riches en groupements hydroxyles donc se solubilisant dans les solvants polaires.

II- Activité antioxydante :

II-1- Activité scavenging du radical DPPH :

La figure n°23 illustre les résultats de l'activité anti-radicalaire, vis-à-vis du radical DPPH, des standards et des extraits, sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

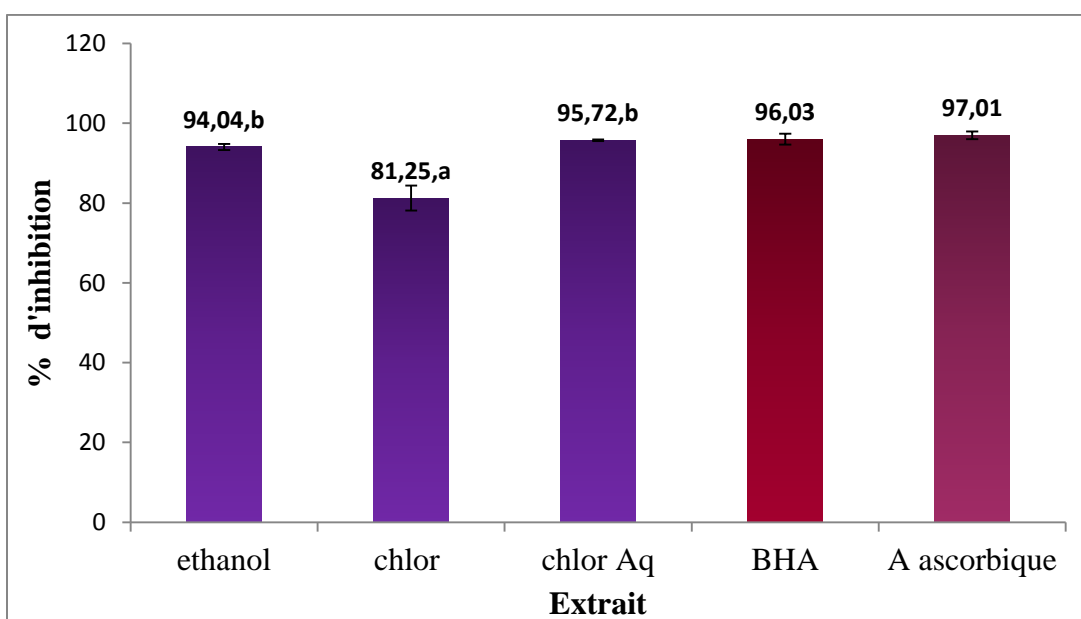


Figure n°23 : Activité scavenging du radical DPPH des extraits *d'Eriobotrya japonica* L et des standards (BHA et l'acide ascorbique).

L'étude statistique montre une différence significative entre les pourcentages d'inhibition du radical DPPH des extraits ($p < 0.05$).

Une vue d'ensemble de cette figure nous permet de constater que tous les extraits ont exhibé une très forte activité scavenging du radical DPPH, comparativement aux standards utilisés, l'acide ascorbique et le BHA qui ont donné les pourcentages de $97.01\% \pm 0.95\%$, $96.03\% \pm 1.34\%$ respectivement, à $100 \mu\text{g/ml}$.

Une étude réalisée par Fouedjou et al., 2016, a montré qu'un extrait des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a laissé apparaître une teneur de l'activité scavenging du radical DPPH de $94.61\% \pm 0.03\%$ qui est proche de notre extrait aqueux chloroforme qui est de $95.72\% \pm 0.21\%$.

Nous constatons également que c'est l'extrait aqueux chloroforme ($95.72\% \pm 0.21\%$) qui a exercé une forte activité scavenging du radical DPPH élevé étant donné sa richesse en flavonoïdes (figure n°21) qui sont connus pour leur très bonne activité anti-oxydante (Martinez-florez et al., 2002) et en tannins condensés (figure n°22) qui sont des polymères riches en groupements hydroxyles donateurs d'électrons et d'hydrogènes (Gu et al., 2008).

ce qui a été confirmé par l'étude statistique qui a dégagé une corrélation hautement significative entre la teneur en polyphénol et l'activité anti-radicalaire DPPH ($R= 0.909$).

Calcul des IC50

L'IC50 c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, La valeur de IC50 la plus faible correspond à l'activité anti-radicalaire la plus importante (Khadhri et al., 2012).

La valeur d'IC50 du radical DPPH pour l'extrait aqueux chloroforme et le standard est représenté dans les figures suivantes :

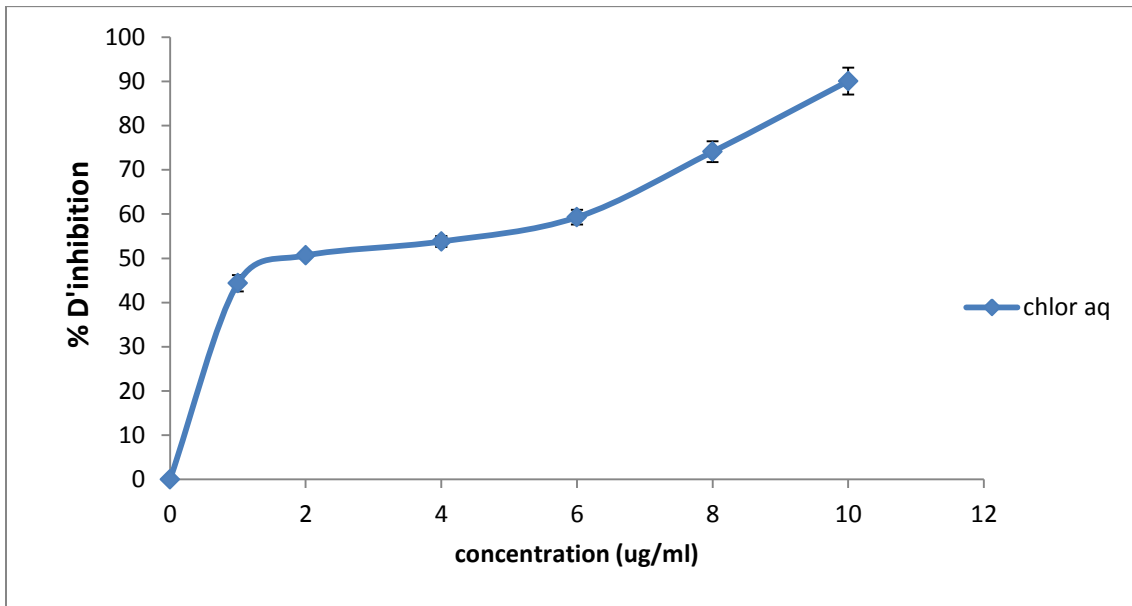


Figure n°24 : Activité scavenging du radical DPPH° à différentes concentrations de l'extrait aqueux chloroforme d'*Eriobotrya japonica L.*

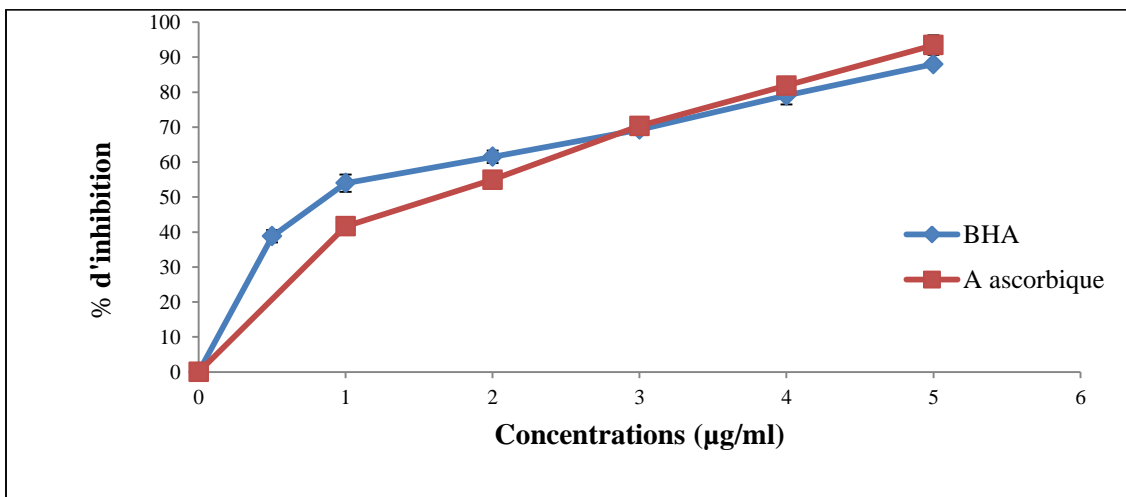


Figure n°25 : Activité scavenging du radical DPPH° à différentes concentrations de l'acide ascorbique et de la BHA.

D'après les figures 24 et 25 nous constatons que la variation de l'activité scavenging du radical DPPH est dépendante de la concentration avec une IC_{50} de l'extrait aqueux du chloroforme est de $1.51 \mu\text{g/ml}$ qui est proche de celles des deux standards utilisés : BHA et acide ascorbique respectivement de $IC_{50}=0.98\mu\text{g/ml}$ et de $IC_{50}=1.61\mu\text{g/ml}$. Notre résultat est en accord avec celui retrouvé par Fouedjou et *al.*, 2016 qui est de $3.14 \mu\text{g/ml}$.

III-2-2- Activité scavenging du radical ABTS⁺

La figure n°25 illustre le pourcentage d'inhibition de l'ABTS par les extraits d'*Eriobotrya japonica*.

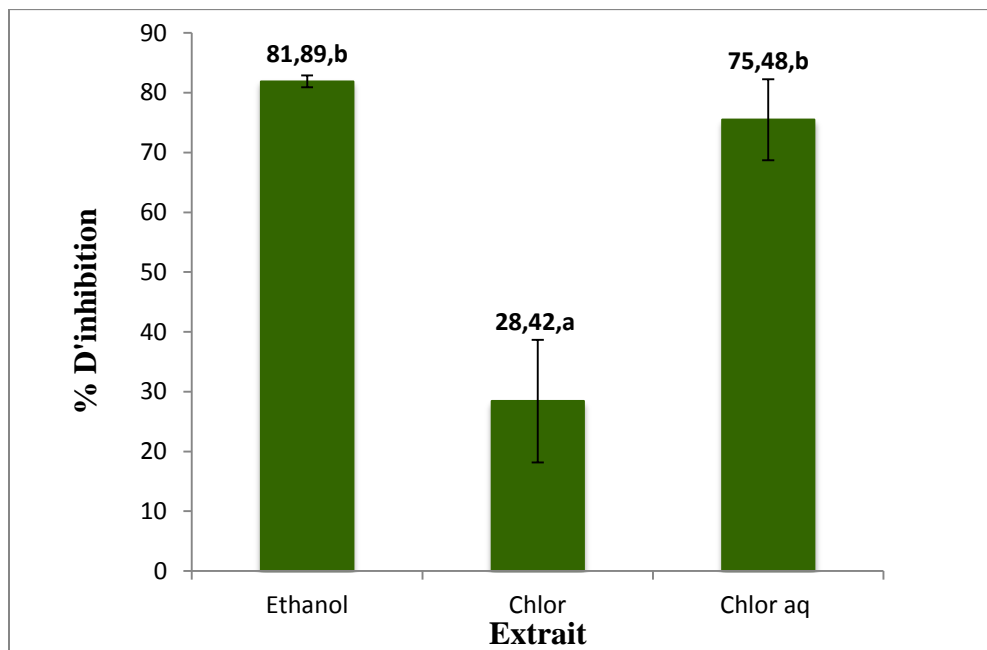


Figure n°26 : Activité inhibitrice du radical ABTS^o par les extraits d'*Eriobotrya japonica* L.

L'étude statistique montre une différence significative entre les pourcentages d'inhibition du radical ABTS des extraits ($p < 0.05$). L'extrait éthanolique présente la meilleure activité (81.89% \pm 0.99%) par rapport à l'extrait aqueux du chloroforme et l'extrait organique du chloroforme avec des valeurs respectivement de 75.48% \pm 6.75% , 28.42% \pm 10.25% .

Cet histogramme nous permet de constater que l'activité scavenging du radical ABTS^{o+} de notre plante est élevée comparativement au standard utilisé le trolox .

C'est l'extrait éthanolique (81.89% \pm 0.99%) qui a exhibé une forte activité du radical ABTS, étant donné que c'est l'extrait brut donc il contient la totalité des composés phénoliques donneurs d'hydrogènes et d'électrons.

Nous remarquons également que c'est l'extrait aqueux du chloroforme qui a été le plus fort par rapport à l'extrait organique du chloroforme, cela est dû au fait qu'il soit riche en flavonoïdes et tanins condensés.

En effet, ces résultats sont d'autant plus confirmés par l'étude statistique qui a dégagé une corrélation hautement significatives entre le teneur en polyphénol et activité anti-radicalaire d'ABTS^{•+} ($R=0.999$).

Calcul de l'IC₅₀

La valeur d'IC₅₀ du radical ABTS^{•+} pour l'extrait éthanolique et le standard Trolox est représenté dans les figures n°27 et n°28 suivantes :

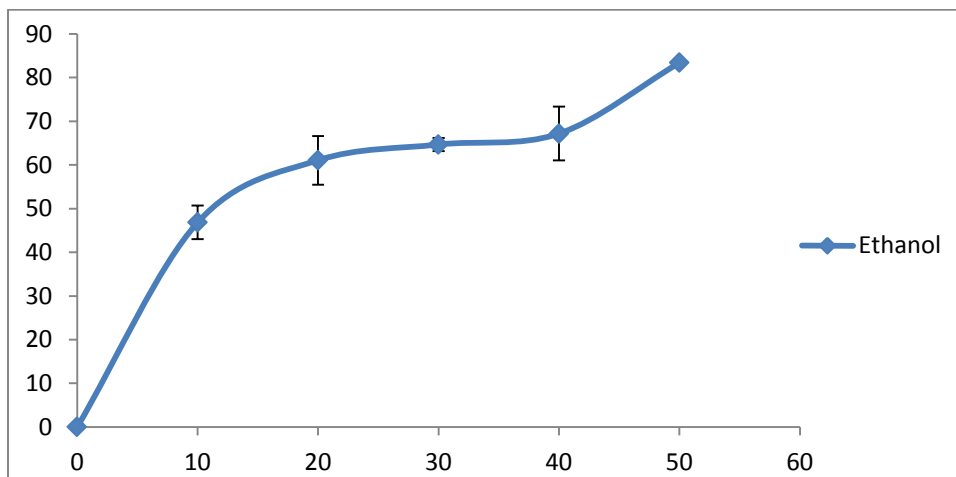


Figure n°27 : activité inhibitrice du radical ABTS^{•+} à différentes concentration d'extrait éthanolique des feuilles *d'Eriobotrya japonica* L .

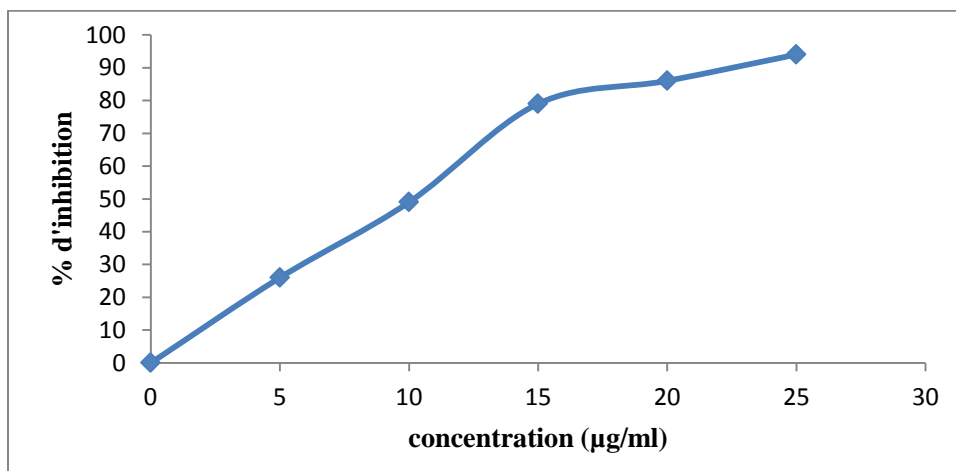


Figure n°28 : Activité inhibitrice du radical ABTS^{•+} à différentes concentration la concentration de Trolox.

Pour l'extrait éthanolique, nous remarquons que la variation de l'activité scavenging du radical ABTS^{•+} est dépendante de la concentration (figure n°27 et n°28).

Dans le cas de notre échantillon, l'IC₅₀ pour l'extrait éthanolique de 12.06 µg/ml est supérieure à celles du Trolox avec IC₅₀=9.72 µg/ml. une étude mener par Bitis et *al.*, 2016 a montré que pourcentage d'inhibition est de 11.97 µg/ml qui est inférieur à celle obtenue par notre plante .

III-2-3-Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est basé sur la réduction de l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺) par transfert d'un électron ou donner un atome d'hydrogène, qui se traduit par une coloration verte-bleu.

La figure n°29 montre le graphe du pouvoir réducteur de nos extraits :

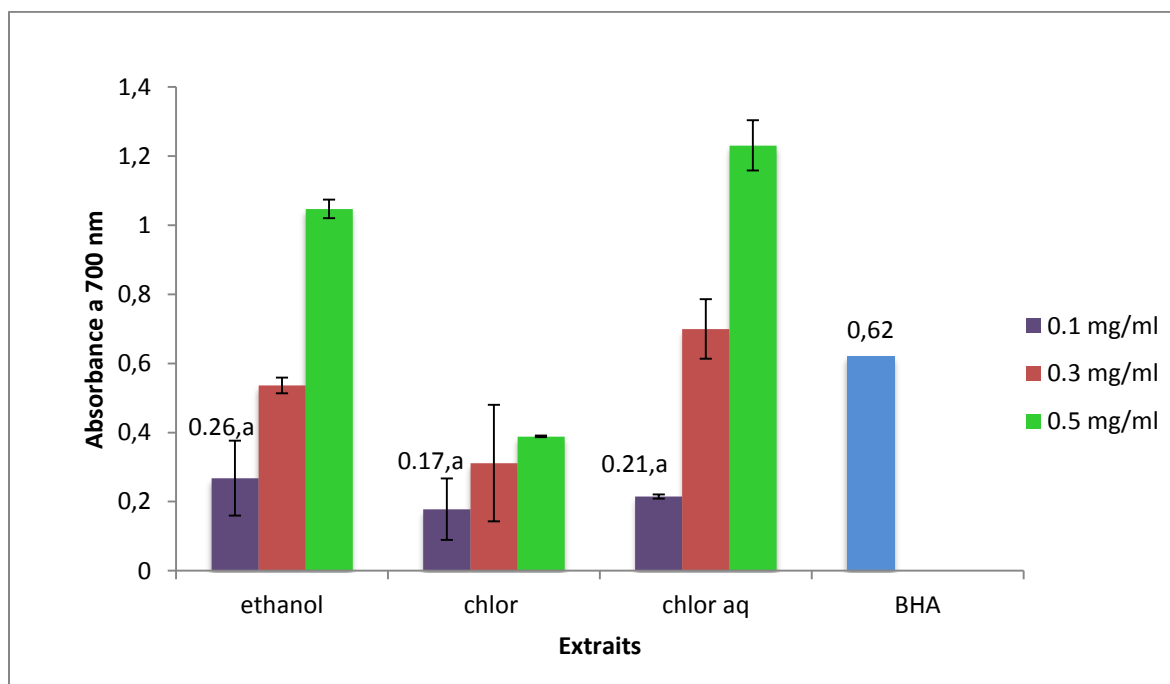


Figure n°29 : Représentation graphique de pouvoir réducteur des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica L.*

Statistiquement il n'y'a pas une différence significatives entre le pouvoir réducteur des extraits ($p < 0.05$). le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par l'extrait éthanolique (0.26 % ± 0.10 %) à 100 µg /ml. tandis que l'extrait organique à montre le pouvoir le plus faible avec une valeur de (0.17% ± 0.08 %) à 100µg/ml.

Il à signaler que l'extrait éthanolique a donné un pourcentage plus que l'extrait aqueux du chloroforme, car c'est l'extrait brut il contienne la totalité des composés phénoliques.

Une étude a montré qu'il existe une corrélation hautement significatives entre le teneur en polyphénol et les pourcentages scavinging du pouvoir réducteur ($R= 0.590$).

III-2-4- Chélation de fer

Le protocole de chélation du fer est un test qui met en évidence la capacité d'une molécule des extraits à chélates le fer.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessous :

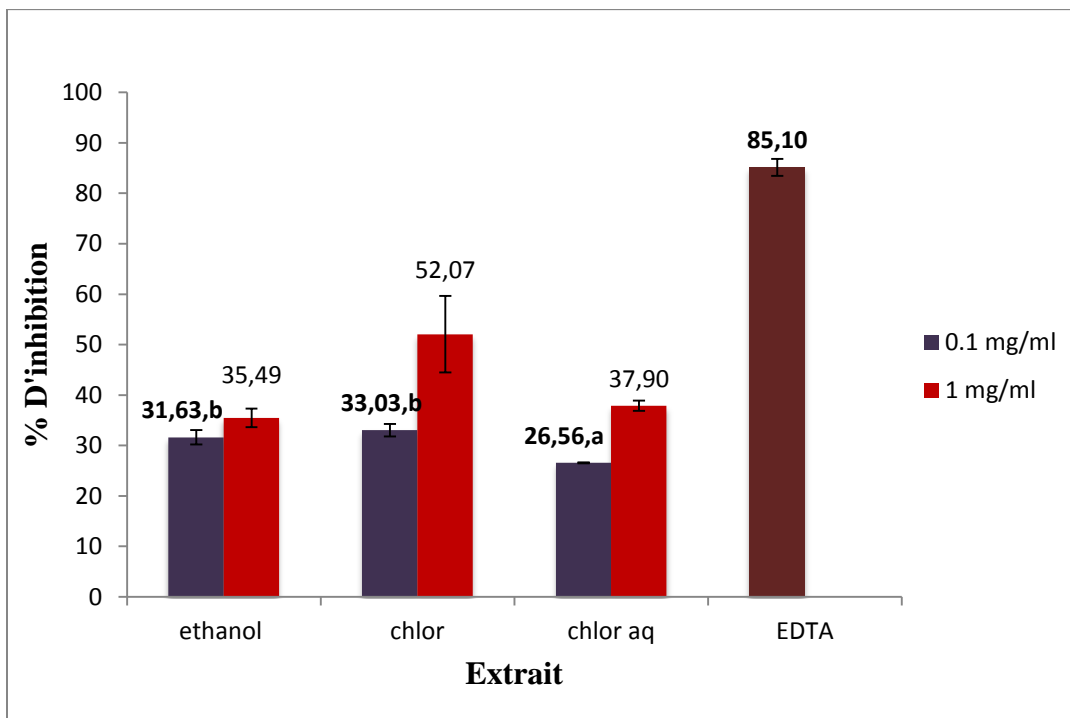


Figure n °30 : Représentation graphique du chélation de fer des extraits des feuilles d'*Eriobotrya jaoinica L* et le standard EDTA.

L'étude statistique montre une déférence significatives entre l'activité chélatrice des extraits ($p<0.05$).

D'après la figure n°30, nous remarquons que l'activité chélatrice de notre plante est faible comparée au standard utilisé l'EDTA qui a donné une valeur de $85.10\% \pm 1.67\%$ à $100\mu\text{g/ml}$.

Il est à noter que c'est l'extrait organique du chloroforme qui a montré l'activité chélatrice significativement élevée ($52.07\% \pm 7.60\%$), cela serait dû à la présence d'huiles essentielles hydrophobes dans cet extrait qui posséderait une forte activité chélatrice (chen et Li et *al.*, 2008).

Par ailleurs, il existe une bonne corrélation entre la teneur en phénols totaux et la chélation du fer ($R=0.970$).

Finalement, une étude réalisée par (Mokdad-Bzeouich et *al.*, 2015) montre que l'activité chélatrice d'*Eriobotrya japonica* est de $76.1\% \pm 0.03\%$ qui est supérieur à celle de notre plante qui de $52.07\% \pm 7.60\%$ de l'extrait organique.

*CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES*

Conclusion et perspectives

Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur importante activité antioxydante. Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels, elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical, en raison de leur performance thérapeutique et une faible toxicité.

Eriobotrya japonica L est une plante appartenant à la famille des Rosaceae qui est largement utilisée en médecine traditionnelle.

Dans le cadre de notre travail, la première étape consiste en l'extraction des composés phénoliques des feuilles d'*Eriobotrya japonica L*, ensuite que le dosage des différents composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et les tanins condensés) puis l'évaluation de l'activité antioxydante (test du DPPH, ABTS, pouvoir réducteur et chélation du fer).

Notre travail nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- L'évaluation du contenu en phénols totaux en adoptant la méthode du folin-ciocalteu a révélé des teneurs importantes en composés phénoliques par notre plante.
- Les résultats de dosage des composés phénoliques montrent que la plante présente des teneurs appréciables en phénols totaux, flavonoïdes et en tanins condensés.
- En ce qui concerne les activités antioxydantes, tous les extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica L* ont montré une forte activité scavenging du radical DPPH à 100 µg/ml par rapport aux standards utilisés, l'IC₅₀ de l'extrait aqueux chloroforme est estimée à 1.51 µg/ml.
- L'extrait éthanolique exerce une forte activité vis-à-vis du radical ABTS (81.89% ± 0.99%) à 100 µg/ml en comparaison avec l'activité enregistrée par le standard (Trolox).

- Cependant, ces extraits ont un pouvoir réducteur satisfaisant et une activité chélatrice du fer modérée.
- En fin, l'activité antioxydante peut être attribuée à la présence des polyphénols dans les extraits, les résultats indiquent une forte corrélation entre les activités anti- oxydantes testées et les composés phénoliques.

Ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes d'*Eriobotrya japonica L.*

Ainsi, nous souhaitons isoler, purifier et identifier les constituants biochimiques responsables de ces différentes activités par d'autres méthodes plus performantes et plus précises telles que la HPLC,GC-MS et RMN.

Par ailleurs, il serait très intéressant d'aller plus loin en essayant de réaliser ces tests antioxydantes in vivo afin d'étudier l'efficacité et la toxicité des extraits, aussi bien que de s'investir dans d'autres parties de la plante, à savoir la tige, les fleurs et les graines.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Adéoti, F.M., Massara, C., Thé, Y.E., Djyh, B.N., Kolia, I.K., Djaman, J.A., Sess, D.E. (2016).** Antioxidant, hypolipidemic and cardio-protective properties of chloroform extract of *Mansonia altissima* (Sterculiaceae) in rabbits. *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics*, 6(1) :001-006.
- ❖ **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P et Lomri, A . (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*. 74 :636-643.
- ❖ **Amié, D., Davidovié-Amié, D., Beslo, D. et Trinajstić, N. (2003).** Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA*, 76 (1): 55–61.
- ❖ **Baudoin, P. (2009).** Radicaux libres et antioxydants. : Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history, elsey Fisher-Wellman and Richard J Bloomer, *Dynamic Medicine*:1-5.
- ❖ **Barouki R. (2006).** stress oxydant et vieillissement, 22:266-272.
- ❖ **Bonnefont-Rousselot D., Peyet J., Beaudoux J.-L., Therond P., Legrand A. et Dellatre J. (2002).** Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 : 260-267.
- ❖ **Berger, M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant. *Nutrition clinique et métabolisme* :48-53.
- ❖ **Bitis, L., Sen, L., OZSOY, N., Birtekoz-tan, S., Kultur, S., and Melikoglu, G. (2016).** Flavonoids and biological activities of various extracts from *Rosa sempervirens* leaves. *Agriculture and Environmental Biotechnology*, 31:299-303.

Références bibliographiques

- ❖ **Chene, J. and Li W .L .(2008).**Progress in Studies Phytochemistry Biological Activity of Folium Eriobotryae.*Global science Book* ,2(1):18-22.
- ❖ **Cillard , J.,Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *GRETAC* , 13(1) :24-29.
- ❖ **Collard ,J.(2014).** Stress oxydant – Généralités. Synlab Belgique.1-2
- ❖ **Cuevas, J .,Juan J, H., Moisés ,P.(2003) .** Pollination requirements of loquat (Eriobotrya japonica Lindl.),cv 'Algerie',58:157–165.
- ❖ **Deby-Dupont,G., Deby ,C., Lamy ,M.(2011).** Editions scientifiques et médicale Elsevier SAS.Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. 11: 28-39.
- ❖ **Delfanian ,M., Esmaeilzadeh ,R K and Ali Sahari,M.(2015) .** Antioxidative effect of loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) fruit skin extract in soybean oil Effet antioxydant d'extrait de peau de fruit de loquat (japonica Lindl d'Eriobotrya.) en huile de soja . *Food Science and Nutrition* ,3(1): 74– 80.
- ❖ **Duduku, K., Rosalam, S., and Awang, B. (2007).** Phytochemical antioxidants for health and medicine – A move towards nature. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 1 (4):97-104.
- ❖ **Edward F. Gilman and Dennis G. W. (1993).**Eriobotrya japonica Loquat .*southern group of state foresters* .1-3.
- ❖ **Eldahshan ,O.A., and Singab , A. N.B. (2013).** Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Carotenoids. *Pharmacognosy*, 2(1):225-234.
- ❖ **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques* .108-115.

Références bibliographiques

- ❖ **Flourie F., Arab K., Rossary A. et Steghens J.P. (2006).** Immuno-analyse et biologie spécialisée, 21. 229-233.
- ❖ **Fouedjou, R.T., Nguenefack-Mbuyo, E.P., Ponou, B.K., Nguenefack, T.B., Barboni, L., and Tapondjou, L.A.(2016).** Antioxidant Activities and Chemical Constituents of Extracts from *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. (Agavaceae) and *Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl, (Rosaceae). *pharmacologia*,7(2-3):103-113.
- ❖ **Fraipont, V., Jean-Charles, P . (2016).** Mise à jour sur l'utilisation des pharmaconutriments chez le patient agressé – deuxième partie : antioxydants, acide gras oméga-3 .*Nutrition clinique et métabolisme*, 31(1) :16-23
- ❖ **Gardès-Albert, M ., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh,Z., and Jore, D .(2003).** Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *Mécanismes biochimiques*.91-96.
- ❖ **Ghedira. K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Laboratoire de Pharmacognosie*.4: 162-169.
- ❖ **Greet , V.I. (2004).** Radicaux libre et antioxydants : principe de base. *Antioxydants et alimentation* .p1-2.
- ❖ **Griveau,J.F.,Lelannou, D.(1995).** Radicaux libres et spermatozoides humains physiologie et physiopathologie. *Andrologie*, 5(3) :369-381.
- ❖ **Gu, H.F., Li, C.M., Xu, Y.J., Hu, W.F., Chen, M.H., and Wan , Q.H. (2008) .** structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp.*Food Research International*,41:208-217.
- ❖ **Hagerman, A.E. (2010).**hydrolysable tannin structural chemistry .1-8.

Références bibliographiques

- ❖ **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydants. *Rev Med Liege*, 62(10) 628-638.
- ❖ **Huet O. et Duramteau J. (2008).** Dysfonction endothéliale : Rôles des radicaux libres. *Réanimation*, 17 : 378-392.
- ❖ **Hui-ya, H., Kuang-yao, L., Wen-chuan, L., Susumu, K., and Jin-bin, W.(2010).** Regulation and improvement of triterpene formation in plant cultured cells of *Eriobotrya japonica* Lindl. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(5): 588 - 592.
- ❖ **Jean-Jacques, M.(1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle. *Acta bot. Gallica*, 143 (6) :473-479.
- ❖ **Jung, H.A., Park, J.C., Chung, H.Y., Kim, J., and Choi, J.S. (1999)** .Antioxidant Flavonoids and Chlorogenic Acid from the Leaves of *Eriobotrya japonica*. *Arch Pharm Res*, 22(2): 213-218.
- ❖ **Kammoun, M., Ben Ali, Y., Bezzine, S.(2015)** .Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Eriobotrya japonica* leaves extracts, *African health sciences*, 15(2) : 613–620.
- ❖ **Kelly, E.H., Anthony, R.T., Dennis J.B.(2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 572–584.
- ❖ **Khadhri, A.I., Mokni, E.R., et Smiti, S.I. (2012).** Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu. *Sci Nat* .39: 44-52.

Références bibliographiques

- ❖ **Khady, B., TINE.E.,DESTAIN.J .,CISSE.N.,THONART.P.(2010).** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *society and environment*.14 :1780-4507.

- ❖ **Koechlin-Ramonatxo,C.(2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *science directe*.20 : 165–177.

- ❖ **Laguerrel, M ., Lopez-Giraldo, L.J .,Lecomte , J .,Pina, M .,Villeneuve, P. (2007).** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *FONDAMENTAL*, 14 (5) :287-292.

- ❖ **Liang, N., and Kitts , D .(2014).** Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*,19: 19180-19208.

- ❖ **Liu, Y., Zhang, W., Xu, C., and Li, X.(2016) .**Biological Activities of Extracts from Loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.): A Review,*Int. J. Mol. Sci.* 17:2-15.

- ❖ **Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M., Tuñón ,J.M.(2002).** Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion hospitalaria*, 17 (6) : 271-278.

- ❖ **Mette ,M., B.(2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant :état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme* . 20:48–53.

- ❖ **Miller, N.J. and Rice-Evans, C.(1997).**factor influencing the antioxydants activity determinate by the ABTS radical cation essay *free radical boil.Med*,26:195-199.

- ❖ **Mokdad-Bzeouich,I., Kilani-Jaziri,S., Mustapha,N., Bedoui,A., Ghedira , K., and Chekir-Ghedira, L .(2015).** Evaluation of the antimutagenic,

Références bibliographiques

- antigenotoxic, and antioxidant activities of Eriobotrya japonica leaves. *Pharmaceutical Biology*, 53(12): 1786–1794.
- ❖ **Nicol, M., Maude, M. (2000).** Actualités Carotenoids and vitamin A. Latest data. Oléagineux, Corps Gras, *Lipides*, 7(3):266-70.
 - ❖ **Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. and Simons, A. (2009).** Eriobotrya japonica, *agroforestry Database*. 4: 1-5.
 - ❖ **Pietta, P.G. (2000).** Flavonoids as Antioxidant. *Journal of Natural Products*, 63(7):1035-1042.
 - ❖ **Pincemail, J., Goff, C. Charlier, C. Gillion, P. Cheramy-Bien, J.P. Van Honacker, E. (2009).** Evaluation biologique du stress oxydant (Application en routine clinique). *Nutrition et Endocrinologie*. 16-31.
 - ❖ **Podsdek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *science directe*. 40 :1-11.
 - ❖ **Shahi-Gharahlar, A., Reza, Y.A., and Khanali, M. (2009).** Mass and volume modeling of loquat (Eriobotrya japonica Lindl) fruit based on physical characteristics. *Journal of Fruit and Ornamental Plant*, 17(2) : 175-189.
 - ❖ **Sunil, P., Benkeblia, N., Janick, J., Caod, S., and MYahiae, E. (2013).** Postharvest physiology and technology of loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) fruit. *Molecule*. 6560-6568.
 - ❖ **Takuhiro, U., Ayana, S., Nguyen, H.T., Tsukasa, F., Kenji, K., Shigeru, O., Hiroko, K., Osamu, M. and Yukihiro, S. (2013).** Anti-proliferative Activities and apoptosis induction by triterpenes derived from Eriobotrya japonica in human leukemia cell lines. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 4106-4120.

Références bibliographiques

- ❖ **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi,J., Hilali, A.(2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *CODEN: JMESC*N , 6 (4) : 1111-1117.
- ❖ **Tiwari,A.K.(2001).**Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy.*Currentscience*,81(9):1179-1181
- ❖ **Tonelli ,N.et Gallouin ,F.(2013).**des fruits et des graines comestibles du monde entier .*lavaisier SAS* :728.
- ❖ **Vilanova, S., Badenes, M.I.J ., Martinez-Calvo,J., and Llacer,G. (2001).** Analysis of loquat germplasm (*Eriobotrya japonica* Lindl) by RAPD molecular markers.*Euphytica* .121 :25–29.
- ❖ **Vivas, N. (2000).** Propriétés et intérêts des tanins oenologiques extraits du raisin. *Centre d'Étude Structurale et d'Analyse des Molécules Organiques*.183 :15.
- ❖ **Yanping, H., Shunquan ,L.,Yueming, J., Ashraf, M.(2008),** Variation in Contents of Total Phenolics and Flavonoids and Antioxidant Activities in the Leaves of 11 *Eriobotrya* Species.*Plant Foods Hum Nutr* .63:200.
- ❖ **Zielinska, A.,Nowak, I., Mickiewicz, A.(2014).** Tocopherols and tocotrienols as vitamin E. *CHEMIK*, 68(7) : 585–591.
- ❖ **Zhao,L., Chen, J., Han, L., Xiancan, A., Bingru, R., and Li, W .(2015).** Anew sesquiterpene glycoside from the leaves of *eriobotrya japonica*;*Chemistry of Natural Compounds*,51(6) 241-262.

Références bibliographiques

- ❖ **Zhang, W., Zhao, X., Sun, C., Li, X. and Chen, K. (2015).** Phenolic Composition from Different Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Cultivars Grown in China and Their Antioxidant Properties. *Molecules* .20:542-555.

Annexes

Annexes N° 1: Courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

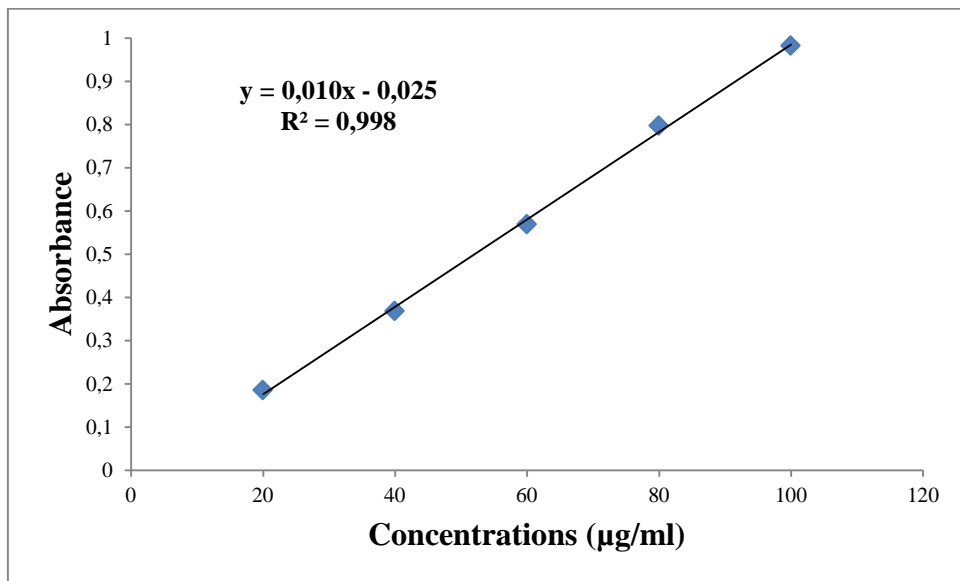


Figure 01 : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

($\lambda = 765\text{nm}$)

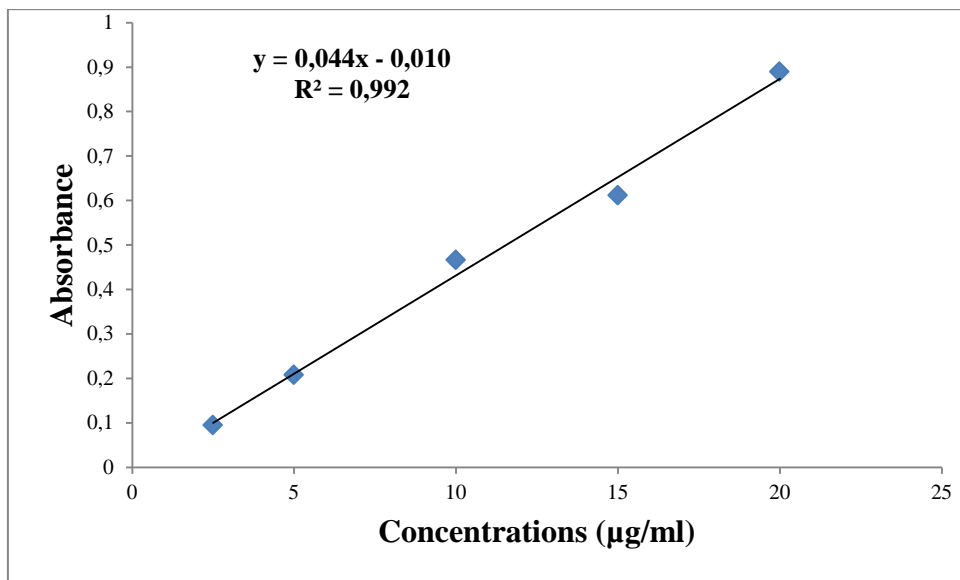


Figure 02 : Courbe d'étalonnage avec la quercitine pour le dosage des flavonoïdes

($\lambda = 430\text{ nm}$).

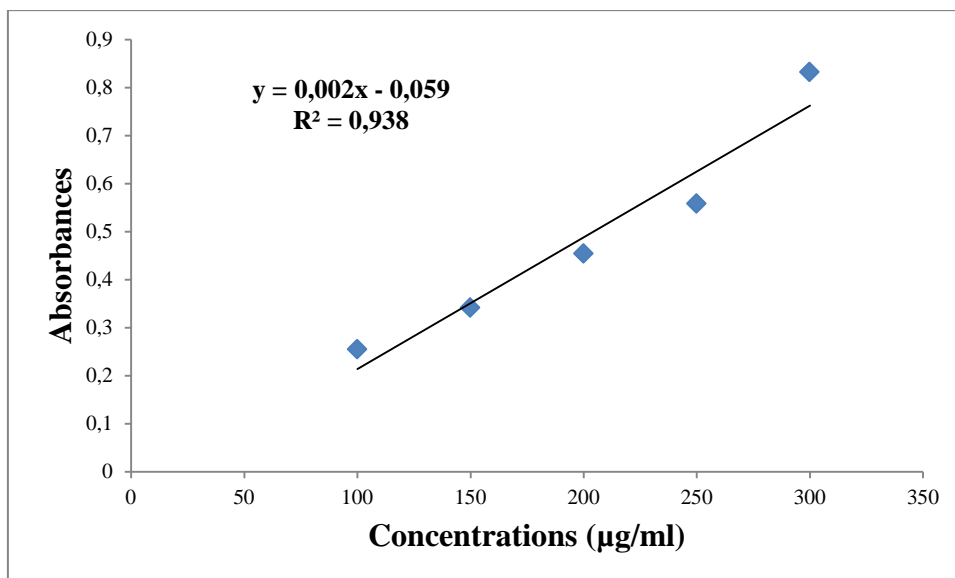


Figure 03 : Courbe d'étalonnage avec la catéchine pour les proanthocyanidines ($\lambda = 500 \text{ nm}$).

Annexes N°2: Courbes de calcul de l'IC50 dans l'activité scavenging du radical DPPH

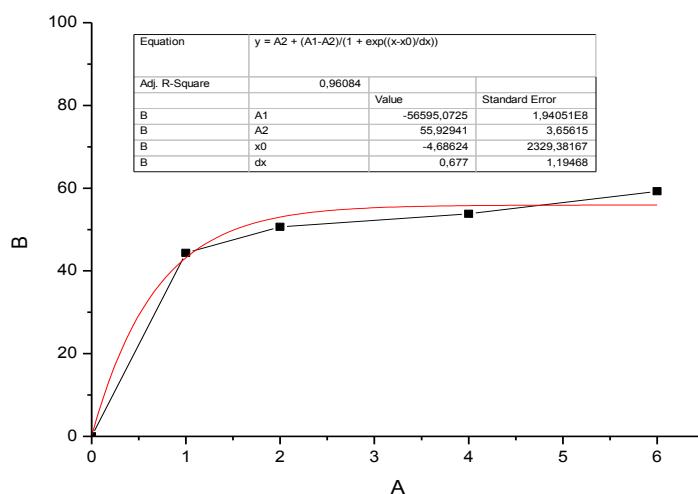


Figure 04: Courbe pour le calcul de l'IC50 de l'extrait aqueux du chloroforme.

Annexes N°3 : Courbes de calcul de l'IC50 dans l'activité scavenging du radical ABTS

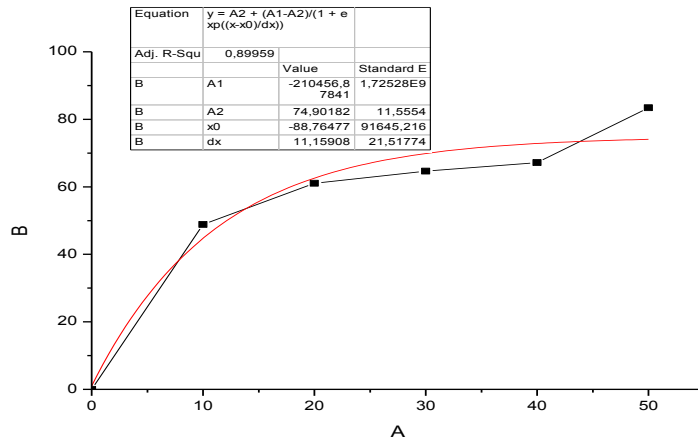


Figure 05 : courbe pour le calcul de l'IC50 de l'extrait ethanolique.

Annexes N°4 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH° et la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des extraits.

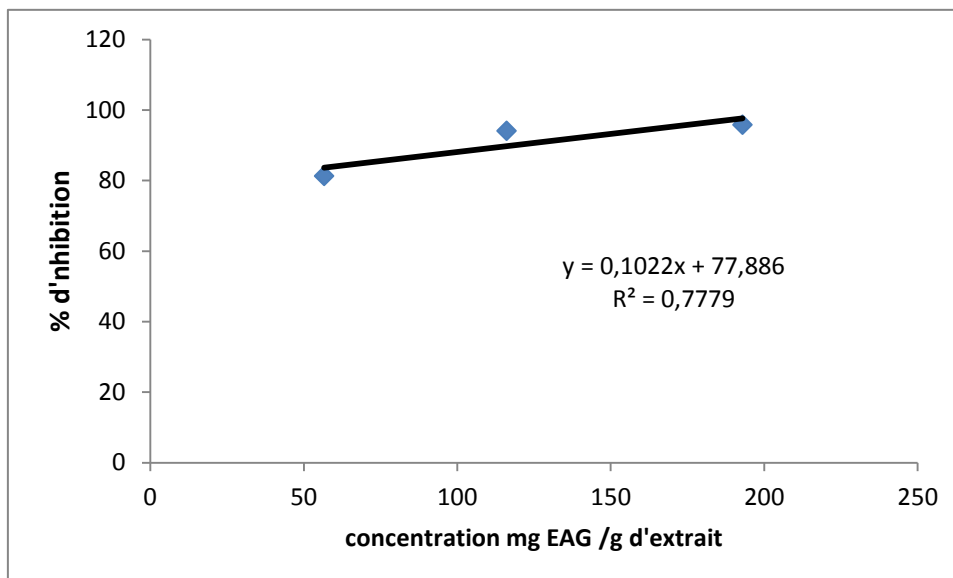


Figure 6: courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en phénols totaux.

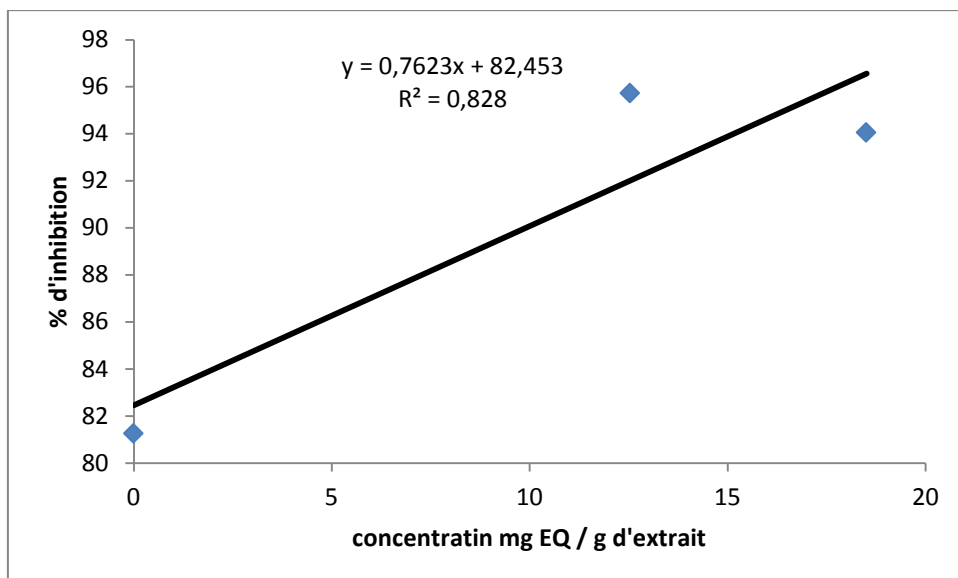


Figure7 : courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en flavonoïdes.

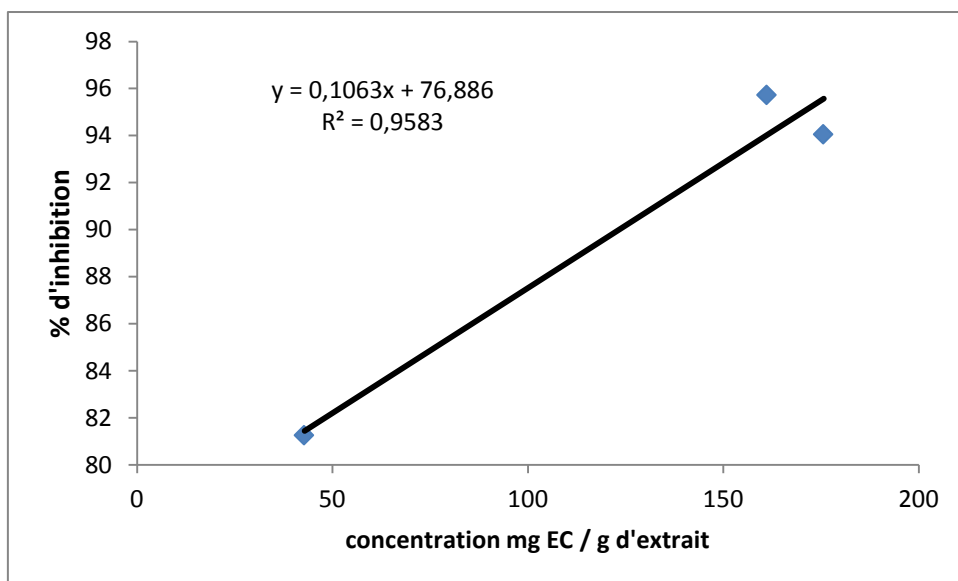


Figure 8: courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en tanins condensés.

Annexes N°5 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS° et la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des extraits.

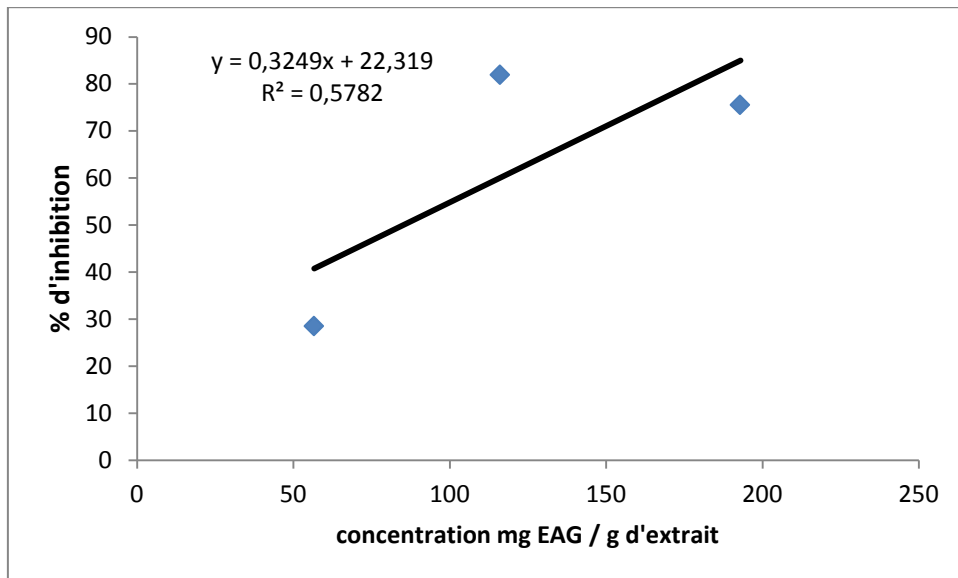


Figure9 : courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS° et la teneur en phénols totaux.

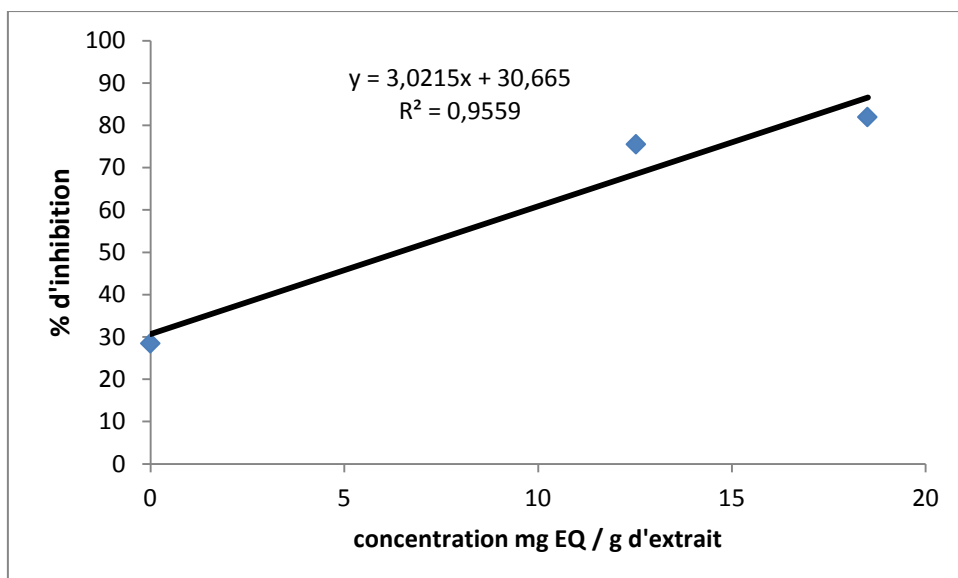


Figure 10: courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS° et la teneur en flavonoïdes

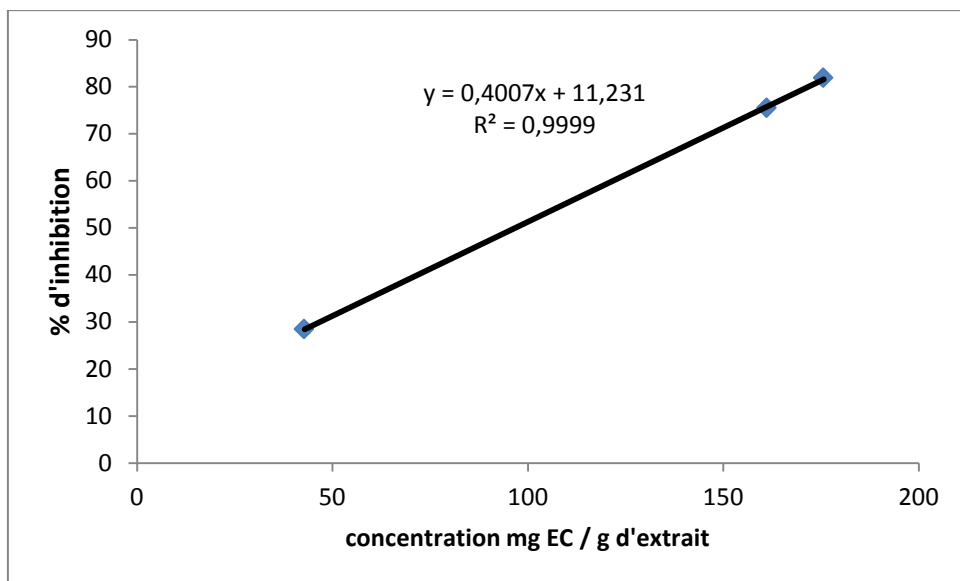


Figure11 : courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS° et la teneur en tanins condensés.

Annexes N°6 : : Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des extraits.

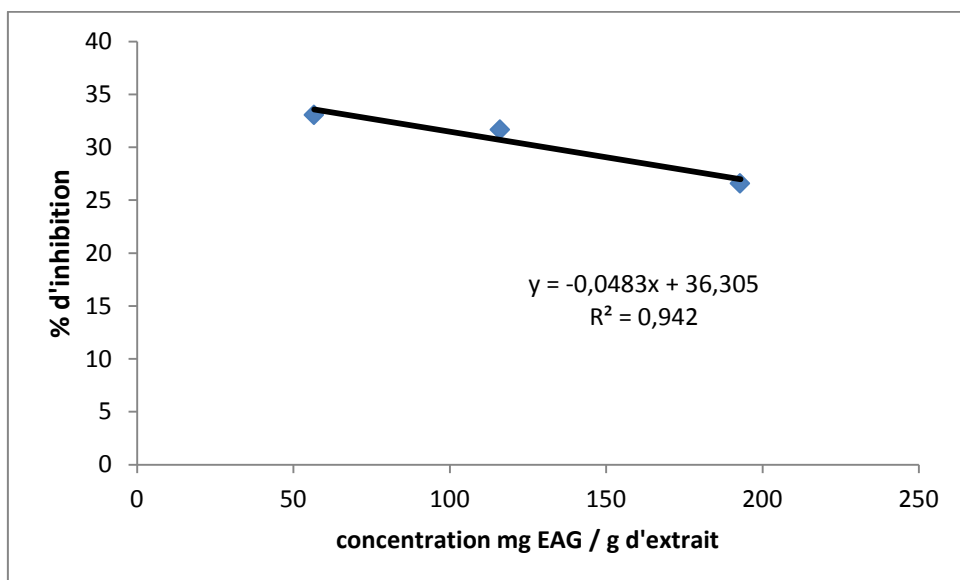


Figure12 : courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en phénols totaux.

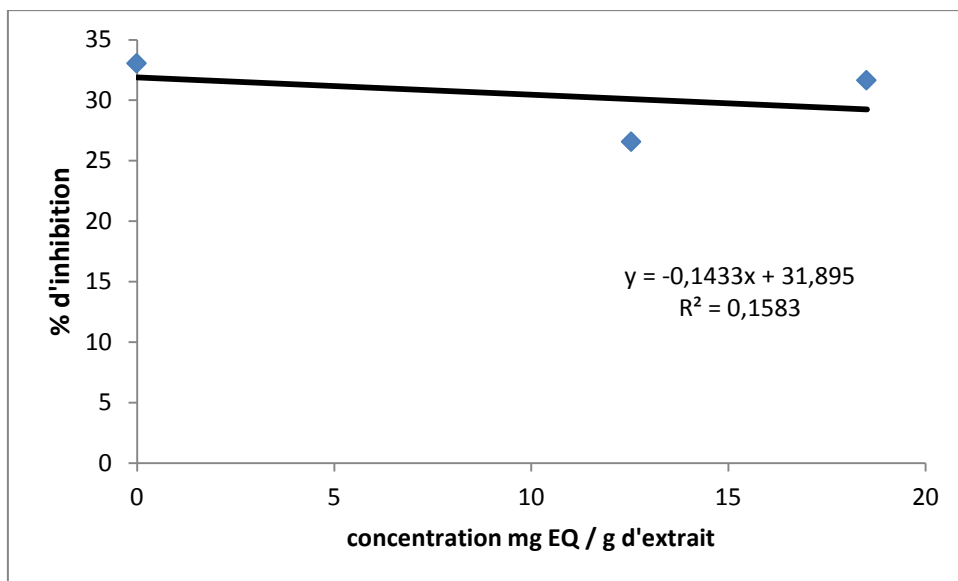


Figure13 : courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en flavonoïdes.

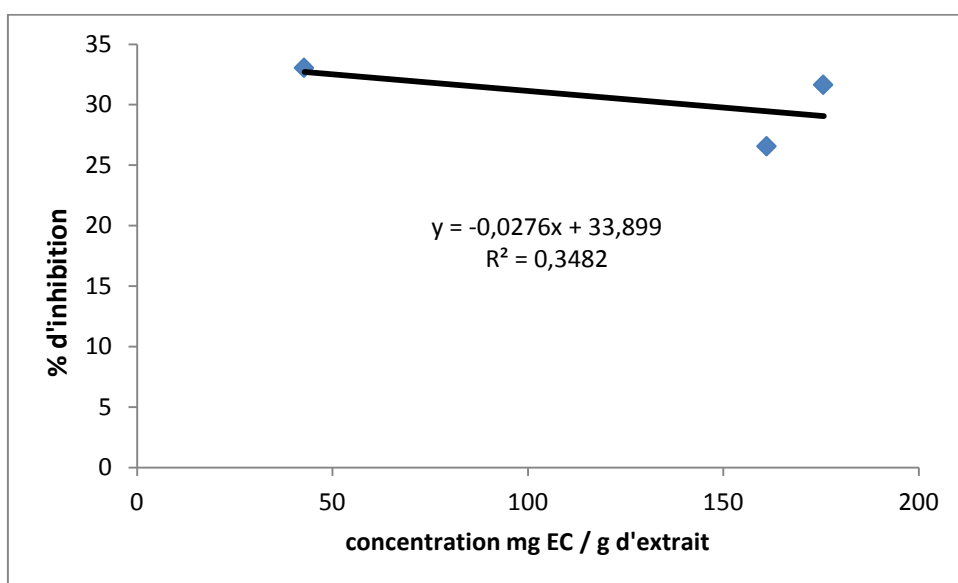


Figure14 : courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en tanins condensés.

Annexes N°7 : Courbe de corrélation entre la chélation de fer et la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des extraits.

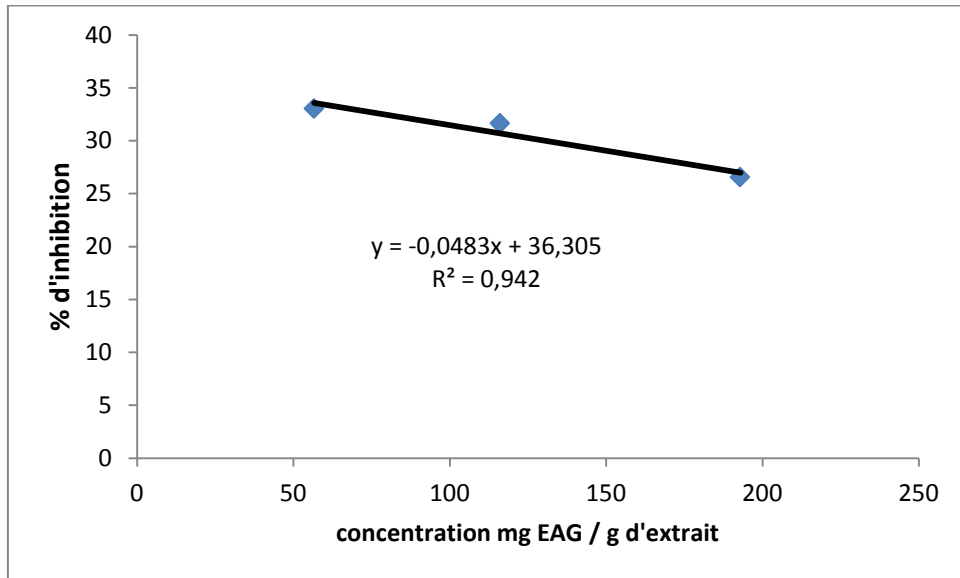


Figure15 : courbe de corrélation entre la chélation de fer et la teneur en phénols totaux.

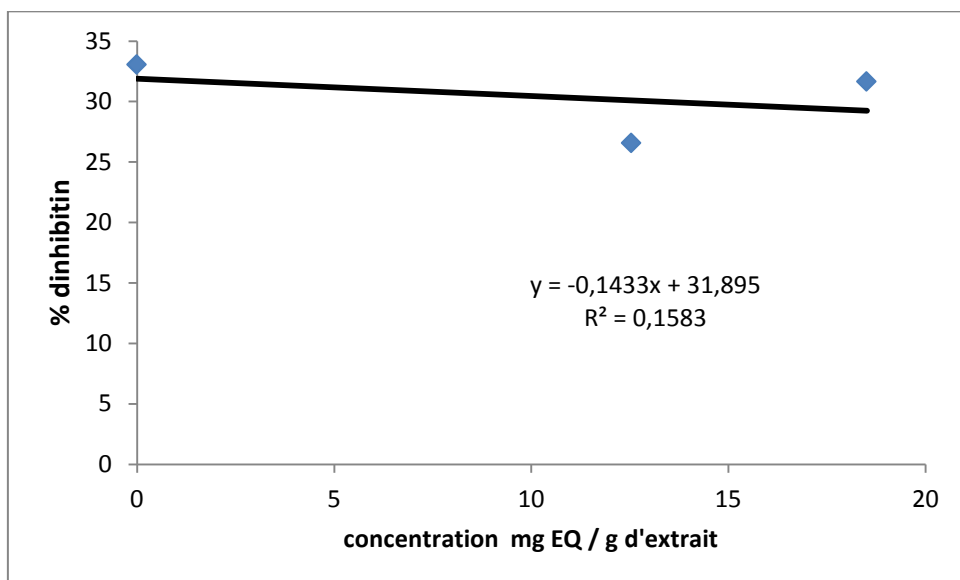


Figure16 : courbe de corrélation entre le chélation de fer et la teneur en flavonoïdes.

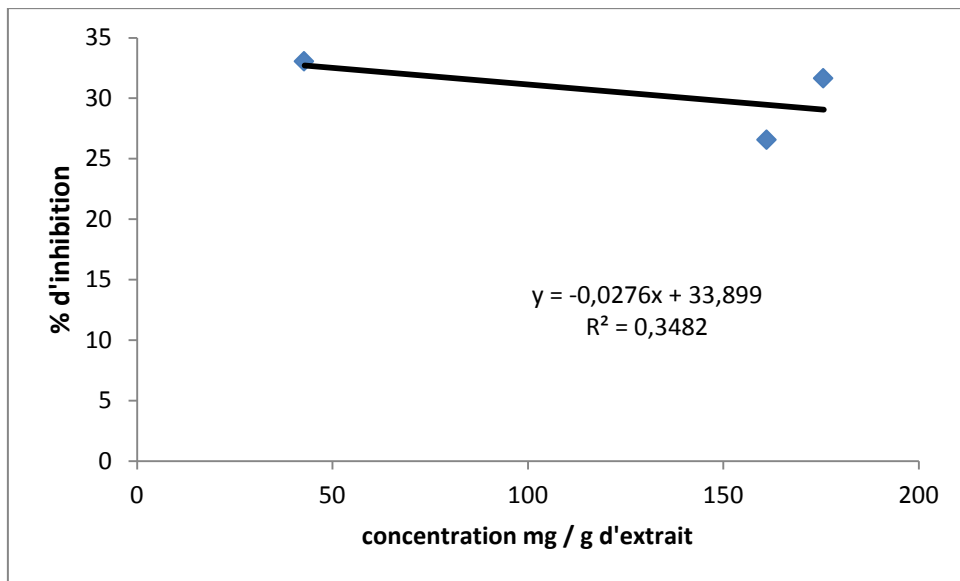


Figure17 : courbe de corrélation entre la chélation de fer et la teneur en tanins condensés

Résumé

Les antioxydants jouent un rôle fondamental dans l'élimination de l'excès toxique en espèces réactives de l'oxygène à l'origine de diverses maladies dégénératives. Ainsi, l'exploitation des molécules végétales naturelles serait très bénéfique pour la santé humaine. Par conséquent, on s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques extraits à partir d'une plante médicinale locale, *Eriobotrya japonica* L., cela en faisant deux types de manipulations, après, bien évidemment, avoir obtenu les différents extraits des feuilles de notre plante. D'abord, on a effectué le dosage des composés phénoliques (phénol totaux, flavonoïdes, et tanins condensés) pour pouvoir faire une appréciation qualitative et quantitative ; puis, on est passé à la mesure de l'activité antioxydant des extraits en réalisant quatre tests : l'activité scavenging des deux radicaux DPPH et ABTS, pouvoir réducteur et chélation de fer. Les résultats expérimentaux ont révélé que les extraits d'*Eriobotrya japonica* L. ont été riches en phénols totaux et ont montré des concentrations moyennes en flavonoïdes et des teneurs appréciables en tanins condensés. Quant aux activités antioxydantes de la plante, les extraits ont été de très bonne activité scavenging du radical DPPH et du radical ABTS. En revanche, le pouvoir réducteur et l'activité chélatrice du fer ont été modérés et faibles respectivement. Ces constatations nous laissent imaginer des études plus poussées sur des extraits d'une panoplie de plantes médicinales afin de bénéficier d'avantage.

Mots clés : *Eriobotrya japonica* L, antioxydants, radicaux libres, composé phénolique, DPPH.

Abstract

The Antioxidants play a basic role in the elimination of toxic reactive oxygen species excess. Thus, the exploitation of natural plant molecules will be very beneficial for the human health. Therefore, we were interested by the evaluation of the antioxidant activity of the Phenolic compounds extracted from our local medicinal plant, *Eriobotrya japonica* L., and that by doing two types of manipulation, of course, after getting the different plant leaves extracts. First, we quantified the phenolic compounds amounts (total phenolics, flavonoids, and condensed tannins), in order to make a qualitative and quantitative assessment. Then we realized the antioxidant activity assays such as: the DPPH and the ABTS radical scavenging activity, the reducing power and ion chelation. The experimental results revealed that *Eriobotrya japonica* L. extracts were rich in total phenolic, showed moderate levels of flavonoids and they exhibited significant levels of condensed tannins and they exhibited significant levels of flavonoids. As for the antioxidant activities of the plant, The extracts were very good scavenging of the DPPH radical and ABTS. However, the reducing power and chelating of ion were moderate and low respectively. These findings suggest we imagine further studies on extracts of a variety of medicinal plants in order to get advantage.

Key words: *Eriobotrya japonica* L, antioxidants, free radicals, phenolic compound, DPPH.

ملخص

مضادات الاكسدة تلعب دورا أساسيا في القضاء على أنواع رد الفعل الأكسجين السامة الزائدة المسؤولة عن

العديد من الأمراض التنكسية. وهكذا، فإن استخدام الجزيئات النباتية الطبيعية قد تكون مفيدة جدا لصحة الإنسان. لذلك، كان هناك اهتمام في تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمركبات الفينول المستخرج من العشب المحلي، اريو بوتري جا بونيكيا، وذلك طريق جعل نوعين من العمليات، بالطبع بعد الحصول على مستخلصات مختلفة من الجزء العلوي من النبات.

أولا، قمنا بتحديد المركبات الفينولية (الفينول الكلية، الفلافونويدا و التنيك المكثفة) من اجل إجراء تقييم النوعي والكمي. ثم انتقلنا لقياس

النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات وذلك عن طريق إجراء أربعة اختبارات. قوة الارجاع، خلب الحديد و الحد من النشاط الجذر DPPH و ABTS

أظهرت النتائج التجريبية ان مستخلصات اريو بوتريا جابونيكيا تحتوي على كمية معتبرة من الفينولات الإجمالية

و من ناحية اخرى DPPH والفلافونيدات، وتركيزات مرتفعة من التنيك المكثف. اما بالنسبة للأنشطة المضادة للأكسدة فهي جيدة للجذرين. كانت قوة الارجاع معتدلة. المستخلصات النباتية كانت جيدة و نشاط خلب الحديد كان جيدا. و هذه النتائج تسمح لنا بتصور المزيد من الدراسات على مستخلصات مجموعة من النباتات الطبية المتنوعة للاستفادة اكثر.

الكلمات المفتاحية : DPPH الجذور الحرة، المضاد للأكسدة. المركبات الفينولية. اريو بوتريا جابونيكيا.