

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Universités A. Mira – Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Spécialité Pharmacotoxicologie



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle en Vue de l'Obtention du Diplôme
MASTER
Thème

**Evaluation de la composition et de quelques activités
biologiques de l'extrait éthanolique brut des feuilles
d'*Eriobotrya japonica* et de ses fractions**

Présenté par :

HAMCHECHE Amel & IDRI Lydia

Soutenu le : **09 Juillet 2024**

Devant le jury composé de :

M^{me} AYOUNI. K	Présidente	MAA
M^{me} ADRAR. S	Encadrante	MAA
M^{me} BAKDI. H	Examinatrice	MAA

Année universitaire : 2023/ 2024



Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier dieu tout puissant et miséricordieux
qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste*

Travail et a permis que nous soyons ce que nous somme

Aujourd'hui.

*Nous adressons nos sincères remerciements à Madame Adrar Sabah, pour
avoir acceptée d'encadrer ce travail et pour ses conseils et ses*

Précieuses orientations, sa patience qu'il n'a cessé de nos

Apporter tout au long de ce travail.

*Nous tenons tout particulièrement à remercier vivement les membres de
jury d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail :*

Mme Ayouni. K et Mme Bakdi. H.

*Nous remercions chaleureusement toute l'équipe de laboratoire SNV
pour leurs disponibilités, et pour leur*

Gentillesse

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

Dédicaces 1

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes
les plus chères au monde*

À Mon père et ma mère : Mourad et Ouahiba

*Mes chers et tendres parents, Qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui m'ont éclairé le
chemin par leurs conseils judicieux, J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de
ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.*

À Mes frères : Mounir et Yanis

À Ma petite sœur Wissam

Je vous souhaite la réussite et tout le bonheur du monde, et que dieu les protège.

À Mes grands-parents : Nadia, Boukhalifa, Saadia et Malek

À Mes cousines et cousins.

À Mes chères tantes et oncles et leurs familles.

À Tous les membres de ma famille, petits et grands.

*À Mes très chères amies : Khalida, Louiza, Lydia, Roseline, Dilia, Thinkhinane, Massiva et
Chahinaze.*

*Un grand merci et une forte pensée a tous mes autres amis et collègues que je ne pourrais citer
en entier, merci pour Ces merveilleuses moments passés ensemble.*

À toi Lydia ma chère binôme, merci pour tous les moments qu'on a passés ensemble.

♥ Amel ♥

Dédicaces 2

J'offre ce modeste travail :

A mes chers parents,

Mais aucune dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect, car je ne pourrais jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lesquels ils m'ont toujours entouré depuis mon enfance.

A tous mes frères et sœurs

Je vous souhaite la réussite et tout le bonheur du monde, et que dieu les protège.

Je dédie aussi ce modeste travail :

A tous ceux que j'aime et à toutes les personnes qui m'ont prodigué des encouragements et se sont données la peine de me soutenir durant cette année de formation.

*A Mes très chères amies : **Thanina, Amel, rMassiva** et **Chahinaze**.*

Un grand merci et une forte pensée à tous mes autres amis et collègues que je ne pourrais citer en entier, merci pour Ces merveilleuses moments passés ensemble.

*A toi **Amel** ma chère binôme, merci pour tous les moments qu'on a passés ensemble.*

♥ *Lydia* ♥

Table de matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction :1

Partie théorique

Chapitre I : synthèse bibliographique

1. La constitution biochimique et activités biologique <i>d'Eriobotrya japonica</i>	2
1.1. Généralités sur <i>Eriobotrya japonica</i>	2
1.2. Description botanique.....	2
1.2.1. Caractéristiques des différentes parties de plante :	3
1.2.2. Classification botanique :	4
1.2.3. Noms vernaculaires :	4
1.3. Ecologie et distribution géographique :	4
1.4. Constitution biochimique :	5
1.5. Activités biologiques :	8
1.5.1. Activité anti-inflammatoire :	8
1.5.2. Activité anti-cancéreuse :	8
1.5.3. Activité anti-oxydante :	8
1.5.4. Activité-anti diabétique :	8
2. Description théorique des activités à tester	9
2.1. Activité antioxydante :	9
2.1.1. Les radicaux libres :	9
2.1.2. Stress oxydant :	10
2.1.3. Anti-oxydants :	10
2.2. Activité anti-inflammatoire :	13
2.2.1. Généralités sur l'inflammation :	13
2.2.2. Les anti-inflammatoires :	14

Partie expérimentale

Chapitre II. Matériels et méthodes

1. Matériel :	16
1.1. Préparation du matériel végétal :	16
2. Méthodes :	16

2.1. Extraction des composés phénoliques :	16
2.2. Dosage des composés phénoliques :	18
2.2.1 Dosage des phénols totaux	18
2.2.2 Dosage des flavonoïdes	19
2.2.3 Dosage des tanins	20
2.2.4 Screening phytochimique:	21
2.3 Test in vitro: activité anti-oxidant :	22
2.3.1 Activité scavenging de radical DPPH	22
2.3.2 Activité scavenging de radical ABTS	24
2.4 Etude de la toxicité in vitro : activité hémolytique	25
2.5 Test in vitro : activité anti-inflammatoire :	27
2.5.1 Activité anti hémolytique	27
2.6 Etude statistique	28

Chapitre III. Résultantes et discussions

3.1 Rendement d'extraction.....	29
3.2 Screening phyto-chimique.....	29
3.3 Dosage des composés phénoliques.....	30
3.3.1 Les phénols totaux.....	30
3.3.2 Les flavonoïdes	31
3.3.3 Les tanins condensés.....	32
3.4 Activité anti-oxydante.....	33
3.4.1 Activité scavenging du radical DPPH.	33
3.4.2 Activité scavenging du radical ABTS.+	34
3.5 Etude de la toxicité in vitro	35
3.6 Activité anti-inflammatoire in vitro.....	36
Conclusion et perspectives :	40

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Liste des abréviations

- AIS** : Anti- inflammatoire stéroïdien
- AINS** : Anti- inflammatoire non stéroïdien
- ABTS** : acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline) -6-sulfonique.
- AOC** : Antioxydant Capacity
- AlCl₃** : chlorure d'aluminium.
- BLSE** : Béta-lactamases à spectre élargi
- CA** : Acide Corosolique
- COX** : Cyclooxygénase
- DPPH** : 2,2 diphényl 1- picrylhydrazyle
- ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène
- EOA** : Espèce oxygénées activées
- EEFS**: ethanol extract of loquat fruit
- EAG** : équivalent acide gallique
- EQ** : équivalent quercétine
- EC** : équivalent catéchine
- FeCl₃** : Chlorure de Fer
- GSH** : Glutathione
- GRH** : Globules Rouge Humains
- H₃ PMO₁₂ O₄₀** : acide phosphomolybdique.
- H₃ PW₁₂ O₄₀** : acide phosphotungstique.
- HCL** : Acide Chlorhydrique
- iNOS** : Oxyde Nitrique Synthase inductible
- IL** : Interleukine
- LPS** : Lipopolysaccharides
- LTE** : Roasted Loquat Tea Extract
- LEJ** : Feuilles d'Eriobotrya japonica
- MA** : Acide Maslinique
- NF-kB** : Factur Nucléaire Kb
- NaCO₃** : Carbonate de Sodium
- NaOH** : Hydroxyle de Sodium
- NaCl** : Chlorure de Sodium

NO° : Oxyde Nitrique

OA : Acide Oléanolique

O2° : Anion Superoxyde

OH° : Radical hydroxyl

PGE2 : Prostaglandine E2

SOD : Superoxyde Dismutase

TA : Acide Tormentique

TNF-α : Facture Necrose Tumoral α

TAC : Capacité Antioxydant Totale

UA : Acide Ursolique

Liste des figures

Figure 1: les différentes parties d' <i>Eriobotrya japonica</i> ; A. Feuilles et inflorescences. B. Ecorce. C. Surface inférieure de la feuille. D. fruits murs	3
Figure 2: Distribution géographique d' <i>Eriobotrya japonica</i>	5
Figure 3: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	9
Figure 4: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	10
Figure 5: les différentes phases de l'inflammation aiguë	14
Figure 6: mécanisme d'action des anti-inflammatoires	15
Figure 7: photographie personnelle des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i> L (A), et de la poudre obtenue des feuilles (B).....	16
Figure 8: le protocole d'extraction des différentes phases	17
Figure 9: Protocole de dosage des polyphénols totaux	18
Figure 10: protocole de dosage des flavonoïdes	19
Figure 11: Protocole de dosage des tanins	20
Figure 12: Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH).....	23
Figure 13: Protocole de l'activité scavenging du radical DPPH.....	23
Figure 14: structure de 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS ^{•+}).....	24
Figure 15: Protocole de l'activité scavenging du radical-cation ABTS ^{•+}	25
Figure 16: protocole de test de toxicité d' <i>Eriobotrya japonica</i>	26
Figure 17: protocole de test d'activité anti-hémolytique	28
Figure 18: représentation graphique des taux en phénols totaux des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	31
Figure 19 : représentation graphique des concentrations en flavonoïdes des extraits de la plante..	32
Figure 20 : représentation graphique des teneurs en tanins condensés des extraits des feuilles.....	33
Figure 21 : les pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH• Des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i> et des standards (BHA et acide ascorbique).....	34
Figure 22 : les pourcentages de l'activité scavenging du radical ABTS ^{•+} des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i> et du standard (Trolox).....	35
Figure 23: les pourcentages de toxicité des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	36
Figure 24: les résultats de l'activité anti-hémolytique des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	37
Figure 25 : les courbes de corrélations	38

Liste des tableaux

Tableau I : principales caractéristiques de différentes parties d' <i>Eriobotrya japonica</i>	3
Tableau II : Classification taxonomique d' <i>Eriobotrya japonica</i>	4
Tableau III : Les principaux noms vernaculaires d' <i>Eriobotrya japonica</i>	4
Tableau IV : les différents composés bioactifs dans les feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	6
Tableau V : Les types des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques et leurs rôles.....	11
Tableau VI : structure des squelettes des polyphénols	12
Tableau VII: Les pourcentages d'extraction pour chaque extrait d' <i>Eriobotrya japonica</i> L.....	29
Tableau VIII: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i> L.....	30

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales, grâce à leurs pouvoirs curatifs, jouent un rôle important dans le maintien du bien-être humain à l'échelle mondiale (**Roland et Koffi, 2019**). Elles contiennent divers composants actifs qui trouvent leur utilité dans le traitement de plusieurs maladies (**Nesrine et al., 2022**).

Le néflier, *Eriobotrya japonica*, est un arbre fruitier, qui fait partie de la famille des *Rosacées*. Ses feuilles sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle (**Tanaka et al., 2008**). Elles sont riches en composés ayant diverses activités biologiques, telles que la propriété anti-inflammatoire, anti-virale, anti-oxydante, cytotoxique ainsi qu'anti-tumorale et hypoglycémiant (**Banno et al., 2005**).

Le stress oxydatif est l'incapacité de l'organisme à se protéger contre les espèces réactives de l'oxygène ; qui se produit lorsqu'il existe un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense anti-oxydante de l'organisme (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Ces derniers jouent un rôle crucial dans l'élimination de ces molécules très réactives, en agissant comme substrats sacrificiels pour l'oxydation (**Gonçalves et al., 2013**).

L'inflammation est un mécanisme de défense naturel et nécessaire lorsque le corps subit des blessures physiques, est exposé à des produits chimiques nocifs ou à des agents microbiens. Cette réponse sert à neutraliser ou à éradiquer les organismes envahisseurs, à éliminer les irritants et à préparer les tissus affectés à la guérison. Elle peut être aussi une origine de diverses maladies telle que l'arthrite rhumatoïde et la maladie de crohn (**Chandra, 2012**).

Notre étude est portée sur la recherche des constituants biochimiques en premier lieu, et sur l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire après vérification de la toxicité, des différents extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*. Pour cela on s'est fixé les objectifs suivants :

- Analyse quantitative et qualitative du contenu en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins des différents extraits d'*Eriobotrya japonica*.
- Evaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro* par deux tests, de l'activité scavenging des deux radicaux DPPH● et ABTS●+.
- Suivre de l'étude de la toxicité des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* par le test d'hémolyse.
- En dernier lieu, l'appréciation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* via la méthode de stabilisation de la membrane des érythrocytes humains des feuilles d'*Eriobotrya japonica* par test d'anti-hémolytique.

Partie théorique

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. La constitution biochimique et activités biologique d'*Eriobotrya japonica* :

1.1. Généralités sur *Eriobotrya japonica* :

Le néflier (*Eriobotrya japonica*) est un type de plante à fleurs de la famille des Maloidaceae (Rosaceae), qui comprend environ 940 espèces (Awad et Hameed, 2021). Il s'agit d'un grand arbuste ou petit arbre à feuilles persistantes cultivé commercialement pour ses fruits nutritifs (Joshi et al., 2017).

Elle représente également une importante plante médicinale ; ses différentes parties sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle chinoise pour le traitement de l'inflammation, du diabète, du cancer, de l'infection bactérienne, du vieillissement, de la douleur et de l'allergie (Wang, 2021).

1.2. Description botanique :

La nèfle se présente sous forme d'arbustes, généralement de 3 à 4 m de haut, ou de petits arbres à feuillage persistant, atteignant parfois 10 m de haut ; la densité des bourgeons varie selon les variétés. Elle se caractérise par un tronc extrêmement court et une couronne arrondie. Les feuilles sont disposées alternativement sur la tige, couvertes de poils sur le dessus et jaune-brun sur le dessous (Pawłowska et al., 2023 ; Sultan, 2017).

Durant l'automne, la plante subit le processus de floraison avec l'apparition des fleurs blanches à odeur d'amande amère. Son fruit atteint sa maturité complète à la fin du printemps et au début de l'été (mai-juin), prenant une forme de poire de 3 à 4 cm, pesant en moyenne 30 à 40 g et affichant des teintes vibrantes de jaune et d'orange. Il peut y avoir de 1 à 5 graines brun foncé.

Les feuilles sont pour la plupart verticillées, ovales-lancéolées à obovales-lancéolées, de 12 à 30 cm de long et 3 à 10 cm de large. Leurs surfaces supérieures sont vert foncé et brillantes, et leurs surfaces inférieures sont duveteuses de couleur blanche à rouille.

Les fleurs forment des grappes, allant de 30 à plus de 100, se trouvant au bout de panicules allongées qui s'étendent sur 10 à 20 cm de longueur. Chaque fleur individuelle, d'un diamètre de 1,25 à 2 cm, présente un délicat arrangement de 5 pétales d'un blanc immaculé (Figure 1)

(Crane et Caldeira, 2023 ; Henmi et al., 2019 ; Li, 2016 ; Pinkas et al., 1996).

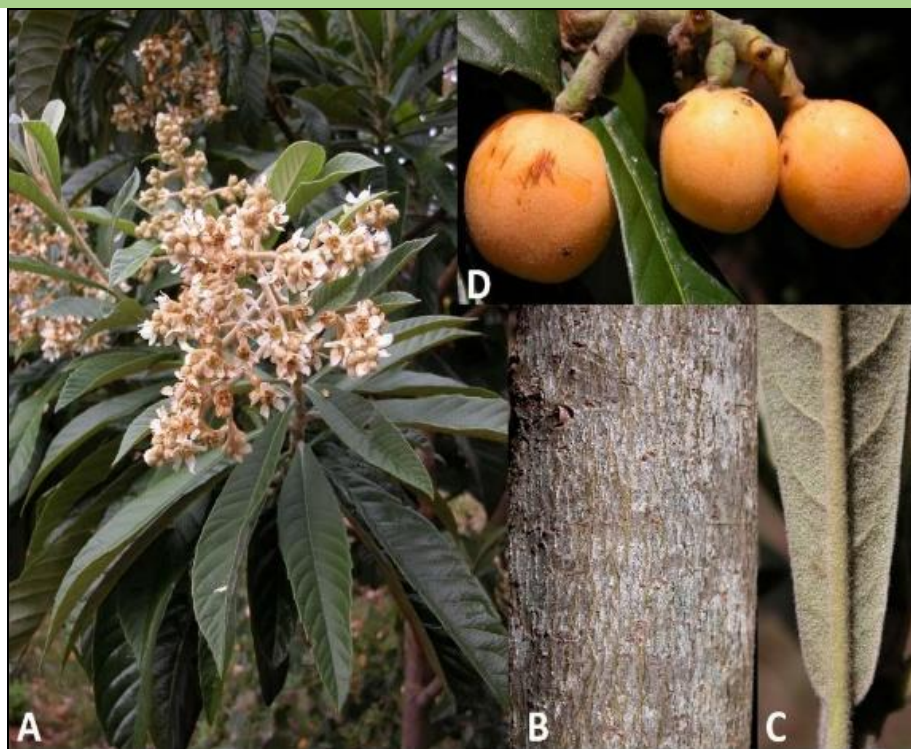


Figure 1 : les différentes parties d'*Eriobotrya japonica* ; **A.** Feuilles et inflorescences. **B.** Écorce. **C.** Surface inférieure de la feuille. **D.** Fruits mûrs (Serviss & Serviss, 2020).

1.2.1. Caractéristiques des différentes parties de plante :

Les caractéristiques principales des diverses parties de la plante sont exposées dans le tableau ci-dessous.

Tableau I : principales caractéristiques de différentes parties d'*Eriobotrya japonica*.

Organe	Caractéristiques	Références
Fruits	Gros, goût très sucré, arrondi ou piriforme, type pomeau, partie charnue composée d'un petit récipient floral, poids unitaire d'environ 10 à 80 g, peau à texture veloutée, couleur jaune-orange,	(Sabri & Zahra, 2019) ; (De Almeida Lopes et al., 2018)
Feuilles	Persistantes, étage supérieur est lisse et celui du bas est constitué de peluches, forme elliptique-lancéolée, texture rigide, bordure dentelée, coloration très accentuée en ton vert foncé sur la face supérieure et blanche ou rouille sur la face inférieure,	(Awad & Hameed, 2021) ; (De Almeida Lopes et al., 2018)
Fleurs	Blanches, légèrement parfumées, à cinq pétales, produites en grappes de trois à dix fleurs, avant ouverture ont une texture veloutée,	(De Almeida Lopes et al., 2018)
Grain	Situés au centre des fruits, de 3 à 5 par fruit, coloration brune,	(De Almeida Lopes et al., 2018)
Tronc	Extrêmement court avec une couronne arrondie	(Pawłowska et al., 2023)

1.2.2. Classification botanique :

Eriobotrya japonica Lindl appartient à la famille des Rosacées selon la classification résumée dans le tableau II.

Tableau II : Classification taxonomique d'*Eriobotrya japonica* (Ibrahim, 2021).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridaplantae
Division	Trachéophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rosales
Famille	Rosacées
Genre	Eriobotrya
Espèce	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.)

1.2.3. Noms vernaculaires :

Les noms communs de la nêfle dans diverses langues du monde sont souvent dérivés du nom chinois ou de l'ancien nom scientifique de la nêfle, *mispilus* ou néflier (Lin et al., 1998).

Tableau III : les principaux noms vernaculaires d'*Eriobotrya japonica* (Sultan, 2017).

Langue	Nom
Anglais	Loquat
Japonais	Biwa
Chinois	Luju, biba et pipa
Français	Bibassier ou néflier de japan
Espagnol	Nespereira, nispero de japan
Portugais	Ameixa do japao
Arabe	Zaroure

1.3. Ecologie et distribution géographique :

Eriobotrya japonica est une plante subtropicale qui nécessite un climat doux près de la mer avec des précipitations réparties uniformément tout au long de l'année, sans chaleur excessive, notamment pendant la maturation des fruits. Le cycle de développement des fleurs et des fruits

s'étend jusqu'en hiver (Sultan, 2017). Elle peut être greffé en fente, en placage et en fouet ou en puce, en patch ou en bouclier. Ils poussent bien dans plusieurs gammes de sols bien drainés, des sols limoneux fertiles aux sols argileux (Crane et Caldeira, 2023).

Les fruits du néflier du Japon sont répandus dans le monde entier, comme dans diverses régions du continent asiatique (Chine, Japon, Inde, Madagascar et Corée du Sud), méditerranéennes (Algérie, Espagne, France, Turquie, Grèce, Portugal et Italie) et à travers les Amériques (Lopes et al., 2018).

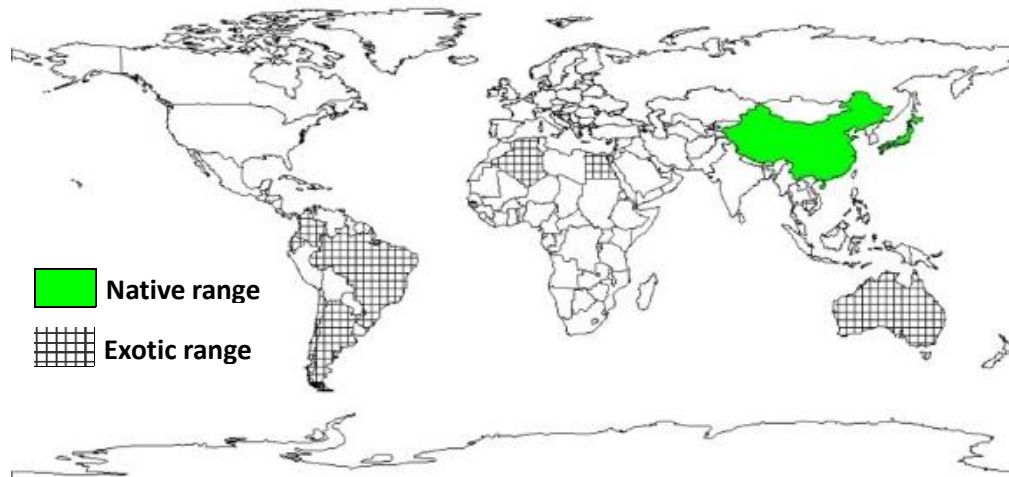


Figure 2 : Distribution géographique d'*Eriobotrya japonica* (Sultan, 2017).

1.4. Constitution biochimique :

Un large éventail de composés phyto-chimiques importants ont été détectés chez *Eriobotrya japonica*, comme les phénols, les alcaloïdes, les glycosides cardiaques, les flavonoïdes, le mucilage, les gommes et les phytostérols (Ibrahim, 2019).

➤ Fruits :

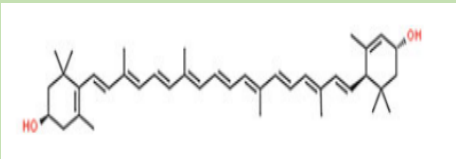
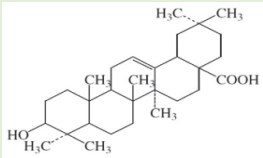
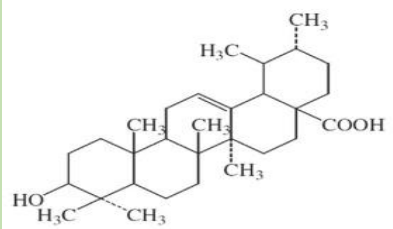
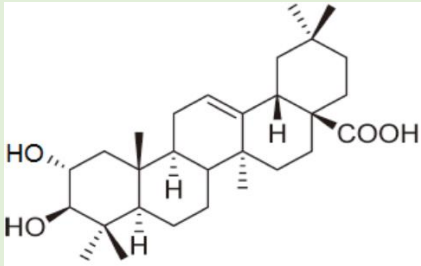
Selon Shahi et al., 2009, la nèfle contient :

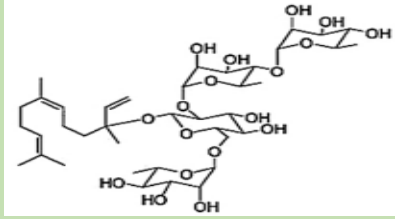
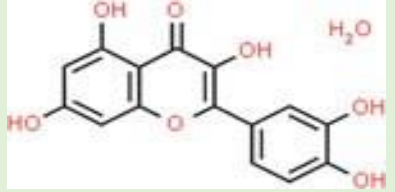
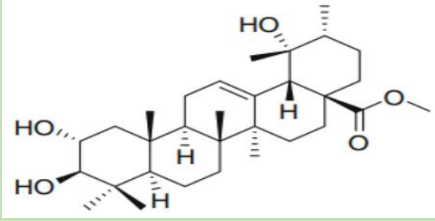
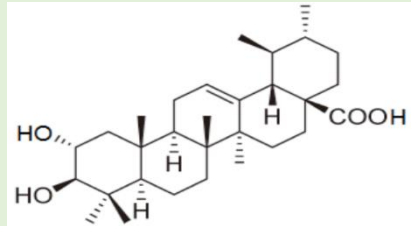
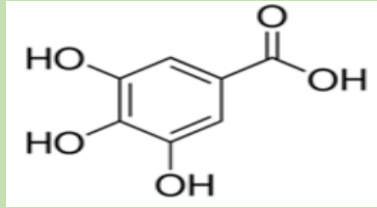
- Eau : 78,0 %
- Glucides : 10,6 %
- Fibres : 10,2 %
- Matières grasses : 0,5 %
- Protéines : 0,4 %
- Autres composants : 0,3 %.

➤ Feuilles :

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont riches en une variété de composés actifs, notamment, des acides phénoliques (l'acide p-coumarique, gallique, caféique et ellagique), et des flavonoïdes (la quercétine, l'épicatéchine et la catéchine). Rajoutant à cela des tanins, des sesquiterpènes, des triterpènes (l'acides oléanolique, ursolique, maslinique et corosolique) et des glycosides mégastigmanes (**Tableau IV**) (**Ibrahim, 2021**).

Tableau IV : les différents composés bioactifs dans les feuilles d'*Eriobotrya japonica*. (**Ibrahim, 2021 ; Sagar et al., 2020 ; Park et al., 2019 ; Jian et al., 2018 ; Tan et al., 2017 ; Li et al., 2016**).

Composés	Structure	Biodisponibilité (%)	Bioactivité
La lutéine		40	Antioxydants, renforceurs de l'immunité et anti-cancérigènes
Acide oléanolique (OA)		66	Hypoglycémique, anti-inflammatoire, Hépatoprotecteur, anti-oxydant
Acide ursolique (UA)		30	Hépatoprotecteur, antimicrobien, anti-inflammatoire, anti-cancérigène
Acide maslinique (MA)		–	Anti-oxydant ; Anti-inflammatoire ; anti-cancérigène

<p>Sesquiterpène Glycoside</p>		<p>70</p>	<p>Antidiabétique Antioxydant</p>
<p>Quercétine</p>		<p>33</p>	<p>Anti-cancéreux, antidiabétique, antitussif et expectorant, antimicrobien,</p>
<p>Acide tormentique (TA)</p>		<p>–</p>	<p>Normo glycémique, antiathérogène, hypoglycémique, anti-cancéreux et anti-inflammatoire</p>
<p>Acide corosolique (CA)</p>		<p>–</p>	<p>Antidiabétique, inhibiteur de la synthèse de la mélanine avec moins de cytotoxicité, antitussif</p>
<p>Acide gallique</p>		<p>–</p>	<p>Antioxydant, hépatoprotecteur, antibactérien, Anti-inflammatoire,</p>

➤ Grains :

Diverses recherches montrent que les graines de la nêfle contiennent plusieurs composés bénéfiques qui présentent de nombreux avantages pour la santé. Ils sont riches en amidon, acides gras insaturés (acides linoléique et linolénique), tanins, minéraux, protéines, β -sitostérol et en polyphénols. Parmi ces derniers figurent l'acide chlorogénique, l'acide p-coumarique, l'acide trans-cinnamique, le kaempférol, la rutine, la naringine et l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque. Comme les

graines d'abricots et de pêches de la même famille (Rosacées), l'amygdaline est également le principal constituant des graines de la nêfle (**Dhiman et al., 2022**).

1.5. Activités biologiques :

Eriobotrya japonica est une plante possède de nombreux effets biologiques, à savoir, des effets antioxydants, antiviraux, anti-cancéreux, hypoglycémiant, anti-inflammatoires, cytotoxiques, antimutagènes et hypolipidémies (**Ibrahim, 2021**).

1.5.1. Activité anti-inflammatoire :

Selon **Lee et al., 2008**, l'extrait d'*Eriobotrya japonica* peut réduire la production d'IL-8 induite par les lipopolysaccharides (LPS), l'expression de l'ARNm de l'oxyde nitrique synthase (iNOS) inductible et l'activation du facteur nucléaire (NF-κB). **Huang et al., 2007**, ont démontré que le blocage de l'activité de ce dernier entraînait une régulation négative du TNF-α, d'IL-1, de la prostaglandine E2 (PGE2) et l'expression du leucotriène (LTB4).

1.5.2. Activité anti-cancéreuse :

Des recherches scientifiques modernes ont exhibé au niveau protéique et génétique que les extraits du néflier peuvent inhiber la carcinogénèse cellulaire à différents stades de progression, notamment l'initiation, la prolifération et les métastases du cancer (**Liu et al., 2016**).

1.5.3. Activité anti-oxydante :

Shahat et al., 2018, ont rapporté que de nombreuses herbes sont d'excellentes sources en composés phénoliques ayant des fonctions antioxydantes, et ont en outre montré que les feuilles du néflier ont des effets anti-oxydants et peuvent inhiber les radicaux libres.

Dans le présent travail, Maher et ses collaborateurs, ont déterminé la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes ainsi que leurs propriétés antioxydantes dans des extraits et des fractions des feuilles d'*Eriobotrya Japonica* ; où les mesures DPPH de la fraction riche en flavonoïdes ont également montré des propriétés antioxydantes élevées (**Maher et al., 2015**).

1.5.4. Activité-anti diabétique :

Des recherches récentes suggèrent que l'extrait des feuilles ou des graines du néflier pourrait être utile pour prévenir et contrôler le diabète de type 1 et de type 2 (**Liu et al., 2016**). Aussi, **Shafi et Tabassum en 2018** ont découvert que l'extrait éthanolique du fruit, la nêfle du Japon a démontré un effet antidiabétique positif chez les rats diabétiques.

2. Description théorique des activités à tester

2.1. Activité antioxydante :

2.1.1. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des molécules qui réagissant avec l'oxygène, également connu sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui déclenchent ensuite une réaction en chaîne menant à la génération d'autres radicaux libres, entraînant un stress oxydatif (**Subalakshmi et Priya, 2021**). En effet, toute réaction impliquant de l' O_2 et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO, mais sa puissance reste controversée (**Barouki, 2006**). Les ERO peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

Il est courant d'appeler l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs sous le terme espèces réactives de l'oxygène. Ces radicaux sont issus de l'oxygène par des réductions à un électron comme l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, le radical hydroxyle OH^{\cdot} et le monoxyde d'azote NO^{\cdot} (**HAMMA et al., 2015**).

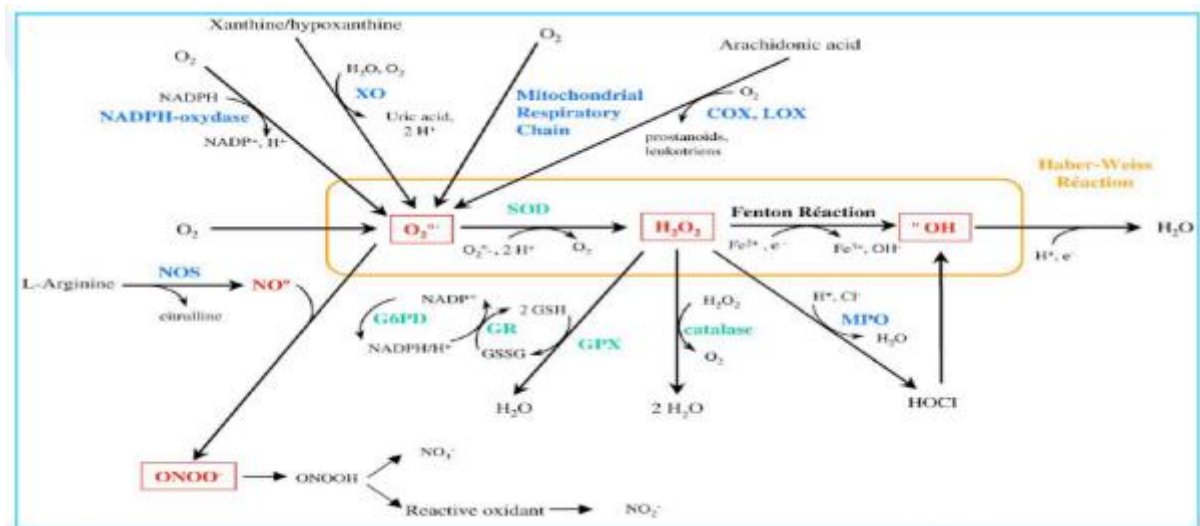


Figure 3 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (**HAMMA et al., 2015**).

Par ailleurs, il serait erroné de ne prendre en compte que la toxicité des ERO, car ils ont un impact physiologique majeure, en particulier dans les cascades de signalisation cellulaire (**Barouki, 2006**). En effet, les ERO produites en permanence dans l'organisme sont cruciales pour maintenir l'homéostasie cellulaire et contrôler la production des ERO (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

2.1.2. Stress oxydant :

le stress oxydant est largement reconnu comme l'incapacité de l'organisme à se protéger contre l'agression des ERO (**Defraigne et Pincemail, 2008**) ; en raison d'un déséquilibre lié à une production accrue de ces dernières, ce qui engendre plusieurs facteurs, où à une réduction de la capacité de défense anti-oxydante, qui survient lors de diverses pathologies (**Ighodaro et Akinloye,**

2018). Les macro-biomolécules essentielles telles que les acides nucléiques, les protéines, les glucides et les lipides sont fortement affectées par un excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense (Subalakshmi et Priya, 2021). Le niveau de radicaux présents est parfaitement adapté aux systèmes de défense qui peuvent gérer une telle production physiologique (Favier, 2006).

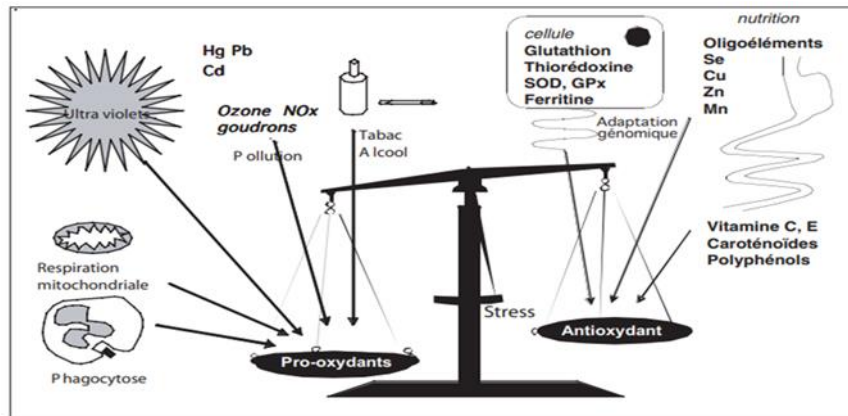


Figure 4 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et anti-oxydants (Favier, 2006).

- **Les conséquences du stress oxydant :**

Le stress oxydant peut cibler différents constituants dans l'organisme y compris, les macro-biomolécules vitales comme les lipides, les protéines et l'ADN (Annick, 2018), En outre, il accroît la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, déclenche l'apoptose et désorganise la membrane entraînant des lyses immédiates (Favier, 2006).

Le stress oxydant représente l'un des facteurs précurseurs de multiples maladies comme le diabète, l'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires ; et aussi, il constitue la cause initiale essentielle du : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, œdème pulmonaire et vieillissement accéléré (Favier, 2006).

2.1.3. Anti-oxydants :

- **Définition :**

L'accumulation des ERO dans les cellules peut être neutralisée par la production des molécules de défense anti-oxydante (Barouki, 2006). Ces dernières, qu'elles soient naturelles ou synthétiques, ont la capacité d'interagir avec les radicaux libres et mettre fin à leurs réactions en chaîne avant que les molécules vitales essentielles ne soient endommagées (Subalakshmi et Priya, 2021). Les anti-oxydants exercent leur action en dismutant les ERO, en les piégeant pour former des composés stable et en chélatant les métaux de transition libres ou en générant du glutathion (GSH) (Annick, 2018).

- Différent types d'anti-oxydants :

Les anti-oxydants peuvent être classés selon la base de la ligne de défense, en anti-oxydants de la première ligne de défense (enzymatiques) et anti-oxydants de la deuxième ligne de défense (non enzymatiques) (Ighodaro et Akinloye, 2018).

Tableau V : Les types des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques et leurs rôles.

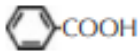
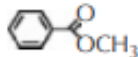
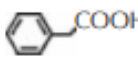
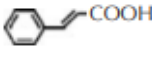

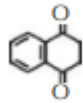
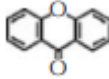
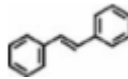
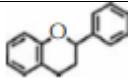
Types	Classes	Rôles	Références
Anti-oxydants enzymatiques	Superoxyde Dismutase (SOD)	Dismutation de deux molécules d'O ₂ ^{•-} en (H ₂ O ₂) et (O ₂). $2 O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O$	(Parihar et al., 2008)
	Glutathions Peroxydases	Dégradation des peroxydes d'hydrogène (H ₂ O ₂) en eau (H ₂ O). $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$	(Socrier, 2017)
	Catalase	Dismutation du (H ₂ O ₂) en (H ₂ O) et en (O ₂). $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ $LOOH + 2GSH \rightarrow LOH + GSSG$	(Parihar et al., 2008 ; Socrier, 2017)
Anti-oxydants non enzymatiques	Vitamine C	Le cofacteur de plusieurs enzymes et joue le rôle d'agent réducteur	(Koechlin-Ramonatxo, 2006)
	Vitamine E (α -tocophérol)	Diminution de la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire, elle agit en neutralisant les radicaux libres	(Defraigne et Pincemail, 2008)
	Les caroténoïdes (provitamine A)	Fixation des radicaux peroxydes ROO [•] et neutralisation de l'oxygène singlet	(Maudet et Nicol, 2000)
	Oligoéléments	Sélénium : cofacteur de la glutathion peroxydase. Cuivre et Zinc : cofacteurs de la SOD	(Defraigne et Pincemail, 2008 ; Haleng et al., 2007)

- ❖ Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui sont des dérivés des voies du pentose phosphate, du shikimate et du phénylpropanoïde chez les plantes. Ils sont essentiels à la physiologie des plantes, en raison de leur implication dans diverses fonctions importantes (croissance, structure, défense, pigmentation, lignifications, etc.) (Kumar et al., 2014). Ils sont

divisés en plusieurs classes (**Tableau VI**), en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et les fonctions chimiques liées à ces cycles (**Vit et al., 2013**).

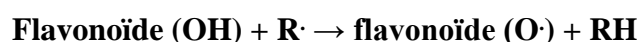
Tableau VI : structure des squelettes des polyphénols (**Crozier et al., 2006**).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	Acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinamique	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculetine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiferine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

- **Mécanismes de l'activité anti-oxydante :**

- ✓ **Piégeage des radicaux libres :**

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité anti-oxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles (OH·), anions superoxydes (O₂⁻) et radicaux peroxylipidiques selon la réaction suivante (**Ghedira, 2005**) :



- ✓ **Chélation des métaux :**

Les polyphénols inhibent la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe²⁺) et le cuivre (Cu⁺), qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. A leurs états libres, ce sont des activateurs potentiels de la formation d'ERO,

comme en témoigne la réduction du peroxyde d'hydrogène avec génération du radical hydroxyle, très agressif (Pietta, 2000).



La chélation des ions métalliques par les flavonoïdes nécessite trois sites principaux : noyau catéchol sur le cycle B, les groupements 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C et le groupement 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Heim *et al.*, 2002).

✓ **Inhibition enzymatique :**

Les flavonoïdes inhibent les enzymes responsables de la production d'anions superoxydes, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la glutathion S-transférase et la NADH oxydase qui sont toutes impliquées dans la génération d'ERO (Pietta, 2000).

2.2. Activité anti-inflammatoire :

2.2.1. Généralités sur l'inflammation :

L'inflammation est la réponse d'un tissu vasculaire vivant à une infection pathogène ou à une attaque traumatique. Les objectifs de l'inflammation sont d'éliminer les agents pathogènes et de réparer les lésions tissulaires. Parfois, l'inflammation peut être nocive car les agents pathogènes persistent sur le site de l'inflammation en raison d'une dérégulation du processus inflammatoire (Trabsa, 2018). On peut distinguer deux types d'inflammation :

- **Inflammation aiguë :**

L'organisme utilise l'inflammation aiguë comme mécanisme de défense contre différents types d'agression, comme les infections ou les brûlures, tout en facilitant la réparation des tissus. Ce processus se caractérise par son apparition rapide, se produisant généralement en quelques heures à quelques jours, et par sa nature dynamique, car il peut être inversé et résolu spontanément. Au sens traditionnel, il est caractérisé par quatre termes latins - calor (chaleur), dolor (douleur), rubor (rougeur) et tumor (gonflement) - qui englobent leurs principaux symptômes : rougeur, gonflement, fièvre, douleur et perte de fonction (Cadi *et al.*, 2012 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

Le processus d'inflammation aiguë se déroule en trois étapes distinctes : une phase vasculaire initiale, une phase cellulaire ultérieure marquée par l'activation de diverses cellules immunitaires et enfin, une phase de résolution (Weill et Batteux, 2003).

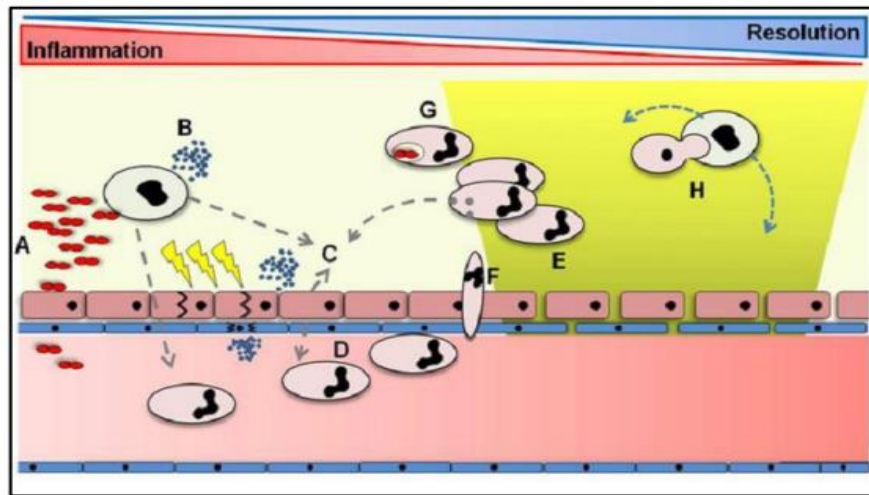


Figure 5 : les différentes phases de l'inflammation aiguë (Trabsa, 2018).

- **Inflammation chronique :**

L'inflammation chronique est le résultat d'une inflammation aiguë mal résolue, qui à son tour est provoquée par l'infiltration de lymphocytes, monocytes, macrophages et plasmocytes dans les tissus. Ces populations cellulaires produisent des cytokines pro-inflammatoires ainsi que des ERO, une concoction qui peut conduire à la cicatrisation des tissus affectés jusqu'au développement de la fibrose. La nature implacable des réponses inflammatoires chroniques signifie que, dans de nombreux cas, elles peuvent persister pendant un certain temps (un mois, une année) (Palavra et al., 2015 ; Begon-Pescia, 2020 ; Serhan et al., 2010).

2.2.2. Les anti-inflammatoires :

La thérapeutique anti-inflammatoire est utilisée pour réguler la réponse trop agressive des tissus et pour éviter la progression de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Dvorakova et Landa, 2017).

- **Les anti-inflammatoires stéroïdiens :**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes, appartiennent à une grande famille de médicaments dérivés du cortisol, une hormone synthétisée par les glandes surrénales (Baud et Gressens, 2009). L'action de l'AIS consiste à réprimer l'expression des gènes pro-inflammatoires tout en induisant l'expression des gènes anti-inflammatoires. Ceci est réalisé grâce à divers mécanismes tels que l'inhibition de la production des prostaglandines et des leucotriènes en bloquant la phospholipase A2, en réduisant la perméabilité capillaire et la phagocytose, ainsi qu'en bloquant la libération de sérotonine, d'histamine et de bradykinine. Les effets immunosuppresseurs de ces médicaments peuvent être mieux compris en raison de leur impact sur la production de

cytokines (y compris les interleukines, interféron γ et TNF α), qui jouent un rôle essentiel dans l'immunité cellulaire et humorale (Ferdjioui, 2020).

- **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :**

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées au monde pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques (Nicolas *et al.*, 2001). En fait, tous les AINS agissent en bloquant les deux formes de cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2), réduisant ainsi la production de prostaglandine E2 et de thromboxane A2 (RISSER *et al.*, 2009).

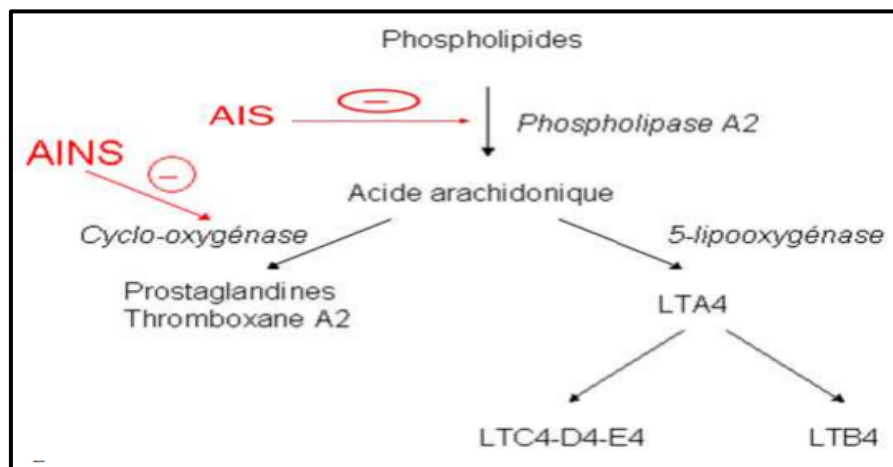


Figure 6 : mécanisme d'action des anti-inflammatoire (Annick, 2018).

Partie
expérimentale

Chapitre II

Matériels

et

Méthodes

La partie pratique est réalisée au niveau du laboratoire de biologie physico-chimique de l'université de Bejaia, dans le but d'étudier l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire en relation avec la constitution biochimique des différents extraits des feuilles du néflier, *Eriobotrya japonica*, qui appartient à la famille des rosacées.

1. Matériel :

1.1. Préparation du matériel végétal :

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* ont été récoltées en février, 2024, dans la wilaya de Bejaïa, dans un endroit loin de toute source de pollution. Après la cueillette, les feuilles ont été nettoyées par l'eau courante pour éliminer toute poussière ou particule ; puis séchées pendant un mois à l'abri de l'humidité et du soleil et à température ambiante. Ensuite, à l'aide d'un broyeur électrique les feuilles sont écrasées puis tamisées, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine d'un diamètre inférieur à 125 μm (**figure 7**). Enfin, la poudre obtenue a été stockée dans des flacons étiquetés, à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.



Figure 7 : photographie originale des feuilles d'*Eriobotrya japonica* L (A), et de la poudre obtenue (B).

2. Méthodes :

2.1. Extraction des composés phénoliques :

L'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a été réalisée par macération dans l'éthanol 96% ; ensuite, par fractionnement dans l'eau et le chloroforme à température ambiante conformément à la méthode décrite par (Mbatchou et al., 2010), avec quelques modifications (**Figure 8**). Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques ; il s'agit d'une

extraction sélective dont l'objectif est de préparer un extrait éthanolique brut et deux fractions, l'une aqueuse et l'autre organique, afin de pouvoir analyser l'activité de tous les composés phyto-chimiques d'une part, et des composés polaires et apolaires séparés, d'autre part.

- **Mode opératoire :**

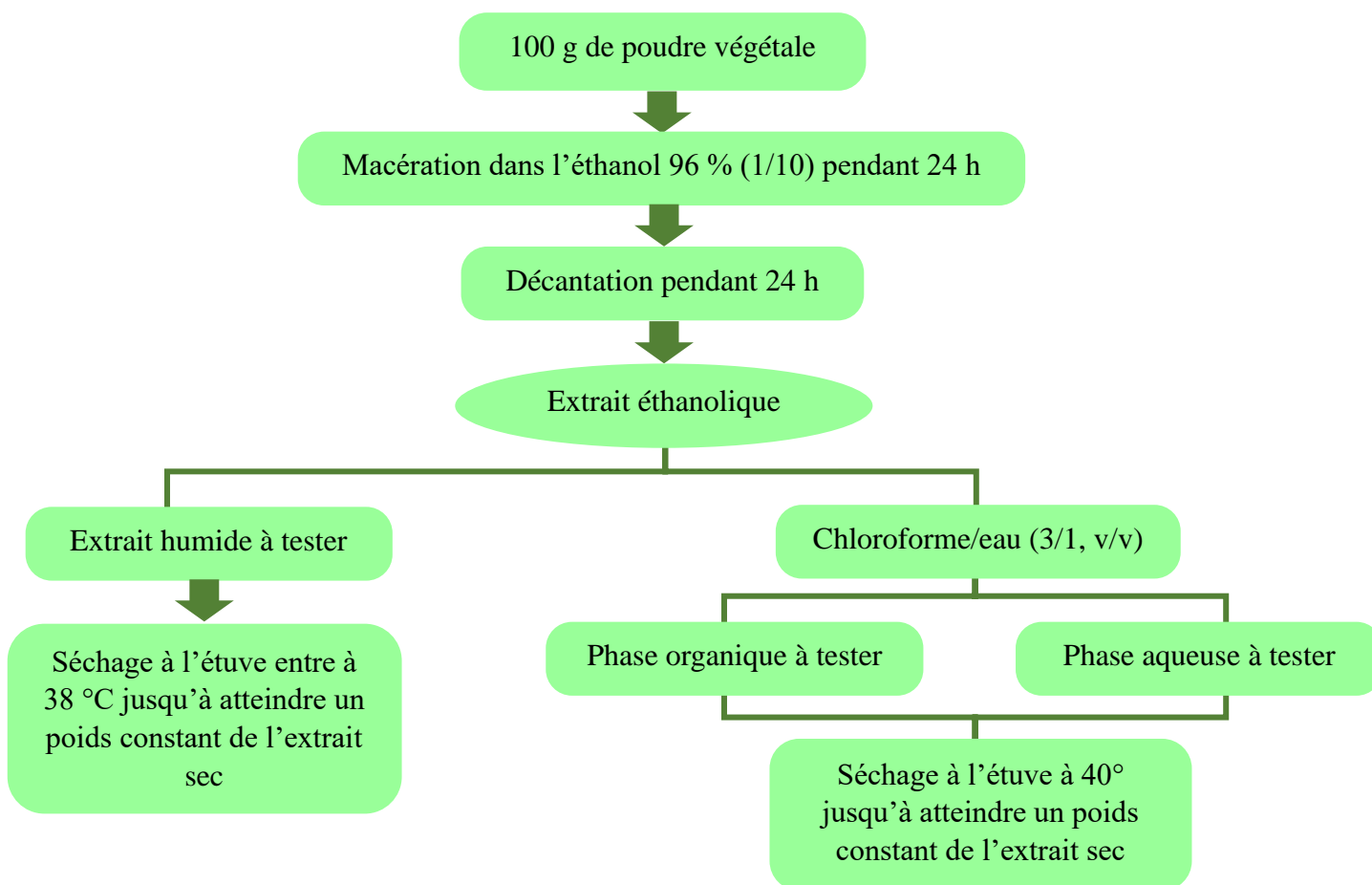


Figure 8 : le protocole d'extraction des différentes phases (Mbatchou *et al.*, 2010).

- **Calcul du rendement :**

Après l'extraction, on obtient trois extraits qui sont mis à l'étuve afin d'évaporer le solvant jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le rendement d'extraction de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d' extraction} = [(P - P_0)/\text{Poids de la poudre}] \times 100$$

Où : P_0 : poids vide du creuset. ;

P : poids après évaporation du solvant.

2.2. Dosage des composés phénoliques :

Afin d'évaluer qualitativement et quantitativement le contenu en composés phénoliques des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, trois protocoles ont été suivis pour doser les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés. Ce dosage a été réalisé sur les extraits éthanoliques, organique et aqueux ; sachant qu'à chaque dosage l'extrait a été reconstitué dans du méthanol, et des blancs ont été préparés.

2.2.1. Dosage des phénols totaux :

- **Principe :**

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) du réactif du Folin-Ciocalteu par les composés phénoliques. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (Dif et al., 2015).

- **Mode opératoire :**

Le protocole établi par Yap et al., 2009, pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la figure n° 9.

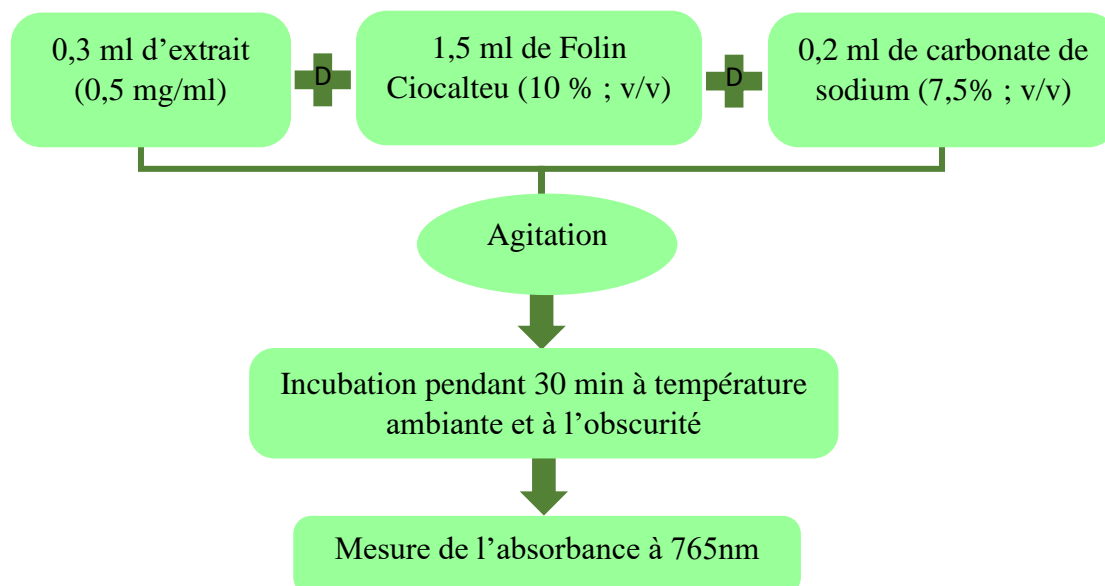


Figure 9 : Protocole de dosage des phénols totaux (Yap et al., 2009).

NB : un blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol (blanc général).

- **Expression des résultats :**

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard (**Annexes 01**) pour déterminer les concentrations en phénols totaux des extraits exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

2.2.2. Dosage des flavonoïdes :

- **Principe :**

La quantification du contenu en flavonoïdes des feuilles de la plante est estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Cette méthode se base sur le principe suivant : les groupements hydroxyles des flavonoïdes fixent l'aluminium, et il y a formation d'un complexe jaunâtre qui absorbe à 430 nm (**Ribéreau, 1968**).

- **Mode opératoire :**

Le protocole de dosage des flavonoïdes est schématisé dans la figure n°10 :

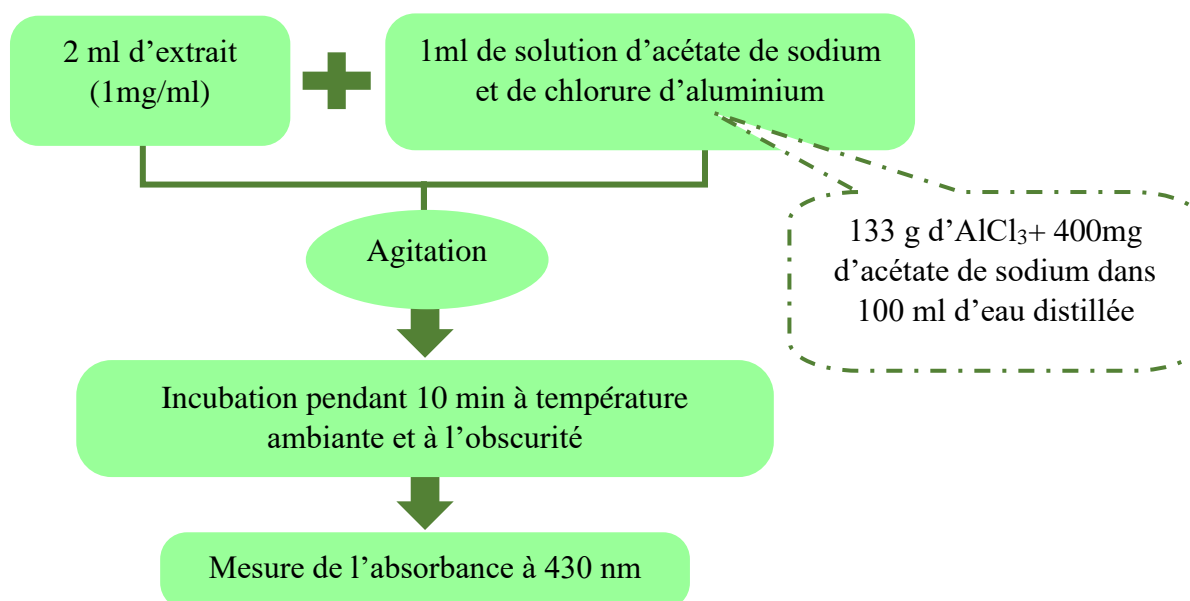


Figure 10 : protocole de dosage des flavonoïdes (**Abdou et al., 2010**).

NB : Un blanc a été préparé pour chaque extrait en mélangeant 2 ml de solution d'extrait avec 1ml d'eau distillée.

- **Expression des résultats :**

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations (**Annexes 1**). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme de poids sec d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

2.2.3. Dosage des tanins :

- **Principe :**

Cette méthode de détermination du taux en tanins condensés est basée sur la condensation des composés proanthocyanidines avec la vanilline en milieu acide, qui donnera un composé rouge (**Dif et al., 2015**).

- **Mode opératoire :**

Le protocole que nous avons suivi pour le dosage des tanins condensés contenus dans nos extraits est celui décrit par **Oyedemi et Afolayan, 2011**, avec quelques modifications. Cette méthode est schématisée dans la figure 11.

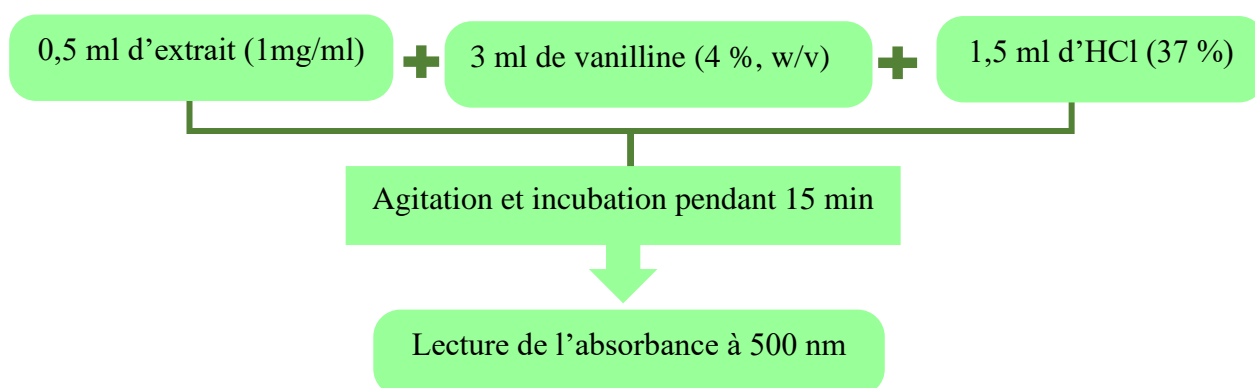


Figure 11: Protocole de dosage des tanins (**Oyedemi & Afolayan, 2011**).

NB : Un blanc d'extrait a été préparé avec : 0.5 ml de solution d'extrait + 3 ml de méthanol et 1.5 ml d'HCl.

- **Expression des résultats :**

La concentration des tanins condensés présents dans chaque extrait a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage, établie dans les mêmes conditions avec la catéchine (**Annexes 2**) et est exprimée en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g d'extrait).

2.2.4. Screening phyto-chimique :

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation (Lebri *et al.*, 2015).

- **Terpénoïdes :**

5 ml d'extrait ont été ajoutés à 2 ml de chloroforme ; et 3 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés pour développer la couleur. L'exposition d'une coloration brune rougeâtre à l'interface confirme la présence de terpénoïdes (Shabbir *et al.*, 2013).

- **Glycosides cardiaques :**

5 ml de chacun des extraits ont été ajoutés à 2 ml d'acide acétique glacial et une goutte de $FeCl_3$ et 1 ml de l'acide chlorhydrique, et le développement d'un anneau brun à l'interface permet de détecter la présence de glycosides cardiaques (Shabbir *et al.*, 2013).

- **Alcaloïdes :**

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Dragendoeff. On prend 1ml de chaque extrait plus quelques gouttes du réactif de Dragendoeff. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes (EL-Haoud *et al.*, 2018).

- **Saponines :**

10 ml d'extrait ont été préparés avec de l'eau distillée ; puis agitation pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde et laisser reposer pendant 15 min et mesure de la hauteur de la mousse produite dans chaque tube (Nisar *et al.*, 2011).

- **Flavonoïdes :**

Il consiste à traiter 1ml de chaque extrait avec quelques gouttes de NaOH (pure) et aussi d'HCL (pure). L'apparition d'une solution jaune qui devient incolore indique la présence de flavonoïdes (Dharmalingam et Nazni, 2013).

- **Tanins**

1 ml d'extrait à analyser a été ajouté à 0,5 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 1 %. La présence de tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (Mahesh et Niharika, 2017).

- **Anthocyanines :**

1 ml de chaque extrait a été ajouté à 1 ml d'alcool chlorhydrique et 1ml d'alcool iso-amylque ; puis l'ensemble a été chauffé pendant 15 min dans un bain marie bouillant. l'apparition d'une couleur marron révèle la présence d'anthocyanines (**Harborne, 1998**).

- **Mucilages :**

1 ml de chacun des extraits a été ajouté à 5 ml d'éthanol. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages (**EL-Haoud et al., 2018**).

- **Acides aminés :**

1ml d'extrait est mis dans 10 % de Ninhydrine. La présence d'acides aminés se manifeste par l'apparition d'une coloration violette (**Ashika et al., 2018**).

- **Protéines :**

Quelques gouttes de Folin- Ciocalteu ont été ajoutées à 1ml de chaque extrait. L'expression d'une couleur verte indique la présence de protéines (**Ashika et al., 2018**).

2.3. Tests de l'activité antioxydante *in vitro* :

Dans notre étude la capacité anti-oxydante des trois extraits a été déterminée *in vitro* par deux méthodes chimiques : la méthode utilisant le radical 2,2-diphenyle-1- picrylhydrazyle (DPPH•) et la méthode du radical-cation (ABTS•⁺).

2.3.1. Activité scavenging du radical DPPH :

Le DPPH• est un radical présent sous sa forme monomérique à l'état solide ainsi qu'en solution, qui porte une couleur violette foncée. Il est disponible dans le commerce et n'a pas besoin d'être généré avant le test comme ABTS•⁺. Ce protocole est basé sur la mesure de la capacité de réduction des anti-oxydants envers le DPPH• (**Prior et al., 2005 ; Munteanu et Apetrei, 2021**).

- **Principe :**

La délocalisation de l'électron donne également naissance à la couleur violette profonde, caractérisée par une bande d'absorption dans une solution d'éthanol centrée à environ 517 nm. Lorsqu'une solution de DPPH• est mélangée à celle d'un substrat (AH) pouvant donner

un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite avec le virage de la couleur violette au jaune (Alam *et al.*, 2013).

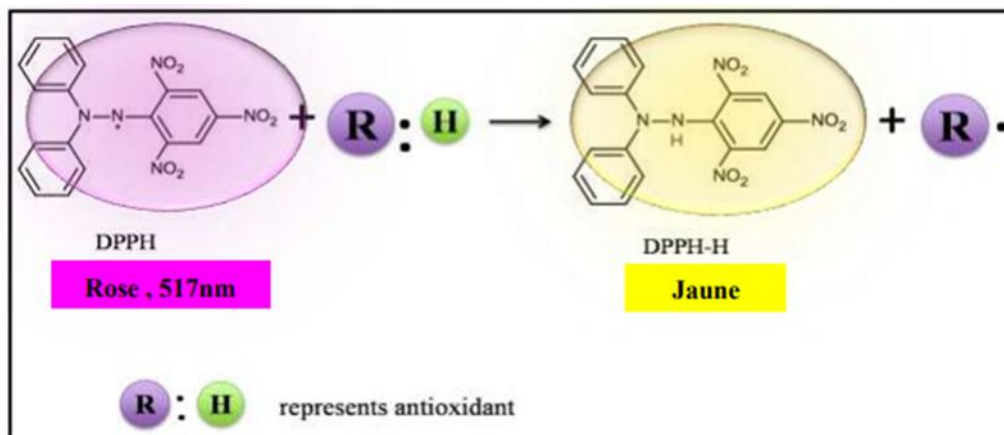


Figure 12 : Mécanisme réactionnel du test du DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un anti-oxydant (RH) (Goudjil, 2016).

- **Mode opératoire :**

L'effet scavenging des extraits d'*Eriobotrya japonica* vis à vis du radical DPPH• a été mesuré selon le protocole de Hemalatha *et al.*, 2010), représenté dans la figure 14 .

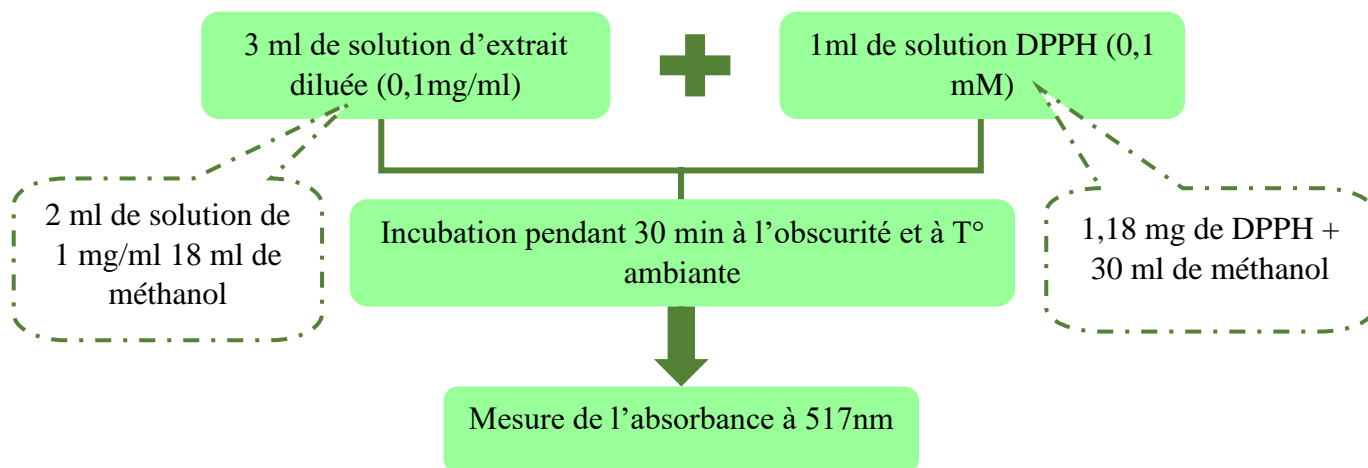


Figure 13 : Protocole de l'activité scavenging du radical DPPH• (Hemalatha *et al.*, 2010).

NB : des blancs ont été préparés comme suit :

Blanc général (contrôle) : 3 ml de méthanol + 1 ml de solution de DPPH.

Blanc d'extrait : 3 ml de solution d'extrait + 1 ml de méthanol.

- **Expression des résultats :**

A la fin de la durée d'incubation, l'absorbance à 517 nm est lue et le pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH• a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de l'activité scavenging du radical DPPH} = [(Ac - (At - Ae) / Ac) \times 100$$

Où :

Ac : Absorbance du contrôle (solution de DPPH + méthanol).

At : Absorbance du test (solution de DPPH + solution d'extrait).

Ae : Absorbance de l'extrait (solution de l'extrait + méthanol).

2.3.2. Activité scavenging du radical ABTS^{•+} :

Le test ABTS a été développé pour la première fois par Miller et son équipe, 1993, comme méthode simple et pratique utilisée pour mesurer la capacité anti-oxydante totale (TAC) (Munteanu et Apetrei, 2021).

- **Principe :**

Dans ce test, l'ABTS est oxydé par des radicaux pyroxyles ou d'autres oxydants en son cation radicalaire, ABTS^{•+}, qui est intensément coloré, et l'AOC est mesurée comme la capacité des composés testés à diminuer la couleur en réagissant directement avec le radical ABTS^{•+}. Les résultats des composés analysés sont exprimés par rapport au Trolox (Prior et al., 2005).

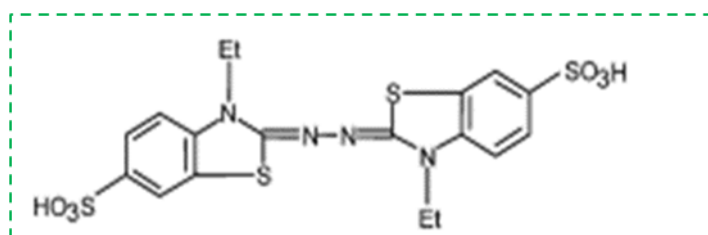


Figure 14 : structure de 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+}) (Prior et al., 2005).

- **Mode opératoire :**

L'activité scavenging du radical-cation ABTS^{•+} de notre extrait a été déterminée selon le protocole de (Le et al., 2007), ayant subi quelques modifications ; les étapes de cette méthode sont représentées dans la figure n° 15.

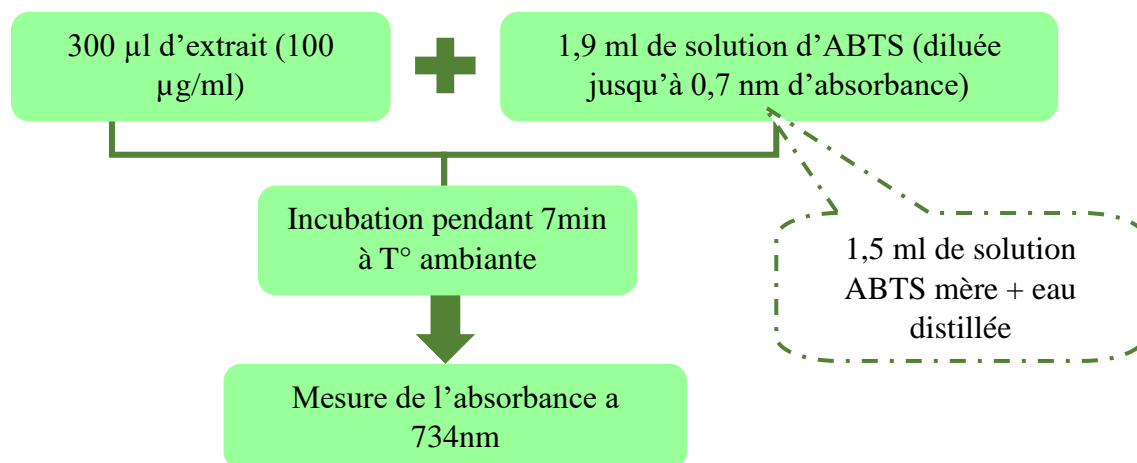


Figure 15 : Protocole de l'activité scavenging du radical-cation $ABTS^{\bullet+}$ (Le et al., 2007).

NB :

Un blanc général (contrôle) : 300 µl de méthanol + 1,9 ml de solution ABTS.

Standard : 300 µl de solution trolox (préparée dans le méthanol) + 1,9 ml de solution ABTS.

- **Expression des résultats :**

L'activité anti-oxydante des trois extraits a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{\bullet+}$ selon la formule suivante :

$$(\%) \text{ d'inhibition du radical-cation } ABTS^{\bullet+} = [(AC - AE / AC) \times 100$$

Où :

AC : absorbance du contrôle.

AE : absorbance du test.

2.4. Etude de la toxicité *in vitro* « activité hémolytique » :

- **Principe :**

Le principe consiste à mettre en suspension des globules rouges humains (GRh) dans une solution isotonique. La fuite d'hémoglobine, qui reflète l'éclatement des globules rouges, est ensuite mesurée. La couleur rouge du sang dans le surnageant reflète la toxicité de l'extrait. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir hémolytique de l'extrait testé (Bulmus, 2003).

- **Mode opératoire :**

Le protocole d'évaluation de cette activité et celui décrit par (Phuse & Khan, 2018) avec quelques modifications, schématisé dans la figure n°16.

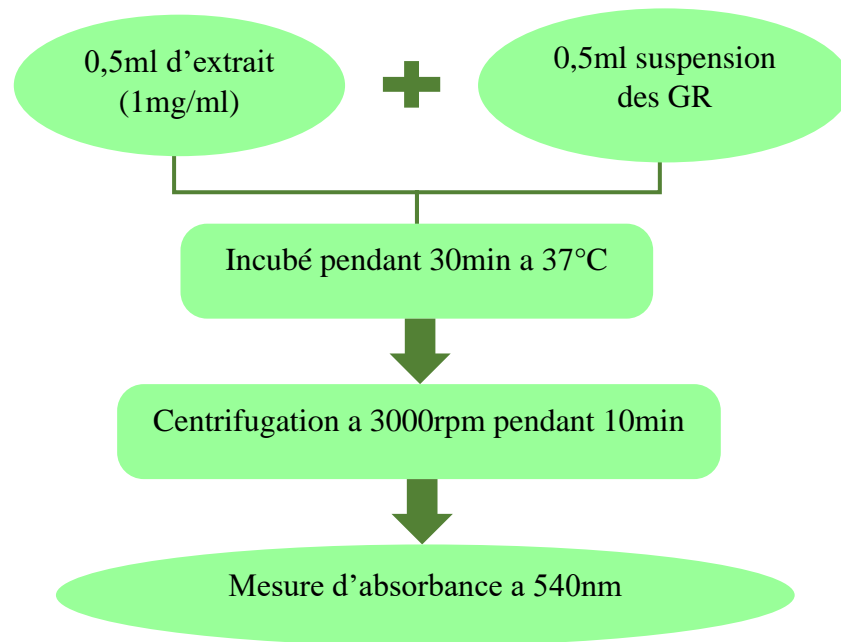


Figure 16 : protocole de test de toxicité d'*Eriobotrya japonica* (Phuse et Khan, 2018).

NB :

Contrôle positif : 0,5 ml d'eau distillé + 0,5 ml de suspension de GR.

Contrôle négatif : 0,5 ml de tampon phosphate salin, pH = 7,2 ; + 0,5 ml de suspension de GR.

Blanc d'extrait : 0,5 ml de solution NaCl (0,9%) + 0,5 ml de solution d'extrait.

Standard : 0,5 ml de standard (diclofénac et acide gallique, à 1mg/ml) + 0,5 ml de suspension de GR.

- ✓ La solution d'extrait est préparée dans un tampon phosphate salin, PH = 7,2 (avec du DMSO, comme indiqué ci-dessus).
- ✓ La suspension de GR de 10 % a été préparée dans la solution de NaCl (0,9 %) et le lavage avec la solution tampon phosphate.

- **Expression des résultats :**

Les pourcentages d'hémolyse des différents extraits sont calculés selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = [\text{DoE} / \text{Doc+}] \times 100$$

DoE : Densité optique de l'échantillon (absorbance du test - absorbance du blanc d'extrait).

Doc- : Densité du contrôle négatif.

Doc+ : Densité du contrôle positif.

2.5. Test de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* :

L'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des trois extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a été effectuée selon le test de stabilisation de la membrane des érythrocytes humains.

2.5.1. Activité anti-hémolytique :

- **Principe :**

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de l'extrait à empêcher l'hémolyse des globules rouges (GRh), induite par l'hypotonie et la chaleur ; et de ce fait, prévenir la libération de l'hémoglobine (Oyedapo et al., 2010).

- **Préparation de la suspension des globules rouge :**

Du sang fraîchement prélevé à partir d'un donneur sain unique dans un des tubes héparinés ; puis, centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes. Après élimination du plasma, le culot est lavé 3 fois avec une solution de NaCl (0,9 %), et centrifugé à 3000 tours/ minutes pendant 10 minutes. La suspension érythrocytaire de 10% a été préparée dans la solution de tampon phosphate (0,15 M, PH = 7,4) (Oyedapo et Famurewa, 1995).

- **Mode opératoire :**

L'évaluation de ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Oyedapo et Famurewa, 1995), avec quelques modifications.

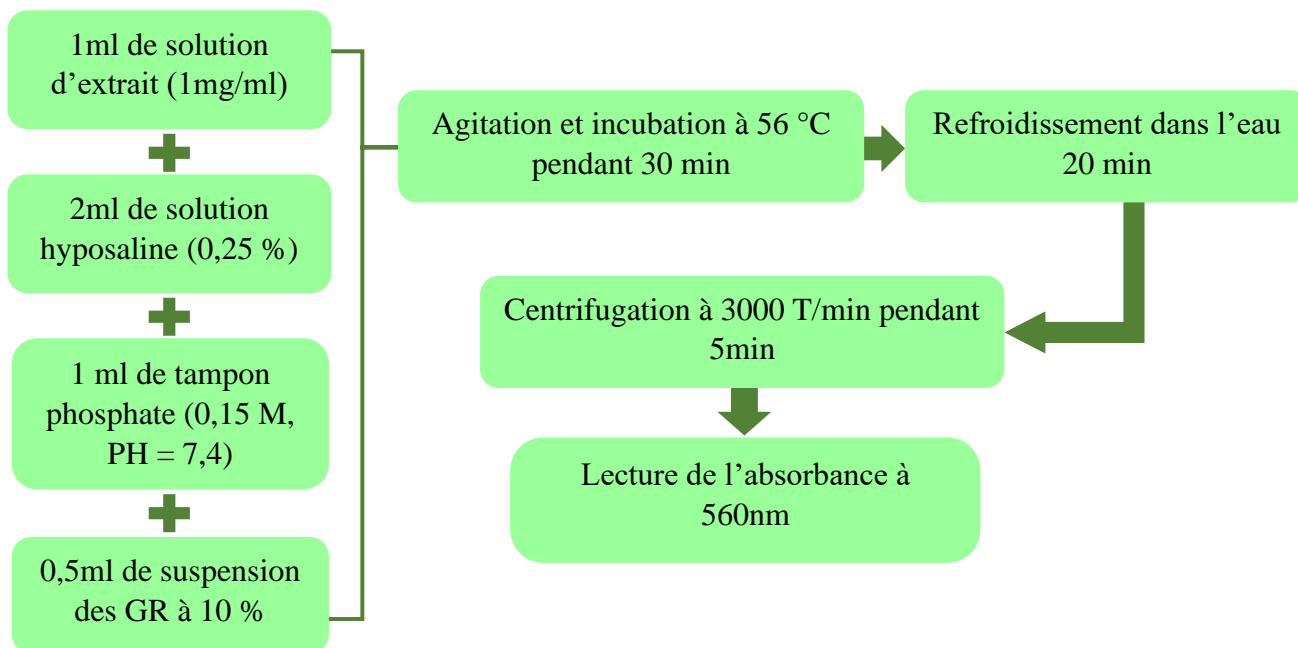


Figure 17 : protocole de l'activité anti-hémolytique (Oyedapo et Famurewa, 1995)

NB :

Blanc général : l'extrait est remplacé par le tampon phosphate, PH = 7,4.

Blanc d'extrait : possède toutes les solutions sauf la suspension des GR.

Standard d'acide gallique : la solution d'extrait est remplacée par la solution d'acide gallique (1 mg/ml).

- ✓ Les solutions des extraits sont préparées dans la solution de l'eau physiologique (NaCl 0,9 %) ; avec 100 µl de cette dernière substituée par 100 µl de DMSO pour la solubilisation de l'extrait.

- **Expression des résultats :**

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{(\%)} \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = \frac{[Ac - At]}{Ac} * 100$$

Ac : absorbance de contrôle.

At : absorbance de l'échantillon (absorbance du test – absorbance du blanc d'extrait).

2.6. Etude statistique :

Trois mesures ont été effectuées pour chaque échantillon testé et les résultats ont été exprimés sous la forme : moyenne ± écartype. Des comparaisons statistiques ont été réalisées en utilisant le test Anova. Les différences ont été considérées d'être significatives à $\alpha = 0,05$.

Chapitre III

Résultats

et

discussions

3.1 Rendement d'extraction

Les taux d'extraction des différents extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont mentionnés dans le tableau VII :

Tableau VII : Les pourcentages d'extraction pour chaque extrait d'*Eriobotrya japonica*.

Extrait	Taux d'extraction (%)
Extrait éthanolique des feuilles	18,11
Extrait organique du chloroforme des feuilles	16,45
Extrait aqueux des feuilles	32,36

En analysant ce tableau, on découvre l'abondance des feuilles du néflier en composés phytochimiques ; ainsi, l'extrait éthanolique brut a donné un pourcentage d'extraction qui représente un bon rendement d'extraction.

Ainsi, **Seon et al., 2020**, ont trouvé un taux d'extraction de l'extrait éthanolique (100 %) des feuilles d'*Eriobotrya japonica* de 9,16 % ; c'est une valeur qui est voisine de celle de notre extrait éthanolique brut.

Par ailleurs, nous remarquons que la fraction aqueuse a montré un taux supérieur à celui de la fraction organique. Ce qui pourrait s'interpréter, par le fait que les composés bioactifs d'*Eriobotrya japonica* seraient beaucoup plus polaires qu'hydrophobes, dont les polyphénols, qui constituent des molécules polaires vu leur richesse en groupements hydroxyles.

3.2 Screening phyto-chimique

L'analyse phyto-chimique est nécessaire dans le but d'élucider les différentes activités biologiques des plantes médicinales, et aussi afin de caractériser les principes actifs à l'origine de leurs vertus (**Shaikh, 2020**).

Le screening phyto-chimique réalisé pour les extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* nous a permis de mettre en évidence la présence de terpénoïdes, de tanins, d'alcaloïdes, de saponines, de mucilages, de glycosides cardiaques ainsi que des flavonoïdes et des anthocyanines, à des degrés de visualisation distincts, comme indiqué dans le tableau VIII :

Tableau VIII : Résultats des tests phyto-chimiques sur les feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

Tests	Extrait éthanolique	Extrait organique	Extrait aqueux
Terpénoïdes	++	-	+++
Tanins	-	++	-
Alcaloïdes	+++	++	++
Saponines	-	-	++
Mucilages	++	++	-
Glycosides cardiaques	+	++	+
Flavonoïdes	++	++	-
Acides aminés	-	-	-
Protéines	++	++	+
Anthocyanines	+++	-	+++

(+++): Fortement positif ; (++) : Moyennement positif ; (+) : Faiblement positif ; (-) : négatif

Les protéines ont été également détectées dans les extraits comme étant des métabolites primaires ; les acides aminés par contre n'y figurent pas.

En effet, d'après Mogole et ses collaborateurs en 2020, le screening phyto-chimique de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a révélé la présence de : phénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, protéines, carbohydrates, glycosides et des stéroïdes ; mais les saponines ont été inexistantes.

3.3 Dosage des composés phénoliques

3.3.1 Les phénols totaux

Le contenu en phénols totaux des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, exprimé en mg équivalent acide gallique/g d'extrait, est représenté dans les figures (18) ci-dessous :

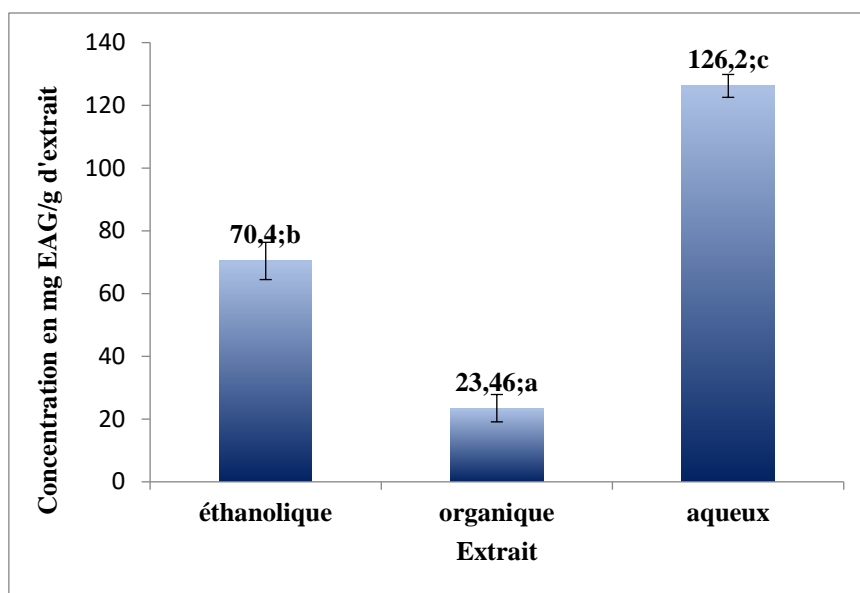


Figure 18 : représentation graphique des taux en phénols totaux des extraits des feuilles *D'Eriobotrya japonica*.

Une vue d'ensemble de cette figure nous permet de constater que les feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont riches en composés phénoliques, avec des valeurs comprises entre $23,46 \pm 4,36$ et $126,2 \pm 3,64$ mg EAG/g d'extrait.

Par ailleurs, nous remarquons que c'est l'extrait aqueux qui a exhibé la teneur la plus élevée, vu que les composés phénoliques représentent des molécules phyto-chimiques riches en groupements hydroxyles, se solubilisant donc dans les solvants polaires tel que l'eau.

Néanmoins, il est à noter que l'extrait éthanolique a montré une valeur ($70,4 \pm 5,93$ mg EAG/g d'extrait) inférieure à celle de l'extrait aqueux ($126,2 \pm 3,64$ mg EAG/g d'extrait), bien qu'il constitue l'extrait brut, et qu'il contiendrait de ce fait la totalité des composés phénoliques ; ceci serait dû à l'encombrement stérique, engendré par beaucoup de molécules, qui empêcherait la révélation des composés phénoliques par le réactif de Folin Ciocalteu (**Garcia Alonso et al., 2004**).

En effet, le fractionnement de cet extrait a permis de sélectionner les substances d'intérêt biologique, comme cela est observé dans l'extrait aqueux.

3.3.2. Les flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes de la plante, exprimés en mg EQ/g d'extrait, sont illustrés par la figure (19) :

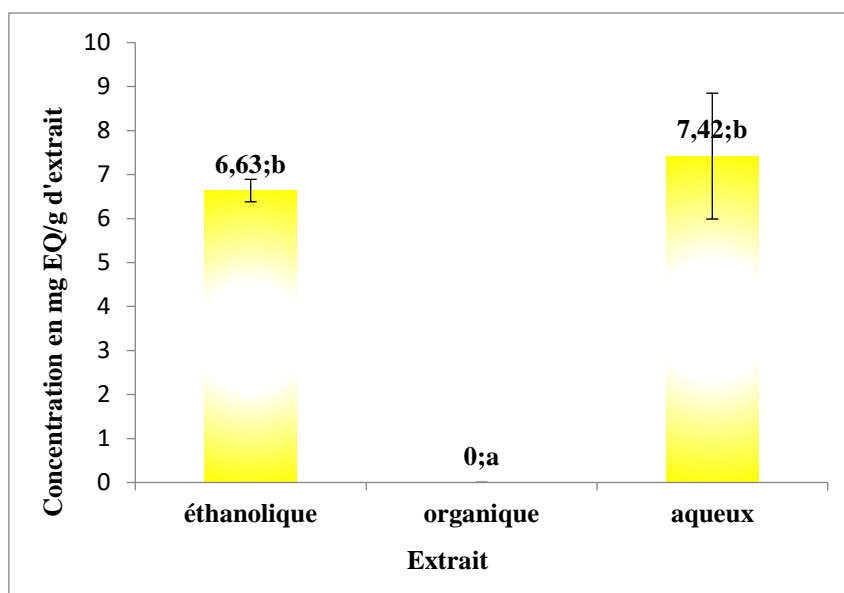


Figure 19 : représentation graphique des concentrations en flavonoïdes des extraits de la plante.

D'après cette figure, nous déduisons, qu'*Eriobotrya japonica*, bien qu'elle soit connue pour sa richesse en composés phénoliques, a reflété de faibles teneurs en flavonoïdes ($0- 7,42 \pm 1,43$ mg EQ/g d'extrait). Ce qui démontre la variabilité de la constitution biochimique de la même plante par rapport à plusieurs facteurs, la région, particulièrement.

En outre, c'est toujours l'extrait aqueux qui a donné une concentration statistiquement supérieure à celle de la fraction organique étant donné que les composés phénoliques sont généralement polaires.

Seon et ses collaborateurs en 2021, en analysant les teneurs en flavonoïdes et en phénols totaux de l'extrait éthanolique (100 %) des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, ils ont abouti aux valeurs de, $66,74 \pm 0,16$ mg EC/g et $19,11 \pm 1,06$ mg TAE/g, respectivement.

3.3.3. Les tanins condensés

Les concentrations en tanins condensés en mg EC/g d'extrait figurent ci-dessous :

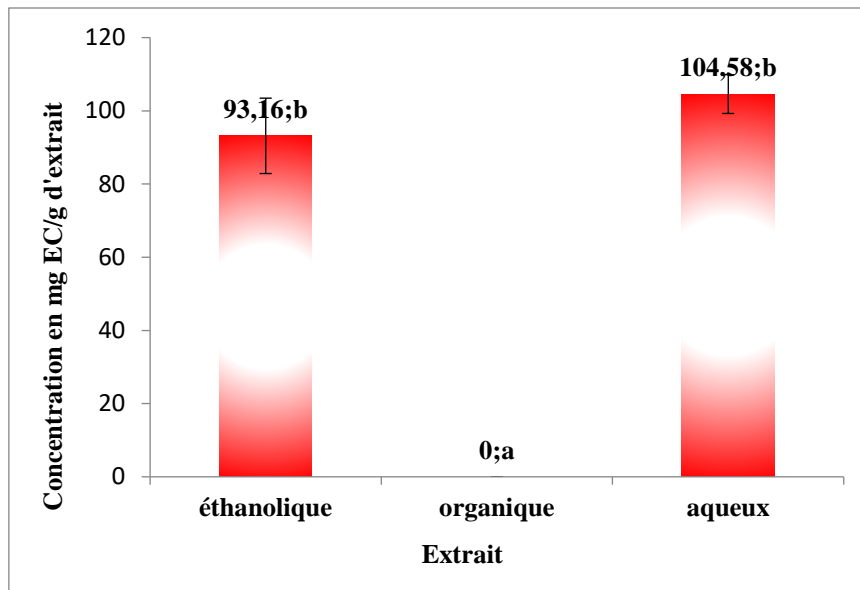


Figure 20 : représentation graphique des teneurs en tanins condensés des extraits des feuilles.

La figure (20) indique l'abondance de la plante en proanthocyanidines, avec des teneurs allant de 0 à $104,58 \pm 5,3$ mg EC/g d'extrait.

Effectivement, le néflier est reconnu comme étant une plante à activité anti-cancéreuse remarquable, reliée notamment, à la présence de tanins condensés (Ito et al., 2002).

3.4. Activité anti-oxydante

L'évaluation de l'activité anti-oxydante a été réalisée par les deux tests : l'activité scavenging du radical DPPH· et ABTS^{·+}.

3.4.1. Activité scavenging du radical DPPH·

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH· Sont représentés dans l'histogramme ci-dessous :

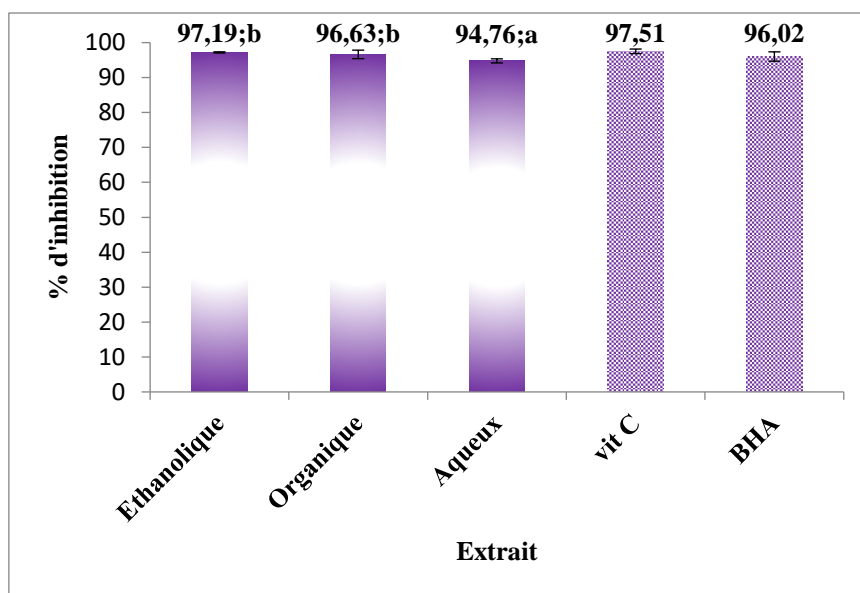


Figure 21 : les pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH· des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* et des standards (BHA et acide ascorbique).

Nous remarquons que la plante a exhibé une activité scavenging du radical DPPH· très élevée ($94,76 \pm 0,58$ % - $97,19 \pm 0,16$ %) comparativement aux standards utilisés, la vitamine C et la BHA avec des valeurs de, $97,51 \pm 0,66$ % et $96,02 \pm 1,33$ %, respectivement, à 100 $\mu\text{g/ml}$.

Mogole et al., 2020, a montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a donné un pourcentage scavenging du radical DPPH· de 87 % ; ce qui confirme la richesse des feuilles du néflier en puissants anti-oxydants.

Par ailleurs, nous déduisons que l'extrait éthanolique a donné le plus grand pourcentage, et il n'y a pas de différence significative avec la fraction organique ; ceci semble évident car il s'agit de l'extrait brut, donc il contient la totalité des composés phénoliques qui sont connus pour leur très importante activité anti-radicalaire, émanant de leur richesse en groupements hydroxyles donateurs d'hydrogènes ou d'électrons (**Jayaprakasha et al., 2008**).

Cependant, il ne faut pas nier une constatation importante, bien que ça soit l'extrait aqueux qui possède les teneurs les plus élevées en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés, c'est la fraction organique qui a été plus active. Cela peut être expliqué par le fait que l'activité anti-oxydante des polyphénols ne dépend pas que de la quantité mais aussi de la qualité de ces derniers, c.à.d., de leur structure moléculaire.

3.4.2. Activité scavenging du radical ABTS·⁺

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS·⁺ figurent en bat :

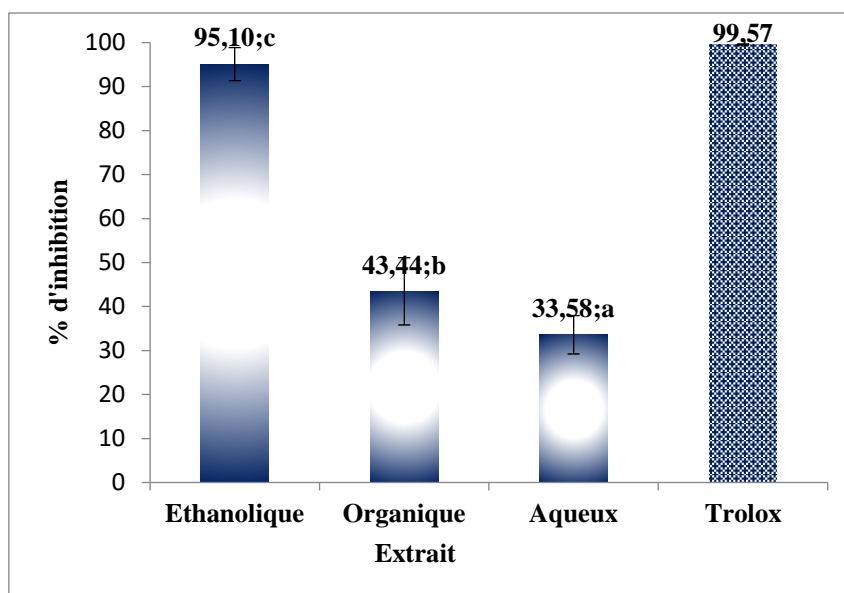


Figure 22 : les pourcentages de l'activité scavenging du radical $ABTS^{\cdot+}$ des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* et du standard (Trolox).

D'après cette figure, nous concluons qu'*Eriobotrya japonica* est une plante médicinale douée d'une très forte activité anti-oxydante ($33,58 \pm 4,36$ % - $95,1 \pm 3,76$ %) par rapport au trolox ($99,57 \pm 0,12$ %), qui constitue une molécule de référence. Ceci est en relation avec son contenu élevé en phénols totaux et proanthocyanidines ; ajoutant à cela, la présence de terpénoïdes, d'alcaloïdes, de saponines et de mucilages.

A partir de l'étude de **Ahumada** et ses collaborateurs en 2017, l'extrait méthanolique (95 %) a exhibé une activité inhibitrice du radical ABTS de $1325,06 \pm 47,86$ $\mu\text{mol TE/g}$ de poids sec. Le profil de l'effet des extraits du néflier vis-à-vis de l' $ABTS^{\cdot+}$ a été similaire à celui obtenu par rapport au DPPH. Ce qui revient à confirmer l'intérêt de la nature moléculaire d'un composé phyto-chimique.

3.5. Etude de la toxicité *in vitro*

La stabilité des membranes des globules rouges constitue un bon outil d'évaluation de l'effet cytotoxique *in vitro* pour divers composés, qui est proportionnel à leurs structures et à leurs caractéristiques physiques (**Sharma et Devi Sharma, 2001**).

Le test de cytotoxicité *in vitro* est représenté par le pourcentage d'hémolyse des globules rouges, il est réalisé en utilisant des érythrocytes d'un donneur en bonne santé, et les résultats sont représentés dans la figure (23).

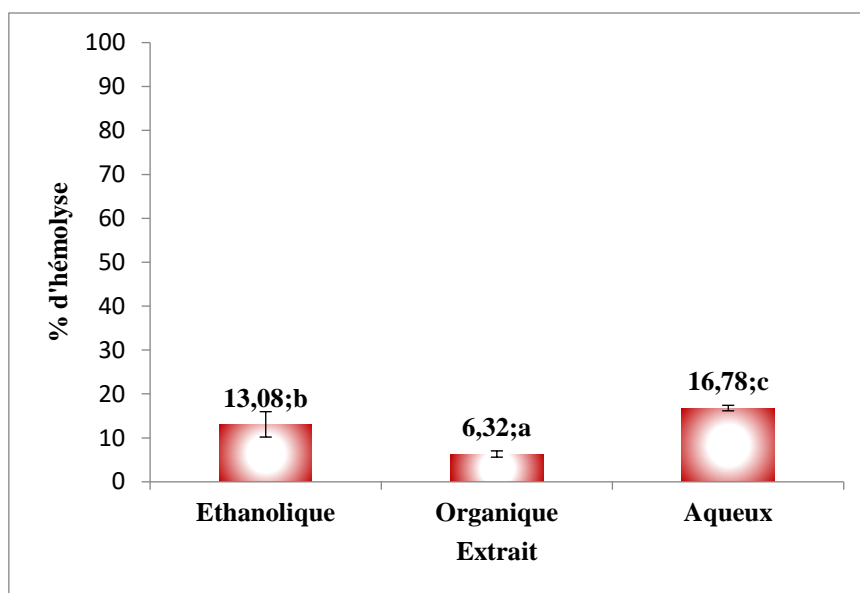


Figure 23 : les pourcentages de toxicité des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

A partir de cette figure, nous observons, une très faible toxicité des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* vis-à-vis de la membrane des globules rouges, à 1 mg/ml.

Il est à noter également que c'est l'extrait aqueux qui a affiché le plus grand pourcentage ; ceci serait probablement dû à son contenu appréciable en composés bioactifs, en particulier, en alcaloïdes connus pour leur grande toxicité à fortes doses, qui en plus d'avoir de bonne activité biologique, ont laissé apparaître une très faible toxicité.

D'après **Tabassum et al., 2022**, si le taux de toxicité de l'extrait dépasse 30 %, la plante est supposée être toxique.

En considérant cette stipulation, on pourrait classer *Eriobotrya japonica* parmi les plantes médicinales non toxiques et sans danger pour l'être humain.

3.6. Activité anti-inflammatoire *in vitro* :

La régulation de l'inflammation par les plantes médicinales a permis de substituer la thérapie inflammatoire conventionnelle, et ce pour diverses maladies. Actuellement une panoplie de plantes médicinales a montré un potentiel anti-inflammatoire considérable (**Tasneem et al., 2018**). Ainsi, l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de nos extraits a été étudiée selon le test de stabilisation de la membrane des érythrocytes humains.

Durant l'inflammation, la lyse des lysosomes libère des composants enzymatiques qui causent une variété de troubles. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) agissent soit en inhibant la fuite de ces enzymes soit en les stabilisant les enzymes membranaires. Or, ces dernières sont homologues aux membranes des érythrocytes humains. De ce fait, la

stabilisation des membranes des globules rouges est un indicateur de l'activité anti-inflammatoire (Anosike *et al.*, 2012).

Les pourcentages de l'activité anti-hémolytique des extraits d'*Eriobotrya japonica* sont affichés dans l'histogramme (24) :

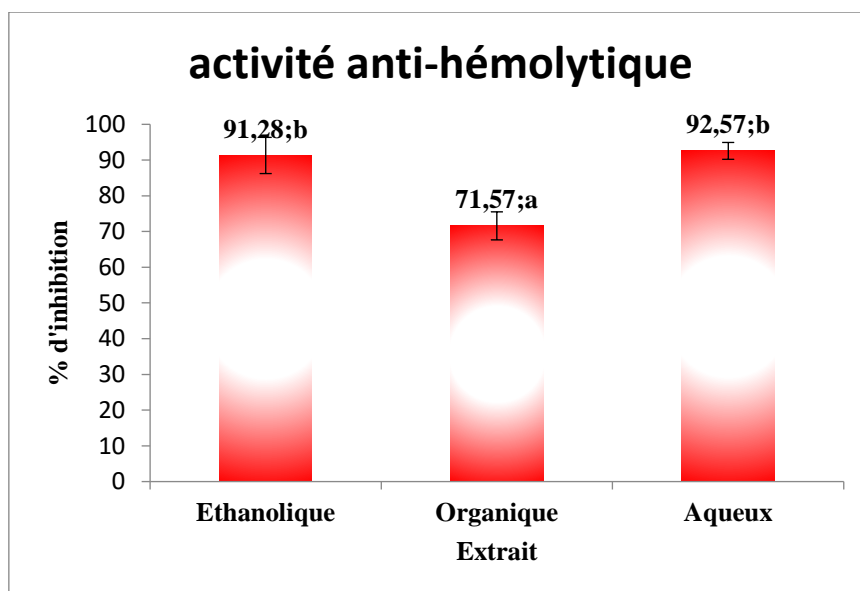


Figure 24 : les résultats de l'activité anti-hémolytique des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

De la figure (24) nous déduisons que les feuilles du néflier ont exhibé un pouvoir anti-hémolytique significatif, et les pourcentages variants entre $71,57 \pm 3,92$ % et $92,57 \pm 2,35$ %. En outre, le pourcentage de la fraction aqueuse ($92,57 \pm 2,35$ %) est significativement supérieur à celui de la fraction organique ($71,57 \pm 3,92$ %) ; vu l'abondance de l'extrait aqueux en phénols totaux et en tanins condensés.

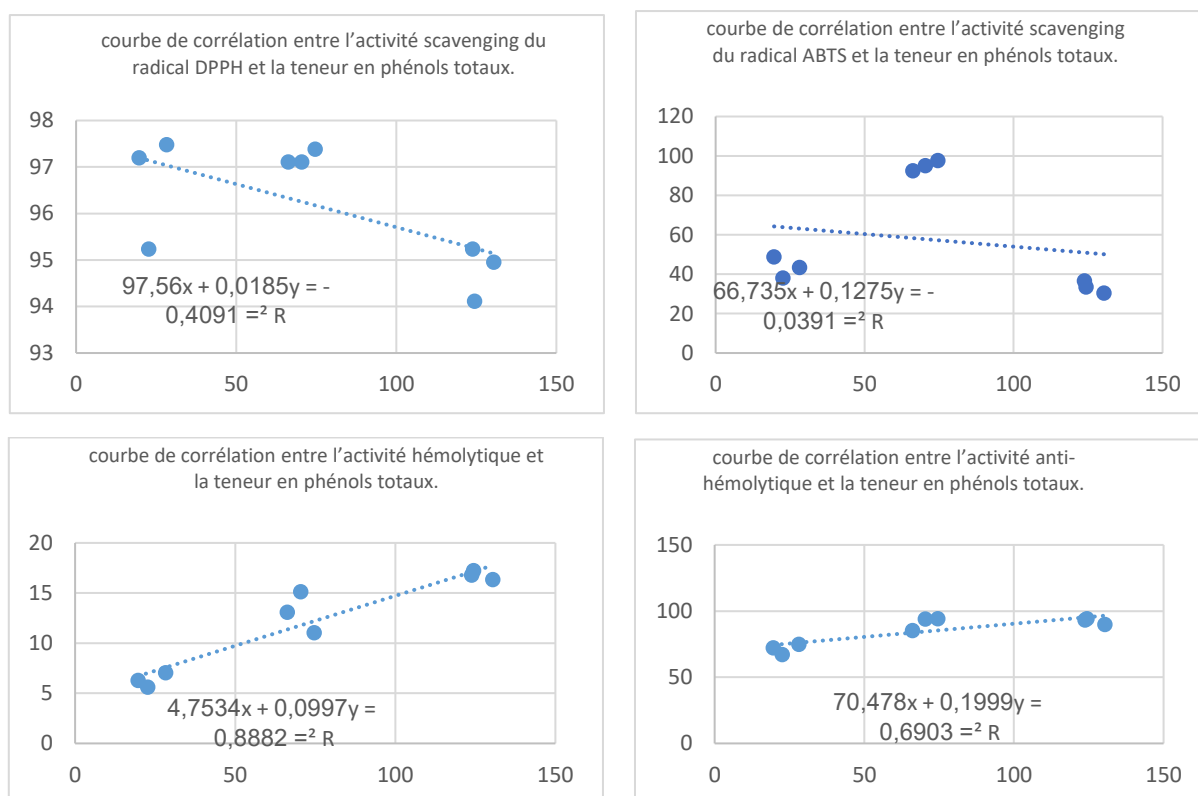
Les plantes médicinales et leurs extraits sont reconnus depuis longtemps pour leur activité anti-inflammatoire, dont certains qui sont potentiellement actifs. Ainsi, les polyphénols, étant l'un des principaux groupes de composés phyto-chimiques qui ont exhibé des effets anti-inflammatoires (Liu *et al.*, 2023). De plus, le screening phyto-chimique a détecté l'existence d'autres métabolites secondaires, autres que les polyphénols.

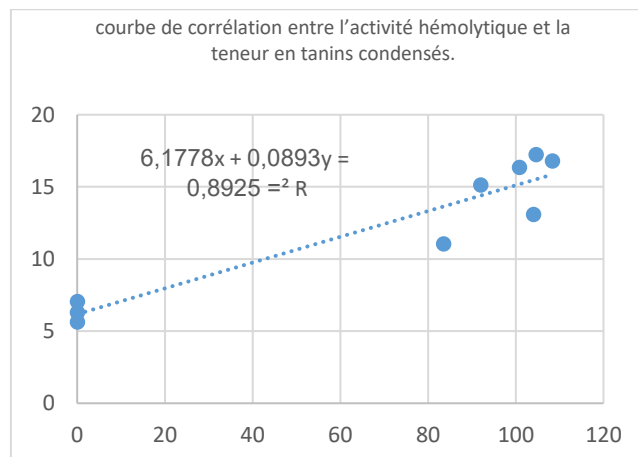
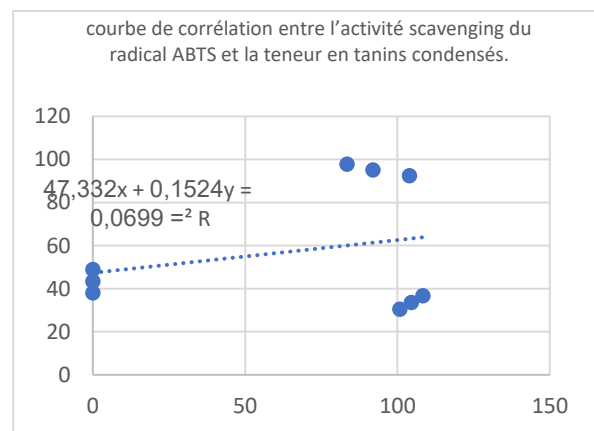
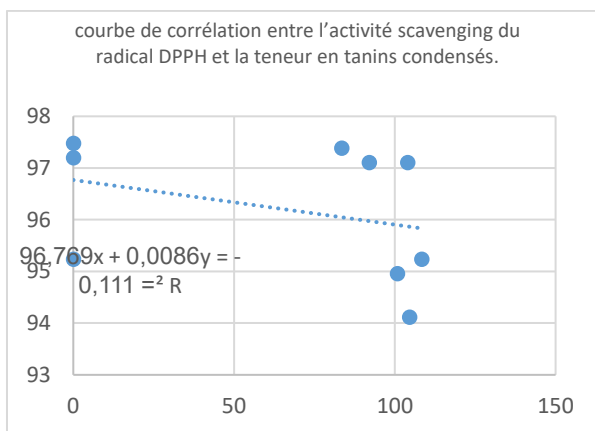
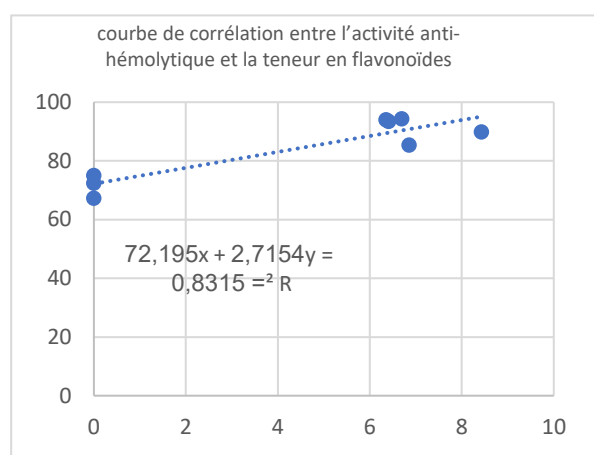
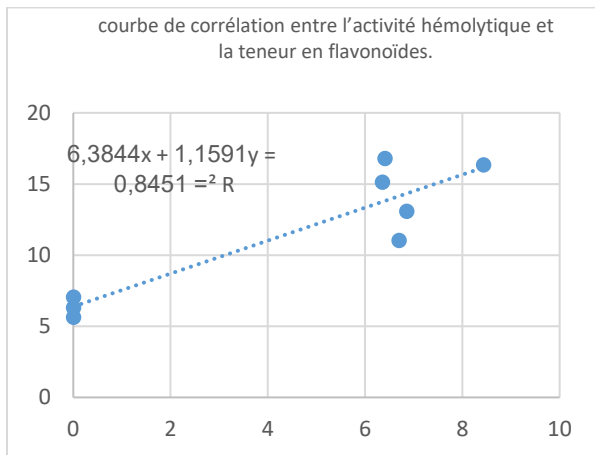
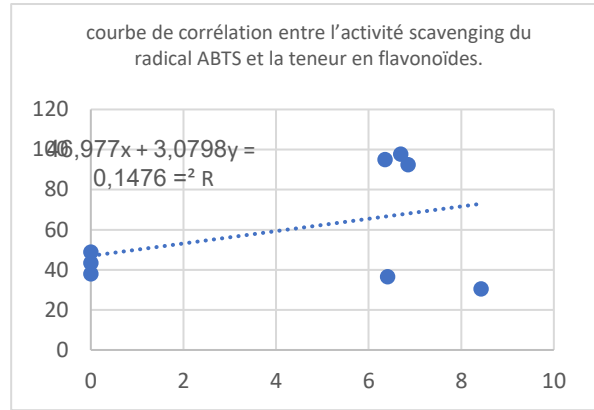
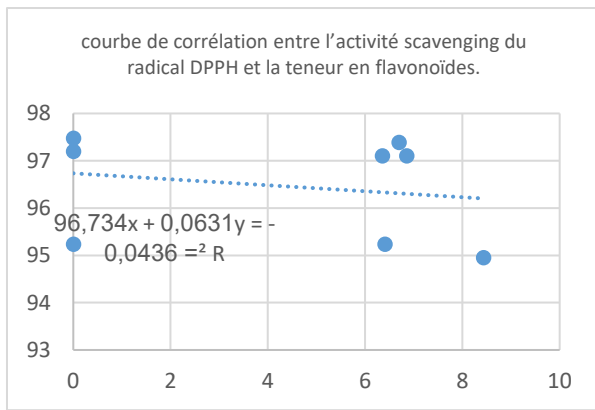
L'inflammation représente une réponse de défense de l'organisme contre un antigène. Elle induit la formation d'espèces réactives de l'oxygène par les neutrophiles et les macrophages activés, à l'origine de l'altération des macromolécules et de la désintégration des membranes biologiques (lysosomale) par le phénomène de la peroxydation lipidique, impliquées dans les maladies inflammatoires. Par conséquent, les agents anti-oxydants pourraient remédier à ces pathologies (Bag *et al.*, 2013). Cette constatation pourrait être extrapolée à nos résultats.

Ainsi, les extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* auraient un impact considérable sur les troubles inflammatoires telle que l'arthrite, comme étant de bons anti-inflammatoires, mais aussi en temps qu'anti-oxydants avérés en conséquence.

Une étude de corrélation entre les différentes activités testées et les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins de la plante a été effectuée. Dans l'ensemble, d'après les valeurs du coefficient de corrélation, R (0,64 ; 0,94 ; 0,83 ; 0,92 ; 0,91 ; 0,94 ; 0,92), on déduirait que les activités des feuilles d'*Eriobotrya japonica* seraient en bonne corrélation avec le contenu en composés phénoliques de la plante. Sans oublier, bien évidemment, la présence d'autres métabolites secondaires, révélés par le screening phyto-chimique, tels que les saponines, les mucilages, les glycosides cardiaques, les terpénoïdes, les tanins et les alcaloïdes ainsi que les flavonoïdes et les anthocyanines qui seraient également à l'origine de ses effets.

Figure 25 : Les courbes de corrélations





Conclusion
&
Perspectives

Eriobotrya japonica. L est une plante très appréciée dans la région méditerranéenne, qui joue un rôle important dans les pratiques de guérison traditionnelle. L'abondance de la plante en métabolites secondaires, en particulier, en composés phénoliques, en fait d'elle une option exceptionnelle pour soulager et se prémunir contre toute une série de pathologies.

Notre étude réalisée sur les extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

- La quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les différents extraits des feuilles du néflier a été réalisée à l'aide des méthodes, de folin-ciocalteu, de chlorure d'aluminium (AlCl_3) et celle de la vanilline, respectivement. Ces analyses ont révélé l'abondance remarquable de la plante en phénols totaux, avec des concentrations allant de $23,46 \pm 4,36$ à $126,2 \pm 3,64$ mg EAG/g d'extrait. En revanche, le contenu en flavonoïdes s'est avéré faible, allant de 0 à $7,42 \pm 1,43$ mg EQ/g d'extrait. De plus, il est intéressant de noter que notre plante a affiché une forte présence en tanins condensés, avec des taux allant de 0 à $104,58 \pm 5,3$ mg EC/g d'extrait.
- L'analyse phyto-chimique qui a été effectuée sur les différents extraits nous a permis de mettre en évidence la présence de terpénoïdes, de tanins, d'alcaloïdes, de saponines, de mucilages, de glycosides cardiaques ainsi que des flavonoïdes et des anthocyanines.
- L'évaluation des propriétés anti-radicalaires menée à l'aide de deux approches différentes, ciblant spécifiquement les deux radicaux, DPPH \cdot et ABTS \cdot^+ , a démontré que les composés phénoliques des feuilles d'*Eriobotrya japonica* possèdent une activité anti-oxydante significative, allant de $94,76 \pm 0,58$ % à $97,19 \pm 0,16$ %, concernant la neutralisation du DPPH et atteignant $95,1 \pm 3,76$ %, quant à l'ABTS.
- En outre, l'activité anti-inflammatoire *in vitro* entreprise via le test de stabilisation des érythrocytes humains a exhibé que les feuilles du néflier sont douées d'un pouvoir anti-hémolytique très élevé, et les pourcentages variant de $71,57 \pm 3,92$ % à $92,57 \pm 2,35$ %.
- Par ailleurs, l'évaluation *in vitro* de l'innocuité de nos extraits a révélé que les feuilles du néflier ne sont pas toxiques.
- En fin, l'étude de corrélation entre les différentes activités testées et les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins de la plante nous permettrait d'attribuer les propriétés biologiques d'*Eriobotrya japonica* aux composés phénoliques. Sans

Conclusion et perspectives

oublier, bien évidemment, l'impact significatif de la présence d'autres métabolites secondaires, révélés par le screening phyto-chimique, tels que les saponines, les mucilages, les glycosides cardiaques, les terpénoïdes, les tanins et les alcaloïdes ainsi que les flavonoïdes et les anthocyanines, quant à son potentiel effet thérapeutique.

Ce travail nous a permis d'avoir une simple esquisse sur les activités des feuilles *d'Eriobotrya japonica*. Il serait très intéressant d'effectuer ces tests *in vivo* afin de confirmer l'efficacité et l'innocuité des extraits ou des constituants biochimiques isolés et identifiés.

*Références
bibliographiques*

-A-

Awad, Lubab M, et Ashwaq Talib H. 2021. « Anatomical and Chemical Study on the Growing Eriobotrya Japonica in Anbar Governorate ». Journal of Physics: Conference Series 1879 (3): 032127.

Ait El Cadi, M., S. Makram, M. Ansar, Y. Khabbal, K. Alaoui, M. A. Faouzi, Y. Cherrah, et J.Taoufik. 2012. « Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de Zygophyllum gaetulum ». Annales Pharmaceutiques Françaises 70 (2): 113-16.

Annick, Adepo A. 2018. « Evaluation des activités anti-inflammatoire et anti-oxydante de l'™extrait hydro-éthanolique de l'™écorce de racines de Dichrostachys cinerea L. Wight et Arn. (Fabaceae) ».

Abdou, Bouba, Njintang, Scher, et Mbofung. 2010. « Phenolic Compounds and Radical Scavenging Potential of Twenty Cameroonian Spices ». Agriculture and Biology Journal of North America 1 (3): 213-24.

Alam, Mn, Nj Bristi, et M Rafiquzzaman. 2013. « Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity ». Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ : The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society 21 (2)

Ashika, B.D., Chitrani, L.R., Naresh, S., Sunil, K.S., Akki, S., Balasubramanian, S. (2018). Phytochemical studies on the methanolic extract of Coriandrum sativum leaves. An invitro approach. CJBPS. 5(8):494-500

Ahumada, J., Fuentealba, C., Olaeta, J. A., North Dakota State University, Undurraga, P., Universidad Nacional Agraria La Molina, Pedreschi, R., Shetty, K., Chirinos, R., Campos, D., & Gálvez-Ranilla, L. (2017). Bioactive compounds of loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) cv. Golden Nugget and analysis of the in vitro functionality for hyperglycemia management. Ciencia e Investigación Agraria, 44(3), 271-283.

Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (Solanum aethiopicum). DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 20(1), 76.

-B-

Barouki, Robert. 2006. « Stress oxydant et vieillissement ». médecine/sciences 22 (3): 266-72.

Baud, Olivier, et Pierre Gressens. 2009. « Voie de signalisation Sonic Hedgehog et impact des glucocorticoïdes sur le cerveau en développement ». médecine/sciences 25 (8-9): 713-18.

Bulmus, V. 2003. « A New pH-Responsive and Glutathione-Reactive, Endosomal Membrane-Disruptive Polymeric Carrier for Intracellular Delivery of Biomolecular Drugs ». Journal of Controlled Release 93 (2): 105-20.

Bag, A., Kumar Bhattacharyya, S., Kumar Pal, N., & Ranjan Chattopadhyay, R. (2013). Anti-inflammatory, anti-lipid peroxidative, antioxidant and membrane stabilizing activities of hydroalcoholic extract of Terminalia chebula fruits. Pharmaceutical Biology, 51(12), 1515-1520.

-C-

Crane, Jonathan H, et M Lilia Caldeira. 2023. « Loquat Growing in the Florida Home Landscape ».

Crozier, Alan, M. N. Clifford, et Hiroshi Ashihara, éd. 2006. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Oxford ; Ames, Iowa: Blackwell Pub.

-D-

De Almeida Lopes, Mônica M., Alex Guimarães Sanches, Kellina O. De Souza, et Ebenezzer De Oliveira Silva. 2018. « Loquat/Nispero— *Eriobotrya Japonica* Lindl. » In Exotic Fruits, 285-92. Elsevier.

Dhiman, Atul, Rajat S, Dhruv T, Viresh G, et Pramod K P. 2022. « Current Status of Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.): Bioactive Functions, Preservation Approaches, and Processed Products ». Food Reviews International 38 (sup1): 286-316.

Defraigne, J O, et J Pincemail. 2008. « Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités ». Rev Med Liège.

Dvorakova, Marcela, et Premysl L. 2017. « Anti-Inflammatory Activity of Natural Stilbenoids: A Review ». Pharmacological Research 124 (octobre):126-45.

Dif, M. M., H. Benchiha, Z. Mehdadi, F. Benali-Toumi, M. Benyahia, et K. Bouterfas. 2015. « Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. » Phytothérapie 13 (5): 314-19.

Dharmalingam, R., Nazni, P. (2013). Phytochemical evaluation of *Coriandrum sativum* L. flowers. International Journal of food and Nutritional Sciences, 2 (4): 34-39.

-E-

EL-Haoud, Hamid, Moncef Boufellous, et Assia Berrani. 2018. « SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: *Mentha Spicata* L. ». 2018. « SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: *Mentha Spicata* L. »

-F-

Favier, A. 2006. « Stress oxydant et pathologies humaines ». Annales Pharmaceutiques Françaises 64 (6): 390-96.

Favier, Alain. 2003. « Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ».

FERDJIOUI, Siham. 2020. « Activités biologiques de deux plantes médicinales *Mentharotundifolia* L. et *Lamium amplexicaule* L. »

-G-

Ghedira, K. 2005. « Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique ». Phytothérapie 3 (4) : 162-69.

Goudjil, Mohamed B. 2016. « Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. »

-H-

Henmi, Atsushi, Minori S, Masato N, et Toshio I. 2019. « Fatty Acid Composition and Applications of Eriobotrya Japonica Seed Oil ». Journal of Oleo Science 68 (7): 599-606.

Huang, Y., J. Li, R. Wang, Q. Wu, Y.-H. Li, S.-C. Yu, W.-M. Cheng, et Y.-Y. Wang. 2007. « Effect of Triterpene Acids of Eriobotrya Japonica (Thunb.) Lindl. Leaf on Inflammatory Cytokine and Mediator Induction from Alveolar Macrophages of Chronic Bronchitic Rats ». Inflammation Research: Official Journal of the European Histamine Research Society ... [et Al.] 56 (2): 76-82.

Harborne, J. B. 1998. Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3rd ed. London ; New York: Chapman and Hall.

Hemalatha, S, P Lalitha, et P Arulpriya. 2010. « Antioxidant Activities of the Extracts of the Aerial Roots of Pothos Aurea (Linden Ex Andre) ».

Heim, Kelly E, Anthony R Tagliaferro, et Dennis J Bobilya. 2002. « Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships ». The Journal of Nutritional Biochemistry 13 (10): 572-84.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier,C and Chapelle, J.P.(2007).Le stress oxydant. Rev Med Liege, 62(10):628-638

-I-

Ibrahim, Ruaa M. 2021. « A Review on Active Constituents and Pharmacological Effects of Eriobotrya Japonica Lindl. (Loquat) ». Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences (P-ISSN: 1683 - 3597 , E-ISSN : 2521 - 3512) 30 (1): 41-55.

Ighodaro, O.M., et O.A. Akinloye. 2018. « First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid ». Alexandria Journal of Medicine 54 (4):287-93.

-J-

Jian, Tunyu, Yuexian Wu, Xiaoqin Ding, Han Lv, Li Ma, Yuanyuan Zuo, Bingru Ren, et al. 2018. « A Novel Sesquiterpene Glycoside from Loquat Leaf Alleviates Oleic Acid-Induced Steatosis and Oxidative Stress in HepG2 Cells ». Biomedicine & Pharmacotherapy 97 (janvier): 1125-30.

Joshi, V.K., P.S. Panesar, V.S. Rana, et S. Kaur. 2017. « Science and Technology of Fruit Wines ». In Science and Technology of Fruit Wine Production, 1-72. Elsevier.

Jayaprakasha, G. K., Girenavar, B., & Patil, B. S. (2008). Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges : Extraction efficiency of solvents in sequence. LWT - Food Science and Technology, 41(3), 376-384.

-K-

Kumar H, Choudhary N, Versha, Kumar N, Suman, Seth R. Phenolic compounds and their health benefits: A review. Journal of food research and technology. Jakraya Publications 2014; 2: 46-59.

Koehler-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition Clinique et Métabolisme, 20(4), 165-177.

-L-

Li, Xian, Changjie Xu, et Kunsong Chen. 2016. « Nutritional and Composition of Fruit Cultivars ». In Nutritional Composition of Fruit Cultivars, 371-94. Elsevier.

Lin, Shunquan, Ralph H. Sharpe, et Jules Janick. 1998. « Loquat: Botany and Horticulture ». In Horticultural Reviews, édité par Jules Janick, 1^{re} éd., 233-76. Wiley.

Lee, Chang-Hsien, Shih-Lu Wu, Jaw-Chyun Chen, Chia-Cheng Li, Hsin-Yi Lo, Wen-Yu Cheng, Jaung-Geng Lin, Yung-Hsien Chang, Chien-Yun Hsiang, et Tin-Yun Ho. 2008. « Eriobotrya Japonica Leaf and Its Triterpenes Inhibited Lipopolysaccharide-Induced Cytokines and Inducible Enzyme Production via the Nuclear Factor-kappaB Signaling Pathway in Lung Epithelial Cells ». The American Journal of Chinese Medicine 36 (6): 1185-98.

Liu, Yilong, Wenna Zhang, Changjie Xu, et Xian Li. 2016. « Biological Activities of Extracts from Loquat (Eriobotrya Japonica Lindl.): A Review ». International Journal of Molecular Sciences 17 (12): 1983.

Le, Kim, Francis Chi Keung Chiu, et Kian Fatt Ng. 2007. « Identification and Quantification of Antioxidants in Fructus Lycii ». Food Chemistry 105 (1): 353-63.

Liu, W., Cui, X., Zhong, Y., Ma, R., Liu, B., & Xia, Y. (2023). Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms: Molecular pathways explaining their efficacy. Pharmacological Research, 193, 106812.

-M-

M. PINKAS, W. PENG, M. TORCK, F. TROTIN. Plantes Médicinales Chinoises. Paris : Editions MALOINE, 1996 : 59.

Maher, K, Ba Yassine, et B Sofiane. 2015. « Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Eriobotrya Japonica Leaves Extracts ». African Health Sciences 15 (2): 613.

MAUDET, M., & NICOL, M. (2000). Caroténoïdes et vitamine A. Actualités.

Mahesh, G, et M G Niharika. 2017. « PHYTOCHEMICAL EVALUATION, ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY, AND DETERMINATION OF BIOACTIVE COMPONENTS FROM LEAVES OF MUSSAENDA FRONDOSA ».

.Munteanu, Irina G, et Constantin A. 2021. « Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review ». International Journal of Molecular Sciences 22 (7): 3380.

Mbatchou, V. C., Abdullatif, S., & Glover, R. (2010). Phytochemical Screening of Solvent Extracts from Hyptis suaveolens LAM for Fungal Growth Inhibition. Pakistan Journal of Nutrition, 9(4), 358-361.

-N-

Noack, MéliSSa, et Marie-Nathalie Kolopp-Sarda. 2018. « Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique ». Revue Francophone des Laboratoires, Immunologie, 2018 (499): 28-37.

Nicolas, J.F., Florence, C., Jean, T. (2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John Libbey Eurotext, 2001, 55-58

Références bibliographiques

Nisar, Mohammad, Sajid Ali, et Muhammad Qaisar. 2011. « Preliminary Phytochemical Screening of Flowers, Leaves, Bark, Stem and Roots of Rhododendron Arboreum ».

-O-

Oyedapo, O O, B A Akinpelu, K F Akinwunmi, M O Adeyinka, et F O Sipeolu. 2010. « Red Blood Cell Membrane Stabilizing Potentials of Extracts of Lantana Camara and Its Fractions » 2 (4): 46-51.

Oyedapo, O.O., et A. J. Famurewa. 1995. « Antiprotease and Membrane Stabilizing Activities of Extracts of Fagara Zanthoxyloides, Olax Subscorpioides and Tetrapleura Tetraptera ». International Journal of Pharmacognosy 33 (1): 65-69.

Oyedemi, Sunday, et Anthony Afolayan. 2011. « In vitro and in vivo Antioxidant Activity of Aqueous Leaves Extract of Leonotis leonurus (L.) R. Br. » International Journal of Pharmacology 7 (mars):248-56.

-P-

Park, Byoung-Jae, Tetsuya N, Hiroyasu F, Michio O, Atsushi S, et Hiroaki S. 2019. « Chemical Constituents of the Leaves of Eriobotrya Japonica ». Chemistry of Natural Compounds 55 (5): 942-44.

Pawłowska, Agata M, Natalia Ż, Ireneusz K, Marinella De Leo, et Alessandra B. 2023. « Antioxidant and Antiproliferative Activities of Phenolic Extracts of Eriobotrya Japonica (Thunb.) Lindl. Fruits and Leaves ». Plants 12 (18): 3221.

Palavra, Filipe, Flávio Reis, Daniela Marado, et Armando Sena, éd. 2015. Biomarkers of Cardiometabolic Risk, Inflammation and Disease. Cham: Springer International Publishing.

Pietta, Pier-Giorgio. 2000. « Flavonoids as Antioxidants ». Journal of Natural Products 63 (7): 1035-42.

Parihar, A., Parihar, M. S., Milner, S., & Bhat, S. (2008). Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. Burns, 34(1), 6-17.

Phuse, Shital S., et Zia. H. Khan. 2018. « ANTIOXIDANT AND HEMOLYTIC QUANTIFICATION OF THE VETIA FLOWERS IN DIFFERENT EXTRACTS ». International Journal of Pharmacy and Biological Sciences 8 (2): 110-16.

Prior, Ronald L., Xianli Wu, et Karen Schaich. 2005. « Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements ». Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (10): 4290-4302.

-R-

RISSER, AMANDA, DEIRDRE DONOVAN, JOHN HEINTZMAN, et TANYA PAGE. 2009. « NSAID Prescribing Precautions » 80 (12).

-S-

Sabri, Emita, et Raysa Zahra. 2019. « Effectivity Test of Loquat (Eriobotrya Japonica (Thunb.) Lindl.) Leaves Extract on the Incision Wound Healing in Mice (Mus Musculus L.) »: In Proceedings of the 1st International MIPAnet Conference on Science and Mathematics, 162-70. Medan, Indonesia: SCITEPRESS - Science and Technology Publications.

Sagar, N. A., S. Pareek, R. Bhardwaj, et N. Vyas. 2020. « Bioactive Compounds of Loquat (Eriobotrya Japonica (Thunb.) L.) ». In Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts,

Références bibliographiques

édité par Hosakatte Niranjana Murthy et Vishwas Anant Bapat, 1-21. Reference Series in Phytochemistry. Cham: Springer International Publishing.

Serviss, Brett E, et Tricia K Serviss. 2020 « ERIOBOTRYA JAPONICA (ROSACEAE) NEW FOR THE ARKANSAS FLORA ».

Sultan, Mostafa Z. 2017. « Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) ». In Fruit and Vegetable Phytochemicals, édité par Elhadi M Yahia, 1^{re} éd., 1107-26. Wiley.

Shahi, A., Yavari, A., & Khanali, M. (2009). Mass and volume modeling of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit based on physical characteristics. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 17, 175-189.

Shafi, Sabeeha, et Nahida Tabassum. 2018. « PHYTOCHEMICAL SCREENING AND RENAL EFFECTS OF ETHANOLIC EXTRACT OF ERIOBOTRYA JAPONICA FRUITS AND SEEDS IN ALLOXAN INDUCED DIABETIC RATS ». International Journal of Current Pharmaceutical Research 10 (1): 3.

Shahat, Abdelaaty A., Riaz Ullah, Ali S. Alqahtani, Mansour S. Alsaïd, Hussein A. Hussein, et Osaïd T. R. Al Meanazel. 2018. « Hepatoprotective Effect of *Eriobotrya Japonica* Leaf Extract and Its Various Fractions against Carbon Tetra Chloride Induced Hepatotoxicity in Rats ». Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2018 (décembre):1-8.

Serhan, Charles N., Peter A. Ward, et Derek W. Gilroy, éd. 2010. Fundamentals of Inflammation. Cambridge ; New York: Cambridge University Press.

Subalakshmi, M, et V Priya. 2018 « IN-VITRO ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF N-CHLOROPICOLINAMIDE ».

Socrier, P. L. (2017). Spécialité : Biotechnologie.

Shabbir, Maria, Muhammad Rashid Khan, et Naima Saeed. 2013. « Assessment of Phytochemicals, Antioxidant, Anti-Lipid Peroxidation and Anti-Hemolytic Activity of Extract and Various Fractions of *Maytenus Royleanus* Leaves ». BMC Complementary and Alternative Medicine 13 (1): 143.

Seon, H. Y., Sun, S., & Yim, S.-H. (2021). Correlation of the free radical and antioxidant activities of *Eriobotrya Japonica* Lindl. With phenolic and flavonoid contents. Food Sci. Technol.

Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening : An overview. International Journal of Chemical Studies, 8(2), 603-608.

Sharma, P., & Sharma, J. D. (2001). In vitro hemolysis of human erythrocytes—By plant extracts with antiplasmodial activity. Journal of Ethnopharmacology, 74(3), 239-243.

-T-

Tan, Hui, Tamrakar Sonam, et Kuniyoshi Shimizu. 2017. « The Potential of Triterpenoids from Loquat Leaves (*Eriobotrya Japonica*) for Prevention and Treatment of Skin Disorder ». International Journal of Molecular Sciences 18 (5): 1030.

Trabsa H. (2018). Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales: *sedum sediforme* et *lycium arabicum*. Thèse de doctorat en Biochimie, 4-5

Tasneem, S., Liu, B., Li, B., Choudhary, M. I., & Wang, W. (2019). Molecular pharmacology of inflammation : Medicinal plants as anti-inflammatory agents. Pharmacological Research, 139, 126-140.

-V-

Vit, Patricia, Jun Qing Yu, et Fazlul Huq. 2013. « Use of Honey in Cancer Prevention and Therapy ». In *Pot-Honey*, édité par Patricia Vit, Silvia R. M. Pedro, et David Roubik, 481-93. New York, NY: Springer New York.

-W-

Wang, Yunsheng. 2021. « A Draft Genome at Chromosome Level and Metabolomes of Leave, Root and Flowers Provide Insights into the Molecular Basis of Medicinal Ingredients of Loquat (*Eriobotrya Japonica* (Thunb.) Lindl) ».

Weill B, Batteux F and Dhainaut J, (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), pp: 12-23

-Y-

You, Mi-Kyoung, Min-Sook Kim, Kyu-Shik Jeong, Eun Kim, Yong-Jae Kim, et Hyeon-A Kim. 2016. « Loquat (*Eriobotrya Japonica*) Leaf Extract Inhibits the Growth of MDA-MB-231 Tumors in Nude Mouse Xenografts and Invasion of MDA-MB-231 Cells ». *Nutrition Research and Practice* 10 (2): 139

Yap, C.F., Ho Chun Wai, Wan Wan mustapha, S.W. Chan, C.Y. Lee, et Y.S. Leong. 2009. « Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues ». *Sains Malaysiana* 38 (août):511-20.

Annexes

Annexes

Annexe No 01 : Courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tannins.

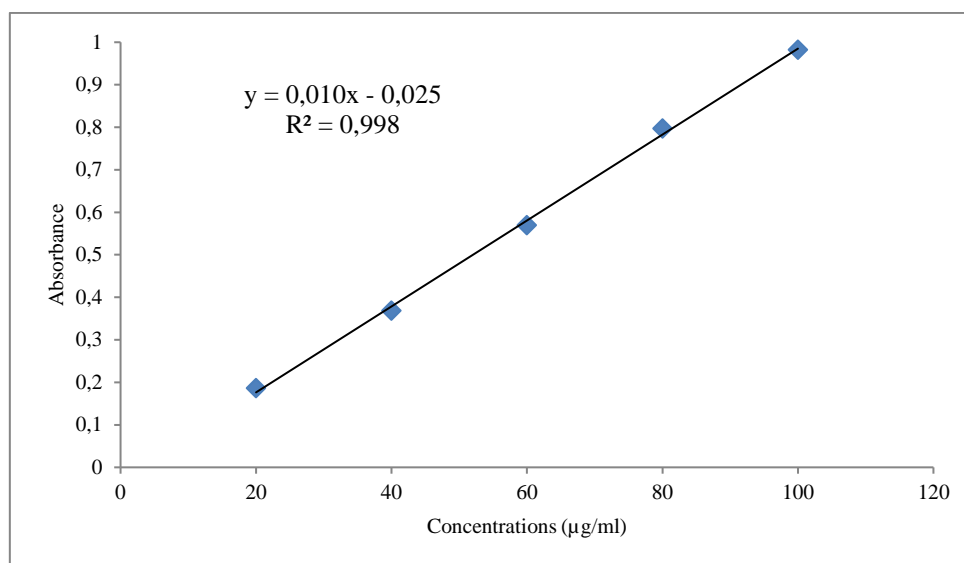


Figure 1 : courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux ($\lambda = 765\text{nm}$).

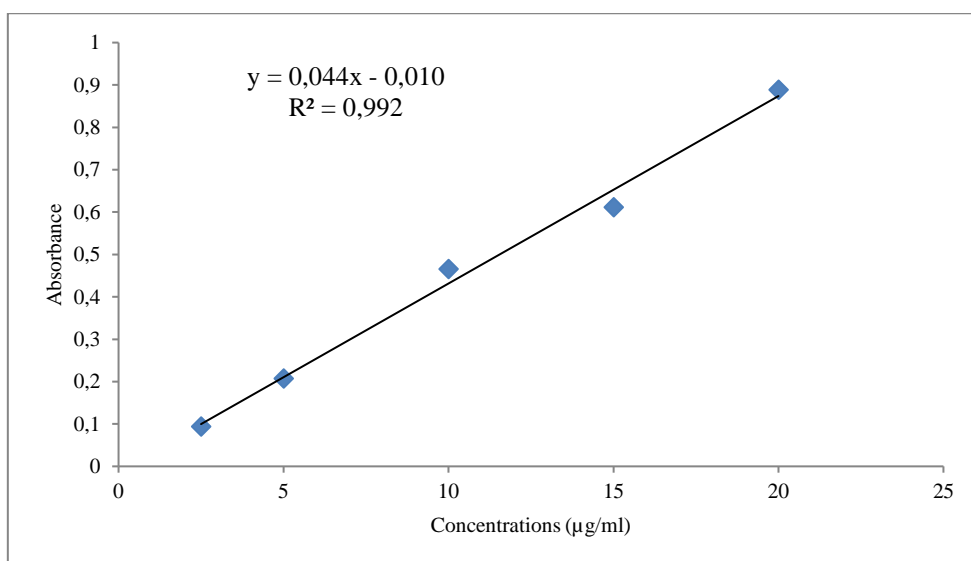


Figure 2 : courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes ($\lambda = 430 \text{ nm}$).

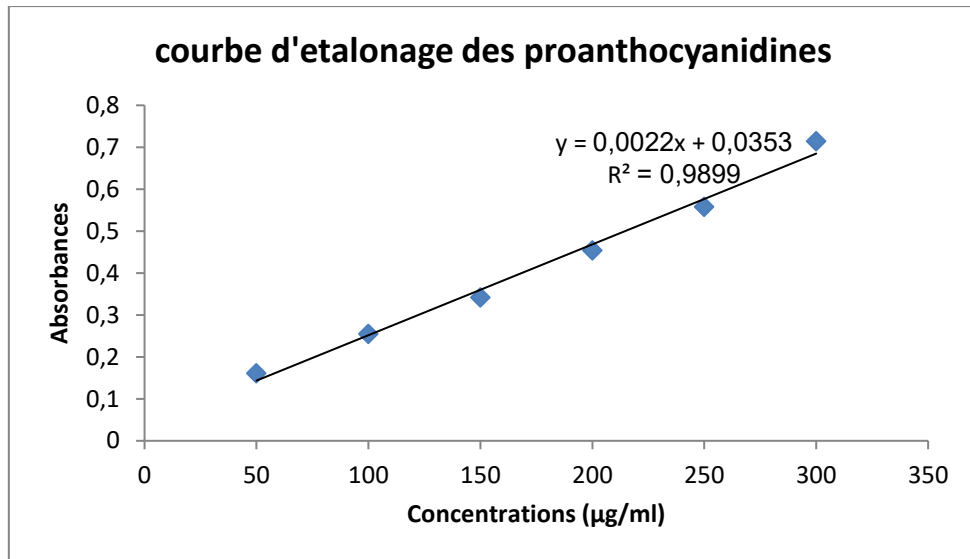


Figure 3 : courbe d'étalonnage avec la catéchine pour dosage des proanthocyanidines ($\lambda = 500 \text{ nm}$).

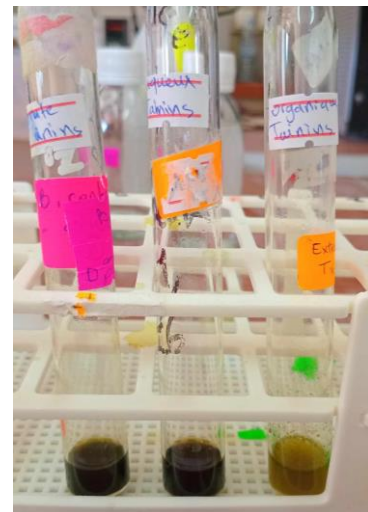
Annexe No 02: photos de test screening phytochimique.



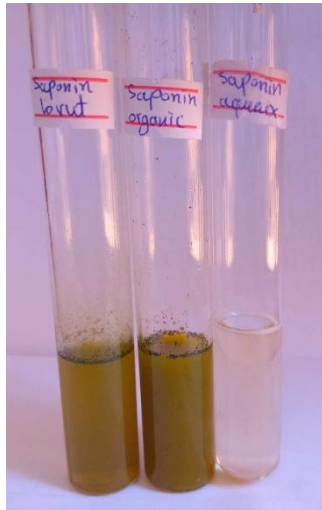
Alcaloïde



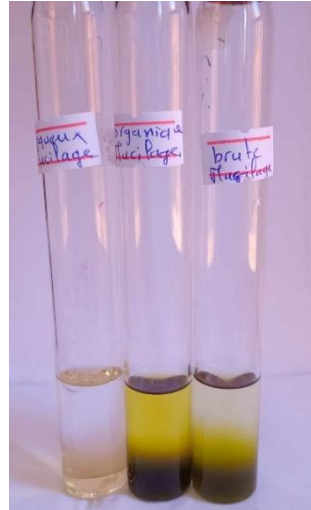
Terpénoïdes



Tanins



Saponines



Mucilages



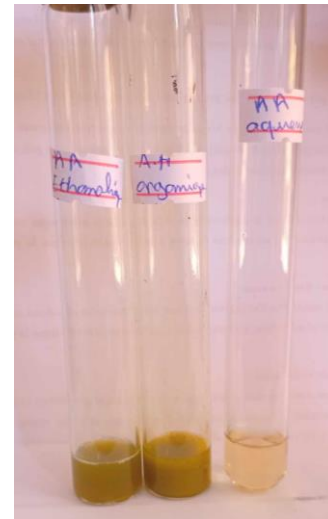
Glycoside cardiaque



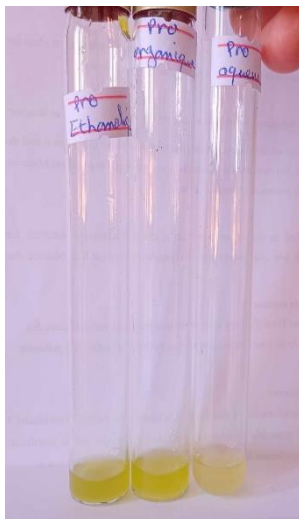
Flavonoïdes



Anthocyanine



Acides aminés



Protéines

Résumé :

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la plante médicinale *Eriobotrya japonica*, qui représente un arbre fruitier appartenant à la famille des rosacées, très connue pour ses diverses vertus thérapeutiques. La première partie de cette étude concerne l'analyse phyto-chimique qualitative et quantitative des différents extraits d'*Eriobotrya japonica*. Ainsi, la plante s'est révélée riche en phénols totaux ($23,46 \pm 4,36$ et $126,2 \pm 3,64$ mg EAG/g d'extrait) et en tanins condensés (0 à $104,58 \pm 5,3$ mg EC/g d'extrait). En revanche, les teneurs en flavonoïdes sont faibles. En outre, le screening phyto-chimique a laissé apparaître la présence de terpénoïdes, de tanins, d'alcaloïdes, de saponines, de mucilages, de glycosides cardiaques ainsi que des flavonoïdes et des anthocyanines. La deuxième partie consiste en l'étude de l'activité anti-oxydante par deux tests (activité scavenging des deux radicaux DPPH[•] Et ABTS^{•+}). Effectivement, les feuilles du néflier ont montré une très forte activité anti-oxydante (% d'inhibition du DPPH = $97,19 \pm 0,16$ % ; % d'inhibition de l'ABTS = $95,1 \pm 3,76$ %). De plus, le test de toxicité a confirmé l'innocuité des feuilles du néflier sur les globules rouges humains. Quant à l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, *Eriobotrya japonica* a exhibé une activité anti-hémolytique très élevée ($92,57 \pm 2,35$ %). Ceci, nous incite à entreprendre des investigations scientifiques plus poussées, afin de mieux exploiter les propriétés biologiques de notre plante.

Mots clés : *Eriobotrya japonica*, anti-oxydant, anti-inflammatoire, polyphénols.

Abstract:

In this study, we were interested in the medicinal plant *Eriobotrya japonica*, which represents a fruit tree belonging to the Rosaceae family, well known for its various therapeutic virtues. The first part of this study concerns the qualitative and quantitative phyto-chemical analysis of the different extracts of *Eriobotrya japonica*. Thus, the plant was found to be rich in total phenols (23.46 ± 4.36 and 126.2 ± 3.64 mg GAE/g of extract) and in condensed tannins (0 to 104.58 ± 5.3 mg CE/g of extract). On the other hand, the flavonoid contents were low. In addition, the phyto-chemical screening revealed the presence of terpenoids, tannins, alkaloids, saponins, mucilages, cardiac glycosides as well as flavonoids and anthocyanins. The second part consists of the study of the antioxidant activity by two tests (scavenging activity of the two radicals DPPH[•] and ABTS^{•+}). Indeed, Loquat leaves showed very strong antioxidant activity (% inhibition of DPPH = 97.19 ± 0.16 %; % inhibition of ABTS = 95.1 ± 3.76 %). In addition, the toxicity test confirmed the safety of our plant leaves extracts on human red blood cells. As for the *in vitro* anti-inflammatory activity, *Eriobotrya japonica* exhibited a very high anti-hemolytic activity (92.57 ± 2.35 %). This encourages us to undertake more in-depth scientific investigations, in order to better exploit the biological properties of our plant.

Key words: *Eriobotrya japonica*, anti-oxidant, anti-inflammatory, polyphenols.