

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Spécialité pharmacotoxicologie



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme

MASTER

Spécialité : Pharmacotoxicologie

Thème

***Effet du ratio d'extraction : poudre/solvant sur la constitution
biochimique et quelques activités biologiques des extraits des feuilles
d'Eriobotrya japonica***

Présenté par :

Mebarki Massiva & Mehabil Chahinez

Soutenu le : **09 /07/2024**

Devant le jury suivant :

Président	Mme HAMADACHE N.	MAA
Examinatrice	Mme BAKDI H.	MAA
Promotrice	Mme ADRAR S.	MAA

Année Universitaire 2023 /2024

Remerciements

Avant tout, on remercie Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail. Il est difficile d'exprimer, en quelques lignes, nos remerciements à l'égard de notre encadreur Mme ADRAR S. pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un rapport considérable sans laquelle ce travail n'aurait pas peut être menée au bon port, pour ces bonnes explications qui nous ont éclairé le chemin de ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury : On remercie Mme HAMADACHE.N qui a fait l'honneur de présider notre jury.

On remercie ainsi Mme BAKDI.H d'avoir accepté de juger notre travail, de faire partie de notre jury.

Merci pour tous ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre lors de notre travail.



Dédicace

En premier lieu je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce travail.

Je dédie ce mémoire à mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection.

A ma très chère maman qui m'a soutenu et encouragée durant ces années d'études, qui m'a donnée toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Que Dieu t'accorde une longue vie et santé pour que tu Sois heureuse et très fière de moi.

A mon père qui est mon modèle dans la vie, qui travaille dur pour moi.

Aucune dédicace n'exprime l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous mes chers parents.

A mes chères et adorables sœurs Ibtissam – Silia – Thiziri qui sont mon soutien dans la vie.

A mes chères frères Takfarinas- Abd el Aziz – Farouk.

Ma nièce Alicia Thasseda.

A ma binome Chahinez

A mes amies Lydia-Amel- Kenza-Asma-Farah-Romina-Silia

Tous ce qui m'aiment et que j'aime.

Mebarki Massiva



Dédicace

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers Allah le Tout-Puissant pour m'avoir donné la force nécessaire pour accomplir ce travail malgré les défis rencontrés.

Je dédie ce mémoire à mes parents bien-aimés, véritables piliers de ma vie, source inépuisable d'amour, de soutien et d'encouragement. À ma mère, dont la présence constante et les prières ont été ma lumière durant ces années d'études, je te remercie du fond du cœur. Que Dieu te comble de santé et de bonheur, et te permette de voir la fierté et le succès dans ma vie.

À mon père, modèle de détermination et de sacrifice, dont l'exemple m'a toujours guidé avec force et courage, je vous dédie également ce travail avec une profonde reconnaissance.

Je souhaite aussi adresser ma dédicace à mes oncles et tantes, qui ont été des soutiens précieux à travers leur affection et leur encouragement sincères.

Aucune dédicace n'exprime l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous mes chers parents.

A mes chères sœurs Hanane-Houda qui sont mon soutien dans la vie.

A ma binôme Massiva

A mes amies : Chanez- Hana- Lydia- Amel- Romina- Silia

Tous ce qui m'aiment et que j'aime. votre présence dans ma vie est un cadeau précieux. Merci pour votre soutien et votre encouragement constants.

Mehabil Chahinez



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie théorique : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Constitution biochimique et activités biologiques d'*Eriobotrya japonica*

I-1 Généralités sur *Eriobotrya japonica* 3

I-2 Description..... 3

I-3 Caractéristiques des différentes parties..... 4

I-4 Classification 5

I-5 Noms vernaculaires 5

I-6 Écologie et distribution géographique..... 6

I-7 Composition biochimique 6

I-8 Activités biologique d'*Eriobotrya japonica*.....8

Chapitre II : Description théorique des activités à tester

II-1 les radicaux libres et l'antioxydant 11

II-1-1 Radicaux libres..... 11

II-1-2 Les principales ERO générées dans les systèmes biologiques 11

II-1-3 Stress oxydant 12

II-1-4 Définition des antioxydants..... 12

II-1-5 Types d'antioxydants..... 12

II-1-7 Mécanismes de l'activité anti-oxydante 14

II-2 Inflammation et anti-inflammatoires 15

II-2-1 Généralités sur l'inflammation 15

II-2-2 Les cellules de l'inflammation..... 16

II-2-3 Les types de l'inflammation.....	16
II-2-4 Les anti-inflammatoires.....	17
II-2-5 Classification des différents anti-inflammatoires	17

Partie expérimentale

I Matériel et Méthodes

I-1 Matériel végétal.....	18
----------------------------------	-----------

II-2 Méthodes.....	18
---------------------------	-----------

II-2-1 Extraction des composés phénoliques.....	18
---	----

II-2-2 Screening phyto-chimique	19
---------------------------------------	----

II-2-3 Dosage des composés phénolique	21
---	----

<input type="checkbox"/> Dosage des phénols totaux	21
--	----

<input type="checkbox"/> Dosage des flavonoïdes	22
---	----

<input type="checkbox"/> Dosage des tanins condensés (proanthocyanidines)	23
---	----

II-2-4 Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits.....	24
---	----

<input type="checkbox"/> Activité scavenging du radical DPPH [·]	24
---	----

<input type="checkbox"/> Test d'activité scavenging du radical ABTS ^{·+}	26
---	----

II-2-5 Test toxicite.....	27
---------------------------	----

II-2-6 Activite anti-inflammatoire par tes anti-hémolytique.....	30
--	----

II-2-7 Etude statistique.....	32
-------------------------------	----

II Résultats et discussion

II-1 Rendement de l'extraction.....	33
-------------------------------------	----

II-2 Screening phyto-chimique.....	33
------------------------------------	----

II-3 Dosage des composées phénoliques	34
---	----

II-3-1 Phénols totaux.....	34
----------------------------	----

II-3-2 Flavonoïdes	35
--------------------------	----

II-3-3 Tanins condensés.....	36
------------------------------	----

II-4 Activité anti-oxydante	37
-----------------------------------	----

II-4-1 Activité scavenging du radical DPPH [·]	37
---	----

II-4-2 Activité scavenging du radical ABTS ^{·+}	39
--	----

II-5-3 Etude de l'innocuité.....	39
II-5 Activité anti-inflammatoire par test anti-hémolytique	40
II-6 Corrélation.....	42
III Conclusion et perspectives	45
Références bibliographiques.....	47
Annexe	
Résumé	

Liste des abréviations

- **KH₂PO₄**: Phosphate monopotassique.
- **K₂HPO₄**: Dipotassium phosphate..
- **ABTS^{•+}**: Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique.
- **AlCl₃** : Chlorure d'aluminium.
- **DPPH**: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.
- **COX**: Cyclo-oxygénase.
- **LPS**: Lipopolysaccharide.
- **ERO**: Espèces réactives de l'oxygène.
- **ERN**: Espèces réactives de l'azote.
- **SOD**: Superoxyde dismutase.
- **GSSG**: Disulfure de glutathion.
- **GPX**: Glutathion Peroxydase.
- **AIS**: Anti-inflammatoires stéroïdiens.
- **AINS**: Anti-inflammatoire non stéroïdiens.
- **FeCl₃**: Le Chlorure de fer (III).
- **NaOH**: L'hydroxyde de sodium.
- **HCl**: Acide chlorhydrique.
- **H₃PW₁₂O₄₀**: Acide phosphotungstique
- **H₃PMo₁₂O₄₀**: Acide phosphomolybdique.
- **NaCl**: Clorure de sodium.

Liste des figures

Figure 1: Le néflier, <i>Eriobotrya japonica</i>	3
Figure 2: Distribution géographique d' <i>Eriobotrya japonica</i>	6
Figure 3: Les trois sites essentiels de flavonoïdes impliqués dans la chélation des ions métalliques.....	14
Figure 4: Les principales étapes de la réaction inflammatoire	15
Figure 5: La poudre des feuilles de la plante <i>Eriobotrya japonica</i>	18
Figure 6: Le protocole d'extraction des différents extraits.....	19
Figure 7: Protocole de dosage des composés phénoliques	22
Figure 8: Protocole de dosage des flavonoïdes	23
Figure 9: Protocole de dosage des Proanthocyanidines.....	24
Figure 10: Solution contenant le radical DPPH avant et après l'ajout de l'échantillon à tester	25
Figure 11: Protocole de l'activité scavenging du radical DPPH	25
Figure 12: Mécanisme de la réaction de l'ABTS et de radical oxygéné ($ABTS^{\cdot+}$).....	26
Figure 13: Protocole de l'activité scavenging du radical-cation $ABTS^{\cdot+}$	27
Figure 14: Protocole de préparation de la suspension hémolyse	28
Figure 15: Protocole du test d'hémolyse	29
Figure 16: Protocole de préparation de la suspension érythrocytaire	30
Figure 17: Protocole de stabilisation de la membrane des GR humains	31
Figure 18: Représentation graphique des teneurs en phénols totaux des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	35
Figure 19: Teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	36
Figure 20: Représentation graphique des teneurs en proanthocyanidines des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	37
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)	38

Figure 22: Activité inhibitrice du radical ABTS ^{·+} par les extraits d' <i>Eriobotrya japonica</i> et par le Trolox.....	39
Figure 23: Les pourcentages de l'activité hémolytique des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	40
Figure 24: Les pourcentages de l'activité anti-hémolytique des extraits des feuilles d' <i>Eriobotrya japonica</i>	41
Figure 25 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du DPPH et la teneur en phénols totaux.....	43
Figure 26 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging ABTS et la concentration en phénols totaux.....	43
Figure 27: Courbe de corrélation entre l'activité hémolytique et la concentration en phénols totaux.....	43
Figure 28: Courbe de corrélation entre l'activité anti-hémolytique et la concentration en phénols totaux.....	43
Figure 29 : Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité scavenging du radical DPPH	43
Figure 30: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging ABTS et la concentration en flavonoïdes.....	43
Figure 31: Courbe de corrélation entre l'activité hémolytique et la concentration en flavonoïdes.....	44
Figure 32: Courbe de corrélation entre l'activité anti-hémolytique et la concentration en flavonoïdes.....	44
Figure 33: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du DPPH et la concentration en tanins condensés.....	44
Figure 34: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du ABTS et la concentration en tanins condensés.....	44
Figure 35: Courbe de corrélation entre l'activité hémolytique et la concentration en tanins condensés.....	44
Figure 36: Courbe de corrélation entre l'activité anti-hémolytique et la concentration en tanins condensés.....	44

Liste des tableaux

Tableau I: Principales caractéristiques des différentes parties d' <i>Eriobotrya japonica</i>	4
Tableau II: Principaux noms vernaculaires d' <i>Eriobotrya japonica</i> L	5
Tableau III: Les (ROS) et (ERN)	11
Tableau IV: Diverses classes des composés phénoliques	13
Tableau V : Pourcentages d'extraction pour chaque extrait d' <i>Eriobotrya japonica</i>	33
Tableau VI: Résultats du screening phyto-chimique des extraits.....	34

Introduction

Intruduction

L'oxygène est vital pour tous les organismes, qu'ils soient animaux, végétaux ou bactériens, car il est essentiel à la production d'énergie. Cependant, ce processus métabolique génère des espèces réactives de l'oxygène (ERO), connues pour leur potentiel toxique bien supérieur à celui de l'oxygène ordinaire (**Gardès-Albert et al., 2003**).

Le stress oxydant survient lorsque l'organisme perd sa capacité à neutraliser efficacement les ERO, perturbant ainsi l'équilibre naturel entre celles-ci et les agents oxydants. Cette altération peut entraîner des dommages structurels et fonctionnels significatifs (**Bensakhria, 2018**).

L'inflammation est une réaction biologique du système immunitaire déclenchée par divers facteurs. Lorsque ces stimuli sont excessifs et pathologiques, ils peuvent provoquer des réponses inflammatoires aiguës et/ou chroniques. Actuellement, le traitement de l'inflammation repose sur l'utilisation d'anti-inflammatoires, à savoir les corticoïdes (glucocorticoïdes) et les non-stéroïdiens. Ces molécules peuvent être efficaces, mais elles ont généralement des effets secondaires qui peuvent rendre difficile leur utilisation prolongée. (**Gaziano et Gibson, 2006**).

Les plantes médicinales sont définies par leur capacité à contenir dans leurs organes diverses substances utilisables à des fins thérapeutiques ou comme sources pour la synthèse de médicaments. Ces composés naturels bioactifs sont souvent concentrés dans des cellules spécialisées de la plante. Cette classification permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les constituants ont été scientifiquement démontrés de celles qui sont réputées médicinales mais qui nécessitent encore une étude scientifique approfondie pour validation (**Abayomi et al., 2013**).

Le néflier, *Eryobotria japonica*, est un arbre fruitier subtropical à feuilles persistantes natif de Chine et du Japon, mais sa culture s'est étendue à travers le monde (**Pawłowska et al., 2023**). Ainsi, les extraits du néflier ont été historiquement employés pour traiter des affections telles que la toux, la bronchite chronique, l'inflammation, le diabète et même le cancer. Des recherches ont permis d'identifier et de caractériser des composés bioactifs comme les composés phénoliques et les terpénoïdes, ce qui aide à mieux comprendre les mécanismes chimiques sous-jacents responsables des effets biologiques des extraits d'*Eriobotrya japonica* (**Dhiman et al., 2022**).

D'où l'intérêt porté à l'égard de cette plante. Par conséquent, l'objectif de notre travail consiste en l'étude des activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires *in vitro* des extraits des

Intruduction

feuilles d'*Eriobotrya japonica*, en corrélation avec sa constitution biochimique en composés phyto-chimiques.

De ce fait, notre travail est scindé en deux parties : la première partie est une synthèse bibliographique qui résume les concepts théoriques sur la composition biochimique d'*Eriobotrya japonica*, ainsi que des généralités concernant les radicaux libres, les antioxydants, l'inflammation et les anti-inflammatoires.

La seconde partie de notre étude représente une étude pratique orientée vers notre objectif de recherche. Dans un premier temps, un screening phyto-chimique a été réalisé afin d'effectuer des tests biochimiques permettant la détection qualitative de différentes familles de composés bioactifs. En deuxième lieu, un criblage phyto-chimique a été effectué pour déterminer les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins ; suivi par des tests préliminaires évaluant l'activité anti-oxydante des différents extraits à travers deux méthodes : l'utilisation du radical DPPH· et la méthode du radical-cation ABTS⁺. En troisième lieu, une évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par test anti-hémolytique

Partie Théorique

Chapitre 01 :

*Constitution Biochimique et activités
biologique d'Eriobotrya japonica*

I-1 Généralités sur *Eriobotrya japonica*

Le nom botanique du néflier du Japon est *Eriobotrya japonica* (thumb) lindl. Il est formé par la combinaison de deux mots grecs : "erion" qui signifie "laine" et "botrys" pour "grappe" (Khatak et al., 2019).

Eriobotrya japonica, appartenant à la famille des *Rosaceae*, est un petit arbre originaire de Chine. Cependant, il est largement cultivé dans de nombreuses autres régions du monde, notamment au Japon, en Italie, au Brésil, en Espagne, en Algérie et dans le nord de l'Inde (Li et al., 2009 ; Xu et Chen, 2016 ; Palou et al. 2016).

Le fruit du néflier est reconnu comme une excellente source de nutriments essentiels. Il est particulièrement riche en minéraux, en caroténoïdes, en sucres, en composés phénoliques, en flavonoïdes, en vitamine C et en terpénoïdes en acides organiques. Tous ces éléments contribuent à promouvoir la santé humaine figure 1 (Pareek et al. 2014).



Figure 1 : Le néflier, *Eriobotrya japonica*. (Sagar et al., 2020).

I-2 Description

Le néflier, ou *Eriobotrya japonica*, peut se présenter sous deux formes principales: un arbuste de 3 à 4 mètres de haut ou un arbre pouvant atteindre jusqu'à 10 mètres. Il se caractérise par son tronc court et sa couronne arrondie. Les feuilles sont disposées alternativement le long de la tige, avec une surface supérieure poilue et une face inférieure jaune-brun, mesurant généralement de 10 à 25 cm de longueur (Pawłowska et al., 2023).

Les fruits du loquat sont regroupés en grosses grappes lâches et ont une forme ronde ou ovale, parfois semblable à une poire, pouvant mesurer jusqu'à 7 cm de long dans les

meilleures variétés. Leur couleur varie du jaune pâle à l'orange foncé, et leur peau est dure, ressemblant à celle d'une prune. La chair, qui peut être blanche ou orange, est juteuse, savoureuse et peut être ferme ou molle. Chaque fruit d'*Eriobotrya japonica* contient généralement de 1 à 4 graines brunes et lisses. Ces dernières constituent environ 20 à 30 % du poids total du fruit (Murad, 2012).

Les néfliers se différencient des autres arbres fruitiers par le fait que leurs fleurs fleurissent en automne ou au début de l'hiver, et leurs fruits mûrissent à la fin de l'hiver ou au début du printemps tableau I. (Ercisli et al., 2012).

I-3 Caractéristiques des différentes parties

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

Organe	Caractéristiques	Références
Fleur 	<ul style="list-style-type: none"> • Couleur : blanche • Contient 5 pétales • Dimension : 12-20 mm • Parfumée 	(Ferrerres et al., 2009 ; Lin et al., 1999; Gilman et Watson, 1993)
Graine 	<ul style="list-style-type: none"> • Couleur : brune • Nombre : 3 à 5 • Environ 20 à 30 du poids total du fruit • Poids : 1,1 – 3,6 g 	(Ercisli et al., 2012; Gilman et Watson, 1993; Lin et al., 1999)
Fruit 	<ul style="list-style-type: none"> • Forme : ovale, ronde, poire • Peau : lisse ou duveteuse • Couleur : jaune pâle à orange foncé • Poids : 30 à 40 g • Taille : 2- 5 cm 	(Ercisli et al., 2012 ; Ferreres et al., 2009 ; Lin et al., 1999)

<p>Feuille</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Couleur : verte • Forme : ovale • Marge : dentelée • Longueur : 12 à 30 cm • Largeur : 3 à 9 cm • Persistantes 	<p>(Gilman et Watson, 1993 ; Lin et al., 1999 ; Ercisli et al., 2012)</p>
--	---	---

I-4 Classification

Eriobotrya japonica Lindl appartient à la famille des Rosacées et est classée comme suit :

- ✓ Règne : végétal
- ✓ Classe : Magnaliopsida
- ✓ Sous classe : Rosidés
- ✓ Ordre : Rosales
- ✓ Famille : Rosacées
- ✓ Sous famille :Maloideae
- ✓ Genre : Eriobotrya
- ✓ Espèce :Eriobotrya japonica Lindl (**Singh et al., 2023 ; Pareek et al., 2014**)

I-5 Noms vernaculaires

Eriobotrya japonica possède plusieurs noms communs qui sont mentionnés dans le tableau II ci-dessous :

Tableau II : Principaux noms vernaculaires d'*Eriobotrya japonica* L (**Lin et al., 1999**).

Langue	Nom
Anglais	Loquat
Français	néflier du Japon ; bibasse
Chinois	biba; luju; pi ba
Japon	bipa; biwa
Espagnol	Nisperojapones
Italie	Nisperojapones

Arabe	Zaroure
Kabyle	Heb lemlouk

I-6 Écologie et distribution géographique

Eriobotrya japonica est une plante subtropicale, prospère dans un climat doux avec des précipitations uniformes (650 à 1000 mm/an) et sans chaleur excessive, surtout pendant la maturation des fruits. Elle fleurit et fructifie jusqu'en hiver, nécessitant une température moyenne supérieure à 15 °C. Préférant les sols acides, elle pousse bien dans divers types de sols, notamment alluviaux légers, bien drainés, profonds et humides. Les meilleures zones de croissance sont proches de la mer (Sultan, 2017).

Cette espèce est native du sud-est de la Chine, mais elle est également cultivée dans diverses autres régions à travers le monde, notamment en Afrique du Sud, en Amérique du Sud, en Australie et en Californie figure 2. (Delfanian et al., 2015).

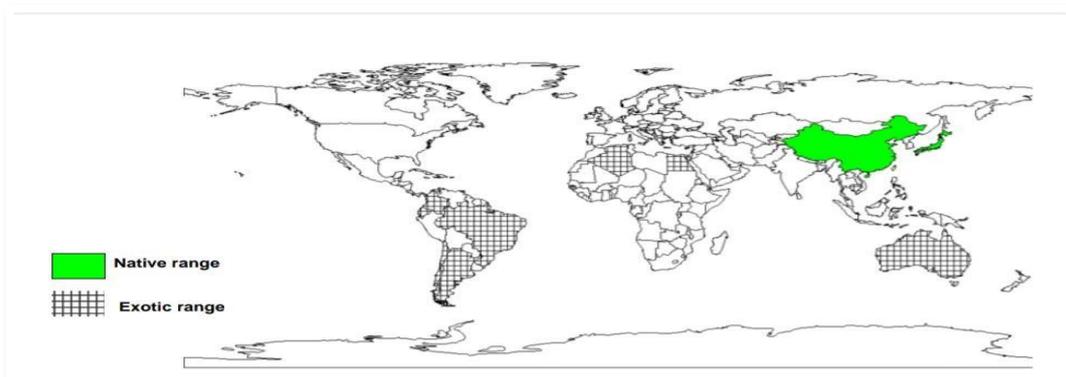


Figure 2 : Distribution géographique d' *Eriobotrya japonica* (Sultan, 2017) .

I-7 Composition biochimique

Une variété importante de composés phyto-chimiques a été identifiée dans les nèfles du Japon, comprenant des phénols, des alcaloïdes, des glycosides cardiaques, des flavonoïdes, du mucilage, des gommages et des phytostérols. La composition phyto-chimique des extraits des différents organes varie considérablement (Li et al., 2016) :

✓ Les fruits

Ils sont riches en composés actifs tels que des flavonoïdes, des vitamines, des phénols, des caroténoïdes et autres. L'Acide caféique, l'acide néochlorogénique, l'acide 4-o-caféoylquinique, l'acide chlorogénique ainsi que l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide proto-catéchique, l'acide ellagique, o-l'acide coumarique et l'acide férulique ont été identifiés dans les fruits mûrs du néflier du Japon comme composés phénoliques majeurs.

D'après **Shahi-Gharahlar et al., 2009** et **Singh et al., 2023**, la composition de la nêfle varie en fonction de la variété et du stade de maturité du fruit moyen, et contient :

- eau : 78,0 % ;
- glucides : 10,6 % ;
- fibres : 10,2 % ;
- matière grasse : 0,5 % ;
- protéines : 0,4 %
- et autres composants : 0,3 %.

✓ **Les graines**

Les graines du néfler sont enrichies en tanins, amidon, minéraux et protéines. Elles contiennent également des acides gras insaturés, tels que l'acide linoléique et linoléique, ainsi que des stérols végétaux, comme le β -sitostérol (**Nishioka et al., 2002**).

✓ **Les fleurs**

Elles sont abondantes en flavonoïdes et en composés phénoliques. (**Ibrahim, 2021**).

✓ **Les feuilles**

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* renferment une variété d'acides phénoliques tels que l'acide p- coumarique, gallique, caféique et ellagique, aussi bien que des flavonoïdes comme la quercétine, l'épicatéchine et la catéchine. En addition à ces composés, des tanins, des sesquiterpènes, des triterpènes et des glycosides mégastigmanes ont également été décelés (**Alshaker et al., 2011 ; Li et al., 2016 ; Shii et al., 2011**).

➤ **Les triterpènes**

Ils sont représentés par l'acides oléanolique (OA), l'acide ursolique (UA), l'acide corosolique (CA), l'acide tourmentique (TA) et l'acide maslinique (MA). Le (TA) reflète des propriétés normoglycémiques, anti-athérogènes, hypoglycémiques, anti-cancéreuses et anti-inflammatoires, et il contribue à réduire l'expansion des cellules musculaires lisses vasculaires. (**Ibrahim, 2021**).

➤ **Les sesquiterpènes**

Les sesquiterpènes sont des glycosides sesquiterpéniques caractérisés par la présence de nérolidol ou d'isohumbertiol sous forme d'aglycones, accompagnés de chaînes oligosaccharidiques ramifiées composées d'unités β -D glucopyranosyl et α -L-rhamnopyranosyl. (**Chen et Li, 2008 ; Ao et al., 2015**).

➤ **Les polyphénols**

Eriobotrya japonica offre une abondance en polysaccharides et en composés phénoliques polaires, comprenant notamment des procyanidines et des glycosides flavonoïdes (**Alshaker et al., 2011**).

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* L. contiennent divers polyphénols, notamment l'acide chlorogénique, l'acide 3-O-caféoylquinique, l'acide 4-O-caféoylquinique, l'acide 4-O-pcoumaroylquinique, la quercétine, l'isoquercitrine, la quercétine 3-O-sophorosides, le kaempférol 3-O-sophorosides, le kaempférol 3-O-a-rhamnopyranosyl (1 → 2)-β-D -glucopyranoside, la (2)-épicatéchine, la procyanidine B-2, la procyanidine C-1, le 1-O-féruoyl-β-D-glucopyranose et le 4-O-β-glucopyranosyl-cis-acide p-coumarique. (**Chen et Li, 2008 ; Hong et al., 2008**).

➤ **Les huiles essentielles**

L'huile essentielle des feuilles d'*Eriobotrya japonica* L inclue une multitude de composés, notamment le nérolidol, le farnesol, l'α-pinène, le β-pinène, le camphène, le β-myrcène, le p-cymène, le linalol, l'oxyde trans-linalol, l'α-ylangène, l'α-farnésène, le β-farnésène, le camphre, le nérol, le géraniole, l'α-cadinol et le cis-β, γ hexénol, représentant entre 61% et 74% de l'ensemble, le nérolidol étant prédominant (**Chen et Li, 2008**).

I-8 Activités biologiques

Le néflier est utilisé dans divers systèmes de santé pour traiter un éventail de troubles, y compris des maladies graves. Des études ont identifié plusieurs composés phytochimiques tels que les triterpènes, les sesquiterpènes, les flavonoïdes, les tanins et les glycosides de mégastigmane dans cette plante. Certains de ces composés ont montré des activités biologiques remarquables comme des propriétés anti-inflammatoires, anti-diabétiques, anti-oxydantes et anti-tumorales. Ces découvertes suggèrent que le néflier possède un fort potentiel en tant qu'agent thérapeutique naturel, exploitant efficacement les ressources naturelles pour le développement de traitements efficaces. (**Xochitl et al., 2014 ; Chen et Li, 2008**).

A/ Activité anti-diabétique

Le diabète est une condition métabolique marquée par une élévation du taux de sucre dans le sang, causée par un dysfonctionnement dans la sécrétion ou l'action de l'insuline, ou parfois par les deux simultanément (**Shafi et Tabassum, 2013**).

Des études chinoises sur les constituants chimiques du feuille *Eriobotrya japonica* ont révélé une activité anti-hyperglycémique. Cette propriété est principalement attribuée aux triterpénoïdes et aux glucosides sesquiterpéniques présents, qui stimulent les cellules β pancréatiques non endommagées pour augmenter la sécrétion d'insuline (**Chen et Li, 2008 ; Lin et al., 1999**).

B/ Activité anti-inflammatoire

Dans la médecine populaire chinoise, la feuille du néflier est utilisée depuis l'Antiquité pour traiter les maladies inflammatoires. Des études scientifiques modernes, utilisant divers modèles expérimentaux, ont confirmé les propriétés anti-inflammatoires des différents tissus du néflier du Japon tels que les feuilles, les graines et les fruits (**Liu et al., 2016**).

D'après de nombreuses recherches sur l'activité anti-inflammatoire du Folium *Eriobotrya*, il semble que les acides triterpéniques puissent être les principes biologiquement actifs. En 1986, **Shimizu et al.**, ont été les premiers à signaler cette activité. Leur étude a révélé que l'acide méthylchlorogénique, présent dans le Folium *Eriobotryae*, présente une forte capacité à inhiber l'activation du NF- κ B induite par le BHP. Cet effet se traduit par une réduction significative de la translocation de la sous-unité p65 du NF- κ B induite par le BHP.

C/ Activité anti-oxydante

Le néflier est riche en propriétés anti-oxydantes et constitue une importante source en antioxydants naturels (**Baljinder et al., 2010**).

L'acide méthylchlorogénique, un puissant composant anti-oxydant présent dans la feuille du néflier, démontre une capacité à inhiber l'activation du facteur nucléaire NF- κ B. Cette propriété est cruciale car le NF- κ B est sensible aux réactions d'oxydation rouge. L'isolement de l'acide méthylchlorogénique à partir de la feuille du néflier montre qu'il peut être un inhibiteur efficace de l'activation du NF- κ B (**Li et al., 2016 ; Xochitl et al., 2014**).

L'acide chlorogénique, la quercétine-3-sambubioside, le chlorogénate de méthyle, le kaempférol-3-rhamnoside et la quercétine-3-rhamnoside, tous isolés à partir d'extraits des feuilles du néflier, ont montré une activité inhibitrice significative contre la génération de radicaux libres (**Liu et al., 2016**).

D/ Activité anti-cancéreuse

Les extraits du néflier ont également démontré des propriétés de protection contre le cancer sur diverses lignées cellulaires. Des études scientifiques récentes ont exhibé que ces extraits peuvent influencer les protéines et les gènes impliqués dans la carcinogenèse, en supprimant la progression du cancer à différentes étapes, telles que l'initiation, la prolifération et les métastases (**Liu et al., 2016**).

E/ Activité anti-virale

Les composés chimiques trouvés dans la plante, notamment l'acide oléanolique, l'acide pomolique et les triterpénoïdes, similaires sur le plan structural, possèdent également des propriétés anti-virales contre le VIH. Les dérivés de l'acide 3-O-acyl ursolique ont exhibé leur efficacité contre le virus du SIDA (**Baljinder et al., 2010**).

F/ Autre activités

Les extraits d'*Eriobotrya japonica* ont été efficaces dans la protection de plusieurs organes et systèmes comme les reins, le foie, les poumons et les cellules neuronales. Les extraits du néflier du Japon ont également exhibé des bénéfices appréciables, incluant des effets anti-obésité et hypo-lipidémiques, une activité anti-thrombotique, des propriétés anti-âge, anti-allergiques ainsi que des actions anti-nociceptives (**Sagar et al., 2020**).

Chapitre 02

Description théorique des activités à tester

II-1 Radicaux libres et stress oxydant

II-1-1 Radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome avec un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend très réactif et lui donne une durée de vie très courte. Il cherche constamment à capter un électron pour devenir plus stable (**Goudable et Favier, 1997**).

II-1-2 Les principales espèces ERO dans les systèmes biologiques :

Les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les systèmes biologiques sont répertoriées dans le tableau III.

Tableau III : Les ERO et les (ERN).

Espèces réactives	Propriétés	Référence
O ₂ ^{·-} anion Superoxyde	peut attaquer les centres positivement chargés et réagir avec des donneurs d'hydrogène	(Pisoschi et Pop, 2015)
H ₂ O ₂ Peroxyde d'hydrogène	En présence de métaux de transition comme le fer (Fe) et le cuivre (Cu), le H ₂ O ₂ forme des radicaux hydroxyles (HO [·]) très réactifs par la réaction de Fenton	(Birben et al., 2012)
OH [·] Radical Hydroxyle	Le radical hydroxyle (OH [·]), produit à partir du H ₂ O ₂ lors de la réaction de Fenton avec le le Fe ²⁺ ou le Cu ⁺ , est l'espèce la plus réactive pour attaquer les molécules biologiques. $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{OH}^{\cdot} + \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^-$	(Goudable et Favier, 1997)
O ₂ oxygène Singulet	Cela se forme lorsque l'oxygène est sous haute pression et exposé aux rayons UV	(Chu et al., 2010)
NO [·] Nitrique oxyde	le NO [·] présente une réactivité moins prononcée et peut se diffuser sur des distances plus importantes, allant jusqu'à quelques microns, avant de réagir	(Rodrigo et al., 2002)
ONOO ⁻ Peroxynitrite	Produit dans les neutrophiles, il exerce sa toxicité par des réactions d'halogénéation et d'oxydation	(Lismont et al., 2015)

II-1-3 Stress oxydant

Le stress oxydant résulte de perturbations prolongées de l'équilibre naturel entre radicaux libres et antioxydants, ce qui entraîne des effets nocifs dus à une faible capacité de défense anti-oxydante ou à une augmentation de l'activité oxydative, appelée également stress oxydant. (**Berger, 2006**).

II-1-4 Définition d'un anti-oxydant

Les anti-oxydants regroupent différentes enzymes (comme le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase) et non enzymatique (comme la séquestration des métaux) ainsi que de petites molécules liposolubles (comme la vitamine E, le β -carotène) ou hydrosolubles (comme la vitamine C, l'acide urique). Selon **Halliwell**, une définition étendue du terme anti-oxydant est : « Toute substance qui, à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient fortement l'oxydation de ce substrat ». Un anti-oxydant, en tant qu'additif alimentaire, est une substance qui préserve les aliments des réactions d'oxydation qui accélèrent le processus du vieillissement. Cela est principalement causé par l'oxygène présent dans l'air, la lumière, les résidus de métaux et éventuellement certaines enzymes (**Lassaad et Christian, 2014**).

II-1-5 Types d'antioxydants

L'organisme développe des moyens de défense à travers des systèmes enzymatiques et d'autres non enzymatiques (**Hénaff, 2006**).

➤ Les anti-oxydants enzymatiques

a. La superoxyde dismutase (SOD)

La dismutation de l' $O_2^{\cdot -}$ en dioxygène et H_2O_2 est catalysée par la SOD selon la formule suivante: (**Afonso et al., 2007 ; Belli et al., 2010**).



b. Glutathions peroxydases

Les peroxydases de glutathion permettent de convertir le H_2O_2 en H_2O en même temps que l'oxydation du glutathion (**Hemmadi, 2016**).



c. La catalase

Le peroxyde d'hydrogène est transformé en eau et en oxygène moléculaire par la catalase ; d'après la réaction qui suit : (**Griveau et Le Lannou, 1995 ; Matés et al., 1999**).



➤ **Anti-oxydants non enzymatiques**

a. Vitamine C

Hydrosoluble, l'acide ascorbique possède une capacité anti-oxydante à la fois au niveau intracellulaire et extracellulaire, principalement, en éliminant les radicaux libres d'oxygène en phase aqueuse (**Birben et al., 2012**). Il est le cofacteur de diverses enzymes et agit comme un agent réducteur (**Tessier et Marconnet, 1995**).

b. Vitamine E

La vitamine E qui est liposoluble, se trouve dans le site hydrophobe intérieur de la membrane cellulaire et joue un rôle essentiel dans la protection contre les dommages membranaires causés par les oxydants. L'apoptose des cellules cancéreuses est déclenchée par la vitamine E, qui inhibe la production de radicaux libre (**Birben et al., 2012**).

c. Oligoéléments

Le sélénium joue un rôle clé dans la GPx (**Tessier et Marconnet, 1995**) ; alors que, le zinc et le cuivre sont des cofacteurs de la SOD (**Pincemail et al., 2002**).

d. Caroténoïdes

Les radicaux libres comme les peroxydes (ROO·), les hydroxydes (OH·), et les superoxydes (O₂·-) sont capables d'engager des interactions. (**Birben et al., 2012**).

e. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules polyphénols (c'est-à-dire avec plusieurs groupes hydroxyles sur les cycles aromatiques), mais aussi des molécules monophénols (c'est-à-dire avec un seul cycle phénol), tels que les acides phénoliques/alcools phénoliques (**Ignat et al., 2011**).

Les végétaux constituent des sources abondantes en composés phénoliques, des molécules qui peuvent jouer un rôle d'anti-oxydants afin de prévenir les maladies cardiaques, diminuer l'inflammation, diminuer l'incidence des cancers et du diabète. Les principales classes de ces composés sont représentées dans le tableau IV (**Khoddami et al., 2013**).

Tableau IV : les différentes classes de polyphénols:

Classe	Sous classe	Références
Acides phénoliques	Acide hydroxybenzoïque	(Brglez et al., 2016)
	Acide hydroxycinnamique	

Flavonoïdes	Flavones	(Narayana et al., 2001)
	Flavonols	
	Flavonones	
Tanins	Tanins hydrolysables	(Ignat et al., 2011)
	Tanins condensés	

II-1-6 Mécanismes de l'activité anti-oxydante des polyphénols

A/ Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes peuvent capturer les radicaux libres en générant des radicaux flavoxyles, moins réactifs, selon la réaction suivante (Pietta, 2000) :



Le radical flavoxyyle (FLO[•]) formé subit des transformations structurales par résonance, redistribuant l'électron célibataire sur le noyau aromatique, ce qui aboutit à des molécules moins réactives par rapport au radical R[•]. Par ailleurs, les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs (Dorman et al., 2003).

B /Chélation des métaux

Le fer et le cuivre, impliqués dans la génération de radicaux libres, peuvent être complexés par des chélateurs. Ces chélateurs se lient aux métaux en utilisant des sites spécifiques sur les flavonoïdes, notamment le fragment catéchol dans le cycle B, les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo dans le cycle hétérocyclique, ainsi que les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles hétérocyclique et A figure 5. (Pietta, 2000 ; Josiane et Pierre, 2006).

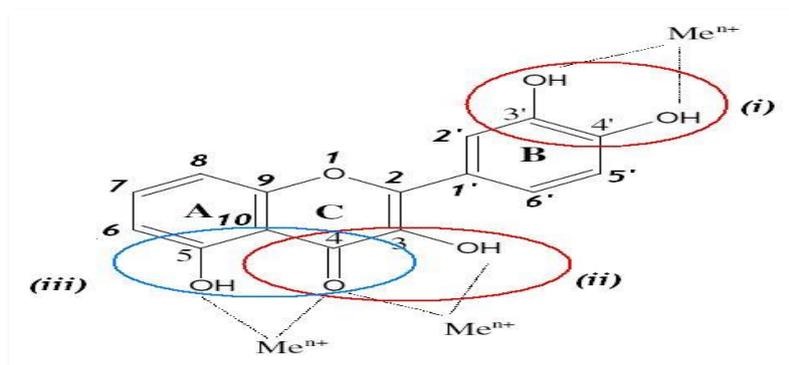


Figure 3: Les trois sites essentiels des flavonoïdes impliqués dans la chélation des ions métalliques (Pietta, 2000).

C/ Inhibition enzymatique

Les flavonoïdes inhibent des enzymes telles que la xanthine oxydase et la protéine kinase C, responsables de la production d'anions superoxydes. Ils inhibent également la cyclooxygénase, la lipoxygénase, la monooxygénase microsomale, la glutathion S-transférase, la succinoydase mitochondriale et la NADH oxydase (Pietta, 2000).

II-2 L'inflammation et les anti-inflammatoires

II-2-1 Généralités sur l'inflammation

L'inflammation est un mécanisme de défense naturel des organismes contre diverses agressions externes telles que les infections, les blessures et les allergies. Son rôle principal est d'éliminer les agents pathogènes et de favoriser la réparation des tissus lésés (Youbaré-Ziébro et al., 2016).

L'inflammation est un processus dynamique caractérisé par une série de réactions vasculaires, cellulaires et humorales. Elle se manifeste par quatre signes principaux : la rougeur, l'œdème, la chaleur et la douleur. Ces signes résultent d'une augmentation du flux sanguin et de la perméabilité capillaire. Cela permet aux composants tels que les compléments, les anticorps et les cytokines de traverser la barrière endothéliale et de favoriser la migration des leucocytes vers le tissu lésé, contribuant ainsi à la réparation de la lésion (Figure 6). (Zeghal et Sahnoun, 2013 ; Youbaré-Ziébro et al., 2016).

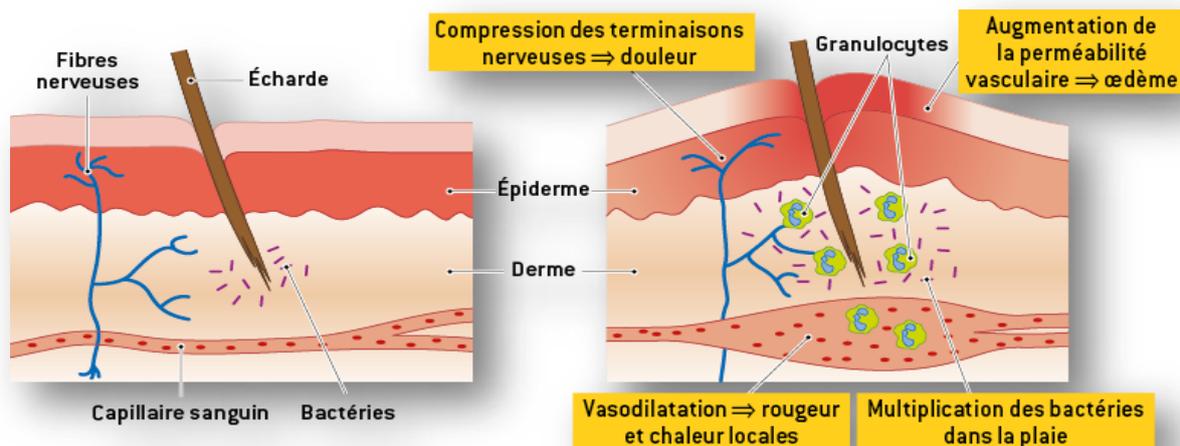


Figure 4 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire (Youbaré-Ziébro et al., 2016)

II-2-2 Les cellules de l'inflammation

Les principales cellules qui jouent un rôle crucial dans les différentes phases de l'inflammation incluent :

- ✓ Les cellules endothéliales du réseau de la microcirculation, en particulier des capillaires et veinules
- ✓ Les cellules sanguines transportées par le sang: plaquettes, neutrophiles, éosinophiles, basophiles, monocytes et lymphocytes.
- ✓ des cellules du tissu conjonctif : mastocytes, histiocytes et fibroblastes.

Ces cellules coopèrent entre elles en séquences successives grâce à la production de médiateurs pro-inflammatoires libérés dans le sang ou le tissu conjonctif telles que les enzymes, cytokines, immunoglobulines (**diebold et al., 1995**).

II-2-3 Les types de l'inflammation

L'inflammation peut se présenter de deux manières : soit comme un processus aigu (à court terme), soit comme un processus chronique (à long terme) (**Xu et Larbi, 2018**).

➤ L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë représente la réaction immédiate de l'organisme face à un agent agresseur. Ces symptômes sont associés aux effets des substances inflammatoires présentes sur le site de l'agression (**Dallegrì et Ottonello, 1997 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018**). Les inflammations aiguës peuvent guérir spontanément ou avec un traitement, mais elles peuvent laisser des séquelles si elles entraînent une importante destruction tissulaire (**Youghbaré-Ziébrou et al., 2016**).

➤ L'inflammation chronique

L'inflammation chronique se produit lorsque l'inflammation aiguë échoue et elle est associée à de nombreuses pathologies. Elle se caractérise par une infiltration progressive et persistante de cellules vers le site inflammatoire, accompagnée d'une destruction simultanée des tissus. Cela peut conduire à diverses maladies chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (**Noack et Kolopp-Sarda, 2018**).

L'inflammation chronique peut causer des douleurs persistantes en affectant les terminaisons nerveuses sensibles à la douleur. Les médiateurs inflammatoires diminuent les seuils d'excitabilité neuronale et augmentent la sensibilité des nerfs, provoquant ainsi une sensibilisation tant au niveau périphérique que central (**Zhang et al., 2023**).

II-2-4 Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires appartiennent à différentes classes chimiques et agissent principalement pour soulager les symptômes. Ils sont utilisés dans divers domaines de la médecine pour réguler la réponse excessive et non spécifique des tissus, afin d'éviter que l'inflammation aiguë ne devienne chronique (**Muster, 2005**).

II-4-5 Classification des différents anti-inflammatoires

A. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (A.I.S)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, tels que les corticoïdes, agissent en bloquant l'enzyme, la phospholipase A2. Cette enzyme est responsable de la libération de l'acide arachidonique à partir des membranes cellulaires. En inhibant cette enzyme, les corticoïdes préviennent la formation de leucotriènes, de prostaglandines et de thromboxane A2, substances essentielles dans le processus inflammatoire (**Dolci et al., 2020**).

B. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens regroupent diverses molécules ayant des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Leur mécanisme d'action est généralement similaire : ils inhibent l'activité des cyclooxygénases (COX), enzymes nécessaires à la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Il existe deux isoformes de la COX : la COX-1, une enzyme constitutive exprimée dans la plupart des tissus, et la COX-2, également constitutive dans certains tissus mais induite lors de processus inflammatoires (**Orliaguet et al., 2013**).

Partie II

Partie expérimentale

Nous présentons dans cette partie les travaux expérimentaux réalisés au niveau du laboratoire de biologie physico-chimique de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Abderrahmane-Mira de Bejaia.

I-1 Matériel végétal

Le matériel utilisé dans cette étude est constitué des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, qui ont été récoltées en février, 2024, à la commune de Boukhlifa de la wilaya de Bejaia. Après la récolte, les feuilles ont été lavées soigneusement à l'eau courante afin de se débarrasser de la poussière et d'autres particules. La plante a été par la suite séchée à l'abri de la lumière pendant 21 jours ; ensuite, broyée à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine. La poudre est passée à travers un tamis en acier inoxydable de 125 μm . Cette poudre a été conservée dans des flacons fermés, recouverts de papier aluminium.



Figure 5:La poudre des feuilles de la plante *Eriobotrya japonica* (**Photo originale**).

I-2 Méthodes

I-2-1 Extraction des composés phénoliques

L'extraction représente la phase essentielle dans l'obtention d'un extrait brut de composés bioactifs à partir de matières végétales. Les exigences et les méthodes d'extraction varient selon les types de végétaux ; visant à maximiser la récupération des composés phénoliques qui présentent des particularités propres à chaque plante (**Zulkifli et al., 2020**).

Afin d'obtenir des composés phénoliques distincts, une extraction solide-liquide (S-L) sélective a été réalisée en utilisant quatre rapports « 1:2 ; 1:5 ; 1:10 ; 1:15 g/ml (S/L) » (**Annexe 1**). La quantité de poudre a été fixée à 20 g. En se servant de l'éthanol 96 % comme

extractant, l'éthanol est utilisé pour extraire les composés phénoliques figure 6 (Sai-Ut *et al.*, 2023).

❖ Mode opératoire

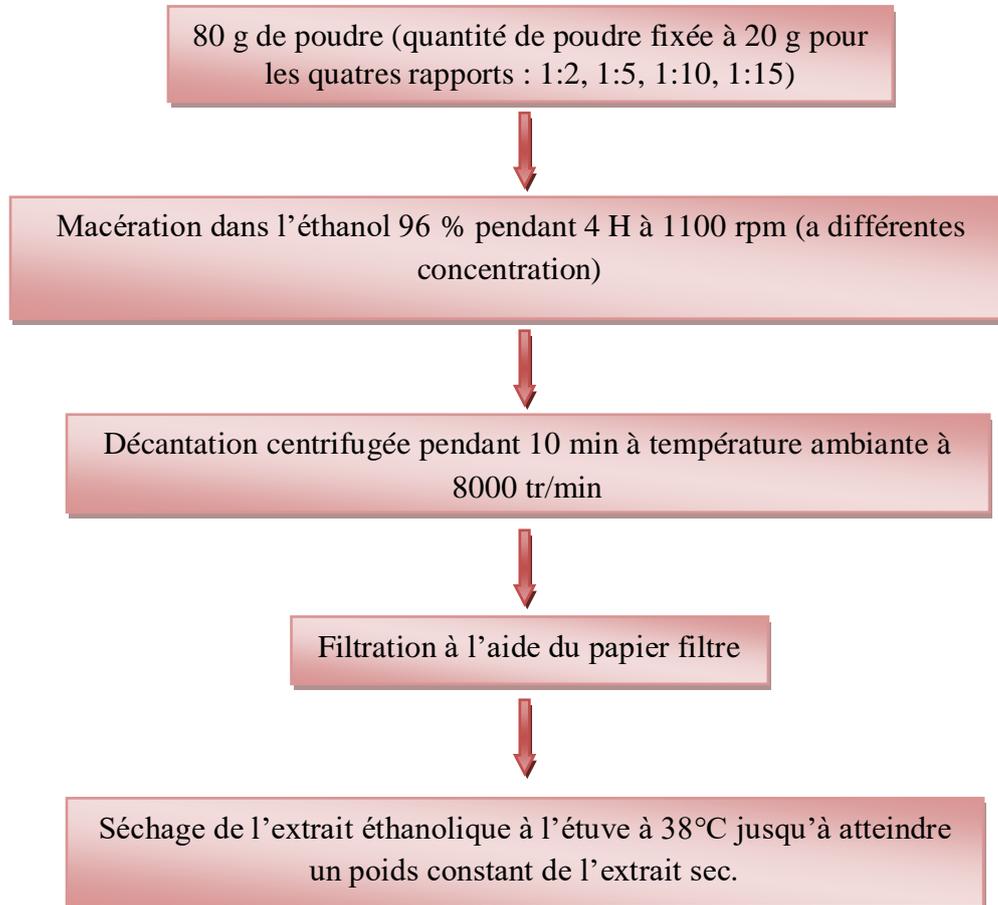


Figure 6: Le protocole d'extraction des composés phénoliques (Mbatchou *et al.*, 2010).

✓ Calcul du rendement

Le taux d'extraction de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (TE)} = \left(\frac{P - P_0}{\text{poids de la poudre}} \right) * 100$$

P_0 : poids vide de la boîte pétri.

P : poids après évaporation du solvant.

I-2-2 Screening phyto-chimique

Pour détecter la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux métabolites primaires et secondaires, des tests phyto-chimiques spécifiques, basés sur des réactions de

coloration, de turbidité ou de précipitation, ont été entrepris, en suivant les méthodes décrites dans la littérature spécialisée (**Haddouchi et al., 2018**).

D'après **Daira et al., 2016**, les résultats sont présentés selon le degré de la couleur (**Annexe 4**) :

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

Les différents tests de détection sont décrits ci-dessous :

✓ **Terpénoïdes**

En mélangeant 5 ml d'extrait avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré, le liquide forme deux phases distinctes, avec une zone intermédiaire montrant une coloration marron, révélant ainsi la présence de terpénoïdes (**Shabbir et al., 2013**).

✓ **Tanins**

En ajoutant 1 ml d'extrait à analyser à 0,5 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 1 %, la présence de tanins est révélée par un changement de couleur vers le vert ou le bleu-noir (**Kumar et al., 2014**).

✓ **Alcaloïdes**

Afin de tester la présence d'alcaloïdes avec le réactif de Dragendorff, 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec 0,5 ml du réactif de Dragendorff. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc ou brun (**Akré et al., 2022**).

✓ **Saponines (Test de mousse)**

Il consiste à verser 2 ml de chaque extrait dans un tube à essai et compléter avec 5 ml d'eau distillée. Les tubes sont agités pendant 15 secondes en les inclinant, puis laissés reposer pendant 20 minutes. Un résultat positif est confirmé si une couche de mousse de plus de 1 cm se forme (**Haddouchi et al., 2018**).

✓ **Mucilages**

En ajoutant 1 ml de chaque extrait à 5 ml d'éthanol, la détection des mucilages est signalée par l'apparition d'un précipité floconneux (**El-Haoud et al., 2018**).

✓ **Glycosides cardiaques**

En mélangeant 5 ml de chaque extrait avec 2 ml d'acide acétique glacial, une goutte de FeCl_3 et 1 ml d'acide chlorhydrique, la présence de ce type de métabolites secondaires est détectée par l'apparition d'un anneau marron-violet ou vert à l'interface (**Shabbir et al., 2013**).

✓ Flavonoïde

En traitant 1 ml de chaque extrait avec quelques gouttes de NaOH pure et également d'HCl pure, la présence de flavonoïdes est révélée par l'apparition d'une coloration verte jaunâtre (**Dharmalingam et Nazni, 2013**).

✓ Acides aminés

Lorsque 1 ml d'extrait est ajouté à une solution de Ninhydrine à 10 %, la présence de composés réactifs est indiquée par l'apparition d'une coloration violette (**Chitrali et al., 2019**).

✓ Protéines

En ajoutant quelques gouttes de réactif de Folin-Ciocalteu à 1 ml de chaque extrait, la présence de protéines est détectée par l'apparition d'une couleur verte (**Chitrali et al., 2019**).

✓ Anthocyanines

1 ml de chaque extrait a été mélangé avec 1 ml d'alcool chlorhydrique et 1 ml d'alcool iso-amyle, puis le mélange a été chauffé pendant 15 minutes dans un bain-marie bouillant. la présence d'anthocyanines est indiquée par l'apparition d'une couleur marron (**Harborne, 1998**).

I-2-3 Dosage des composés phénoliques

Dans le but d'évaluer de manière qualitative et quantitative le contenu en composés phénoliques des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, trois protocoles distincts ont été mis en œuvre pour mesurer les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

A. Dosage des phénols totaux

Le réactif de foline ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque les phénols s'oxydent, ce réactif est réduit pour former un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration résultante, dont l'absorption maximale se situe à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

❖ Mode opératoire

Le protocole utilisé par **Yap et al., 2009** pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la figure n°7.

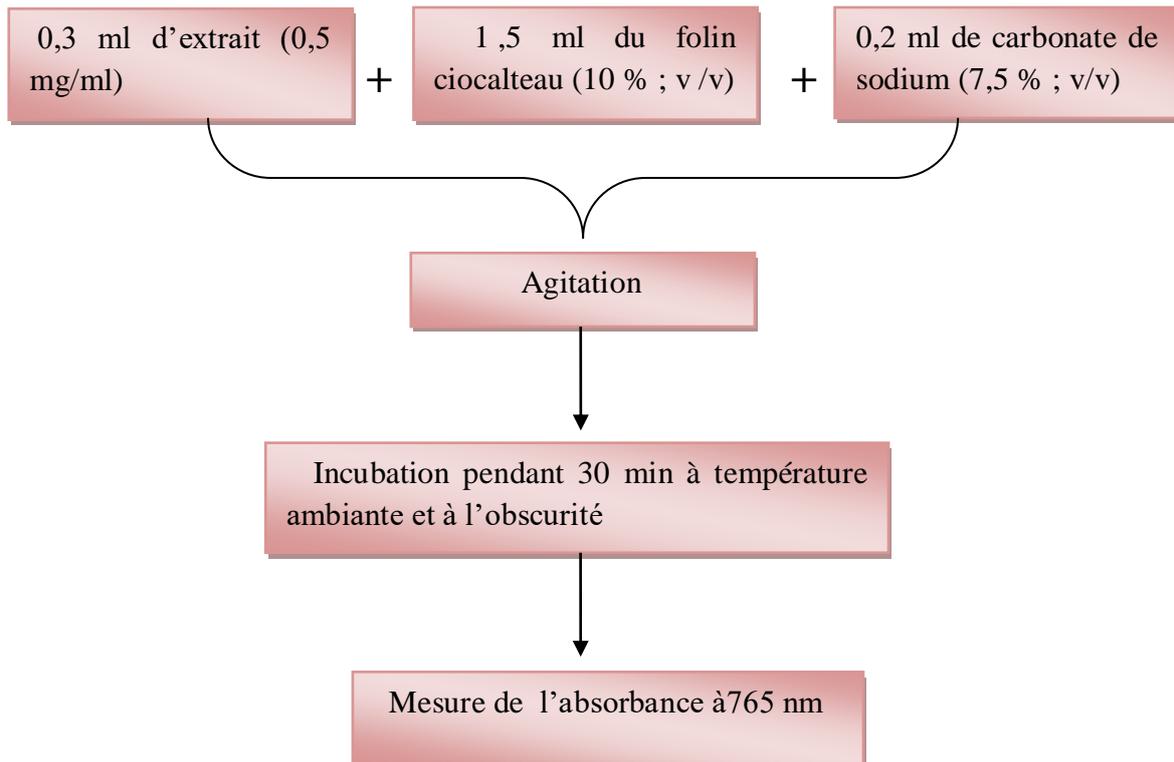


Figure 7 : Protocole de dosage des composés phénoliques (Yap *et al.*, 2009).

NB :

- **Préparation du blanc :** 0,3ml de méthanol + 1,5ml de folin-ciocalteau + 0,2 de carbonate de sodium.

❖ **Expression des résultats**

Les concentrations phénols totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

B. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée à l'aide d'une méthode basée sur leur réaction avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes possèdent un groupe hydroxyle libre en position 5 qui, en présence de chlorure d'aluminium, forme un complexe jaunâtre par chélation avec l'ion Al^{3+} . L'intensité de la coloration jaune observée est directement proportionnelle à la concentration de flavonoïdes présents dans l'extrait. (Ali-Rachedi *et al.*, 2018).

❖ **Mode opératoire**

Nous avons suivi le protocole décrit par **Abdou et al** en **1992** pour doser les flavinoïdes dans nos extraits, en y apportant quelques modifications figure n°8.

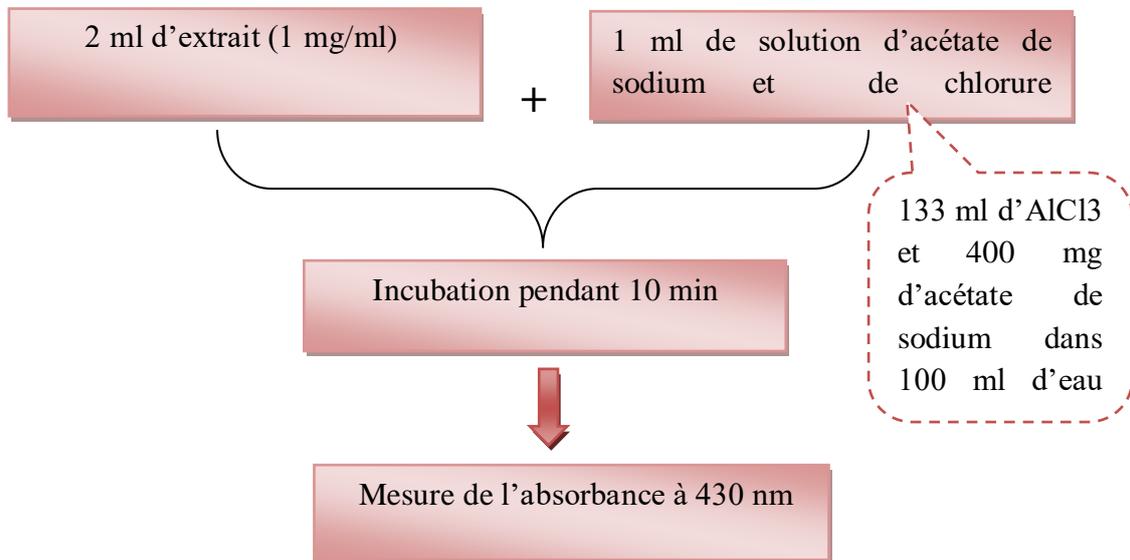


Figure 8 : Protocole de dosage des flavonoïdes (**Abdou Bouba et al.,1992**).

NB:

- **Préparation du blanc pour chaque extrait** : 2 ml de solution d'extrait (1 mg/ml) + 1 ml d'eau distillée.

❖ **Expression des résultats**

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

C. Dosage des tanins condensés (Proanthocyanidines)

La méthode de la vanilline repose sur la réaction de cette dernière avec les tanins condensés, entraînant la formation de complexes colorés spécifiques d'un rouge prononcé, dont l'intensité peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm (**Schofield et al., 2001 ; Ayda et Ridha, 2012**).

❖ **Mode opératoire**

Le protocole que nous avons suivi pour le dosage de tanins condensés contenus dans nos extraits est celui décrit par **Oyedemi et Afolayan, 2011** avec quelques modifications figure n°9

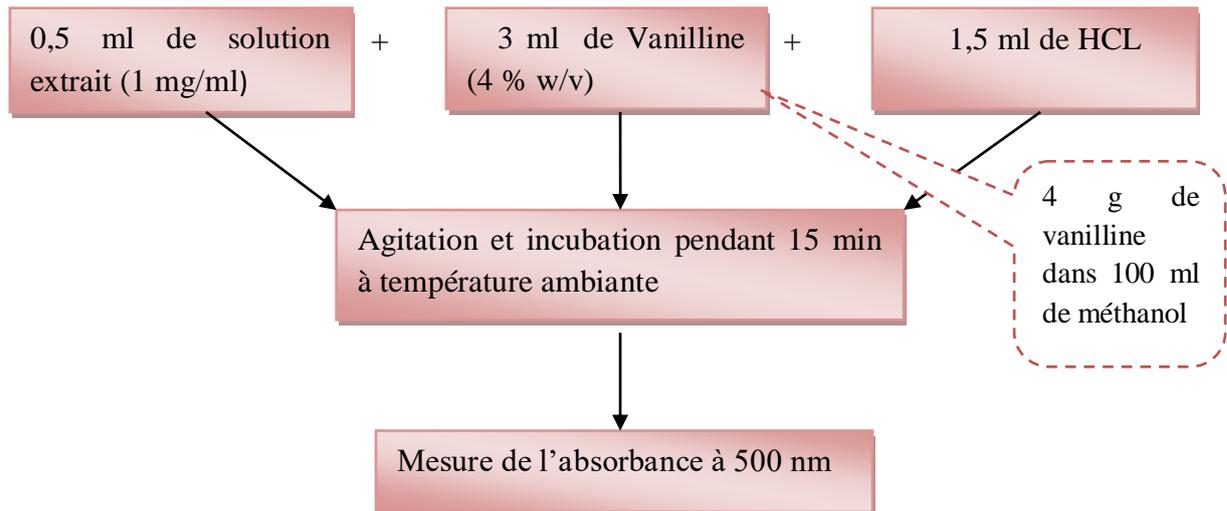


Figure 9: Protocole de dosage des Proanthocyanidines (Oyedemi et Afolayan, 2011).

NB :

- **Préparation du blanc d'extrait** en remplaçant la vanilline par le méthanol.
- ❖ **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 et est exprimée en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g d'extrait sec).

I-2-4 Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits

Plusieurs tests ont été développés pour évaluer l'activité anti-oxydante totale. Chaque méthode implique la création d'un radical spécifique qui agit à travers différents mécanismes (Re et al., 1999).

A. Activité « scavenging » du radical DPPH[•]

Le test de piégeage des radicaux DPPH[•] est une méthode couramment utilisée pour évaluer la capacité des extraits de plantes médicinales à neutraliser les radicaux libres. Le DPPH est un radical stable, il absorbe dans la gamme de 517-528 nm et contribue à l'évaluation de l'activité anti-oxydante. Lorsqu'il capture un électron ou un radical hydrogène, il passe du violet au jaune figure 10 (Gadamsetty et al., 2013).

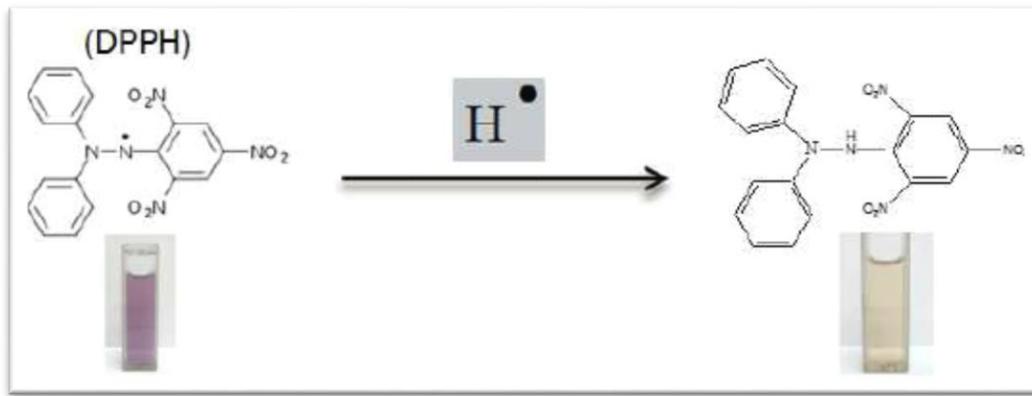


Figure 10: Solution contenant le radical DPPH. avant et après l'ajout de l'échantillon à tester (Cahyana *et al.*, 2015).

❖ Mode opératoire

Nous avons évalué l'effet de scavenging des extraits d'EJ sur le radical DPPH en utilisant une méthode basée sur le protocole de Hemalatha *et al.* 2010, avec des ajustements notés dans la Figure n° 11

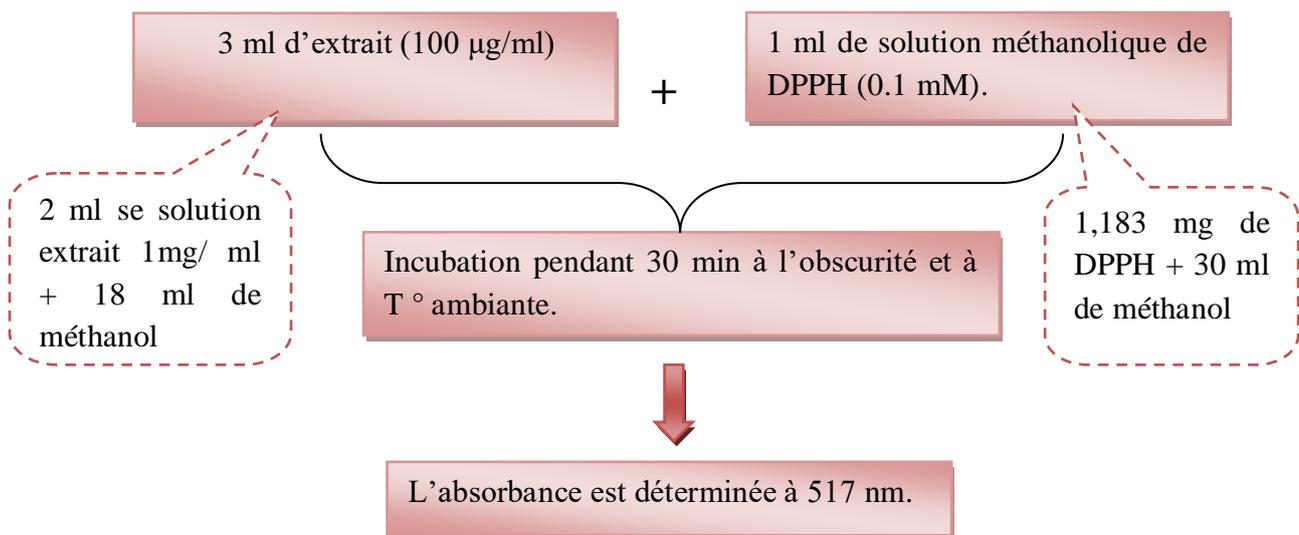


Figure 11 : Protocole de l'activité scavenging du radical DPPH* (Hemalatha *et al.*, 2010).

NB :

- **Préparation du blanc général :** 3 ml de méthanol + 1 ml de solution DPPH.
- **Préparation du blanc d'extrait :** 3 ml d'extrait + 1 ml de méthanol.

❖ Expression des résultats

Le pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH* a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ scavenging du radical DPPH}\bullet = (\text{AC} - \text{AE} / \text{AC}) * 100.$$

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'échantillon ((Absorbance de test (échantillon+ DPPH) - Absorbance du blanc d'extrait (échantillon + méthanol)).

A. Test de l'activité scavenging du radical ABTS^{•+}

La méthode ABTS est un test de décoloration qui étudie comment les anti-oxydants réagissent avec les radicaux cationiques ABTS, produits chimiquement. Le radical ABTS^{•+} est basé sur l'azote. Lors de ce test, la décoloration résulte de la conversion de la forme radicalaire de couleur bleu-vert caractéristique, après réduction par les anti-oxydants, à la forme non radicalaire incolore (ABTS). Cette méthode mesure la capacité de capture en analysant l'absorbance du mélange antioxydant-radical à 734 nm, à un moment donné, en utilisant un spectrophotomètre (Moore et Yu, 2007).

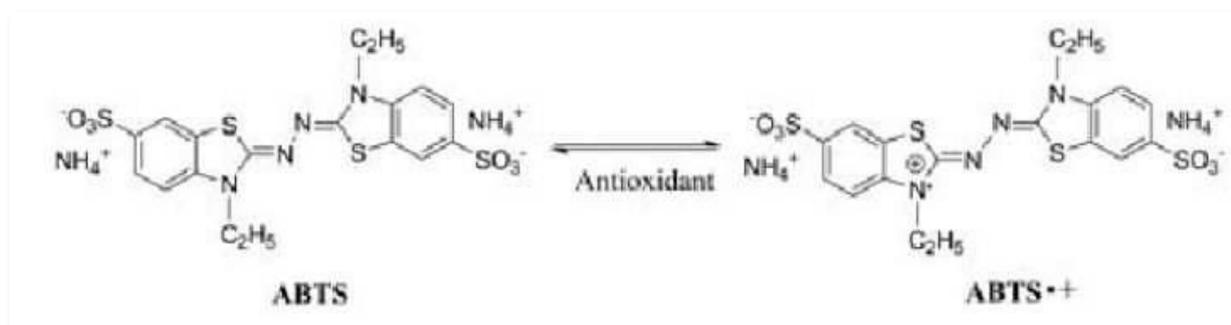


Figure 12 : Mécanisme de la réaction de l'ABTS et du radical oxygéné (ABTS^{•+}) (Dong et al., 2015).

❖ Mode opératoire

Nous avons évalué l'activité de scavenging du radical cation ABTS^{•+} de notre extrait en suivant le protocole de Le et al. 2007, avec des ajustements spécifiques. Les étapes de cette méthode sont illustrées dans la Figure^o 13.

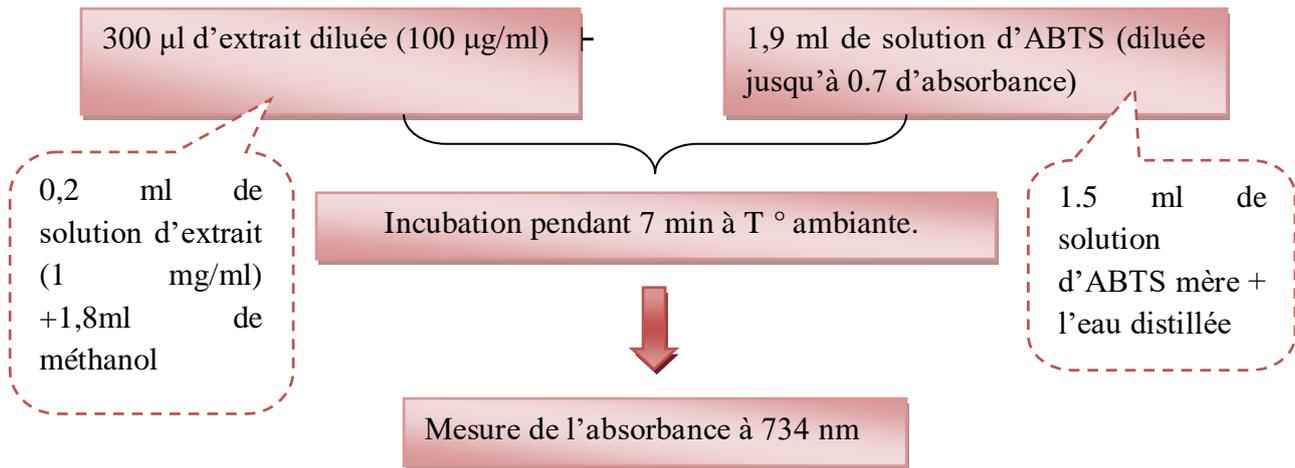


Figure 13 : Protocole de l'activité scavenging du radical-cation $ABTS^{\bullet+}$ (Le et al., 2007).

NB :

- **Préparation du contrôle :** 300 µl de méthanol + 1,9 ml d'ABTS diluée.
- **Préparation de la solution ABTS :** La solution d'ABTS mère a été préparée en mélangeant 36 mg de l'ABTS (7 mM) avec 6,62 mg de persulfate de potassium (2.4 mM) dans 10 ml d'eau distillée ; le mélange est ensuite incubé pendant 16 h à l'obscurité pour être à la fin prêt à l'utilisation.
- **Préparation du standard :** 300 µl de solution Trolox + 1,9 ml d'ABTS diluée
- ❖ **Expression des résultats**

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

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

AC : absorbance du contrôle.

AE : absorbance du test.

I-2-5 Test de toxicité *in vitro* « hémolyse »

Avant d'évaluer l'effet anti-hémolytique des extraits, il est indispensable d'effectuer un test d'innocuité.

✚ Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang prélevé dans des tubes héparinés à partir d'un donneur sain est utilisé pour préparer la suspension érythrocytaire figure n°14

❖ **Mode opératoire**

Récupérer le sang dans des tubes héparinés

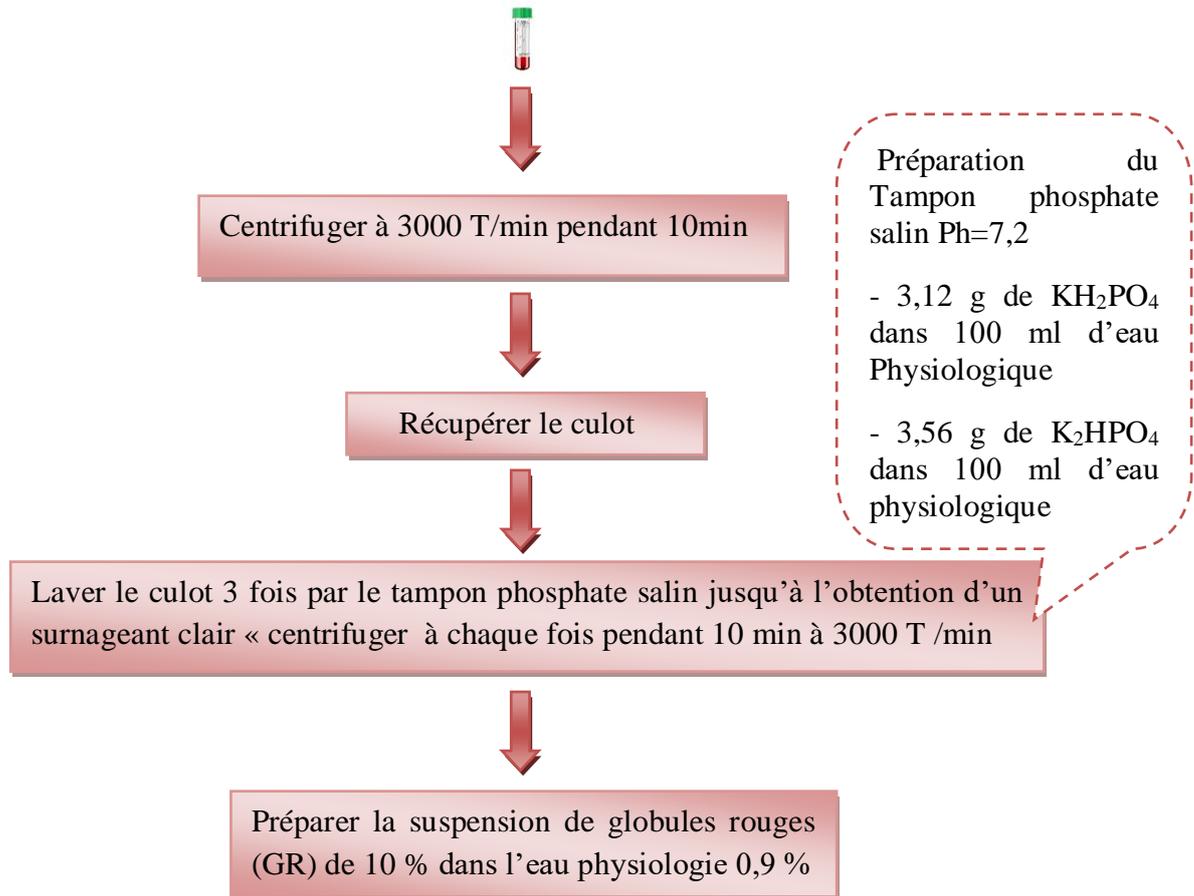


Figure 14 : Protocole de préparation de la suspension érythrocytaire (Shital et Zia 2018)

❖ Mode opératoire

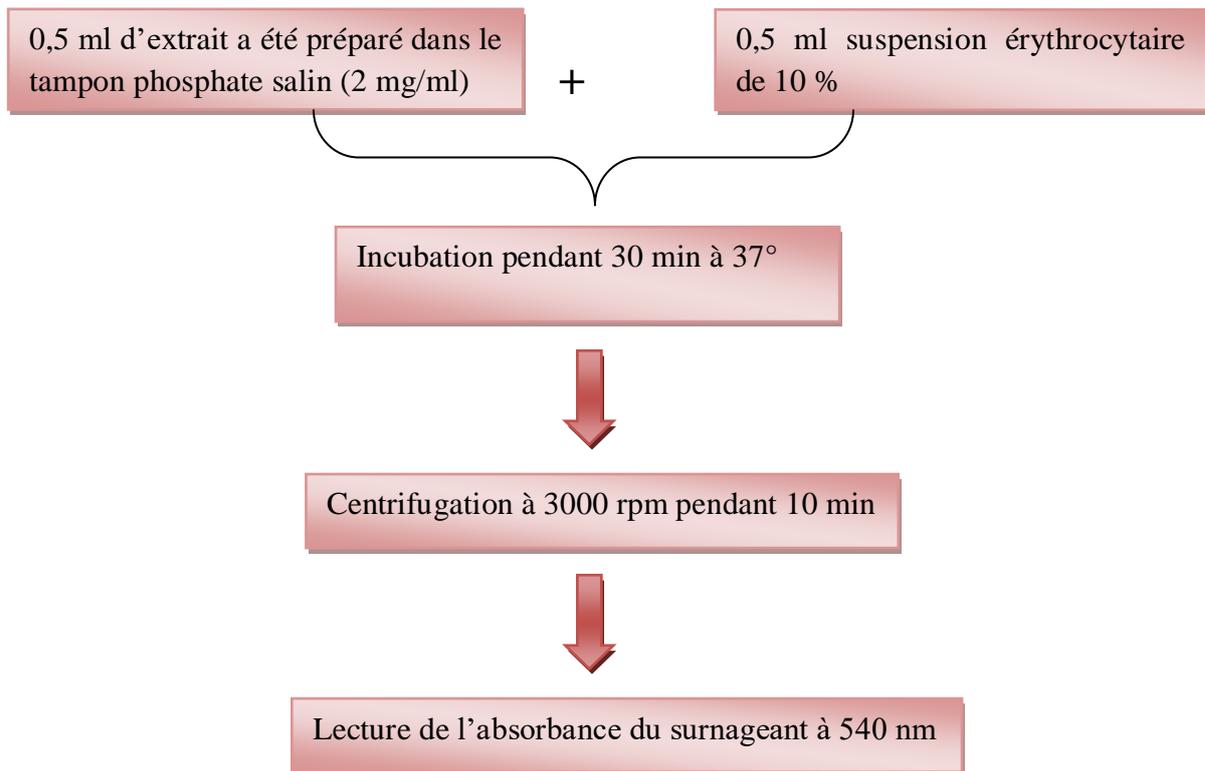


Figure 15 : Protocole du test d'hémolyse (Fetni et Bertella, 2020).

Nb

- **Préparation du blanc d'extrait** : 0,5 ml d'extrait + 0,5 de NaCl (0,9 %).
- **Préparation des contrôles**

Positif (+) : 0,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de GR & **négatif (-)** : 0,5 ml de tampon phosphate salin et 0,5 ml de GR.

- **Préparation des standards**
 - 0,5 ml d'acide gallique (1 mg/ml) + 0,5 ml de suspension de GR.

❖ Expression des résultats

Le pourcentage d'hémolyse de chaque extrait est calculé comme indiqué ci-dessous :

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

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

Doc- : Densité du contrôle négatif.

Doc+ : Densité du contrôle positif.

I-2-6 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

.Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits éthanoliques des feuilles d'*Eriobotrya Japonica*, des tests ont été réalisés en utilisant la méthode de stabilisation des membranes des érythrocytes humains

A. Stabilisation de la membrane des érythrocytes humains

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité des quatre extraits éthanoliques de la plante *Eriobotrya japonica* à prévenir l'hémolyse des globules rouges et la libération d'hémoglobine (Gadamsetty et al., 2013). Le test repose sur l'effet des extraits éthanoliques des plantes étudiées sur la stabilisation des érythrocytes, après avoir induit l'hémolyse par une solution hypotonique à température élevée (Ganesh et al., 2013).



Préparation de la suspension érythrocytaire

Récupérer le sang dans des tubes héparinés

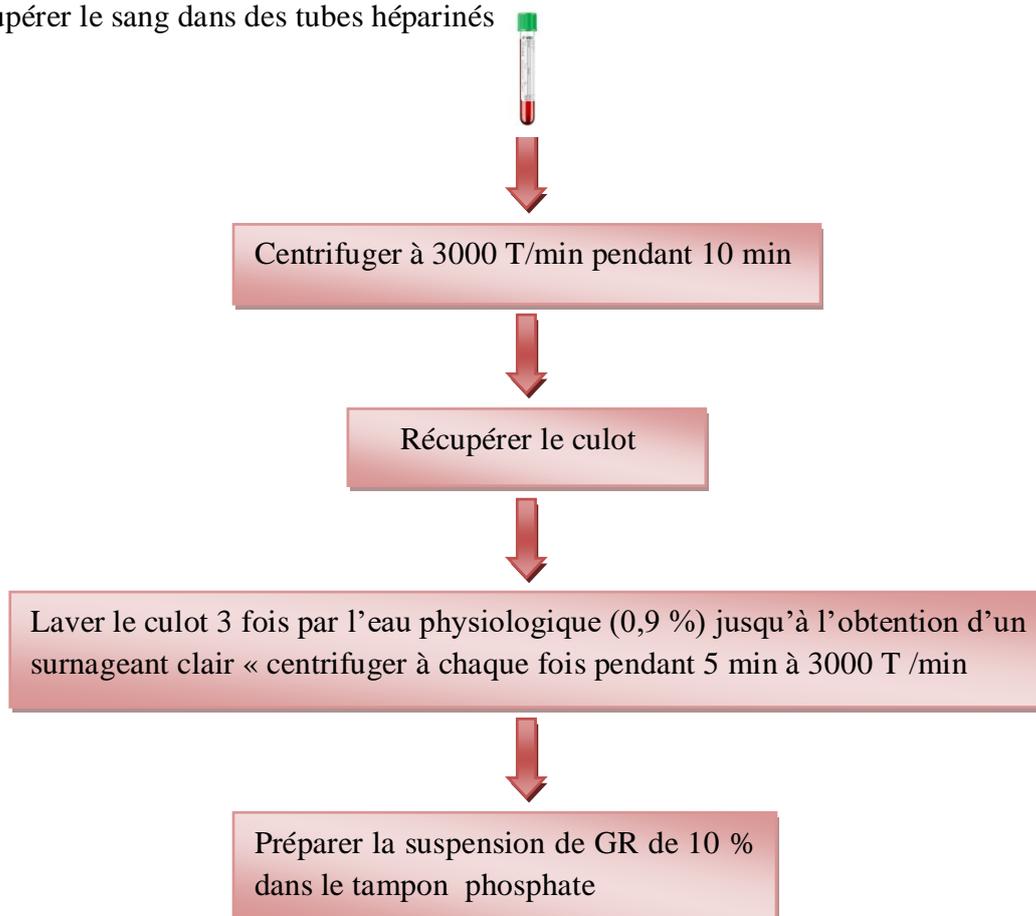


Figure 16 : Protocole de préparation de la suspension érythrocytaire (Oyedapo et Famurewa, 1995).

❖ **Mode opératoire**

Le procédé utilisé pour stabiliser la membrane des globules rouges humains a été détaillé par **Oyedapo et Famurewa en 1995** figure n°17

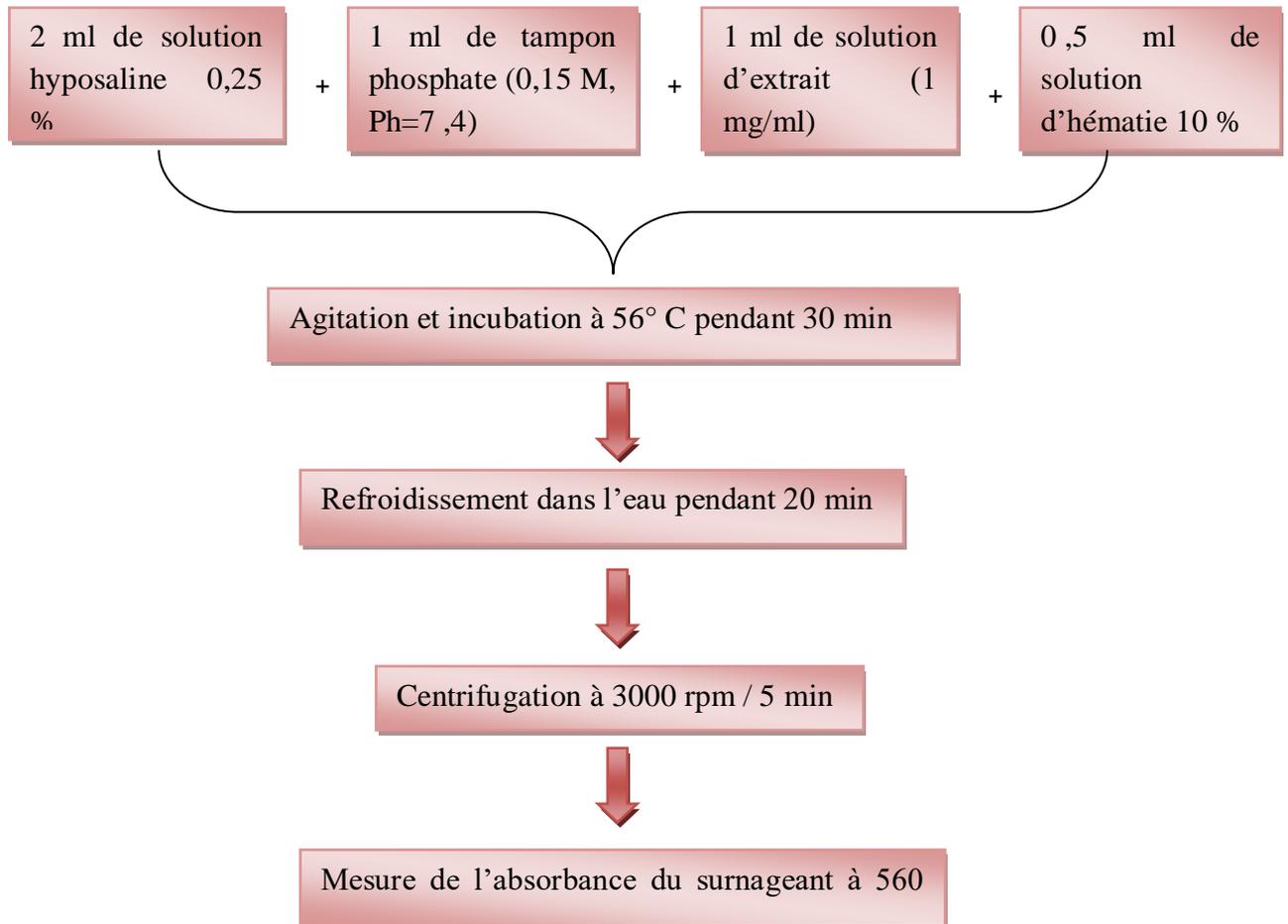


Figure 17 : Protocole de stabilisation de la membrane des GR humains (**Oyedapo et Famurewa, 1995**).

Nb

- **Préparation du blanc d'extrait** : à la place des GR on met le tampon phosphate.
- **Préparation de blanc général** : à la place de l'extrait on met de l'eau physiologie (0,9%).
- **Préparation des standards** : à la place de l'extrait on met de l'acide gallique.

❖ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

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

Ac : absorbance de contrôle.

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

II-2-7 Etude statistique

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

Résultats et discussion

II-1 Rendement d'extraction

Suite à des travaux de recherche réalisés précédemment, nous nous sommes intéressés au ratio d'extraction ; ainsi, nous souhaitons vérifier si le ratio 1/10 constitue un bon choix pour la continuation dans cette investigation scientifique. Pour ce faire, nous avons opté pour quatre ratios différents, y compris le ratio 1/10. Les taux d'extraction des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont représentés dans le tableau (V) :

Tableau V : Pourcentages d'extraction pour chaque extrait d'*Eriobotrya japonica*.

Extrait	Rendement
1 :2	2,25 %
1 :5	10,5 %
1 :10	16 %
1 :15	19,25 %

D'après ce tableau, nous constatons que le pourcentage d'extraction augmente en fonction du ratio d'extraction, mais l'intervalle est très léger, avec un maximum de 19,25 % à la concentration de 1/15, qui constitue un rendement très élevé. Ceci reflète la richesse d'*Eriobotrya japonica* en composés phyto-chimiques.

En effet, une étude de **Maher et al. 2015**, sur la plante *Eriobotrya japonica* a révélé un taux d'extraction de l'extrait méthanolique (70 %) des feuilles équivalent à 15 % ; elle représente une valeur très proche de celle de l'extrait éthanolique 1/10 de notre plante.

II-2 Screening phyto-chimique

Le screening phyto-chimique consiste en des tests biochimiques, qui permettent la détection qualitative de différentes familles de composés phyto-chimiques. Les principes de cette identification sont fondés sur : soit des réactions de précipitation à l'origine de la production de complexes insolubles, soit des réactifs qui engendrent des complexes colorés (**El-Haoud et al. 2018**).

Ainsi, le screening phyto-chimique réalisé nous a permis de mettre en évidence la présence d'une variété de composés appartenant aux différentes classes de métabolites secondaires, tels que : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les glycosides cardiaques et les flavonoïdes ; avec des nuances de couleurs bien évaluées dans le tableau (VI). Néanmoins, les tanins et les mucilages se sont révélés négatifs.

Cette étude phyto-chimique a laissé apparaître également les protéines, faisant partie intégrante du métabolisme primaire, mais l'absence d'acides aminés.

D'après **Hasibuan et ses collaborateurs en 2020**, le screening phyto-chimique de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a laissé apparaître la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de stéroïdes (terpénoïdes) et de tanins, avec absence de saponines. Nos propres résultats, présentés dans le tableau IV, indiquent que les extraits éthanoliques contiennent des saponines mais ne contiennent pas de tanins. Cette différence pourrait s'expliquer par des facteurs environnementaux tels que la température et le type de sol, qui influencent directement la composition chimique de la plante.

Tableau VI: Résultats du screening phyto-chimique des extraits.

Test / Extrait	1 :2	1 :5	1 :10	1 :15
Terpénoïdes	+	+	+	+
Tanins	-	-	-	-
Alcaloïdes	+++	+++	+++	+++
Saponines	+	+	+	+
Mucilages	-	-	-	-
Glycosides cardiaques	+++	++	++	++
Flavonoïdes	++	+	+	+
Acides aminés	-	-	-	-
Protéines	++	++	++	++
Anthocyanines	+	+++	+++	+++

Avec : (+++) fortement positif ; (++) Moyennement positif ; (+) faiblement positif ; (-) négatif

II-3 Dosage des composés phénoliques

II-3-1 Phénols totaux

Le contenu en phénols totaux, exprimé en mg EAG/g d'extrait, est illustré dans l'histogramme ci-dessous :

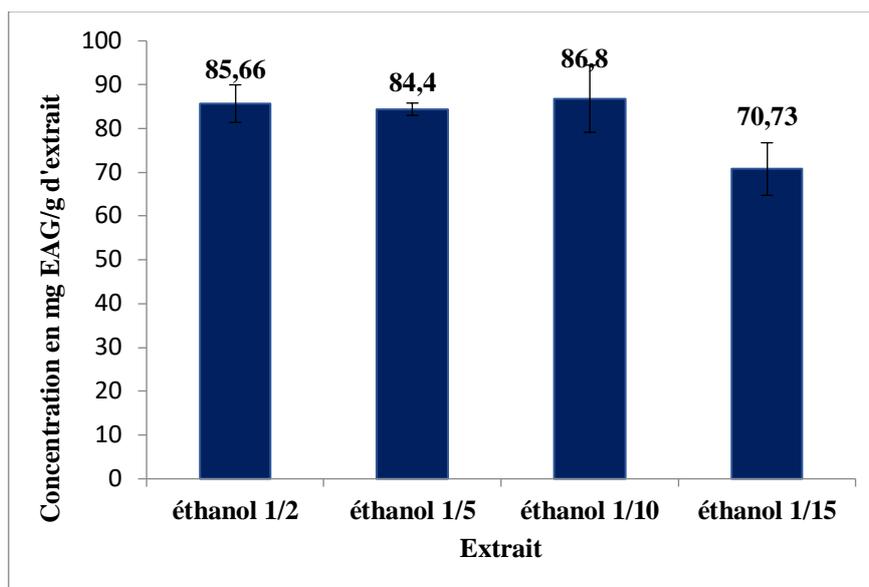


Figure 18: Représentation graphique des teneurs en phénols totaux des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

A partir de cette figure, nous déduisons que les feuilles du néflier sont riches en composés phénoliques avec des valeurs variant entre $70,73 \pm 6$ et $86,8 \pm 7,66$ mg EAG/g d'extrait.

Song *et al.*, 2010, ont trouvé une concentration en phénols totaux d'*Eriobotrya japonica* de $31,47 \pm 0,48$ mg/g, qui est très inférieure par rapport au contenu de notre plante en phénols totaux.

Par ailleurs, c'est l'extrait éthanolique 1/10 qui a donné la plus grande concentration ; ce qui nous permettrait d'avancer l'hypothèse, qu'il pourrait s'agir de l'extraction optimale, bien que le rendement d'extraction soit concentration (poudre/solvant) dépendant, car, dans un extrait, ce qui est vraiment intéressant ce sont les composés phyto-chimiques dotés d'activités biologiques diverses, tels que les composés phénoliques.

Néanmoins, il est nécessaire de traiter les résultats successivement afin de pouvoir émettre une conclusion quant au meilleur ration d'extraction.

II-3-2 Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes, exprimés en mg EQ/g d'extrait, sont retrouvés dans la figure qui suit :

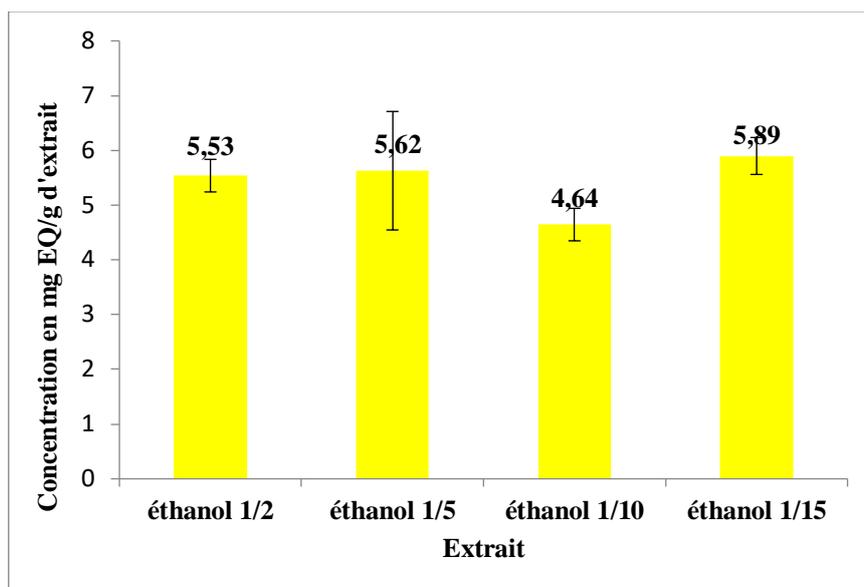


Figure 19: Teneurs en flavonoïdes des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

De cet histogramme, nous remarquons que les extraits d'*Eriobotrya japonica* sont pauvres en flavonoïdes. (**Lee et Kim ; 2009**)

Nous remarquons qu'il n'y a pas de différence significative entre les quatre extraits ; ce qui appuie encore l'hypothèse émise précédemment.

Lee et Kim en 2009 ont montré qu'un extrait des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a donné une teneur en flavonoïdes de 24,85 mg/g.

II-3-3 Tanins condensés

Les concentrations de nos extraits en proanthocyanidines, en mg EC/g d'extrait, sont affichées dans l'histogramme suivant :

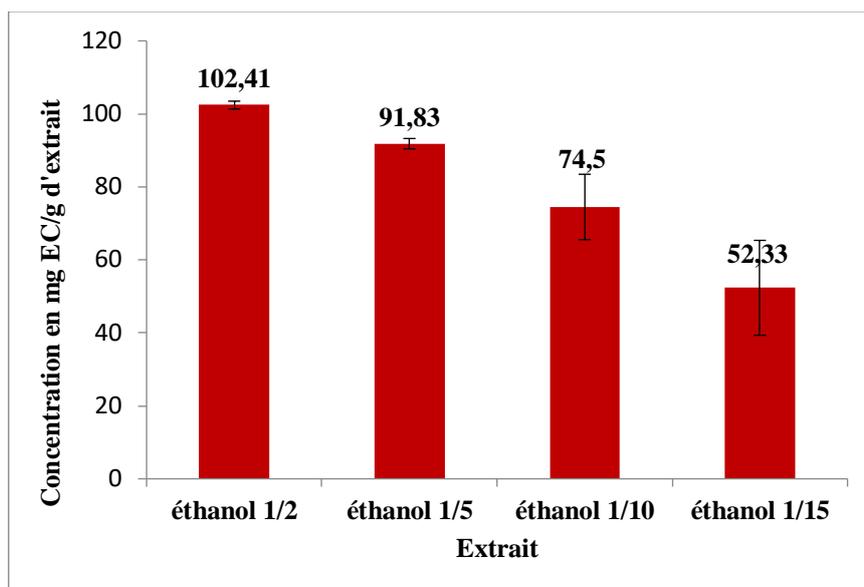


Figure 20 : Représentation graphique des teneurs en proanthocyanidines des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

La figure (20) nous permet de conclure l'abondance de la plante en tanins condensés. En effet, les feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont connues pour leur importante activité anticancéreuse, découlant justement de ces polymères phénoliques (Ito et al. 2000).

Cependant, il ne faut pas nier que les teneurs en proanthocyanidines des feuilles du néflier diminuent avec l'élévation du ratio d'extraction. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les tanins condensés représentent des structures polycycliques, donc, à caractère légèrement hydrophobe, se solubilisant, par conséquent, de moins en moins aux fortes concentrations du solvant éthanolique polaire (Wijekoon et al., 2011).

II-4 Activité anti-oxydante

Les tests qui nous ont permis l'étude de l'activité anti-radicalaire des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont : le dosage de l'activité scavenging des deux radicaux, DPPH[•] et ABTS^{•+}.

II-4-1 Activité scavenging du radical DPPH[•]

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH[•] des différents extraits de notre plante sont représentés dans la figure (21) :

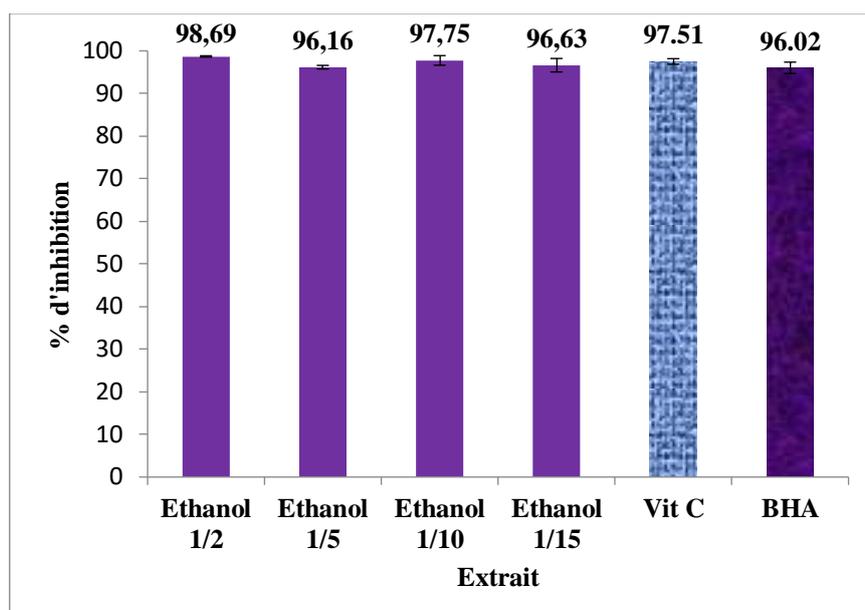


Figure 21: Les pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* et des standards (BHA et acide ascorbique).

A partir de cette figure, nous constatons que les feuilles du néflier ont une très bonne activité anti-oxydante ($96,16 \pm 0,42$ - $98,69 \pm 0,16$ %) comparativement aux standards utilisés, la vitamine C ($97,51 \pm 0,66$ %) et la BHA ($96,02 \pm 1,33$ %), à $100 \mu\text{g/ml}$. Ce qui est relatif à son contenu élevé en phénols totaux et proanthocyanidines, mais aussi à la présence d'autres métabolites secondaires autres que les composés phénoliques, tels que les terpénoïdes, les alcaloïdes et les saponines.

Une étude réalisée par **Kumari et Selvam en 2023** a montré qu'un extrait éthanolique des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a exhibé un pourcentage scavenging du radical DPPH' de 60,21 % qui est inférieur à celui trouvé dans notre étude.

En outre, nous observons cette fois-ci également que c'est le ratio 1/10 qui a été statistiquement le plus actif par rapport au ratio 1/15. Ainsi, en avançant dans l'interprétation des résultats obtenus, il devient plus évident quant au meilleur ratio d'extraction.

Il est à noter que c'est l'extrait éthanolique 1/2 qui a donné le maximum en activité inhibitrice du DPPH' et de l'ABTS^{•+}, en dépit de son faible ratio. C'est son abondance en phénols totaux et proanthocyanidines possédant beaucoup de groupements hydroxyles donateurs d'électrons ou d'hydrogènes qui est à l'origine de ce résultat (**Jayaprakasha et al., 2008**).

II-4-1 Activité scavenging du radical ABTS^{•+}

Les valeurs de l'activité d'inhibition du radical ABTS^{•+} des quarts extraits figurent dans l'histogramme ci-dessous :

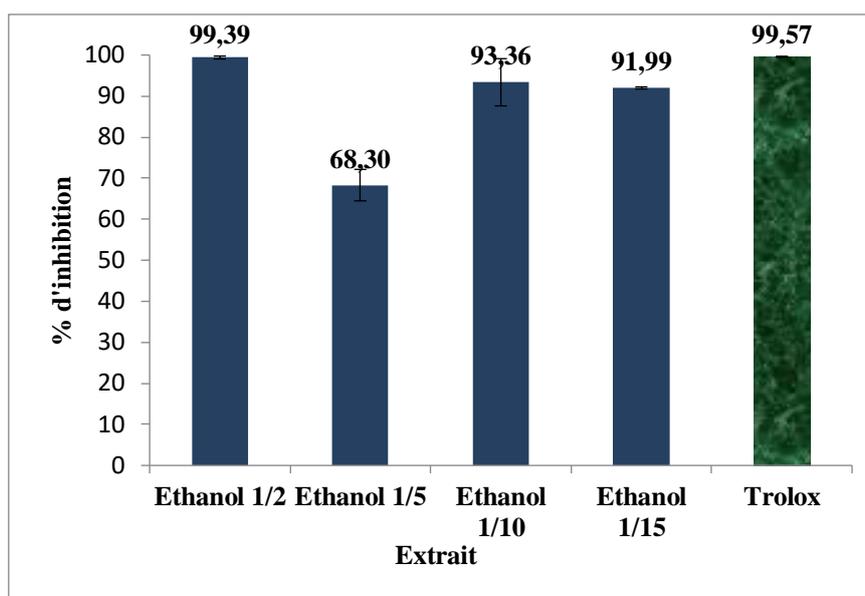


Figure 22: Activité inhibitrice du radical ABTS^{•+} par les extraits d'*Eriobotrya japonica* et par le Trolox.

Concernant l'évolution de l'activité anti-oxydante, de la figure (22), il apparait clairement un même profil de résultats que celui du DPPH[•], ce qui confirme que les feuilles du néflier offrent une bonne source d'anti-oxydants.

Ainsi, un pourcentage scavenging du radical ABTS^{•+} de $74,35 \pm 3,78$ mmol TE/100 g de poids sec a été révélé par l'étude de Pawlowska et ses collaborateurs en 2023.

En outre, il n'y a pas de différence significative entre le pourcentage donné par l'extrait éthanolique 1/10 ($91,99 \pm 0,26$ %) et celui donné par l'extrait éthanolique 1/15 ($93,36 \pm 5,74$ %) ; ce qui serait en faveur du ratio 1/10.

II-5 Etude de l'innocuité

L'étude de toxicité in vitro pourrait déceler divers troubles découlant de l'administration des plantes ou des herbes médicinales, notamment chez les patients vulnérables. L'hémolyse

est la lyse des hématies ; ce qui témoigne d'une cytotoxicité envers ces dernières (**Tabassum et al., 2022**).

Les pourcentages d'hémolyse de nos extraits sont représentés sur la figure qui suit :

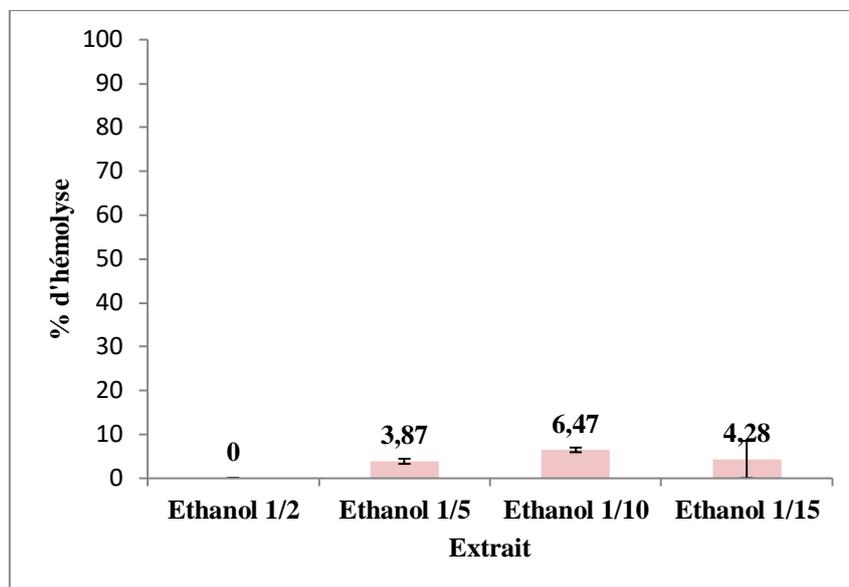


Figure 23: Les pourcentages de l'activité hémolytique des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

D'après cette figure, nous observons que les feuilles du néflier ont montré une très faible toxicité vis-à-vis des érythrocytes humains à 1 mg/ml.

Ainsi, l'extrait éthanolique 1/2 n'a reflété aucune toxicité ; alors que l'extrait éthanolique 1/10, quant à lui, a été le plus toxique. On pourrait supposer que le contenu très élevé de ce dernier en composés bioactifs variés est à l'origine de cette toxicité très minime ; car, bien que sa richesse en métabolites secondaires, en particulier, en alcaloïdes connus pour leur grande toxicité à fortes doses référence, ait attribué à la plante ses bienfaits divers, ils ont dégagé une certaine toxicité .

Néanmoins, d'après **Tabassum et al., 2022**, si le pourcentage d'hémolyse de l'extrait est supérieur à 30 %, la plante est présumée être toxique.

C'est pourquoi, on pourrait catégoriser *Eriobotrya japonica* parmi les plantes non toxiques et inoffensive pour l'Homme.

II-6 Activité anti-inflammatoire

Les plantes représentent une source immense en composés phyto-chimiques tels que les flavonoïdes, l'acide ascorbique et les acides phénoliques. Ces bioactifs naturels sont doués d'activités biologiques diverses, y compris, l'activité anti-inflammatoire (Poti et al., 2019).

L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* a été réalisée par la méthode de stabilisation de la membrane érythrocytaire vis-à-vis de l'hémolyse.

Le test de stabilisation de la membrane des globules rouges a été entrepris, car la membrane des érythrocytes humains est similaire à celle des lysosomes ; et de ce fait, la protection de la membrane des hématies (Al-Timimi et Hameed, 2016) signifierait que nos extraits pourraient bien agir sur la stabilisation de la structure lysosomale. Car, ceci entraverait le relâchement, par les neutrophiles activés, des enzymes bactériennes et des protéases, qui sont les acteurs de l'inflammation aigüe ou chronique. Les anti-inflammatoires agissent soit en stabilisant la membrane lysosomale soit en inhibant ces enzymes (Kiranmayi et al., 2018).

Les pourcentages de l'activité anti-hémolytique des différents extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont représentés dans la figure qui suit :

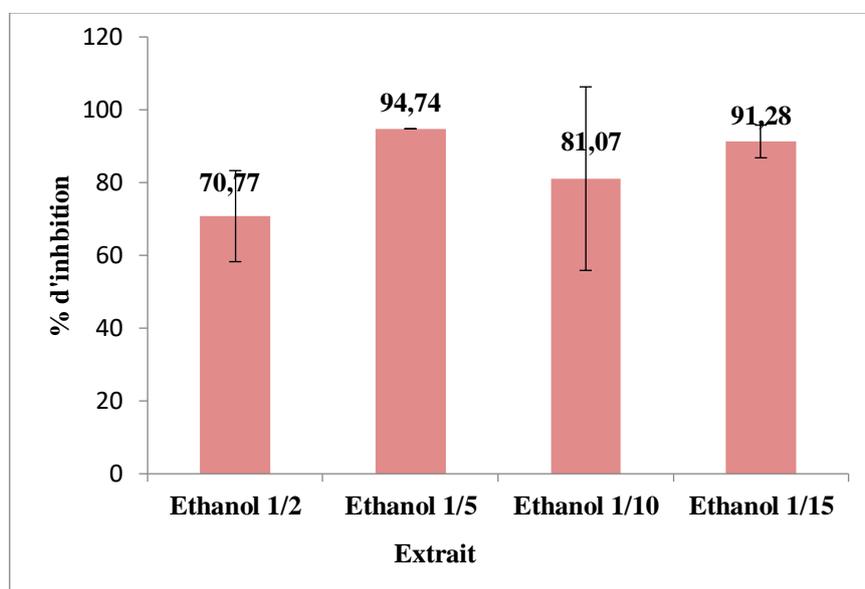


Figure 24: Les pourcentages de l'activité anti-hémolytique des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*.

A partir de cet histogramme, nous déduisons que notre plante est douée d'une activité anti-hémolytique très élevée, et de ce fait, d'une bonne activité anti-inflammatoire, et les valeurs sont comprises entre $70,77 \pm 12,51$ et $94,74$ %, à 1 mg/ml d'extrait. Ceci est en accord avec

son contenu remarquable en métabolites secondaires, à savoir, les composés phénoliques (glycosides cardiaques), les alcaloïdes et les terpénoïdes.

Les procyanidines possèdent des effets biologiques, en particulier, l'inhibition de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires (**Parke et al., 2013**).

Similairement à l'activité anti-oxydante, il n'y a pas de différence significative entre les valeurs des extraits éthanolique 1/15 ($91,28 \pm 4,48$ %) et éthanolique 1/10 ($81,07 \pm 25,21$ %) bien que c'est ce dernier qui a affiché la plus grande teneur en phénols totaux. Ceci pourrait être dû au fait que l'activité de stabilisation des érythrocytes pourrait ne pas dépendre de la quantité mais plutôt de la qualité, de la nature et de la structure moléculaire des composés phénoliques

Par ailleurs, nous remarquons que l'extrait éthanolique 1/2 a montré le plus faible effet anti-hémolytique, probablement dû à son taux d'extraction qui est le plus bas.

En revanche, c'est l'extrait éthanolique 1/5 qui a exhibé le plus grand pourcentage, étant donné sa richesse en phénols totaux et en proanthocyanidines.

Les membranes des érythrocytes humains sont riches en acides gras polyinsaturés qui sont sujets à de la peroxydation lipidique lors d'un stress oxydant ; d'où la déstabilisation et la lyse de ces membranes. Il s'avère ainsi qu'il y aurait un lien étroit entre l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire de nos extraits, suggérant que le pouvoir anti-oxydant très élevé d'*Eriobotrya japonica* contribuerait pour beaucoup à l'activité anti-hémolytique potentielle des extraits des feuilles du néflier (**Shabbir et al., 2013**).

II-7 Corrélation

Par ailleurs, il semblerait que les résultats obtenus concernant les différentes activités biologiques des feuilles du néflier ne seraient pas en corrélation avec le contenu de la plante en composés phénoliques ; car l'étude de corrélation a révélé des coefficients de corrélation inférieurs à 0,5 (0,19 ; 0,3 ; 0,47 ; 0,08 ; 0,39 ; 0,17 ; 0,28 ; 0,11 ; 0,46 ; 0,36), excepté pour la relation entre l'activité scavenging du radical DPPH \cdot et les teneurs en phénols totaux ($R = 0,53$). En effet, le screening phyto-chimique nous a permis de mettre en évidence la présence d'autres classes de métabolites secondaires tels que : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les glycosides cardiaques. Par conséquent, les différentes activités testées d'*Eriobotrya japonica* seraient attribuées à sa richesse en métabolites secondaires.

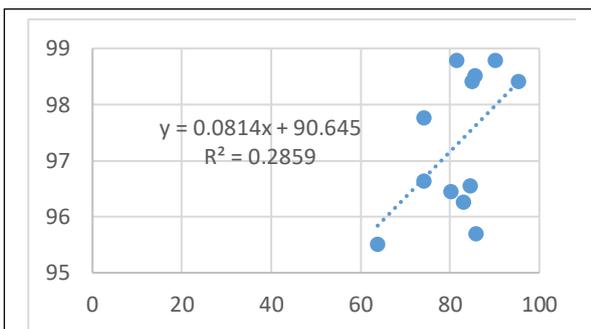


Figure 25 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du DPPH et la teneur en phénols totaux.

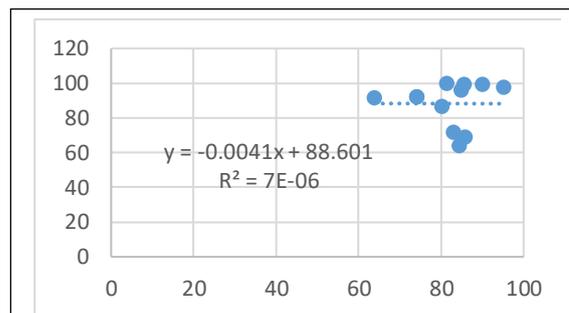


Figure 26 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging ABTS et la concentration en phénols totaux.

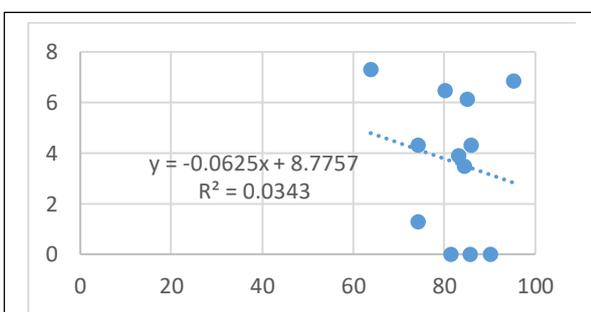


Figure 27 : Courbe de corrélation entre l'activité hémolytique et la concentration en phénols totaux.

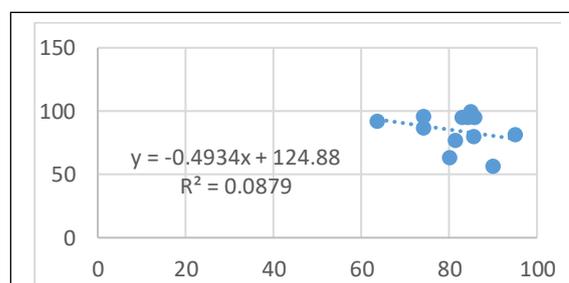


Figure 28 : Courbe de corrélation entre l'activité anti-hémolytique et la concentration en phénols totaux.

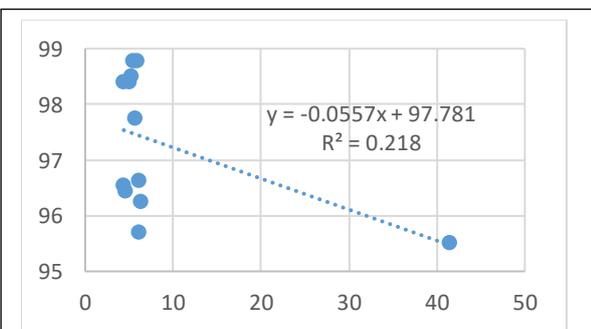


Figure 29 : Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité scavenging du radical DPPH.

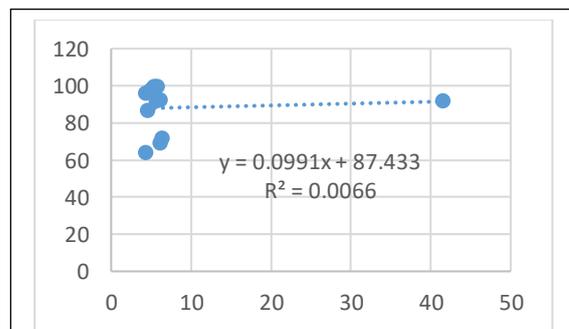


Figure 30 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging ABTS et la concentration en flavonoïdes.

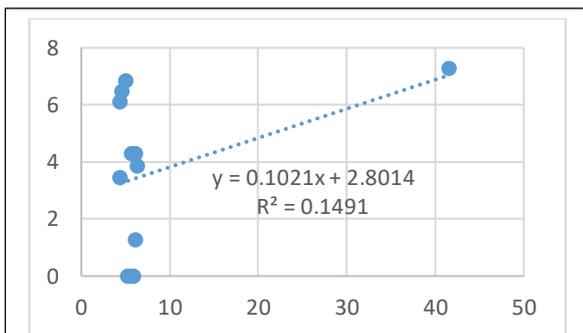


Figure 31 : Courbe de corrélation entre l'activité hémolytique et la concentration en flavonoïdes.

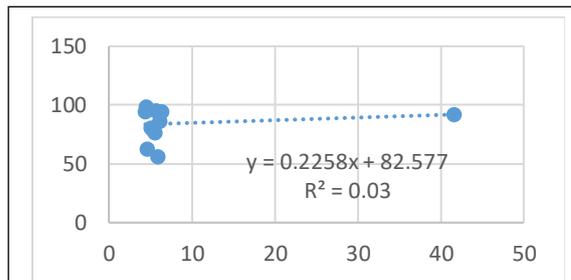


Figure 32 : Courbe de corrélation entre l'activité anti-hémolytique et la concentration en flavonoïdes.

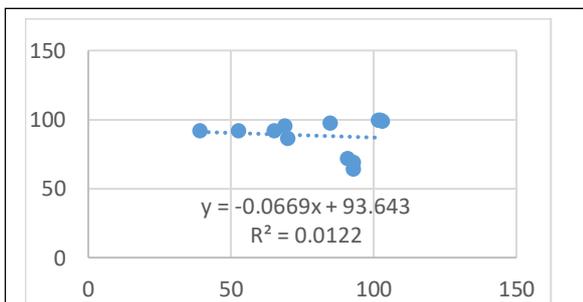


Figure 33 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du DPPH et la concentration en tanins condensés.

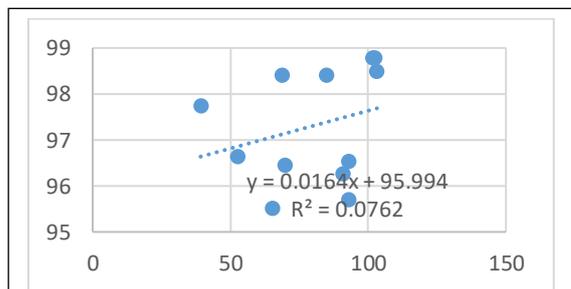


Figure 34 : Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du ABTS et la concentration en tanins condensés.

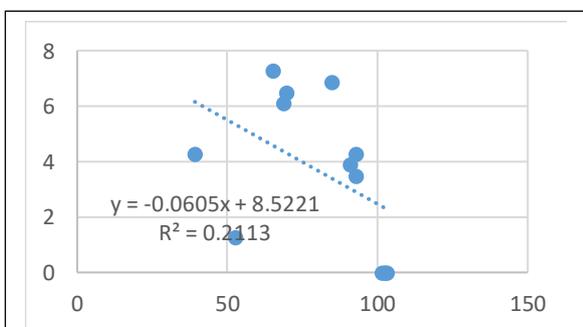


Figure 35 : Courbe de corrélation entre l'activité hémolytique et la concentration en tanins condensés.

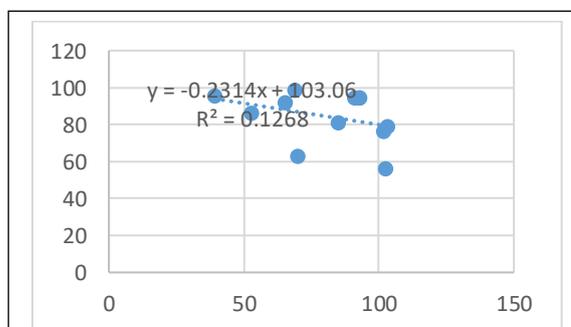


Figure 36 : Courbe de corrélation entre l'activité anti-hémolytique et la concentration en tanins condensés.

En fin, après traitement de tous les résultats expérimentaux, nous concluons que la bonne appréciation phyto-chimique et biologique justifierait notre choix quant au meilleur ratio d'extraction. Effectivement, c'est le ratio 1/10 qui a permis la préparation de l'extrait le plus actif parmi les quartes testées. Ainsi, il serait intéressant de poursuivre nos travaux de recherche avec le même ratio d'extraction de départ.

Conclusio et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Eriobotrya japonica est une plante médicinale riche en métabolites secondaires, qui possèdent d'importantes propriétés biologiques. Ces composés bioactifs sont largement utilisés dans divers domaines en raison de leurs effets potentiellement bénéfiques sur la santé.

Notre étude a porté sur l'influence du ratio d'extraction poudre/solvant sur la composition biochimique et les activités biologiques notamment anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*. Cette approche nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- D'après les résultats d'extraction, nous avons constaté que le pourcentage d'extraction augmente en fonction du ration d'extraction (poudre/solvant) ; cela pourrait postuler la richesse de la plante en métabolites secondaires.
- Suite au screening phytochimique, nous avons confirmé la présence d'une gamme de composés appartenant à différentes classes de métabolites secondaires dans les feuilles d'*Eriobotrya japonica*, tels que les terpénoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les glycosides cardiaques et les flavonoïdes. En revanche, aucune trace de mucilages n'a été détectée.
- Les résultats du dosage des composés phénoliques indiquent que la plante présente des teneurs appréciables en phénols totaux et en tanins condensés ; par contre les flavonoïdes se sont montrés réduits.
- L'évaluation de l'activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH. et ABTS., à différentes concentrations d'extrait, a prouvé que les composés phyto-chimiques des feuilles d'*Eriobotrya japonica* possèdent une bonne activité anti-oxydante, allant jusqu'à 98,69 % et 99,39 % pour le DPPH et l'ABTS, respectivement.
- Avant de procéder au test anti-hémolytique, il est essentiel d'évaluer la toxicité des extraits sur les érythrocytes, qui ont montré une faible toxicité envers les érythrocytes humains à une concentration de 1 mg/ml. Malgré cela, la plante reste non toxique, avec un pourcentage d'hémolyse inférieur à 30 %.
- Concernant les résultats du test de stabilisation de la membrane des érythrocytes humains des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, ils ont exhibé une activité anti-hémolytique significative, indiquant une forte activité anti-inflammatoire avec une valeur de 94,74 % à 1 mg/ml.
- Par ailleurs, il n'y aurait pas de corrélation entre les différentes activités biologiques des feuilles du néflier et le contenu de la plante en composés phénoliques ; hormis pour la relation entre l'activité scavenging du radical DPPH. et les teneurs en phénols

Conclusion et Perspectives

totaux. Néanmoins, le screening phyto-chimique nous a permis de mettre en évidence la présence d'autres classes de métabolites secondaires tels que : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les glycosides cardiaques. Par conséquent, les différentes activités testées des feuilles d'*Eriobotrya japonica* seraient attribuées à sa richesse en métabolites secondaires.

- En fin, l'interprétation de tous les résultats justifierait notre choix quant au meilleur ratio d'extraction, à savoir, 1/10. Ainsi, il conviendrait bien de poursuivre nos investigations de recherche scientifique avec le même ratio d'extraction d'origine.

Ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur la constitution biochimique en composés phyto-chimiques et les activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des feuilles d'*Eriobotrya Japonica*. Ainsi, nous souhaitons aller au-delà des tests des extraits bruts, et de tenter d'isoler, de purifier et d'identifier les constituants biochimiques responsables de ces différentes activités.

Référence bibliographique

Référence bibliographique

A

- **Abdou BA, Njintang YN, Scher J and Mbofung CMF. (2010).** «Phenolic Compounds And Radical Scavenging Potential Of Twenty Cameroonian Spices ». Agriculture and Biology Journal Of North America, 1(3): 213-224.
- **Afonso V, Champy R , Dragoslav M, Pascal C and Abderrahim L. (2007).** « Radicaux Libres Dérivés De L'oxygène Et Superoxydes Dismutases: Rôle Dans Les Maladies Rhumatismales ». Revue Du Rhumatisme 74 (7): 636-43. <https://doi.org/10.1016/J.Rhum.2006.12.009>.
- **Akré DST, Kan BK, Obou CO, Daouda D, Jacques Auguste B. A. Ackah and Allico JD. (2022).** « Tri Phytochimique Et Activités Antimicrobiennes Des Extraits Hydroacétoniques De Baphia Nitida (Fabaceae) Sur Shigella Spp Et E. Coli, Deux Entérobactéries Impliquées Dans Les Diarrhées Infantiles A Daloa, Côte d'Ivoire ». European Scientific Journal ESJ 11 (Novembre). <https://doi.org/10.19044/Esipreprint.11.2022.P711>.
- **Ali-Rachedi F, Souad M, Nourhène T and Sabrina M. (2018).** « Analyse Quantitative Des Composés Phénoliques D'une Endémique Algérienne Scabiosa Atropurpurea Sub. Maritima L. » Bulletin De La Société Royale Des Sciences De Liège, 13-21. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.7398>.
- **Alshaker HA, Nidal AQ, Fadi Q, Mona B and Khalid Z M. (2011).** « Eriobotrya Japonica Hydrophilic Extract Modulates Cytokines In Normal Tissues, In The Tumor Of Meth-A-Fibrosarcoma Bearing Mice, And Enhances Their Survival Time ». BMC Complementary And Alternative Medicine 11 (1): 9. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-9>.
- **Ao X, Lei Z, Han L, Bingru R, Hankui W, Jian C and Weilin L. (2015).** « New Sesquiterpene Glycosides From The Leaves Of *Eriobotrya Japonica* ». Natural Product Communications 10 (7): 1934578X1501000. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000702>.
- **Aoub B. (2018).** « Toxicologie Générale- Le Stress Oxydatif ».
- **Ayda K and Ridha EM. (2012).** « Composés Phénoliques Et Activités Antioxydantes De Deux Extraits De ».

B

- **Baljinder S, Gairola S, Kumar D, Gupta V, Bansal P and Baljinder S. (2010).** « Pharmacological Potential Of Eriobotrya Japonica – An Overview ».

Référence bibliographique

- **Belli N, Lahouel M, Samira C, Mustafa T, Et Essaid L. (2010).** « Stress Oxydant Induit Par La Coexposition Au Plomb Et Au Cadmium : Deux Contaminants Des Eaux Souterraines De Oued Nil (Jijel - Algérie) ». *Revue Des Sciences De L'eau* 23 (3): 289-301. <https://doi.org/10.7202/044690ar>.
- **Berger, Mette M. (2006).** « Manipulations Nutritionnelles Du Stress Oxydant : Etat Des Connaissances ». *Nutrition Clinique Et Métabolisme* 20 (1): 48-53. <https://doi.org/10.1016/J.Nupar.2005.12.005>.
- **Birben E, Umit M S, Cansin S, Serpil E and Omer K . (2012).** « Oxidative Stress And Antioxidant Defense ». *World Allergy Organization Journal* 5 (1): 9-19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>.
- **Boizot N and Charpentier JP. (2006).** « Méthode Rapide D'évaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Organes D'un Arbre Forestier ».
- **Bouba A and Abdou. (2010).** « Phenolic Compounds and Radical Scavenging Potential of Twenty Cameroonian Spices ». *Agriculture and Biology Journal of North America* 1 (3): 213-24. <https://doi.org/10.5251/abjna.2010.1.3.213.224>.
- **Brglez ME, Maša K, Mojca Š, Željko K and Urban B. (2016).** « Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability And Anticarcinogenic Effects ». *Molecules* 21 (7): 901. <https://doi.org/10.3390/Molecules21070901>.
- **Bui Thanh T, Loi V D, Hai N T and Vung N T. (2017).** « In Vitro Antioxidant And Anti-Inflammatory Activities Of Isolated Compounds Of Ethanol Extract From *Sanchezia Speciosa* Leonard's Leaves ». *Journal Of Basic And Clinical Physiology And Pharmacology* 28 (1): 79-84. <https://doi.org/10.1515/Jbcpp-2016-0086>.

C

- **Cahyana A H, Widajanti W, Aditya P and Bayu A. (2015).** « Synthesis, Characterization And Anti-Oxidative Properties Of Propolis-Like Compound Prepared From Prenylation Of Indonesia's Cinnamon (*Cinnamomum Burmannii*) Essential Oil Using Γ -Al₂O₃/Naoh/Na ».
- **Chen J and Li WL . (2008).** « Progress In Studies On Phytochemistry And Biological Activity Of Folium Eriobotryae ».
- **Chitralli L R, Balasubramanian S and Akki S. (2019).** « Phytochemical Studies On The Methanolic Extract Of Coriander Sativum Leaves-An In Vitro Approach ».
- **Chu WL, Yen-Wei L, Ammu K R and Phaik-Eem L . (2010).** « Protective Effect Of Aqueous Extract From *Spirulina Platensis* Against Cell Death Induced By Free

Référence bibliographique

Radicals ». *BMC Complementary And Alternative Medicine* 10 (1): 53.
<https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-53>.

D

- **Daira N EH, Mohamed CM and Azzedine C . (2016).** « Contribution A L'étude Phytochimique D'une Plante Médicinale Ammoides Verticillata (Desf.) Briq. De l'Est Algérien ». *Bulletin De La Société Royale Des Sciences De Liège*, 276-90.
<https://doi.org/10.25518/0037-9565.6494>.
- **De Tommasi N, Francesco D S, Giuseppe C, Carla C and Cosimo P. (1991).** « Hypoglycemic Effects Of Sesquiterpene Glycosides And Polyhydroxylated Triterpenoids Of *Eriobotrya Japonica* ». *Planta Medica* 57 (05): 414-16.
<https://doi.org/10.1055/S-2006-960137>.
- **Delfanian M, Reza E K, Et Mohammad A S . (2015).** « Antioxidative Effect Of Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) Fruit Skin Extract In Soybean Oil ». *Food Science & Nutrition* 3 (1): 74-80. <https://doi.org/10.1002/Fsn3.193>.
- **Dharmalingam R et Nazni P. (2013).** « Phytochemical Evaluation Of Coriandrum L Flowers ».
- **Dhiman A, Rajat S, Dhruv T, Viresh G and 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.
<https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1866007>.
- **Diebold J, T Molina, C Bigorne, J Audouin and A Le Tourneau. (1995).** « Les Expressionsmorphologiques De La R Action Inflammatoire ». *Les Expressions Morphologiques De La Réaction Inflammatoire*, 21-26.
- **Dorman HJD, Müberra K, Kirsti K, Yvonne H and Raimo H. (2003).** « Antioxidant Properties And Composition Of Aqueous Extracts From *Mentha* Species, Hybrids, Varieties, And Cultivars ». *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 51 (16): 4563-69. <https://doi.org/10.1021/Jf034108k>.

E

- **El-Haoud H, Boufellous M, Berrani A, Tazougart H, Bengueddour R. (2018).** Phytochemical Screening Of A Medicinal Plant: *Mentha Spicata* L. *American Journal Of Innovative Research And Applied Sciences*, 9: 226-233.
- **Ercisli S, Gozlekci S, Sengul M, Hegedus A, and Tepe S. (2012).** « Some Physicochemical Characteristics, Bioactive Content And Antioxidant Capacity Of

Référence bibliographique

Loquat (*Eriobotrya Japonica* (Thunb.) Lindl.) Fruits From Turkey ». *Scientia Horticulturae* 148 (Décembre):185-89. <https://doi.org/10.1016/J.Scienta.2012.10.001>.

F

- **Fetni S and Nabil B. (2020).** « In vitro study of anti-inflammatory properties of methanolic extract fruits from *Rosa canina* L. (Rosaceae) ». *Nutrition & Santé* 09 (02): 117-25. <https://doi.org/10.30952/ns.9.2.7>.
- **Ferreres F, Daniela G, Patrícia V, Rui G, Rafael P, Edvan A C, Rosa M S and Paula BA .(2009).** « Improved Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) Cultivars: Variation Of Phenolics And Antioxidative Potential ». *Food Chemistry* 114 (3): 1019-27. <https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2008.10.065>.

G

- **Ganesh G, Maru S, Tyagi A and Sn Chakravarthula. (2013).** « Anti-Inflammatory, Cytotoxic And Antioxidant Effects Of Methanolic Extracts Of *Drypetes Sepiaria* (Euphorbiaceae) ». *African Journal Of Traditional, Complementary And Alternative Medicines* 10 (5): 274-82. <https://doi.org/10.4314/Ajtcam.V10i5.9>.
- **Gadamsetty G and Maru S . (2013).** « Antioxidant And Anti-Inflammatory Activities Of The Methanolic Leaf Extract Of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops Elengi* L. » *J. Pharm. Sci.*
- **Gardès-Albert M, Dominique B-R and Zohreh A. (2003).** « Espèces Réactives De L'oxygène ».
- **Gazianoj M and Gibson C M. (2006).** « Potential For Drug–Drug Interactions In Patients Taking Analgesics For Mild-To-Moderate Pain And Low-Dose Aspirin For Cardioprotection ». *The American Journal Of Cardiology* 97 (9): 23-29. <https://doi.org/10.1016/J.Amjcard.2006.02.020>.
- **Gilman EF and Watson DG. (1993).** « *Eriobotrya Japonica* Loquat ». *Environmental Horticulture* :1-3
- **Goudable J and Favier A . (1997).** « Radicaux Libres Oxyg N S Et Antioxydants ».
- **Griveau J F and Le Lannou D . (1995).** « Radicaux Libres Et Spermatozoïdes Humains: Physiologie Et Physiopathologie ». *Andrologie* 5 (3): 369-81. <https://doi.org/10.1007/BF03034342>.

H

Référence bibliographique

- **Haddouchi F, Chaouche T M and Halla N . (2018).** « Screening Phytochimique, Activités Antioxydantes Et Pouvoir Hémostatique De Quatre Plantes Sahariennes d'Algérie ». *Phytothérapie* 16 (S1): S254-62. <https://doi.org/10.3166/Phyto-2019-0140>.
- **Hammoudi R, Siham K, Maroua M, Mohamed L T And Mahfoud H M. (2017).** « Optimization Of Extraction Conditions For Phenolic Compounds From *Salvia Chudaei* ». *Lebanese Science Journal*. Vol. 18, No. 2: 234-243.
- **Hasibuan FE, Syahfitri W, Ilyas S and Hutahaean S. (2020).** « Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Thin-Layer Chromatography Test of Methanol Extract and Simplicia Leaves of Loquat (*Eriobotrya Japonica Lindl*) ». *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 725 (1): 012069. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/725/1/012069>.
- **Harborne J B. (1998).** « *Phytochemical Methods: A Guide To Modern Techniques Of Plant » Analysis*. 3rd Ed. London ; New York: Chapman And Hall.
- Hemalatha, S., Lalitha, P Et Arulpriya, P. (2010). Antioxidant Activities Of The Extracts Of The Aerial Roots Of *Pothosaura* (*Linden Ex Andre*). *Der Pharma Chemica*, 2 (6): 84-89.
- **Hemalatha S, Lalithap and Arulpriya P. (2010).** « Antioxidant Activities of the Extracts of the Aerial Roots of *Pothos Aurea* (*Linden Ex Andre*) ».
- **Hemmadi V. (2016).** « Estimation Of Gpx (Glutathione Peroxidase (Gpx)) ». Unpublished. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2619.3042>.
- **hideyuki I, Eri K, Yoshie T, Shu-Hua L, Tsutomu H, Hiroshi S, Kaoru k and al. (2000).** « Polyphenols form *Eriobotrya japonica* and Their Cytotoxicity against Human Oral Tumor Cell LOines » 48 (5): 687-93.
- **Ho H-Y, Kuang-Yao L, Wen-Chuan L, Susumu K and Jin-Bin W. (2010).** « Regulation And Improvement Of Triterpene Formation In Plant Cultured Cells Of *Eriobotrya Japonica Lindl* ». *Journal Of Bioscience And Bioengineering* 110 (5): 588-92. <https://doi.org/10.1016/J.Jbiosc.2010.06.009>.
- **Hong Y, Yanchun Q, Shunquan L, Yueming J and Feng C. (2008).** « Characterization Of Antioxidant Compounds In *Eriobotrya Fragrans* Champ Leaf ». *Scientia Horticulturae* 118 (4): 288-92. <https://doi.org/10.1016/J.Scienta.2008.06.018>.

I

- **Ibrahim R M. (2021) .** « A Review On Active Constituents And Pharmacological Effects Of *Eriobotrya Japonica Lindl*. (*Loquat*) ». *Iraqi Journal Of Pharmaceutical*

Référence bibliographique

Sciences (*P-ISSN: 1683 - 3597* , *E-ISSN: 2521 - 3512*) 30 (1): 41-55.
<https://doi.org/10.31351/Vol30iss1pp41-55>.

- **Ignat I , Irina V and Valentin I. P. (2011).** « A Critical Review Of Methods For Characterisation Of Polyphenolic Compounds In Fruits And Vegetables ». *Food Chemistry* 126 (4): 1821-35. <https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2010.12.026>.

J

- **Jayaprakasha, Guddadarangavvanahally K., Basavaraj Girenavar and Bhimanagouda SP. (2008).** « Antioxidant Capacity of Pummelo and Navel Oranges: Extraction Efficiency of Solvents in Sequence ». *LWT - Food Science and Technology* 41 (3): 376-84. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.017>.
- **Josiane C and Pierre C . (2006).** « Mécanismes De La Peroxydation Lipidique Et Des Anti-Oxydations ». *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 13 (1): 24-29. <https://doi.org/10.1051/Ocl.2006.6666>.

K

- **Khine Z, Phyu P, Kozue S, Fumio H, Akiko M, Makoto F, Koji W and De-Xing H. (2013).** « Antioxidant And Anti-Inflammatory Activities Of Loquat (*Eriobotrya Japonica*) Tea ». *Functional Foods In Health And Disease* 3 (11): 447. <https://doi.org/10.31989/Ffhd.V3i11.32>.
- **Khoddami A , Meredith W and Thomas R . (2013).** « Techniques For Analysis Of Plant Phenolic Compounds ». *Molecules* 18 (2): 2328-75. <https://doi.org/10.3390/Molecules18022328>.
- **Kumar R S, BalasubramanianP, Govindaraj P and Krishnaveni T. (2014).** « Preliminary Studies On Phytochemicals And Antimicrobial Activity Of Solvent Extracts Of *Coriandrum Sativum* L. Roots (Coriander) » 2 (6): 74-78
- **Kumari, C S, Yasmin N, Raffiq Hussain M and Babuselvam M. (2015).** « Invitro Anti-Inflammatory And Anti-Arthritic Property Of *Rhizopora Mucronata* Leaves » 6.
- **Kumari D, Kasthuri S and Iruthaya Kalai SS. 2023.** « Phyto Constituents Screening of Loquat Leaf Extract Using Different Solvents and Antioxidant Potential Assessment ».

L

- **Laccourreye O, Werner A, Laccourreye L and Bonfils P. (2017).** « La Phytothérapie En Pratique Clinique En Otorhinolaryngologie : Apport, Limites Et Risques ». *Annales*

Référence bibliographique

- Françaises d'Oto-Rhino-Laryngologie Et De Pathologie Cervico-Faciale 134 (2): 90-95.
<https://doi.org/10.1016/J.Aforl.2016.08.009>.
- **Le K, Chiu F and Ng K. (2007).** Identification And Quantification Of Antioxidants In *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105: 353–363.
 - **Lassaad H and Christian M. (2014).** « Antioxidants-In-Food-And-Their-Humans-Benefits.Pdf ».
 - **Lee In-K, Young-Sook K, Yoon-Woo J, Jin-Young J and Bong-Sik Y. (2007).** « New Antioxidant Polyphenols from the Medicinal Mushroom *Inonotus Obliquus* ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17 (24): 6678-81. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.072>.
 - **Lee Kyoung-In and Sun-Min K. (2009).** « Antioxidative and Antimicrobial Activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. Leaf Extracts ». *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 38 (3): 267-73. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.3.267>.
 - **Leelaprakash G and Dass SM. (2011).** « Invitro Anti-Inflammatory Activity Of Methanol Extract Of *Enicostemma Axillare* ».
 - **Li X, Changjie X and Kunsong C. (2016).** « Nutritional And Composition Of Fruit Cultivars ». In *Nutritional Composition Of Fruit Cultivars*, 371-94. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00016-7>.
 - **Li E-N, Jian-Guang L and Ling-Yi K. (2009).** « Qualitative And Quantitative Determination Of Seven Triterpene Acids In *Eriobotrya Japonica* Lindl. By High-Performance Liquid Chromatography With Photodiode Array Detection And Mass Spectrometry ». *Phytochemical Analysis* 20 (4): 338-43. <https://doi.org/10.1002/Pca.1134>
 - **Lin S, Ralph H. S and Jules J. (1999).** « Loquat: Botany And Horticulture ». In *Horticultural Reviews*, Édité Par Jules Janick, 1^{re} Éd., 233-76. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470650752.Ch5>.
 - **Lismont C, Marcus N, Veldhoven PPV and Marc F. (2015).** « Redox Interplay Between Mitochondria And Peroxisomes ». *Frontiers In Cell And Developmental Biology* 3 (Mai). <https://doi.org/10.3389/Fcell.2015.00035>.
 - **Liu Y, Wenna Z, Changjie X and Xian L. (2016).** « Biological Activities Of Extracts From Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.): A Review ». *International Journal Of Molecular Sciences* 17 (12): 1983. <https://doi.org/10.3390/Ijms17121983>.

Référence bibliographique

M

- **Maher K, Yassine B and Sofiane B. (2015).** « Anti-Inflammatory And Antioxidant Properties Of Eriobotrya Japonica Leaves Extracts ». African Health Sciences 15 (2): 613. <https://doi.org/10.4314/Ahs.V15i2.39>.
- **Matés J M, Pérez-Gómez C and De Castro I N. (1999).** « Antioxidant Enzymes And Human Diseases ». Clinical Biochemistry 32 (8): 595-603. [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2).
- **Mbatchou VC, Abdullatif S and Glover R. (2010).** « Phytochemical Screening of Solvent Extracts from Hyptis Suaveolens LAM for Fungal Growth Inhibition ». Pakistan Journal of Nutrition 9 (4): 358-61. <https://doi.org/10.3923/pjn.2010.358.361>.
- **Militello V, Valeria V and Maurizio L . (2003).** « Conformational Changes Involved In Thermal Aggregation Processes Of Bovine Serum Albumin ». Biophysical Chemistry 105 (1): 133-41. [https://doi.org/10.1016/S0301-4622\(03\)00153-4](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(03)00153-4).
- **Moore J and Yu L . (2007).** « Methods For Antioxidant Capacity Estimation Of Wheat And Wheat-Based Food Products ». In Wheat Antioxidants, Édité Par Liangli Yu, 1^{re} Éd., 118-72. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470228333.Ch9>.
- **Murad Ragab I. (2012).** « Behaviour Of Some Physical And Mechanical Properties Of Loquat (Eriobotrya Japonica) Fruit With Change Of Moisture Content » 9 (1).
- **Muster D. (2005).** « Médicaments De L'inflammation ». EMC - Stomatologie 1 (1): 21-29. <https://doi.org/10.1016/J.Emcsto.2005.01.005>.

N

- **Narayana K R, Reddy S M, Chaluvadi M D and Krishna D R. (2001).** « Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects And Therapeutic Potential ».
- **Nishioka Y, Saburo Y, Masahiko K, Tailin C, Atuhide H, Masahide O, Mituhiko M and Shojiro K . (2002).** « Effects Of Extract Derived From *Eriobotrya Japonica* On Liver Function Improvement In Rats ». Biological & Pharmaceutical Bulletin 25 (8): 1053-57. <https://doi.org/10.1248/Bpb.25.1053>.
- **Noack M and Kolopp-Sarda M N. (2018).** « Cytokines Et Inflammation : Physiologie, Physiopathologie Et Utilisation Thérapeutique ». Revue Francophone Des Laboratoires 2018 (499): 28-37. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30052-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30052-2).

O

Référence bibliographique

- **Orliaguet G, Olivier G and Benabess-Lambert F. (2013).** « Nouveautés Concernant Les Anti-Inflammatoires Stéroïdiens Et Non Stéroïdiens ». *Le Praticien En Anesthésie Réanimation* 17 (5): 228-37. <https://doi.org/10.1016/J.Pratan.2013.08.002>.
- **Oyedemi S and Afolayan AJ. (2011).** « In Vitro And In Vivo Antioxidant Activity Of Aqueous Leaves Extract Of Leonotis (L.) ». *R.Br. International Journal Of Pharmacology*,7(2): 248-256.
- **Oyedapo OO and Famurewa AJ. (1995).** « Antiprotease And Membrane Stabilizing Activities Of Extracts Of Fagara Zanthoxyloides, Olax Subscorpioides And Tetrapleura Tetraptera ». *International Journal Of Pharmacognosy* 33 (1): 65-69. <https://doi.org/10.3109/13880209509088150>.
- **Oyedemi O and Afolayan J. (2011).** « In vitro and in vivo Antioxydant Activity of Aqueous Leaves EXtract of Leonotis leonurus(L) ». 7 (2): 248-56. <https://doi.org/10.3923/ijp.248.256>.

P

- **Pan S-Y, Gerhard L, Si-Hua G, Shu-Feng Z, Zhi-Ling Y, Hou-Qi C, Shuo-Feng Z, Min-Ke T, Jian-Ning S and Kam-Ming K. (2014).** « Historical Perspective Of Traditional Indigenous Medical Practices: The Current Renaissance And Conservation Of Herbal Resources ». *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine* 2014:1-20. <https://doi.org/10.1155/2014/525340>.
- **Pareek S, Nouredine B, Jules J, Shifeng C and Elhadi M Y. (2014).** « Postharvest Physiology And Technology Of Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) Fruit ». *Journal Of The Science Of Food And Agriculture* 94 (8): 1495-1504. <https://doi.org/10.1002/Jsfa.6560>.
- **Pawlowska, Agata M, Natalia Ż, Ireneusz K, Marinella D L and Alessandra B. (2023).** « Antioxidant And Antiproliferative Activities Of Phenolic Extracts Of *Eriobotrya Japonica* (Thunb.) Lindl. Fruits And Leaves ». *Plants* 12 (18): 3221. <https://doi.org/10.3390/Plants12183221>.
- **Pietta P-G. (2000).** « Flavonoids As Antioxidants ». *Journal Of Natural Products* 63 (7): 1035-42. <https://doi.org/10.1021/Np9904509>.
- **Pincemail J, Karine B, Karine C and Jean-Olivier D. (2002).** « Mécanismes Physiologiques De La Défense Antioxydante Physiological Action Of Antioxidant Defences ». *Nutrition Clinique Et Métabolisme*.

Référence bibliographique

- **Pisoschi A M and Pop A . (2015).** « The Role Of Antioxidants In The Chemistry Of Oxidative Stress: A Review ». *European Journal Of Medicinal Chemistry* 97 (Juin):55-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>.

R

- **Rahman H, Eswaraiah M C and Dutta AM. (2015).** « In-Vitro Anti-Inflammatory And Anti-Arthritic Activity Of Oryza Sativa Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice Of Assam) ». *Environ. Sci.*
- **Re R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y and Catherine R-E. (1999).** « Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay ». *Free Radical Biology And Medicine* 26 (9-10): 1231-37. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- **Rodrigo J, Alonso D, Bentura ML, Castro-Blanco S, Encinas JM, Fernández AP, Fernández-Vizarra P and Al. (2002).** « Physiology And Pathophysiology Of Nitric Oxide In The Nervous System, With Special Mention Of The Islands Of Calleja And The Circunventricular Organs ».

S

- **Sagar N A, Pareek S, Bhardwaj R and Vyas N . (2020).** « Bioactive Compounds Of Loquat (*Eriobotrya Japonica* (Thunb.) L.) ». In *Bioactive Compounds In Underutilized Fruits And Nuts*, Édité Par Hosakatte Niranjana Murthy Et Vishwas Anant Bapat, 1-21. Reference Series In Phytochemistry. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06120-3_10-1.
- **Schofield P, Mbugua D M and Pell A N.(2001).** « Analysis Of Condensed Tannins: A Review ». *Animal Feed Science And Technology* 91 (1-2): 21-40. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0).
- **Shabbir Maria, Muhammad R K and Naima S. (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. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-143>.
- **Shii T, Takashi T, Sayaka W, Yosuke M, Yuji M, Kei T, Shizuka T, Kazunari T, Toshiro M and Isao K. (2011).** « Polyphenol Composition Of A Functional Fermented Tea Obtained By Tea-Rolling Processing Of Green Tea And Loquat Leaves ». *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 59 (13): 7253-60. <https://doi.org/10.1021/jf201499n>.

Référence bibliographique

- **Shital S P And Zia H. Khan. (2018).** « Antioxydant And Hemolytic Auantification Of Thevetia Flowers In Different Extracts ». International Journal Of Pharmacy And Biological Sciences.
- **Sofowora A, Ogunbodede E and Onayade A. (2013).** « The Role And Place Of Medicinal Plants In The Strategies For Disease Prevention ». African Journal Of Traditional, Complementary And Alternative Medicines 10 (5): 210-29. <https://doi.org/10.4314/Ajtcam.V10i5.2>.
- **Song, Feng-Lin, Ren-You Gan, Yuan Zhang, Qin Xiao, Lei Kuang and Hua-Bin Li. (2010).** « Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medicinal Plants ». International Journal of Molecular Sciences 11 (6): 2362-72. <https://doi.org/10.3390/ijms11062362>.
- **Sultan Mostafa Z. (2017).** « Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) ». In *Fruit And Vegetable Phytochemicals*, Edité Par Elhadi M Yahia, 1^{re} Ed., 1107-26. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119158042.Ch55>.
- **Sultan Mostafa Z and Elhadi M . (2017).** Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) Fruit And Vegetable Phytochemicals: Chemistry And Human Health, 2nd Edition: <https://doi.org/10.1002/9781119158042>.

T

- **Tabassum s, Saeed A, Kashif u, Fouzia T, Anjum K, Qamar uz Z, Najat A. B, Alanoud A, Ashraf A. H and Yinglong C. (2022).** « Phytochemical Profiling, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Thrombolytic, Hemolytic Activity In Vitro and In Silico Potential of *Portulacaria afra* ». <https://doi.org/10.3390/molecules27082377>.
- **Tessier F Et Marconnet P. (1995).** « Radicaux Libres, Systèmes Antioxydants Et Exercice ».

V

- **Vital P G and Rivera L W . (2009).** « Antimicrobial Activity And Cytotoxicity Of *Chromolaena Odorata* (L. F.) King And Robinson And *Uncaria Perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts ».

W

- **Williams, L.A.D, Vasquez EA, Milan PP, Zerbitz C and Kraus W . (2002).** « IN Vitro Anti-Inflammatory And Antimicrobial Activities Of Phenylpropanoids From *Piper Belle L.* (Piperaceae) », 221-27.

Référence bibliographique

- **Wijekoon M M, Jeevani O, Rajeev B and Alias K A. (2011).** « Effect of Extraction Solvents on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Bunga Kantan (Etlingera Elatior Jack.) Inflorescence ». *Journal of Food Composition and Analysis* 24 (4-5): 615-19. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.09.018>

X

- **Xu W and Larbi A . (2018).** « Immunity And Inflammation: From Jekyll To Hyde ». *Experimental Gerontology* 107 (Juillet):98- 101. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.11.018>.

Y

- **Yap C. F., Ho C. W., Wan Aida W. M., Chan S. W., Lee C. Y And Leong Y. S. (2009).** « Optimazation Of Extraction Condition Of Total Phenolic Compounds From Star Fruit (Averrhoacarambola L.) » *Residues. Sains Malaysiana*, 38 (4): 511- 520.
- **Yougaré-Ziébro M. N, Ouédraogo N, Lompo M, Bationo H, Yaro B, Gnoula C, Sawadogo W R and Guissou I P . (2016).** « Activités Anti-Inflammatoire, Analgésique Et Antioxydante De L'extrait Aqueux Des Tiges Feuillées De Saba Senegalensis Pichon (Apocynaceae) ». *Phytothérapie* 14 (4): 213-19. <https://doi.org/10.1007/S10298-015-0992-5>.

Z

- **Zeghal K. M and Sahnoun Z . (2013).** « La Réaction Inflammatoire Et Le Stress Oxydant ». In *Abrégé De Physiologie A L'usage Des Acupuncteurs Et Des Réflexothérapeutes*, Par Yves Rouxville, 47-53. Paris: Springer Paris. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0361-6_4
- **Zhang Y-H, Daniela A, Howe L, Quanxing W, Wen W, Yi-Li Z and Xue-Qiang W. (2023).** « Editorial: Inflammatory Pain: Mechanisms, Assessment, And Intervention ». *Frontiers In Molecular Neuroscience* 16 (Septembre):1286215. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1286215>.
- **Zulkifli S A, Siti Salwa A G, Uswatun H Z and Mohd I E H. (2020).** « Optimization Of Total Phenolic And Flavonoid Contents Of Defatted Pitaya (Hylocereus Polyrhizus) Seed Extract And Its Antioxidant Properties ». *Molecules* 25 (4): 787. <https://doi.org/10.3390/Molecules25040787>.

Annexes

Annexe N 01 : Les quantités de poudre et solvant pour chaque extrait.

Tableau I : Le ratio d'extraction poudre / solvant.

Rapport	1 :2	1 :5	1 :10	1 :10
Poudre (g)	20	20	20	20
Concentration d'éthanol (ml)	40	100	300	400

Annexe N 02 : Courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tannins condensés.

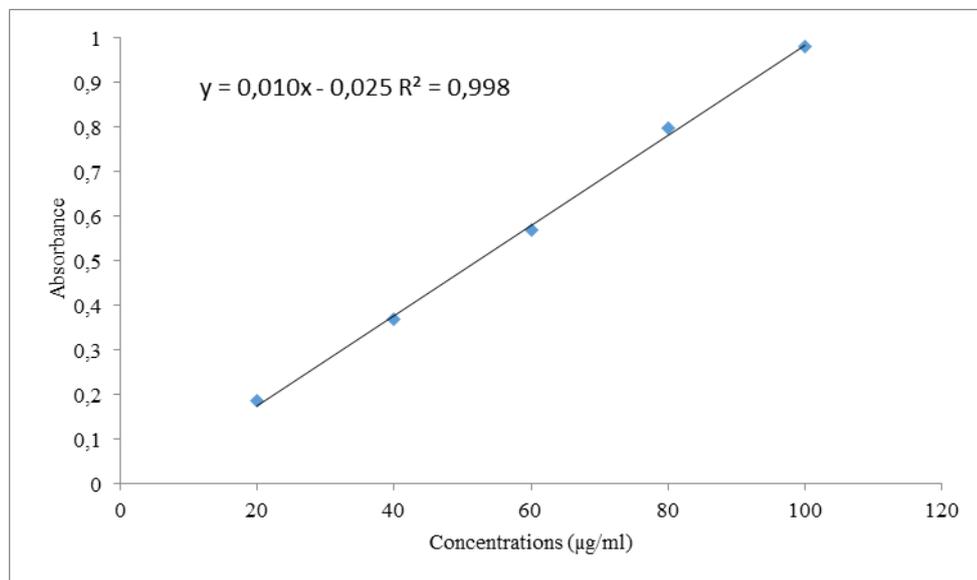


Figure 1 : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

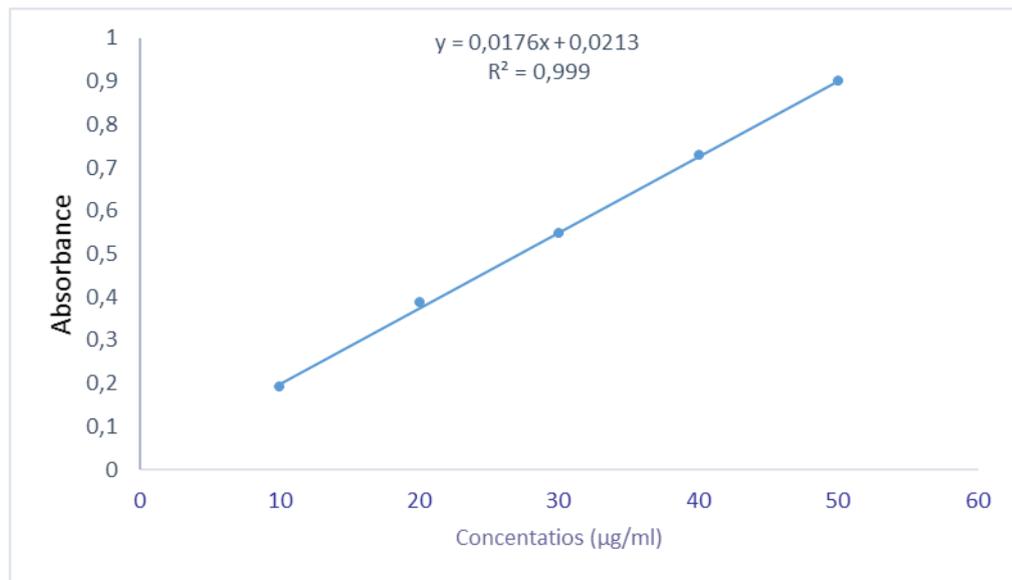


Figure 2 : courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

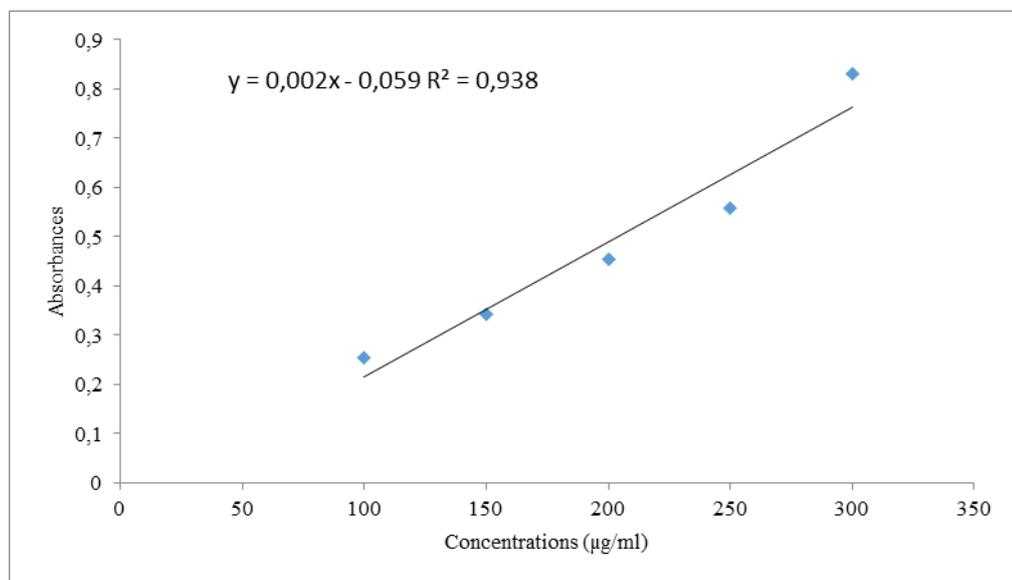


Figure 3 : courbe d'étalonnage avec la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Annexe N 03 : Screening phyto-chimique

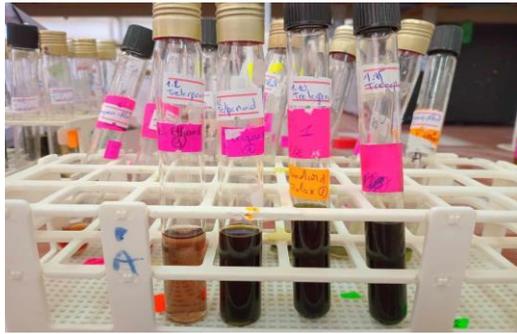


Figure A : Terpénoïdes

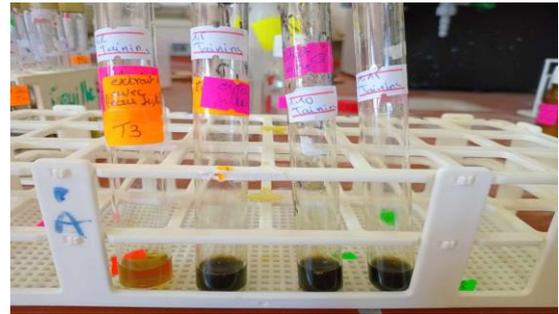


Figure B : Tanins



Figure C : Alcaloïdes



Figure D : protéines



Figure E : Anthocyanines

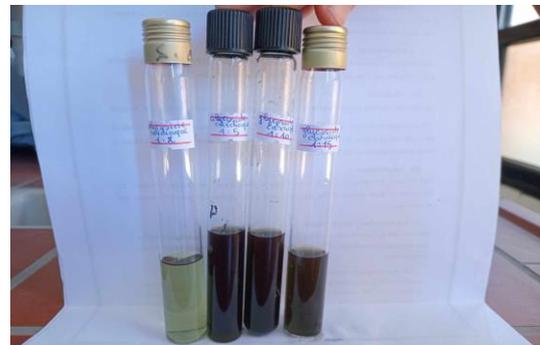


Figure F : Glycosides cardiaques



Figure G : Flavonoïdes



Figure H : Acid Amine



Figure I : Saponines

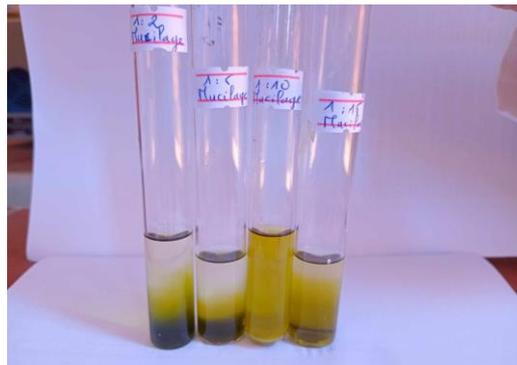


Figure J : Mucilage

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer *in vitro* les propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*, une plante médicinale appartenant à la famille des Rosacées.

Après avoir préparé les quarts extraits de la plante, en fonction du ratio d'extraction, nous avons d'abord réalisé un screening phyto-chimique pour une évaluation qualitative, suivi par des dosages phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) pour une appréciation quantitative. Les résultats révèlent la présence de métabolites secondaires à l'exception des mucilages et des acides aminés. Les dosages phénoliques ont montré des niveaux élevés en phénols totaux ($70,73 \pm 6$ et $86,8 \pm 7,66$ mg EAG/g d'extrait) et en tanins ($52,33 \pm 13$ - $102,41 \pm 1,06$ mg EC/g d'extrait) condensés, mais une faible présence de flavonoïdes ($4,64 \pm 0,29$ - $5,89 \pm 0,33$ mg EQ/g d'extrait). Par ailleurs, les extraits d'*Eriobotrya japonica* ont exhibé une activité anti-radicalaire élevée vis-à-vis des deux radicaux DPPH \cdot ($98,69 \pm 0,16$ %) et ABTS \cdot^+ ($99,39 \pm 0,36$ %). L'étude d'innocuité des extraits n'a révélé aucune toxicité envers les érythrocytes humains. D'autre part, l'activité anti-hémolytique (94,74 %) suggère une activité anti-inflammatoire significative. Cette étude souligne ainsi les promesses des extraits des feuilles d'*Eryobotrya japonica* en tant que source potentiellement riche en agents anti-oxydants et anti-inflammatoires naturels ; bien que la confirmation de l'efficacité de ses effets étudiés requiert davantage d'investigations.

Mots clés : *Eriobotrya japonica*, Anti-radicalaire, Anti-inflammatoire, Anti-hémolytique, Composés phénoliques.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the anti-oxidant and anti-inflammatory properties of extracts from leaves of *Eryobotrya japonica*, a medicinal plant belonging to the Rosaceae family, through *in vitro* methods.

After preparing the extracts of the plant, depending on the extraction ratio, we first conducted a phytochemical screening for qualitative assessment, followed by phenolic content assays for quantitative evaluation (total phenolics, flavonoids and tanins). The results revealed the presence of various secondary metabolites, except for mucilages and amino acids. Phenolic assays indicated high levels of total phenols ($70,73 \pm 6$ et $86,8 \pm 7,66$ mg GAE/g of extract) and condensed tannins ($52,33 \pm 13$ - $102,41 \pm 1,06$ mg CE/g of extract), with a low presence of flavonoids ($4,64 \pm 0,29$ - $5,89 \pm 0,33$ mg QE/g of extract). The leaves extracts of Loquat exhibited significant anti-radical activity as demonstrated by DPPH ($98,69 \pm 0,16$ %) and ABTS ($99,39 \pm 0,36$ %) methods. The extracts were non-toxic to human erythrocytes. Moreover, the anti-hemolytic activity (94,74 %) suggests a significant anti-inflammatory activity. This study highlights the best extraction ratio which was, 1/10 as to our plant, as well as the potential of *Eryobotrya japonica* leaf extracts to be a rich source of natural anti-oxidants and anti-inflammatory agents; although further investigations are needed to corroborate their biological effects efficacy.

Keywords: *Eriobotrya japonica*, Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Anti-hemolytic, Phenolic compounds.