



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**Etude phytochimique des extraits d'une
plante médicinale : *Eriobotrya japonica*
Lindl.**

Présenté par : M^{elle} Baala Oumnia

Le : 14/07/2021

M^{me} Mermoul Amina

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. Mosbah A. Maître de conférences A-UFM, Constantine 1

Examinatrice : Dr. Guendouze A. Maître de conférences B-UFM, Constantine 1

Encadreur : Dr. Demmak R.G. Maître de conférences B-USB, Constantine 3

Année universitaire : 2020 – 2021

Remerciement

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biochimie appliquée de chaab ressas de monsieur Bensegueni, Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté de la Science de la Nature et de la Vi., Université de frères Mentouri Constantine 01, sous la direction de docteur DEMMEK Rym Gouta, Maitre de conférences au département de médecine, Université Salah Boubnider, Constantine 3, nous lui exprimons notre profonds remerciements et notre vive reconnaissance pour son attention, sa disponibilité et pour le temps qu'elle nous a consacré pour corriger ce manuscrit.

Nous remercions les jurys de notre mémoire de Master.

Un grand merci global et général a tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail qu'ils ne s'offusquent pas de ne pas être cités ici mais sois assurer de notre sincère reconnaissance.



Dédicace OUMNIA

Avec l'aide de Dieu

*Tout-Puissant m'a donné la force et
Patience pour pouvoir faire ce travail*

Je dédie ce travail :

*À Mon très cher père, Merci pour tout ce que tu
fais pour moi papa,*

*À Ma très chère maman, Que Dieu le tout
puissant te préserve,*

À mes très chères sœurs : Duaa et Roeya,

À mon très cher frère : Abd Elmouemin,

À ma chère binôme : Amina.



Dédicace AMINA

*Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce modeste
travail à :*

- *l'esprit de ma mère, qui m'accompagne et me soutient
toujours.*
- *A l'homme, mon précieux offre du dieux, qui
m'encourage toujours et qui soit ma réussite et tout
mon respect : mon cher marie Doureyd.*
- *A mes belles filles Lina et Dina Rahma pour leur
soutient et leur amour.*
- *A mon cher père et ma mère qui m'a élevée.*
- *A ma chère belle mère et mon grand père a leurs
efforts et leurs soutiens.*
- *A mon adorable sœur Merieme et son marie Thabet
qui n'ont pas cessée de me conseillé, encourager et
soutenir tout au long de mes études, que dieu les
protège avec ces enfants.*
- *A mes chers sœur et frères pour leur soutien et ses
familles, et a tous mes proches qui sont pas citées ici.*
- *En fin, je remercie de tout cœur ma chère binôme
Oumnia pour son soutien et pour les bons moments
passés ensemble tout au long de mes études et en
dehors.*
- *Et un grand Merci pour madame
Demmak Rym a leur soutien et
leur patience.*

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : généralité sur la nêfle du Japon

1. Historique du néflier	2
2. Généralités.....	2
3. Description botanique.....	3
a) Caractéristiques des différentes parties de la plante	5
b) Classification botanique	7
4. Ecologie et distribution géographique d' <i>Eriobotrya japonica</i>	8
5. Composition et valeur nutritive	9
a) Composition biochimique	9
✓ Triterpenes.....	10
✓ Sesquiterpènes	10
✓ Polyphénols.....	11
✓ Huiles essentielles	11
b) La valeur nutritionnelle	11
6. Usage traditionnelle	13
7. Activités biologiques	14
➤ Activité sur l'obésité	14
➤ Contrôle de la pression artérielle	15
➤ Prévention du diabète	15
➤ Amélioration de la fonction du foie	15
➤ Effet antiviral	15

➤ Prévention du risque de cancer.....	16
➤ Apaisement des voies respiratoires	16
➤ Effet sur le système immunitaire.....	16
➤ Amélioration de la vision	17
➤ Digestion	17
➤ Activité antioxydant	17

Chapitre II : les métabolites secondaires d'*Eriobotrya japonica* Lindl

1. Les métabolites secondaires	18
1.1 Les composés phénoliques	18
1.1.1 Les acides phénoliques :.....	19
1.1.2 Les flavonoïdes :.....	20
1.1.3 Les tanins.....	21

Chapitre III: matériels et méthodes

1. Matériels	23
2. Méthodes	23
2.1 Préparation du matériel végétal	23
□ Macération et extraction des composés phénoliques.....	24
2.2 Criblage ou screening phytochimique	27
2.3 Dosage des polyphénols totaux	28
□ Principe.....	28
□ Préparation des solutions.....	28
2.4 Activité antibactérienne.....	31
□ Test d'activité antibactérienne	32

Chapitre VI : Résultats discussion

1. Caractères des extraits	35
2. Détermination du rendement d'extraction.....	35
3. Criblage phytochimique	37
4. Dosage des phénols totaux..	39
5. Activité antibactérienne.....	42
Conclusion et perspective	47

Référence

Annexe

Résumé

Liste des abréviations

ACoET : Acétate d'éthyle.

CA : Acide corosolique.

CCM : chromatographie sur couche mince.

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane.

CMI : la concentration minimale d'un antibiotique inhibitrice.

E. Coli : *Escherichia Coli*.

EtOH : Ethanol

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

GSH : Glutathion.

GSSH : Glutathion disulfure.

H₂O : l'eau.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

MA : Acide maslinique.

MeOH : méthanol.

MeqAG/g : mg équivalent acide gallique (AG)/g d'extrait.

Mg : Milligramme

ml : Millilitre.

OA : Acide oléanolique.

UA : Acide ursolique.

R_f : le rapport frontal.

Staphylococcus. A : *Staphylococcus Aureus*.

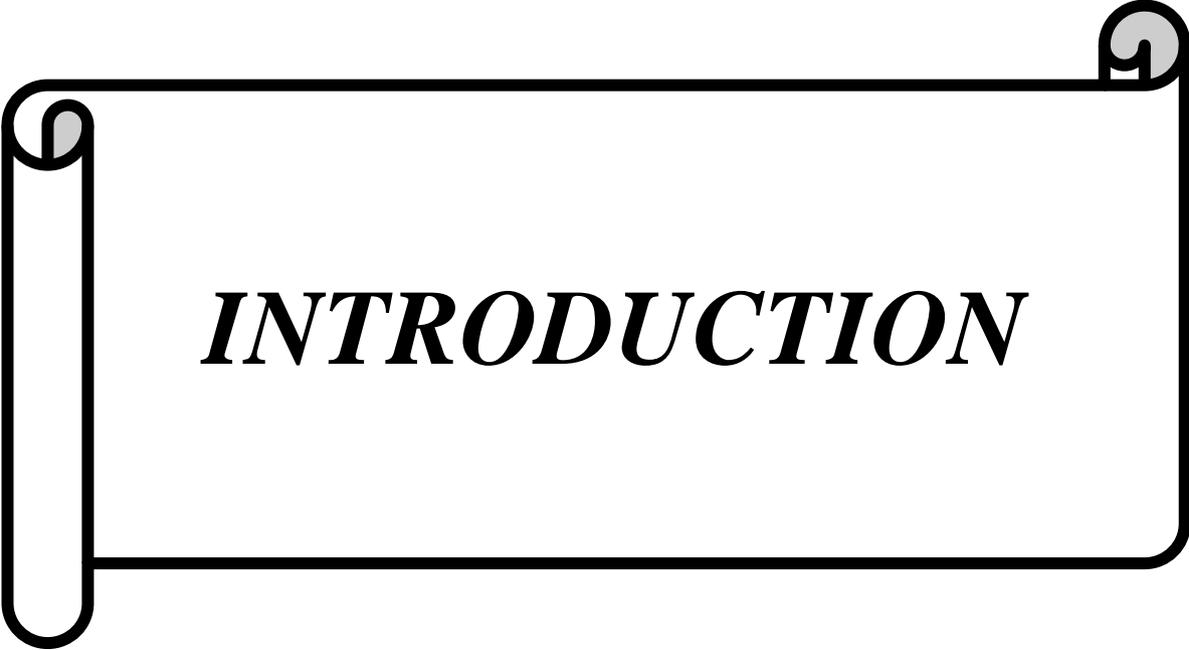
TA : l'acide tormentique (TA).

Liste des figures

Figure 1 : le néflier <i>Eriobotrya Japonica</i>	3
Figure 2: les brilles et les bourgeons de la plante	4
Figure 3: les fruits d' <i>Eriobotrya</i>	4
Figure 4: Distribution géographique d' <i>Eriobotrya Japonica</i>	9
Figure 5: Structure chimique de l'acide corosolique, l'acide urosolique, l'acide maslinique et l'acide oleanique.	10
Figure 6: structure des sesquiterpènes.	11
Figure 7: Structure des flavonoïdes glycosidiques.	11
Figure 8 : structure de flavonoïdes.....	20
Figure 9 : structure de tanin hydrolysés	21
Figure 10: La structure des tanins condensé.	22
Figure 11 : photographie de la plante d' <i>Eriobotrya japonica</i> lindl.....	23
Figure 12 : la poudre obtenue des fleurs sèches de la plante(A) et la poudre des feuilles sèches (B).	24
Figure 13: les étapes de la macération.	25
Figure 14: Organigramme d'extraction et d'évaporation.....	25
Figure 15: évaporateur rotatif.	26
Figure 16: Protocole de dosage des composés phénolique.....	30
Figure 17: Représentation graphique des du rendement d'extraction en (%) des extraits d' <i>Eriobotrya japonica</i> .L.	36
Figure 18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	39
Figure 19: Représentation graphique des teneurs en phénols totaux des extraits d' <i>Eriobotrya Japonica</i> .L.....	40
Figure 20: Représentation graphique du taux des composés phénoliques des extraits d' <i>Eriobotrya japonica</i> .L	41
Figure 21: le résultat de CMI d' <i>E.Coli</i> après 24h d'incubation a 37°C, pour l'extrait dichlorométhane.....	43
Figure 22 : Le résultat de CMI d' <i>E.Coli</i> après 24h d'incubation à 37°C, pour l'extrait méthanolique.....	43
Figure 23: Le résultat de CMI d' <i>E.Coli</i> après 24h d'incubation à 37°C pour l'extrait l'éthanol.	44
Figure 24: Le résultat de CMI de <i>Staphylococcus</i> après 24h d'incubation a 37°C pour l'extrait méthanolique et l'éthanol/eau.	44
Figure 25: Diagramme de l'activité antibactérienne des extraits pour la souche.....	45
Figure 26: Diagramme de l'activité antibactérienne des extraits pour la souche <i>Staphylococcus</i>	46

Liste des tableaux

Tableau I: principales caractéristiques de différentes parties d' <i>Eriobotrya japonica</i> ...	5
Tableau II: Classification botanique d' <i>Eriobotrya japonica</i> lindl.	7
Tableau III: Composition du fruit de nêfle du Japon.....	12
Tableau IV: propriétés des diverses partie d' <i>Eriobotrya japonica</i>	13
Tableau V: Les principales classes de composés phénolique.....	19
Tableau VI: les concentrations utilisées de l'acide gallique et les autres extraits.....	29
Tableau VII: principale caractéristique des souches bactériennes testée.....	32
Tableau VIII: Le rendement d'extraction en (g) et en (%).	36
Tableau IX : résultats de screening phytochimique	37
Tableau X: les CMI des différents extraits d' <i>Eriobotrya japonica</i> .L.	43



INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales constituent une source de substances à activités biologiques et pharmacologiques très variées. Ces substances, également connues sous le nom de métabolites secondaires, sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments.

Eriobotrya japonica L est une plante médicinale appartenant à la famille des rosacées, utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies, notre travail repose sur l'étude des métabolites secondaires des extraits de cette plante médicinale (**Benmassaoud et al., n.d.**).

Le néflier (*Eriobotrya japonica* Lindl.) est un petit arbre fruitier originaire de Chine et a été largement cultivé à des fins commerciales depuis le 19ème siècle. Le néflier cultivé au Japon avait été introduit depuis la Chine dans des temps reculés, puis le néflier a été introduit dans le bassin Méditerranéen (Espagne, Algérie, Turquie et Italie), dans une certaine mesure en Inde et au Brésil et de façon plus limitée au Chili et aux États-Unis...etc. L'arbre pousse le mieux dans un climat subtropical à tempéré chaud.

Les nèfles sont consommées en grande partie comme des fruits frais, bien que de petites quantités soient utilisées en confitures, gelées, sirops. Le fruit contient presque tous les éléments essentiels, étant particulièrement riche en minéraux, et en caroténoïdes, il est une bonne source de vitamine A et composés phénoliques.

Notre travail est scindé en deux parties, la première partie est une étude théorique qui résume des données bibliographiques sur la nèfle du Japon et ses métabolites secondaires et la seconde partie est une étude pratique incluant matériel et méthodes d'analyses, les résultats obtenus et leur discussion (**En et al, 2016**).

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la nèfle du Japon

1. Historique du néflier

Eriobotrya est un nom grec formé de, "erion" et "botrus" qui signifie respectivement laine et grappe, ce genre comprend une trentaine d'arbustes ou arbres persistants, originaires d'Asie (**Et et al., 2015**).

Depuis plus de 2000 années, le nèfle du Japon ou l'*Eriobotrya Japonica* Lindl a été cultivé au Japon (**En et al., 2016**).

Par contre, son introduction en culture en Europe et en Amérique s'est faite dans les années 80. En France, c'est seulement vers 1831 qu'on commençait à considérer le nèfle comme arbre fruitier (**Et et al., 2015**), puis leur culture a été décrite dans divers pays comme l'Algérie, l'Égypte, la Grèce, Italie, Espagne, la Tunisie et la Turquie.

En Algérie, il était cultivé à l'arrivée des Français, mais il n'était représenté que par des formes de petits fruits et de qualité médiocre. Après les travaux, les nouvelles variétés sont à pulpe charnue et sans trop de pépins (**En et al., 2016**).

Le vrai nom arabe du néflier du Japon c'est : El Bachmalatetet d'autres appellations selon les régions ;Thouvrasth et Massebli en Kabylie, m'chim'cha à Alger, El-molléce à Béchar et Oran, zââroura et bou-ââdima à Tlemcen et Zaarour à Constantine (**En et al., 2016**).

2. Généralités

Le néflier *Eriobotrya japonica* est un petit arbre fruitier de la famille de Rosacées, leur fruit est considéré comme une bonne source de tous les nutriments essentiels, étant particulièrement riche en minéraux, sucres, caroténoïdes et acides organiques, les phénoliques, les flavonoïdes, la vitamine C et les terpénoïdes, qui contribuent à la santé humaine.

Dans la médecine traditionnelle chinoise, toutes les parties du néflier sont utilisées. Selon les études pharmacologiques, les divers extraits de la nèfle possèdent des propriétés hépatoprotectrices, gastroprotectrices, anti-inflammatoires, antioxydantes, hypoglycémiques ou antihyperglycémiques, hypolipidémiques, antiallergiques, antivirales, anticancéreuses et anti-plaquettaires plus des effets

bénéfiques contre la bronchite chronique et la néphropathie (**Mostafa.Z. S&Elhadi.M.Y.2017**).

3. Description botanique

La nêfle *Eriobotrya Japonica* est un arbre à feuilles persistantes et peut atteindre 25 à 30 pieds de hauteur en l'ombre mais est fréquemment vu de 15 pieds de haut avec un 15 à 25 pied de largeur dans un endroit ensoleillé. Les feuilles de 10 à 12 pouces de long sont de couleur rouille dessous avec une texture grossière (Figure.1).



Figure 1 : le néflier *Eriobotrya japonica*.

Le néflier fleurit à la fin de l'hiver et au printemps, leurs fleurs sont produites à l'automne sous forme des grappes parfumées avec une couleur blanche crémeuse (tableau I).

Les fruits ont une fourrure comestible jaune, en forme de poire (**Gilman & Watson, 1993**). La taille de l'arbre varie selon le cultivar peut être de forme naine ou jusqu'à une hauteur de dix mètres. Il a de petites brindilles, des bourgeons de coton (Figure. 2).



Figure 2: les brilles et les bourgeons de la plante.

Eriobotrya à des racines minces et des feuilles simples et fixes, il a de grandes veines oblongues fortes, d'une longueur de 15 à 30 cm (Figure3).

Leurs fleurs blanches de 1 à 2 cm de diamètre et grappes pyramidales (Figure 3).

Les fruits sont de forme ovale, de deux à sept cm de long, de couleur jaune-orange avec une chair orange, et ont un goût rafraîchissant, les fruits mûrissent en juillet et août et contiennent quatre à cinq grosses graines brun-noir variant en taille avec une longueur d'un à un centimètre et demi.



Figure 3: les fruits d'*Eriobotrya*.

La nêfle est un fruit très apprécié pour son goût, il est riche en composés antioxydants (épicathéchine, cinchonaine ...etc.) des composés bioactifs comme les tris terpènes (acide oléanolique, acide ursolique, acide tormentique, amygdaline en particulier) et les tanins condensés (procyanidine B2, au super pouvoir antioxydant) (Gentile et al., 2016 ; Goulas et al., 2014 ; Li et al., 2009 ; Shi et al., 2018 ; Taniguchi et al., 2002 ; Xu and Chen, 2011 ; Xu et al., 2012 ; Zhou et al., 2007).

La nêfle contient :les carotènes antioxydant, vitamine A (Godoy and Amaya, 1995).

a. Caractéristiques des différentes parties de la plante

le néflier du Japon forme un bel arbre d’ombrage, ses fruits orangés de la taille d’une prune sont très juteux et sucrés.

Tableau I: principales caractéristiques de différentes parties d'*Eriobotrya japonica* (Nait Mouloud & Ikken.2014).

Organe	Description	Références
<p>Feuilles</p> 	<ul style="list-style-type: none"> – Persistantes. – Pectinée ; dentelée. – Forme ovale. – 12 à 30 cm de long et 3 à 9 cm de large. – Couleur toujours verte. – Bordées de quelques dents espacées. 	<p>(Nait Mouloud & Ikken.2014).</p> <p>(Gilman & Watson, 1993).</p> <p>(Edward et al. 1993 ; Junko et al. 2007)</p> <p>(Tonelli et Gallouin, 2013)</p>
<p>Fleurs</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Odorantes. – De couleur blanche 	<p>(Nait Mouloud & Ikken.2014).</p>

	<p>et délicate.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Contient généralement 5 pétales. - Floraison automnale et hivernale. - Parfum agréable ; voyant. 	<p>Ikken.2014). (Gilman & Watson, 1993). (Etienne, 1994). (Ercisli et al, 2012)</p>
<p>Fruits</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Appelé la nêfle. - De forme ovale, arrondie ou piriforme. - Surface lisse ou duveteuse. - Chaque fruit contient de trois à cinq grosses graines. - Couverture charnue. - Couleur jaune pâle à orange vif. - Parfumée et légèrement acidulée. - Mesure environ 8cm de long et 4cm de diamètre dans sa partie la plus renflée. 	<p>(Nait Mouloud & Ikken.2014). (Gilman & Watson, 1993). (Orwa et al., 2009). (Pesson et al. 1984 ; Tonelli et Gallouin, 2013</p>
<p>Graines</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Couleur brune. - Forme allongée de 1 à 2cm de long. 	<p>(Nait Mouloud & Ikken Orwa et al, 2009) n.2014).</p>
<p>Tronc et branche</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Écorce fine. 	<p>(Gilman &</p>

	<p>– Pas d'épines</p>	<p>Watson, 1993).</p>
---	-----------------------	------------------------------

b. Classification botanique

L'*Eriobotrya japonica* Lindl appartient a la famille de Rosacée selon la classification résumé dans le tableau (II).

Tableau II: Classification botanique d'*Eriobotrya japonica* lindl (En et al., 2016).

Classification botanique d'<i>Eriobotrya japonica</i> Lindl	
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	<i>Eriobotrya</i>
Espèce	<i>Eriobotrya japonica</i>
Noms vernaculaires	Bibassier, bibacier ou, néfler du Japon (français), loquât (anglais), biwa (japonais), bibasyoupibasy (malagasy).

4. Ecologie et distribution géographiques d'*Eriobotrya japonica*

Eriobotrya japonica est une plante au climat subtropical avec une pluviosité bien répartie tout au long de l'année et sans chaleurs excessives, particulièrement au moment de la maturité des fruits. C'est dans les stations situées près de la mer que sont réunies les meilleures conditions de culture, tant du point de vue de la production que de la qualité du fruit, qui nécessite un climat tempéré pour se développer avec une pluviométrie annuelle moyenne de 600 -1000 mm répartie uniformément tout au long de l'année (Orwa, 2009).

Le néflier est tolérant à la sécheresse et supporte de légères gelées. Des températures inférieures à -5°C gèlent les fleurs, et celles inférieures à -12°C peuvent lui être fatales. Il croit sur une grande variété de sols, depuis les limons sableux jusqu'aux argiles lourdes; toutefois, la meilleure croissance se remarque sur les sols limoneux légers, profonds, humides et bien drainés (En et al., 2016), elle nécessite beaucoup d'eau pendant la période de croissance du fruit leur besoin en eau varie de 600 à 800 mm /ha/an (Walali et Sciredj, 2003).

Eriobotrya japonica est largement distribuée dans le monde entier en plus des pays d'origine du Japon et de la Chine, cette plante est également cultivée dans les pays méditerranéens, aussi trouvé sur le continent africain, américain en particulier au Brésil (Walali et Sciredj, 2003).



Figure 4: Distribution géographique d'*Eriobotrya Japonica*

5. Composition et valeur nutritive

Le néfler du japon est une plante très riche en nutriment car elle contient presque tous les éléments essentiels tels que les vitamines, les minéraux, les caroténoïdes et les composés phénoliques (En et al., 2016).

a. Composition biochimique

Divers composés ont été trouvés dans les feuilles tels que les : triterpènes, sesquiterpènes, flavonoïdes, tanins et des glucosides (Ayouni& Adrar, 2017).

La nêfle contient :

- 78,0% d'eau.
- 10,6% d'hydrates de carbone.
- 10,2% de fibre.
- 0,5% de lipides complexes.
- 0,4% de protéines.
- 0,3% d'autres composantes (Shahi et al. 2009).

Les feuilles de cette plante contiennent des composés biologiquement actifs comme : les polyphénols (tanins, flavonoïdes), les triterpènes, sesquiterpènes et les glycosides de Megastigmane (Jin et al. 2011 ; Al shaker et al. 2011).

✓ Triterpenes

Les feuilles de cette plante contiennent de nombreux triterpènes (Tamiguchi et al. 2002). Comme l'acide corosolique (CA), l'acide maslinique (MA) l'acide ursolique (UA), l'acide oléanolique (OA) et autre composé comme l'acide tormentique (TA) (Er-Na et al., 2009 ; Hui-ya et al., 2010) (Ayouni & Adrar, 2017) (Figure 5).

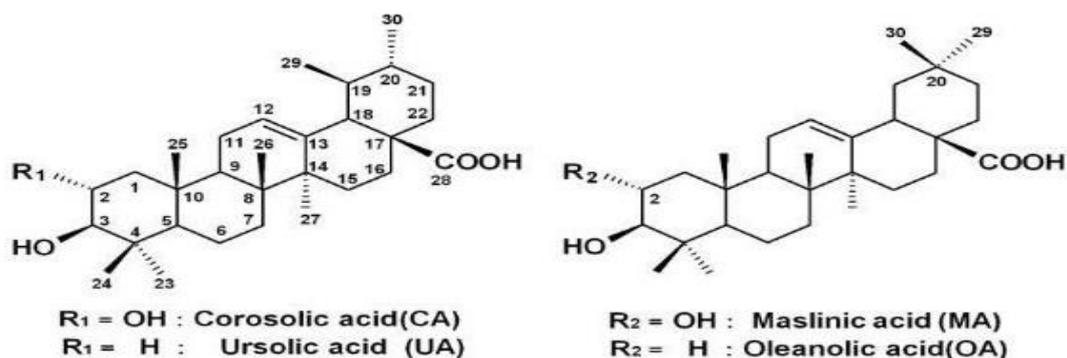


Figure 5: Structure chimique de l'acide corosolique, l'acide ursolique, l'acide maslinique et l'acide oleanique (Ayouni & Adrar, 2017).

✓ Sesquiterpènes

L'*Eriobotrya japonica* est très riche en sesquiterpènes et par une chaîne d'oligosaccharidique ramifiée qui constitue de β D-glicopyranosyl et d' α -rhamnopyranoxyl (Figure 6) (Takuhiko et al. 2013), (Ayouni & Adrar, 2017).

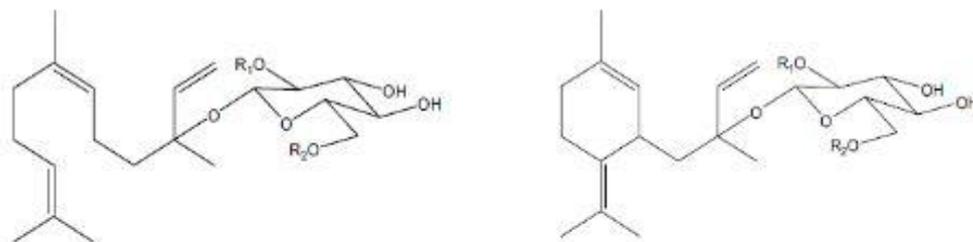


Figure 6: structure des sesquiterpènes (Ayouni & Adrar, 2017).

✓ Polyphénols

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* sont riches en composés phénoliques tels que les flavonoïdes glycosidiques et les procyanidines (figure 7) (Al shaker et al. 2011), (Ayouni & Adrar, 2017).

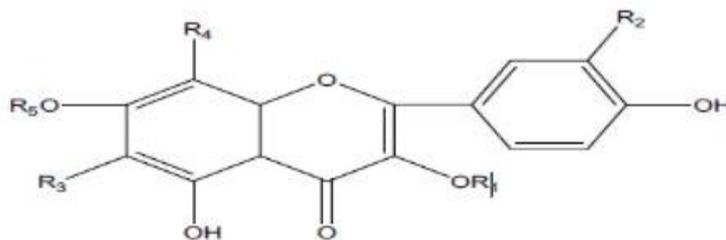


Figure 7 : Structure des flavonoïdes glycosidiques (Ayouni & Adrar, 2017).

✓ Huiles essentielles

Plusieurs types d'huiles essentielles existent dans les feuilles d'*Eriobotrya japonica* tel que : farnesol , nerolidol , a-pinène et b-pinène, camphène , la b-myrcène, le p-cymère, linalool.(Ayouni& Adrar, 2017), l' α -farnesène, la β -farnésène, le nérol...etc. (Chen et Li et al. 2008).

b. La valeur nutritionnelle

L'*Eriobotrya* est une bonne source de vitamine A ; ainsi que des flavonoïdes, des acides phénoliques tels que l'acide chlorogénique, acide néo-chlorogénique, acide hydroxybenzoïque, l'acide feruloylquinique, l'acide protocatechique, l'épicatéchine, les acides coumariques et de l'acide férulique (En et al., 2016).

Le fruit frais est riche en vitamines du groupe B, tels que les folates, la vitamine B6 et l'inosine, il contient de petites quantités de vitamine C, et elle est une bonne source de fer, de cuivre, de calcium, de manganèse et d'autres minéraux.

On sait que :

- Le manganèse est utilisé par l'organisme comme un cofacteur pour l'enzyme antioxydante, le superoxyde dismutase.
- Le cuivre est nécessaire dans la production des globules rouges.
- Le fer est nécessaire comme cofacteur dans l'oxydation cellulaire et la formation des globules rouges.
- Le potassium est le minéral le plus abondant dans la nêfle (266- 1216mg/100g de fruit), qui est un élément important des fluides cellulaires et du corps, il aide au contrôle de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle.

Le tableau (III) présente le contenu de 100 grammes de la nêfle en nutriments (protéines, glucides, sucres, lipides, sodium, sels minéraux et vitamines) qui entrent dans sa composition avec des valeurs moyennes peuvent varier selon les types de nêfle (En et al., 2016).

Tableau III: Composition du fruit de nêfle du Japon (En et al., 2016),

Constituants	Contenu par fruit de 100 g
Eau(g)	86.5-88.2
Calories (Kcal)	47-168
Glucides	9.6-43.3
Protéines diététique totales (g)	0.8-1.7
Lipides totaux (g)	0.2-0.7
Acide gras saturé (mg)	0.04
Cendres (g)	0.4-0.5
Calcium (mg)	16-17
Cuivre (mg)	0.04
Fer (mg)	0.28-1.4
Magnesium (mg)	13
Manganèse (mg)	0.148
Phosphor (mg)	20-126
Potassium (mg)	266-1216
Sodium (mg)	1
Vitamine C (mg)	1.0-3.0
Vitamine A (mg)	0.153
Vitamine B1 (mg)	0.019
Vitamine B2 (mg)	0.024
Vitamine B3 (mg)	0.18
Caroténoïdes totaux (µg)	196-3020
Carotènes (µg)	559
Composés phénoliques totaux (mg)	33.6
Flavonoïdes totaux (mg)	24.3

6. Usage médicinal traditionnels

Le thé à base de feuilles et de fleurs séchées est l'un des remèdes contre la toux les plus courants en Extrême-Orient. Il est également utilisé en Chine, en Corée et au Japon pour traiter l'asthme et diverses maladies. Dans la médecine chinoise traditionnelle soutenue par la preuve scientifique courante.

Tableau IV: propriétés des diverses partie d'*Eriobotrya japonica* (Dharambir et al., 2016).

Propriétés des diverses parties d'<i>Eriobotrya japonica</i>		
Feuilles	Fleurs	Fruits
<ul style="list-style-type: none"> – Analgésiques. – Antibactériennes. – Antivirales. – Astringentes. – Anti-inflammatoires. – Antiémétiques. – Antitussives. – Expectorantes. – Diurétiques. – Antioxydante. – Anti tumorale. – Immunomodulatrices. – Hépatoprotectrices. 	<ul style="list-style-type: none"> – Expectorantes 	<ul style="list-style-type: none"> – Légèrement astringents. – Légèrement expectorantes. – Sédatives.

– Réno protectrices.		
– Gastro protectrice.		
– Anti-Ostéoporose.		

7. Activités biologiques

En générale, Des régimes riches en divers antioxydants tels que l'acide ascorbique, les composés phénoliques, fibres et caroténoïdes peuvent abaisser le risque des maladies chroniques, telles que les maladies cardio-vasculaires, le cancer et le diabète (**En et al., 2016**).

Les fleurs et les feuillettes des plantes sont de nombreux composés phénoliques et triterpéniques, ces composants ont des propriétés hypoglycémiantes, antioxydantes, antitumorales, anti-inflammatoires, Antidiabétique et antivirales (**Kammoun et al, 2015 ; Edward et al, 1993**).

➤ **Activité sur l'obésité :**

Grâce à cette étude, il a été démontré que les extraits de feuilles d'*Eriobotrya japonica* ont un effet anti-obésité par la régulation des facteurs de transcription l'adipogène PPAR γ et le C /EBP α dans les cellules adipeux 3T3-L1 (**Jin et al, (2011)**).

➤ **Contrôle de la pression artérielle**

Le fruit du néflier contient le potassium qui agit comme un vasodilatateur pour le système cardiovasculaire du corps. Le potassium est capable d'abaisser la tension artérielle et de protéger la santé cardiovasculaire en réduisant la contrainte et la pression sur les vaisseaux sanguins et les artères. Il est considéré comme un propulseur du cerveau, en raison de l'augmentation du débit sanguin vers les capillaires du cerveau. En plus du potassium, le fruit du néflier est constitué de minéraux comme le manganèse, le magnésium, le fer, le cuivre, la vitamine A et également l'acide folique qui préservent le niveau de la pression artérielle (**En et al., 2016**).

➤ **Prévention du diabète**

Les composés organiques de l'infusion des feuilles peuvent réguler les niveaux d'insuline et de glucose dans le sang chez les personnes qui le consomment régulièrement (**En et al., 2016**), car il contient les sesquiterpènes glycosidiques et les triterpènes (**Liu et al., 2016 ; Chen et Li et al., 2008**), ce qui contribue à protéger le corps contre le diabète (**En et al., 2016**).

➤ **Amélioration de la fonction du foie**

L'infusion des feuilles peut aider le foie, car il comprend un composé dénommé Amygdaline.

L'amygdaline joue un rôle dans la lutte contre les troubles du foie et il peut aider à traiter et à éliminer les toxines nocives du corps (**En et al., 2016**)

➤ **Effet antiviral**

Les feuilles contiennent des éléments phytochimiques tels que l'acide oléanolique, l'acide pomolique et les triterpénoïdes qui ont une activité anti-VIH et les dérivés de l'acide Ursolique 3-O-acyl sont efficaces contre le virus du SIDA (**En et al., 2016**), (**Gupta et al., 2010**).

➤ **Prévention du risque de cancer**

Le fruit du néflier contient aussi un certain nombre d'antioxydants qui sont bénéfiques pour la santé humaine. Les antioxydants sont capables de neutraliser les radicaux libres dans le corps. Ces molécules avec leurs électrons non appariés peuvent causer une mutation des cellules saines, menant à des maladies chroniques telles que le cancer parmi ces antioxydants son a une grande quantité de :

- La vitamine A : qui protège le corps contre les radicaux libres et aussi le stress oxydatif.
- Les flavonoïdes : qui protègent le corps contre les dommages des radicaux libres (**En et al., 2016**).

Des études scientifiques récentes ont montré que l'extrait d'*Eriobotrya* peut inhiber la cancérogénicité cellulaire comme le cancer du sein chez le rat (**Liu et al., 2016**). Et selon (**Takuhiko et al. (2013)**) Constaté que le dérivé des feuilles d'*Eriobotrya* est l'antiprolifératif le plus puissant des cellules leucémiques cela se fait en induisant l'apoptose par dysfonctionnement mitochondrial et activation de la caspase.

➤ **Apaisement des voies respiratoires**

L'infusion des feuilles est utilisée comme un expectorant important dans le traitement des rhumes et autres infections respiratoires, car il peut causer la toux et l'expulsion du mucus et les mucosités (**En et al., 2016**).

➤ **Effet sur le système immunitaire**

Dans la nêfle du Japon on a une grande quantité de la vitamine C qui est un élément clé du système immunitaire car elle aide à stimuler la production de la première ligne de défense du corps contre les agents pathogènes ; les globules blancs et elle travaille également comme un antioxydant pour la prévention des maladies chroniques.

La vitamine C est nécessaire pour la production de collagène, ce qui favorise la croissance et la réparation des tissus de l'organisme suite à une maladie ou une blessure (**En et al., 2016**).

➤ **Amélioration de la vision**

La nêfle devrait être l'aliment favorable à consommer pour améliorer la santé des yeux, car leurs fruits frais contiennent beaucoup de vitamine A qui est un antioxydant, Ce fruit protège les yeux contre les radicaux libres, il est également efficace pour éviter les dommages de la rétine provoquée par les radicaux libres. Donc, il améliore la vision de l'œil (**En et al., 2016**).

➤ **Digestion**

Le fruit du néflier contient des fibres alimentaires dénommé la pectine qui aide la digestion, ces fibres alimentaires peuvent stimuler le mouvement péristaltique, qui

contribue à la régularité des selles, constipation, diarrhée, crampes, ballonnement ou autre troubles gastriques, donc ces fibres alimentaires peuvent soulager l'inflammation et améliore la santé de l'intestin. Aussi la pectine est une bonne fibre qui contribue à créer un environnement adéquat pour la croissance des bactéries probiotiques, aidant ainsi à stimuler notre système immunitaire et prévenir les maladies (**En et al., 2016**).

➤ **Activité antioxydante**

Le néflier contient des quantités importantes de métabolites végétaux secondaires, notamment des caroténoïdes, des flavonols, des anthocyanes et des procyanidines. Ces composés alimentaires mineurs ont été postulés pour jouer un rôle clé chez l'homme en tant qu'antioxydants, en empêchant les réactions produites par les espèces réactives à l'oxygène et à l'azote au cours de la progression de différentes pathologies (**Gupta et al., 2010**).

Le néflier du Japon a d'autres propriétés biologiques tels que ;

- ✚ La diminution du taux de cholestérol.
- ✚ Le renforcement des os.
- ✚ Une forte activité anti-inflammatoire.

**Chapitre II : Les métabolites
secondaires d'*Eriobotrya japonica*
Lindl**

1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes.

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs, cette distribution varie d'une plante à l'autre.

La concentration de ces molécules dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂.

Les classes majeures de métabolites secondaires incluent les alcaloïdes, les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, appelés aussi composés phénoliques (**LEHOUT & LAIB, 2015**).

1.1 Les composés phénoliques

Regroupe 8000 composés naturel dans cette famille renferment un cycle aromatique comportant des groupements hydroxyle (**Stalikas et al. 2010**).

Les composés phénoliques possèdent des capacités thérapeutiques, ils ont des fonctions dans la reproduction et le développement des plantes (**Adom et al. 2005**).

- Ils sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Naczk et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun et al, 2011**). Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (**Naczk et Shahidi, 2003**). Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (**Naczk et Shahidi, 2003 ; Stalikas et al, 2010**). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Sun et al, 2011**). Le terme

"composés phénoliques végétaux" englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (Stalikas et al, 2010).

Les principales classes de ces composés sont représentées dans le tableau V.

Tableau V: Les principales classes de composés phénolique.

Les classes	n de carbones	squelette de base de carbone	exemples
1- phénols simples	6	C6	le catechol, l'hydroquinone phloroglucinol
2- acétophénones Phénylacétique	8	C6-C2	4-hydroxyacétophénone p-hydroxyphénylacétate caféique, férulique
3-hydroxycinnamates Isocoumarines Chromons	9 9 9	C6-C4 C3 C6-C3	umbelliferone aesculétine bergénine eugenin
4-hydroxybenzoates	7	C6-C1	salicylique, gallique
5-Naphtoquinones	10	C6-C3	juglone, plumbagine
6-xanthones	13	C6-C1- C6	mangiférine
7-stilbènes anthraquinones	14 14	C6- C2-- C6 C6- C2-- C6	resvératrol émodine
8-flavonoïdes isoflavonoïdes	15 15	C6-C3- C6 C6- C3- C6	cyanidin génistéine
9-lignanes	18	(C6-C 3)2	pinorésinol
10-bioflavonoïdes	30	(C6-C 3- C6)2	amentoflavone
11-11-hydrolysable tanins	n	(C6-C 1)n : GLc	gallotannins
12-tanins condensés	n	(C6-C 3- C6)n	les polymères de catéchine
13-lignines	n	(C6-C 3)n	lignines guaiacyle
14- mélanines catéchol		(C6) n	

1.1.1 Les acides phénoliques

Ce terme destiné à l'acide benzoïque et l'acide cinnamique, sont des composés organiques ayant un hydroxyle phénolique et une fonction carboxylique (Bruneton, 2008).

Les composés phénoliques dans la nêfle sont l'acide 5-feruloylquinique, l'acide protocatéchique, l'acide hydroxy benzoïque, l'épicatéchine, l'acide 3-, 4-, et 5-caféoylquinique, l'acide férulique, l'acide néo chlorogénique, l'acide 5-p-feruloylquinic, et l'acide p-coumarique.

Dans les premiers stades de développement de la nêfle l'acide 5-caféoylquinique est dominant puis diminue au cours de la croissance, et l'acide 3-caféoylquinique augmente pendant la maturation. La nêfle riche en acides hydroxy cinnamiques (HCAs) tel que le p-CoQA 3, le 5-CQA, le 4-CQA, le 3-CQA et le 5-FQA. L'intérêt de ces composés phénoliques est : la technologie alimentaire car ils contribuent au brunissement enzymatique (**Ding et al. 2001**).

1.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances de la famille des polyphénols, sont des pigments végétaux responsables de la coloration des fleurs et des fruits.

Les bénéficiers des flavonoïdes sont : leurs propriétés anti oxydantes, leurs propriétés anticancéreuses et permettraient de lutter contre les maladies cardiovasculaires (**Ray, n.d.**).

Les flavonoïdes contenus dans la nêfle du japon sont : Quercétine-3-O-galactoside (Q-3-Gal), Quercétine-3-O-glucoside (Q-3-Glu), Quercétine-3-O-rhamnoside (Q-3-Rha), Kaempferol-3-O-galactoside (K-3-Gal), Kaempferol-3-O-rhamnoside (K-3-Rha), Kaempferol-3-O-glucoside (K-3-Glu) (**Zhang et al., 2015**).

Les études ont identifié plus de 4000 flavonoïdes, possédant un même squelette de base de quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 reliés par une chaîne en C3. Il y a plusieurs classes de flavonoïdes : les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones et les anthocyanes (**Richter, 1993**).

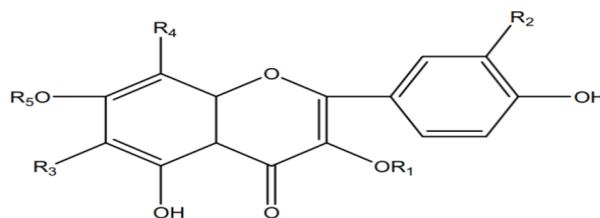


Figure 8 : structure de flavonoïdes (Chen & Li, s. d.)

1.1.3 Les tanins

Les tanins sont des substances naturelles qui se trouvent dans la plupart des plantes supérieures. Produits dans presque toutes les parties de la plante les graines, les racines et les feuilles.

A un rôle fondamental dans la défense de la plante contre les insectes, les infections alimentaires ou les bactéries. Le mécanisme de défense dépend de la capacité du tanin à complexer de manière irréversible les protéines (Pizzi, 2019).

Il est également considéré comme l'un des ingrédients actifs qui contribuent à réduire le risque de développer une maladie cardiovasculaire. Il existe une classe de Tanin hydrosolubles tels que les gallo-tanins et les ellagi-tanins, et une classe de tanin poly flavonoïdes condensés, ce dernier est stable et subit rarement une hydrolyse (Pizzi, 2019).

– Les tanins hydrolysés

Il est présent en petites quantités dans la plante, ce sont de simples dérivés de l'acide gallique classés en fonction des produits obtenus après hydrolyse :

Gallo-tanins : composés d'acide gallique et glucose

Ellagi-tanins : composés d'unités biaryl et glucose (Pizzi, 2019).

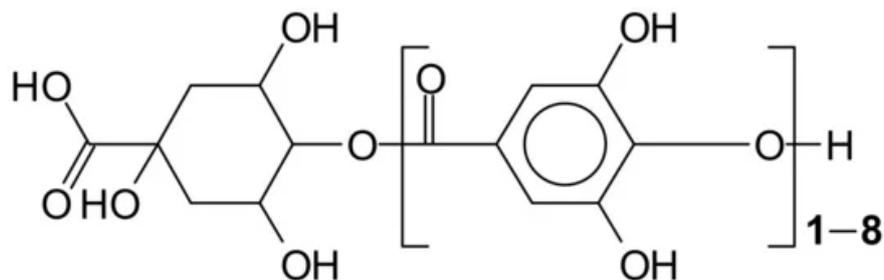


Figure 9 : structure de tanin hydrolysés (Pizzi, 2019)

– Les tanins condensés

Les extraits de tanins condensés sont constitués d'oligomères flavonoïdes de différents degrés de polymérisation. Les glucides et les hexoses, pentoses et disaccharides, ainsi que certains aminoacides et acides aminés, constituent la partie non phénolique des extraits de tanin. Au contraire, les oligomères dérivés d'hémicelluloses hydrolysées sont souvent présents en quantités suffisantes. De même, des chaînes glucidiques de différentes longueurs parfois liées à l'unité flavonoïde dans le tanin. La structure de base de tanins basée sur l'unité flavonoïde (Pizzi, 2019).

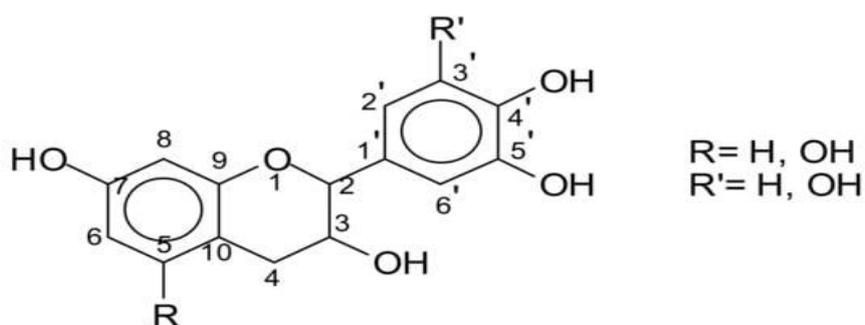


Figure 10: La structure d'une unité flavonoïde (Pizzi, 2019).

Ces unités flavonoïdes liées en C4 à C6 ou en C4 à C8 pour former une variété de chaînes courtes de différentes longueurs selon le type de tanin (Pizzi, 2019).

Partie pratique

Chapitre III :

Matériels et méthodes

1 Matériel

L'espèce *Eriobotrya Japonica* a été récoltée de la Wilaya de Constantine au mois de février 2021. La plante a été par la suite séchée à l'abri de la lumière puis broyée, seul les feuilles et les fleurs ont été utilisées au cours de notre travail.

2 Méthodes

2.1 Préparation du matériel végétal

Notre étude est basée sur les feuilles et les fleurs d'*Eriobotrya japonica* Lindl qui ont été récoltées au mois de février 2021 à Constantine. (Figure 11).



Figure 11 : photographie de la plante d'*Eriobotrya japonica* lindl.

– Séchage et broyage

Nous avons cueilli la plante fraîchement, après avoir enlevé la poussière et d'autres particules, la plante a été séché à l'air libre pendant 10-15 jours à l'obscurité, puis on l'a broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine selon la Figure 12.



(A)

(B)

Figure 12 : la poudre obtenue des fleurs sèches de la plante(A) et la poudre des feuilles sèches (B).

– **Macération et extraction des composés phénoliques**

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés de l'organisme végétale avec diverses techniques (**Herodež et al., 2003**).

L'extraction des principes actifs, se fait selon plusieurs modes tels que : l'infusion, la décoction et la macération. Dans notre étude nous avons utilisé la macération.

Il s'agit d'extraire des métabolites secondaires présents dans le mélange de poudre des feuilles et des fleurs sèches. Les solvants les plus utilisés sont : éthanol , dichlorométhane et l'acétone ...etc. (**Rivera, s. d.**). Dans notre travail nous avons utilisé trois solvants à polarités croissante notamment ; Dichlorométhane, Méthanol et Ethanol-Eau.

Pour ce faire, 74 g des parties aériennes (fleurs et feuilles) séchées et broyées ont été mélangés avec 600 ml de dichlorométhane, puis agité manuellement. Le mélange a été laissé à température ambiante pendant 24h puis filtré grâce a du papier filtre. Le marc obtenu a été à son tour macéré dans 500 ml méthanol puis filtré, le même procédé a été utilisé avec le dernier solvant d'extraction éthanol/eau (v/v).

Chaque macération a été répétée deux fois puis concentrée à l'évaporateur rotatif. (Bocquet et al. (Molécules)).

Le processus d'extraction et d'évaporation sont résumé dans l'organigramme suivant (figure 13 et 14).

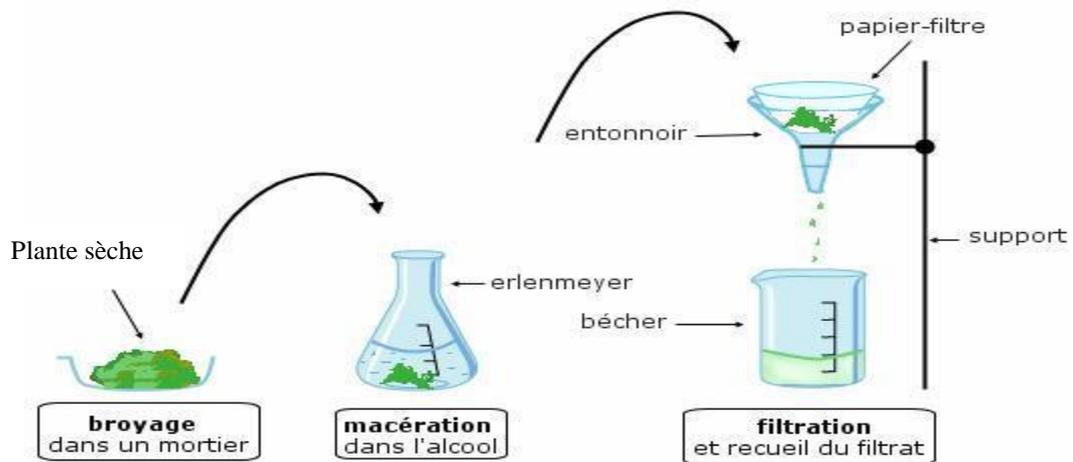


Figure 13 :les étapes de la macération.

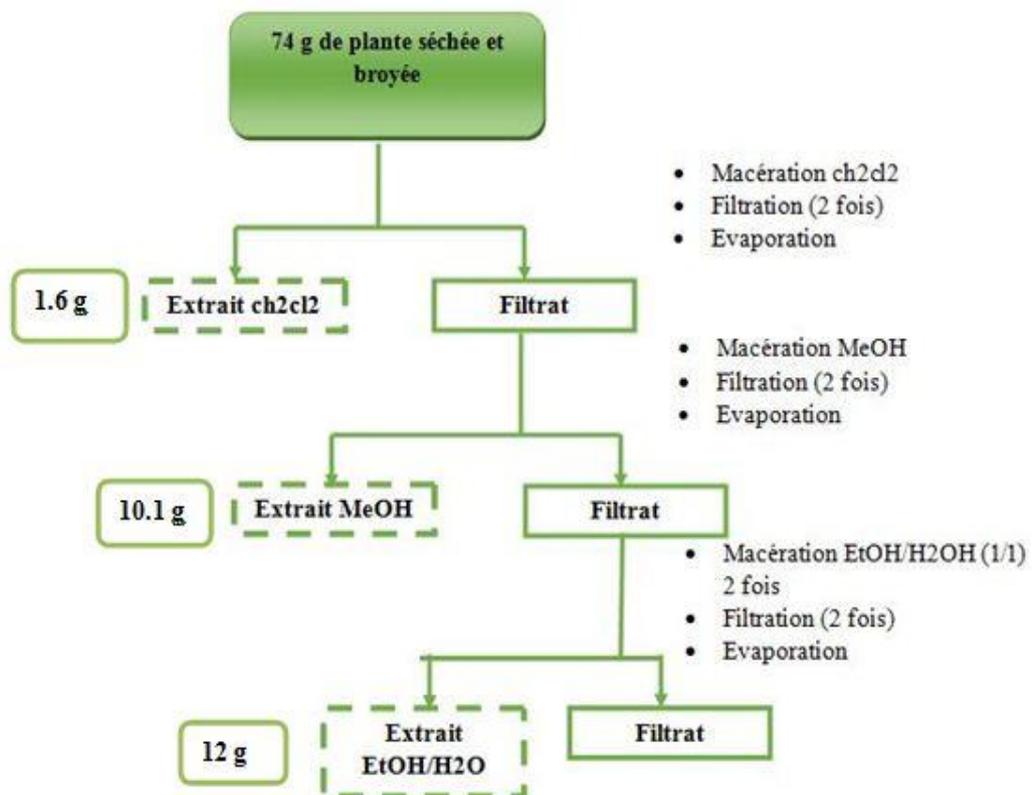


Figure 14: Organigramme d'extraction et d'évaporation.

Chaque deux filtrats obtenus pour le même solvant sont placés dans un seul ballon pour faire l'évaporation (LEHOUT & LAIB, 2015).

Les trois solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap (Figure 14) qui permet d'éliminer le solvant sous vide, Le principe du rotavapor est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant (Figure15).

Avant l'évaporation il faut peser le ballon vide puis le peser après l'évaporation.

Les rendements de chaque extraction sont calculés par le rapport entre l'extrait brut obtenu et le broyat végétal sec introduit (Salifou et al., 2015)

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation). Selon l'équation suivante :

$$R\% = \frac{\text{La masse d'extrait sec}}{\text{La masse de la matière végétale}} * 100 \text{ (LEHOUT \& LAIB, 2015).}$$

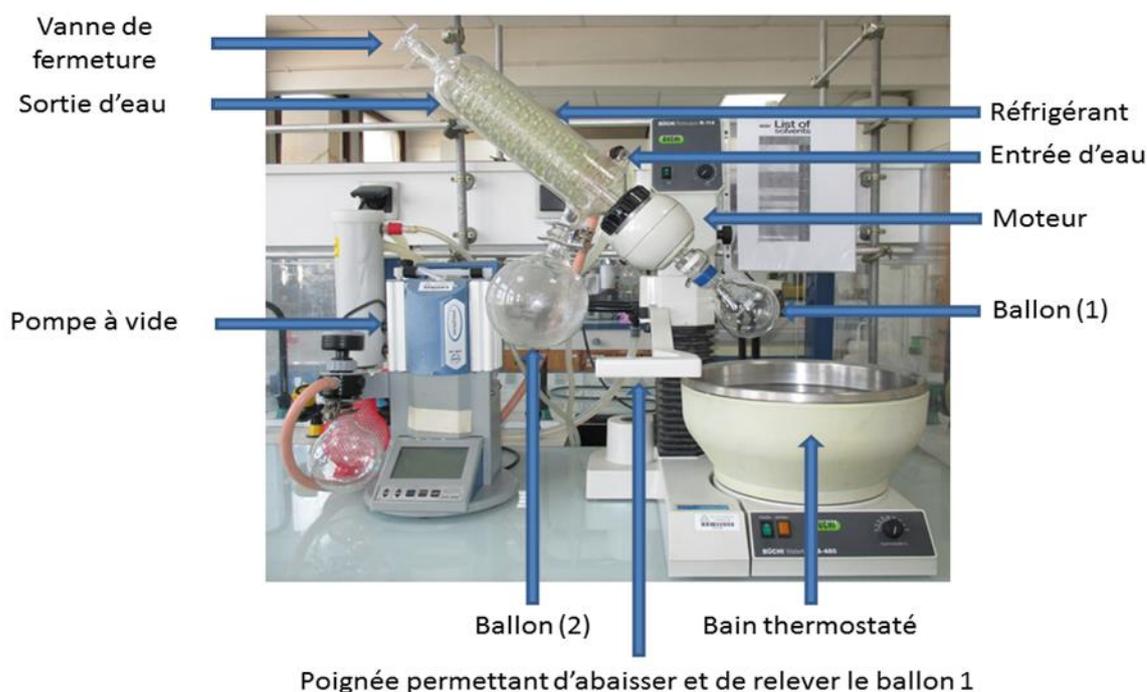


Figure 15: évaporateur rotatif.

1.2 Criblage ou screening phytochimique

Le criblage phytochimique est un moyen rapide permettant un aperçu global des métabolites secondaires que renferme la plante étudiée (EL-Haoud et al., s. d.).

Mode opératoire

- a) **Glycoside cardiaque** : 1 ml de l'extrait est ajouté à 2ml de chloroforme, l'apparition de la coloration brune-rougeâtre après l'ajout de l'acide sulfurique H_2SO_4 , indique la présence des glycosides cardiaques.
- b) **Tanins** : on ajoute 1ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de chlorure de fer $FeCl_3$ diluée à 1%.
 - L'apparition d'une coloration bleue verte ou vert foncé indique la présence des tanins.
 - L'apparition d'une coloration vert foncé indique la présence des tanins catéchiques.
 - L'apparition d'une coloration bleue verte indique la présence des tanins galliques.
- c) **Flavonoïdes** : le screening des flavonoïdes a été réalisé par la réaction à la cyanidine. Pour ce faire, 2 ml de chaque extrait évaporés, le résidu obtenu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois puis 2 à 3 copeaux de magnésium ont été ajoutés, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool iso amylique a intensifié cette coloration qui confirme la présence de flavonoïdes.
- d) **Saponines** : Nous avons numéroté de 1 à 10 une série de 10 tubes à essai, puis nous avons introduit respectivement 1, 2, 3, ..., 10ml de la solution à analyser préparer, puis l'eau distiller a été ajouté pour obtenir un volume de 10 ml. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer 15 min et mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube.

-(I) : l'indice de mousse est calculé par la formule suivante : $I = 1000 / N$.

-N : est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm (EL-Haoud et al., s. d.).

e) **Polyphénols** : 2ml de chaque extrait a été mélangé avec quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 10% L'apparition de la coloration vert foncé indique la présence des polyphénols.

1.3 Dosage des polyphénols totaux

– Principe

La quantification colorimétrique des composés phénolique totaux a été déterminée selon la méthode de Benmassaoud et al avec quelques modifications. Le principe est basé sur l'utilisation du réactif de Folin ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3W_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), ces derniers, lors de l'oxydation des phénols, sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, en présence d'une solution alcaline. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm (**Benmassaoud et al., n.d.**).

– Préparation des solutions

- **Le témoin** : pour réaliser la gamme d'étalonnage de l'acide gallique, nous avons réalisé les étapes suivantes :
- Prendre 20mg d'acide gallique dans 100ml de méthanol pour obtenir une solution mère avec une concentration de 0.2mg/ml
- Faire des dilutions au $\frac{1}{2}$ pour 9 tubes à partir de la solution mère d'acide gallique pour faire l'étalonnage.
- **Les extraits** : la préparation des extraits a été réalisée selon le mode opératoire suivant :
 - Extrait de dichlorométhane : dissoudre 12.5 mg d'extrait dichlorométhanique sec dans 2ml de méthanol, pour obtenir une solution mère avec une concentration de 6.25mg/ml.
 - Extrait de méthanol : dissoudre 12.5 mg d'extrait méthanolique sec dans 2ml de méthanol, pour obtenir une solution mère avec une concentration de 6.25mg/ml.

- Extrait d'éthanol-eau : dissoudre 12.5 mg d'extrait éthanol-eau sec dans 2ml d'éthanol 50%, pour obtenir une solution mère avec une concentration de 6.25mg/ml.

NB : Nous avons fait 8 dilutions pour chaque extrait et 6 dilutions pour l'acide gallique pour obtenir les concentrations exprimées dans le tableau (VI).

Tableau VI: les concentrations utilisées de l'acide gallique et les autres extraits.

Tube/ Concentration	1	2	3	4	5	6	7	8
Acide gallique (Mg/ml)	0.1	0.05	0.0125 5	0.001562 5	0.000781 3	0.000390 6	/	/
Les extraits	6.2 5	1.56 2	0.781	0.390	0.195	0.097	0.04 8	0.02 4

- **Solution du Folin** : nous avons :
 - Mélanger 10 ml du réactif de Folin ciocalteu avec 90ml d'eau distillé pour obtenir un folin ciocalteu 10%.
- **Solution du bicarbonate de sodium** : nous avons :
 - Dissous 15 g de bicarbonate de sodium dans 200ml d'eau distillée puis agité à l'aide d'un agitateur magnétique pour obtenir une solution homogène de bicarbonate de sodium à 7.5%.
- **Les blancs** : nous avons préparé 2 blancs pour les solvants comme suit :
 - Pour le méthanol : 0.3ml de méthanol mélangé avec 1.5ml de folin ciocalteu 10% et 1.2ml de solution de bicarbonate de sodium (7.5%), c'est un blanc pour l'extrait méthanolique, dichlorométhanolique et l'acide gallique.
 - Pour l'éthanol 50% (éthanol-eau v/v) : 0.3ml d'éthanol 50% a été mélangé avec 1.5ml de Folin ciocalteu 10% et 1.2ml d'une solution de bicarbonate de sodium 7.5%, c'est un blanc pour l'extrait éthanolique.

– Mode opératoire

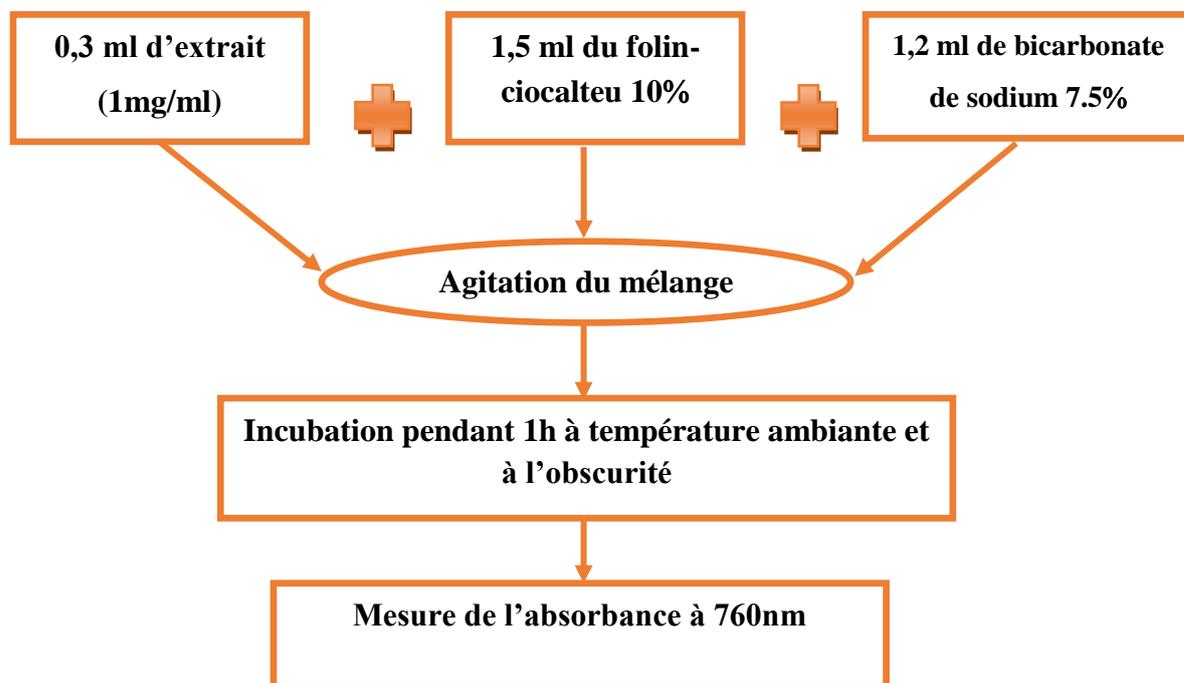


Figure 16: Protocole de dosage des composés phénolique. (LEHOUT & LAIB, 2015).

Enfin, il faut calculer le rapport frontal (Rf) pour chaque spot par la relation suivante :

$$RF = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par l'élisant}}$$

1.4 Activité antibactérienne

On recherche dans cette partie les composés antibactériens présents dans les extraits d'*Eriobotrya japonica* connus pour leurs propriétés thérapeutiques.

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée sur 2 souches bactériennes. Les souches bactériennes proviennent du Laboratoire de Microbiologie de l'université des Frère Mentouri, les bactéries utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne sont :

Bactérie à gram négatif

- *Escherichia Coli*

E. Coli est une souche bactérienne qu'on trouve dans la flore digestive de l'homme et des animaux. Prédominante de la flore fécale humaine aéro-anaérobie. Bacilles mobiles le plus souvent, à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. Sa culture est facile sur milieux ordinaires, lactosés. Sur milieux solides les colonies sont arrondies, lisses à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre après 18-24h (*Escherichia Coli* (Edition 2015).pdf, s. d.).

Bactérie à gram positif

- *Staphylococcus*

Sont des Cocci à Gram positif de 1 µm de diamètre. Ils forment des touffes. Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des agents pathogènes de l'homme et d'autres mammifères. Colonise le passage nasal et les aisselles. Le traçage épidémiologique de *Staphylococcus* est traditionnellement effectué par typage phagique, mais présente des limites (Foster, 1996).

Voici le tableau (VII) qui résume les principales caractérisations des bactéries utilisées.

Tableau VII: principale caractéristique des souches bactériennes testée (Talbi, 2015).

Famille	Micrococcaceae	Enterobacteriaceae
Genre et espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Origine	Laboratoire pasteur Constantine	Université Frere Mentouri Constantine
Gram	(+)	(-)
Forme et mobilité	Cocci immobile	Bacille mobile
Caractères biologiques	Aérobic facultatif Catalase (+), oxydase (+), coagulase (+)	Aérobic facultatif Oxydase (-), lactose (+), indole (+)
Habitat	Peau et muqueuses	Tube digestif
Pouvoir pathogène	Infection pyogènes graves	Infections urinaires et des gastro-entérites infantiles

– Test d'activité antibactérienne

C'est une méthode pour la mesure *in vitro* de la force antibactérienne des composés, nous avons utilisé la technique de contact direct qui a deux méthodes, la méthode des puits et la méthode de diffusion, nous avons adopté la méthode de diffusion, qui est une méthode ancienne, mais elle est toujours d'actualité car elle est encore fréquemment utilisée dans les laboratoires de bactériologie pour mesurer la force antibactérienne.

Méthodes de l'évaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits d'*Eriobotrya japonica* a été réalisée par la technique de diffusion en procédant comme suit :

Préparation des extraits

Solution mère : nous avons pris 50 mg de chaque extrait dans 1ml de l'eau distillé.

Les dilutions : nous avons pris 1ml de la solution mère de chaque extrait ajouté à 1 ml de solvant dilué $\frac{1}{2}$ 5 fois.

Test de l'activité inhibitrice**➤ Préparation des disques**

Les disques ont été fabriqués à partir de papier Wattman n° 1 et découpé en disque de 6 mm de diamètre.

➤ Milieu de culture

Dans cette étape on coule le milieu Mueller Hinton chaud dans les boites de pétries, l'épaisseur de la gélose est de 4mm.

➤ Stérilisation du matériel

Lors de la préparation des solutions bactériennes, nous avons utilisé l'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai et les disques en papier Wattman ont été enveloppé dans du papier aluminium, puis stérilisé à 121°C pendant 15 minutes.

➤ Préparation de l'inoculum

Nous avons prélevé trois à quatre colonies de bactéries antérieurement cultivées sur gélose nutritive avec une anse de platine et nous les avons émulsionnés dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif.

➤ Ensemencement

L'ensemencement se fait par écouvillonnage sur boites Pétri, un écouvillon (une coton tige) est trempé dans la suspension bactérienne. Ensuite, il est pressé en

appuyant fermement sur la paroi interne du tube, nous frottons l'écouvillon sur toute la surface de la gélose de haut en bas en ligne étroites, le processus est répété deux à trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est complété par un dernier passage de l'écouvillon sur toute la surface de la gélose.

➤ **Application des disques**

Des disques stériles saturés à une concentration de 50mg/ml de l'extrait à tester sont déposés à raison de 10 µl par disque à l'aide de pince à la surface du milieu gélosé, pré-ensemencé à 15 mm du bord de la boîte de pétri doit être posé complètement à plat sans glisser en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. Enfin, les boîtes de pétri ont été incubées à l'étuve pendant 24 heures à 37°C.

➤ **Lecture des boîtes**

Elle se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition réalisée autour des disques à l'aide d'une règle après incubation. Ce diamètre comprend le diamètre de la zone d'inhibition.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Résultats et discussion**1. Caractères des extraits**

L'appréciation des caractères morphologique des extraits nous a permis de constater que nos extraits ont les mêmes caractères morphologiques sauf la couleur, ainsi nous avons remarqué que l'extrait éthanol/eau est de couleur marron-brun alors que les extraits dichlorométhanolique et méthanolique sont de couleur vert foncé.

2. Détermination du rendement d'extraction

Le taux d'extraction des composés phénoliques dépend de la méthode, la nature du solvant, la température et de la taille des particules constituant la poudre de la plante.

Dans notre travail, une extraction liquide-solide a été réalisée en utilisant trois solvants à polarité croissante. Une fois les extraits secs obtenus, le calcul du taux d'extraction pour chaque extrait a donné les résultats suivants (Tableau VIII).

Le poids ou la masse de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (avant évaporation) et le poids du ballon vide (après évaporation) selon l'équation suivant :

$$\text{la masse d'extrait sec} = P0 - P1$$

Dont :

- **P0** : le poids du ballon plein (avant évaporation).
- **P1** : le poids du ballon vide (après évaporation).

On peut calculer le rendement R d'extraction selon l'équation suivante :

$$R\% = \frac{\text{La masse d'extrait sec}}{\text{La masse du materiele végétale}} * 100$$

Tableau VIII : Le rendement d'extraction en (g) et en (%).

Extrait	Dichlorométhane	Méthanol	Ethanol-eau
Les calcule			
Poids d'extrait sec en (g)	1.6	10.1	12
Le rendement d'extraction en (%)	2.16	13.64	16.21

A partir de ce tableau, nous notons qu'il y a des valeurs différentes pour chaque solvant d'extraction avec un taux d'extraction élevé pour l'extrait méthanolique par rapport aux autres extraits, ce qui permet de déduire la richesse de la plante en composés phytochimiques de polarité élevée.

Donc l'*Eriobotrya japonica* est très riche en composés phytochimique (Figure18).

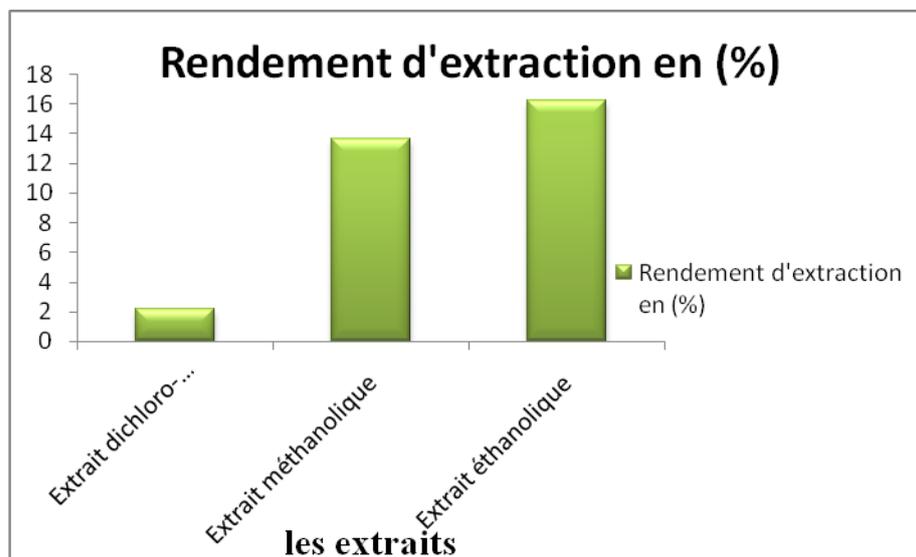


Figure 17: Représentation graphique des rendements d'extraction en (%) des extraits d'*Eriobotrya japonica* L.

Cette différence dans les taux d'extraction pourrait supposer la richesse des feuilles et des fleurs d'*Eriobotrya japonica* en composés phytochimique de polarité élevée.

2. Criblage phytochimique

Les résultats obtenus sont cités dans le tableau IX

Tableau VIII : résultats de screening phytochimique

Extrait Test	Dichlorométhane	Méthanol	Ethanol	Résultats
Glucoside cardiaque	(-)	(+)	(+)	(+) : Coloration brun-rougeâtre. (-) : l'absence de cette coloration.
Tanins	(-)	(+++) Tanin catéchique	(++) . Tanin catéchique	(+++) : Coloration vert foncé ou bleu-verte pour des tanins. (++) : Coloration vert foncé pour les tanins catéchiques. (+) : Coloration bleu-verte pour les tanins galliques. (-) : L'absence de ces colorations.
Saponoside	(-)	(-)	Tube1 : (+) Tube 4 : (+)	(+) : Présence d'une mousse où leur hauteur est égale à 1 cm. (-) : L'absence de la mousse.
Polyphenols	(+)	(+++)	(++)	(+) : Coloration Vert-noirâtres.
Flavonoïde	(-)	(-)	(+)	(+) : Dégagement de chaleur en plus d'une coloration rose-orangé ou violacée. (-) : l'absence de ces

				colorations.
--	--	--	--	--------------

Dont :

- ++++ : Fortement positif ;
- ++ (+) : Moyennement positif ;
- + : Faiblement positif ;
- (-) : Négatif.

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que *Eriobotrya japonica* lindl, est très riche en polyphénols surtout pour l'extrait méthanolique, de même nous avons enregistré une présence importante des glycosides cardiaque dans l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique.

Les tanins catéchique, sont fortement positif dans l'extrait méthanolique et moyennement positif dans l'extrait éthanolique.

Tandis que, les flavonoïdes sont moyennement positifs dans l'extrait éthanolique et négatif dans les extraits méthanolique et dichlorométhanolique.

Nous avons également constaté que les glycosides cardiaques sont négatifs dans l'extrait dichlorométhane, positif dans l'extrait méthanol et l'extrait éthanol-eau.

On note aussi l'absence des saponines dans les deux extraits dichlorométhanolique et méthanolique, et la présence des saponines dans l'extrait éthanolique dans deux tubes.

Donc, on peut calculer l'indice de mousse (I) selon la formule suivante :

$$I = 1000 / N (1) \text{ (EL-Haoud et al., 2018).}$$

Où :

N (1) : est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm.

De ce fait, nous disposons de deux valeurs pour l'indice de mousse pour l'extrait éthanolique comme suit :

- $I=1000/4 =250$
- $I=1000/1=1000$

3. Dosage des phénols totaux :

D'après les résultats du test de dosage, nous avons tracé la courbe d'étalonnage comme suivant (figure 19) :

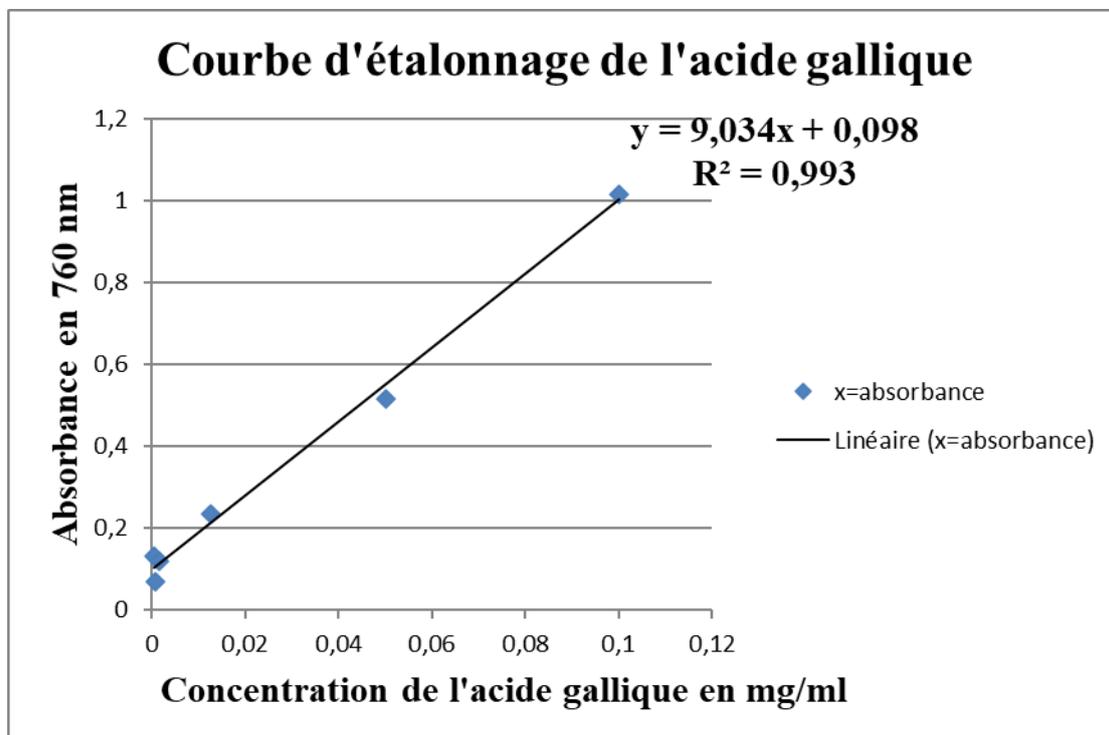


Figure 18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Selon la courbe d'étalonnage on a constaté l'équation suivante :

$$y = 9.034x + 0.098 \text{ Avec un } R^2 = 0.993.$$

Les teneurs en phénols totaux des extraits des feuilles et des fleurs d'*Eriobotrya japonica* L., exprimées en mg équivalent d'acide gallique (AG)/g d'extrait, sont calculés selon l'équation précédente pour chaque extrait (figure20).

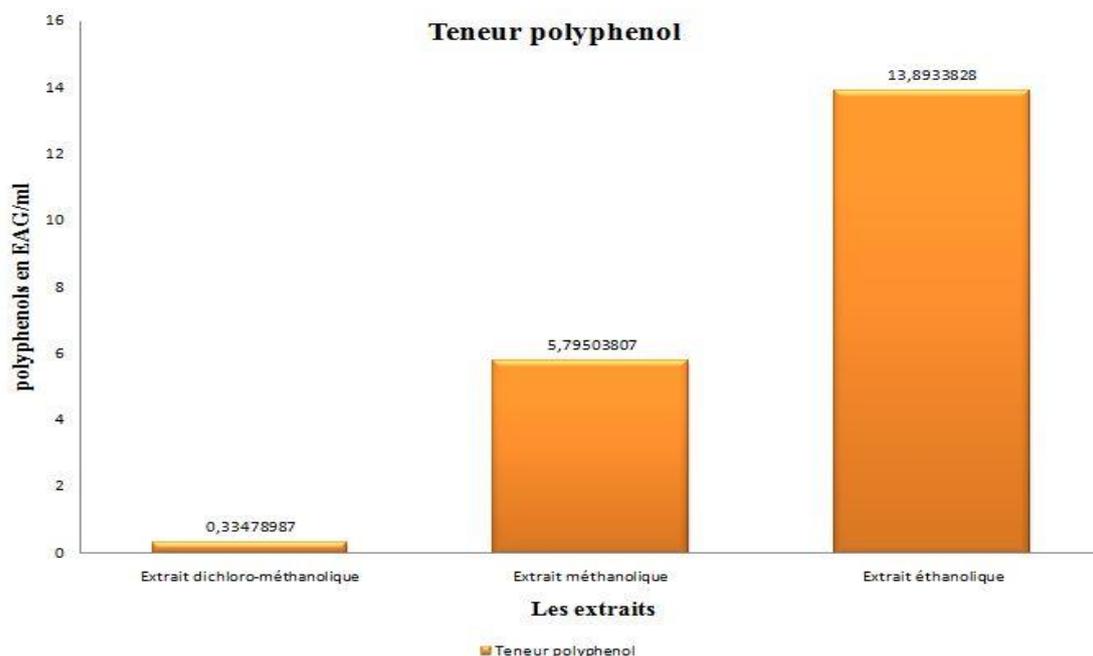


Figure 19 : Représentation graphique des teneurs en phénols totaux des extraits d'*Eriobotrya Japonica* L.

En générale, tout le contenu phénolique dans les extraits examinés de notre plante utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est exprimé en termes d'équivalent d'acide gallique par l'équation du standard : $Y = ax + b$ où :

- $Y =$ l'absorbance.

D'après notre travaille l'équation est exprimé comme suivant :

$$y = 9.034x + 0.098 \text{ Avec un } R^2 = 0.993.$$

Les valeurs obtenues pour la concentration des phénols totaux sont exprimées en mg EAG/g d'extrait.

La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait éthanolique (13.89 mg EAG/g) cela semble évident étant donné que les polyphénols constituent des composés polaires grâce à leur richesse en groupements hydroxyles, donc solubles dans les solvants polaires ; Suive par l'extrait méthanolique (5.79 mg EAG/g), puis l'extrait dichlorométhanolique (3.33 mg EAG/g).

Tout le contenu phénolique dans les extraits d'*Eriobotrya japonica* L, dépend du type d'extrait, c'est-à-dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction, donc la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus car on a utilisé des solvants a polarité croissante et l'éthanol c'est le plus polaire par rapport aux méthanol et dichlorométhane (Bouyahya et al., 2017).

Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenues par Ayouni & Adrar, (2017) (figure 21). En effet, la figure 21 montre que l'extrait éthanolique de cette étude a présenté une teneur en composés phénolique plus élevée que celle de l'extrait chloroformique.

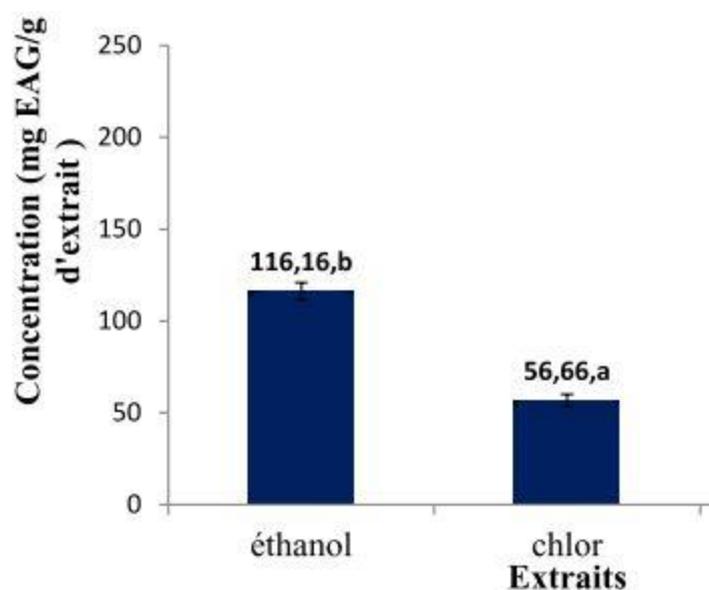


Figure 20: Représentation graphique du taux des composés phénoliques des extraits d'*Eriobotrya japonica* L (Ayouni & Adrar, 2017).

4. . Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée en utilisant la méthode en milieu gélosé sur disque. La lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non des zones d'inhibition au tour des disques.

La sensibilité des espèces est estimée par la mesure du diamètre de zone d'inhibition autour des disques imprégné de différentes concentrations d'extrait dichlorométhanolique, méthanolique et éthanolique de la plante en utilisant plusieurs concentrations à l'égard de deux souches bactériennes :

- Bactérie à Gram (+) : *Staphylococcus*.
- Bactérie à Gram (-) : *Escherichia-Coli*.
- Cette différence est liée à la composition chimique de chaque extrait et à la nature de la souche bactérienne testée (**Bouyahya et al., 2017**).

Les résultats des tests antimicrobiens sont regroupés dans le tableau (X) qui regroupent les différentes CMI qui sont illustrés dans les figures (22, 23, 24 et 25) ; Dont :

La CMI c'est la concentration minimale ou la plus petite concentration d'un antibiotique permet d'inhiber la croissance bactérienne et permet de mesurer la sensibilité de l'agent pathogène à un antibiotique. Les CMI sont utilisées pour mesurer la sensibilité d'un agent pathogène à un éventuel traitement antibiotique *in vitro*, on a :

1. Une CMI faible indique une plus grande sensibilité à l'antibiotique ou l'extrait.
2. Une CMI élevée indique une sensibilité plus faible et un risque de résistance vis-à-vis de l'antibiotique (**<https://diag-innov.biomerieux.fr/pourquoi-la-concentration-minimale-inhibitrice-cmi-est-un-indicateur-important-pour-guider-le-clinicien-dans-sa-prescription/>**).

Tableau IX: les CMI des différents extraits d'*Eriobotrya japonica*.L.

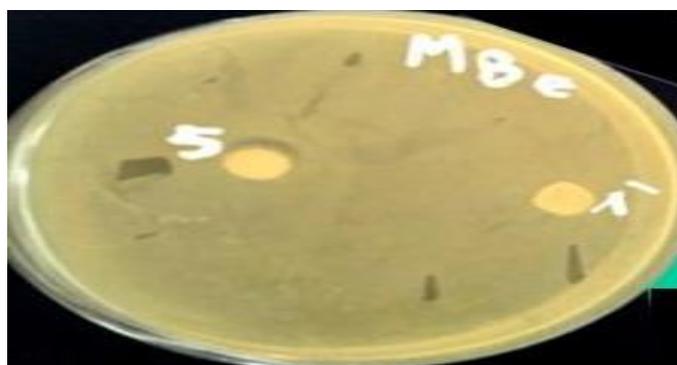
Souches	Extraits	Zone d'inhibition (mm)	CMI (mg/ml)
<i>E. Coli</i>	Dichlorométhane	8	1.562
	Méthanol	9	1.562
	Ethanol/eau	10	0.5
<i>Staphylococcus</i>	Dichlorométhane	/	/
	Méthanol	14	3.125
	Ethanol/eau	8	3.125

a) *E. coli*

• Extrait Dichlorométhane

Figure 21 : le résultat de CMI d'*E. Coli* après 24h d'incubation à 37°C, pour l'extrait dichlorométhane.

• Extrait Méthanol

Figure22 : Le résultat de CMI d'*E. Coli* après 24h d'incubation à 37°C, pour l'extrait méthanolique.

- Extrait Éthanol-eau

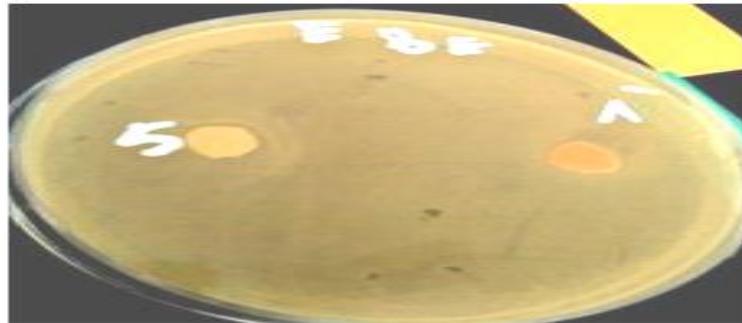


Figure23 : Le résultat de CMI d'*E. Coli* après 24h d'incubation à 37°C pour l'extrait l'éthanol.

b) *Staphylococcus*

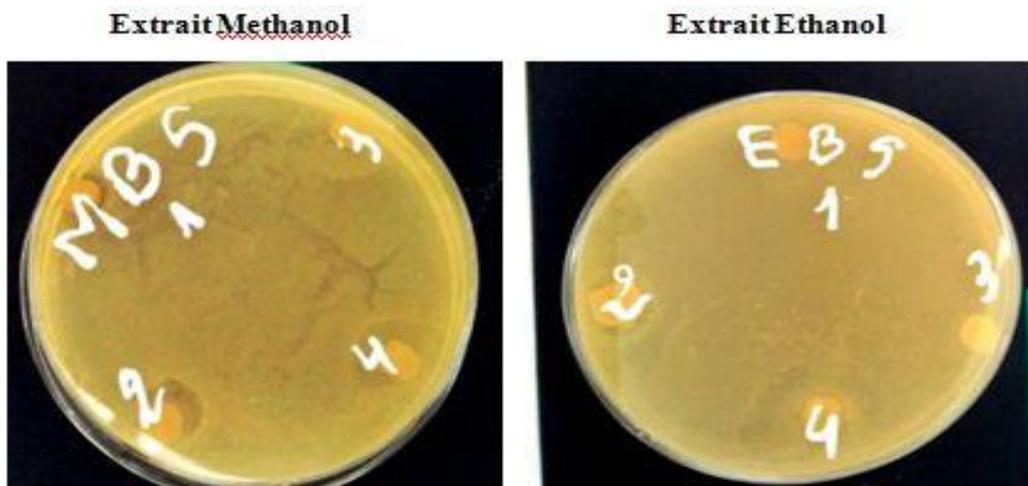


Figure 24 : Le résultat de CMI de *Staphylococcus* après 24h d'incubation à 37°C pour l'extrait méthanolique et l'éthanol/eau.

D'après ces résultats des tests d'activités antibactériennes on peut conclure que :

- *E. coli* est plus sensible à l'extrait éthanolique de la plante avec un diamètre d'inhibition de 10 mm que les deux autres extraits et une CMI de l'ordre de : 0.5mg/ml.
- *Staphylococcus aureus* est plus sensible à l'extrait méthanolique de la plante avec une zone d'inhibition de 14 mm et une CMI de 3.125 mg/ml.

Dans notre étude, la bactérie à Gram (+) *Staphylococcus* est plus sensibles aux extraits de la plante par rapport à la bactérie Gram (-) *Escherichia coli*.

Nous concluons que l'extrait méthanolique est actif contre *Staphylococcus aureus* et moyennement actif contre *Escherichia coli* (Figures 26 et 27) (Talbi, 2015).

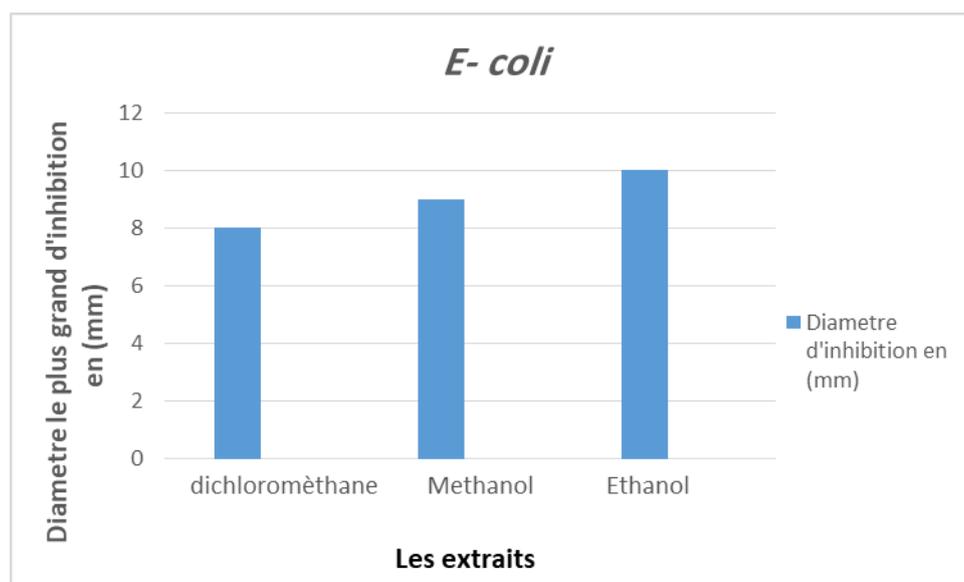


Figure 25 : Diagramme de l'activité antibactérienne des extraits pour la souche *E. coli*.

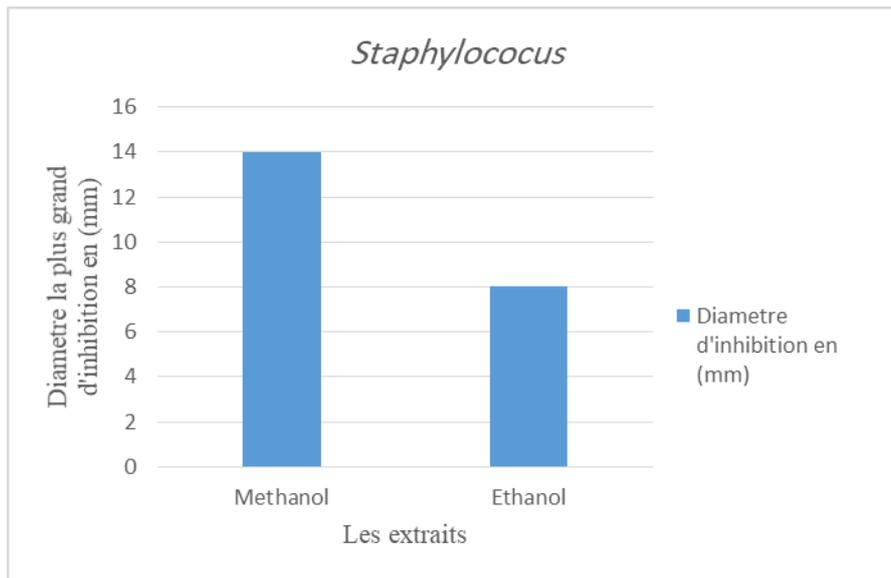
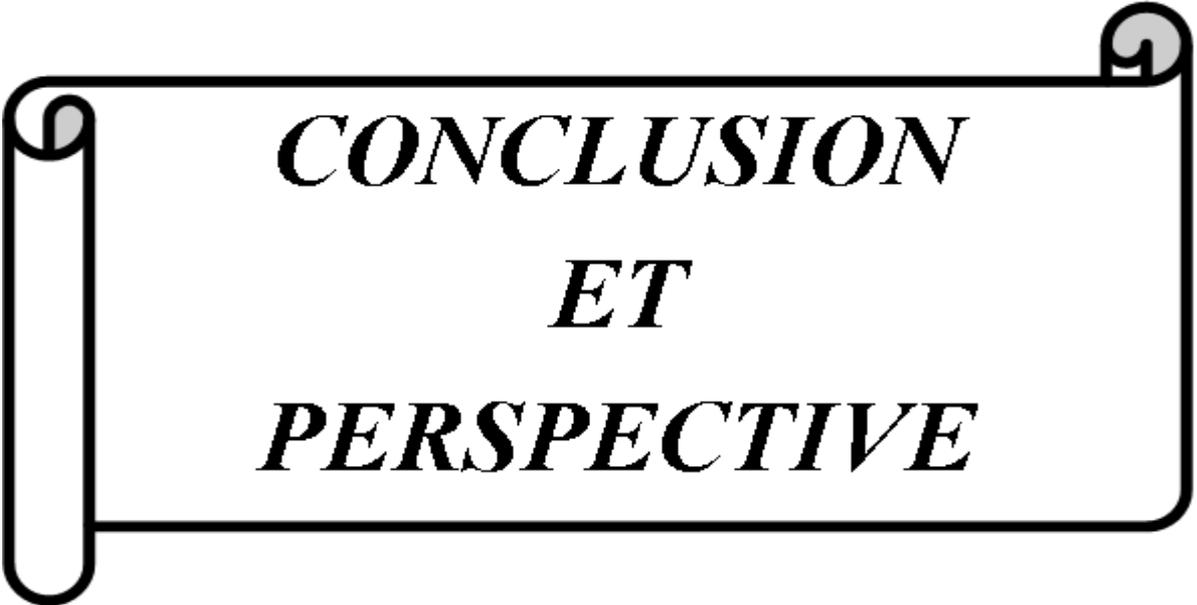


Figure 26 : Diagramme de l'activité antibactérienne des extraits pour la souche *Staphylococcus*.



***CONCLUSION
ET
PERSPECTIVE***

Conclusion

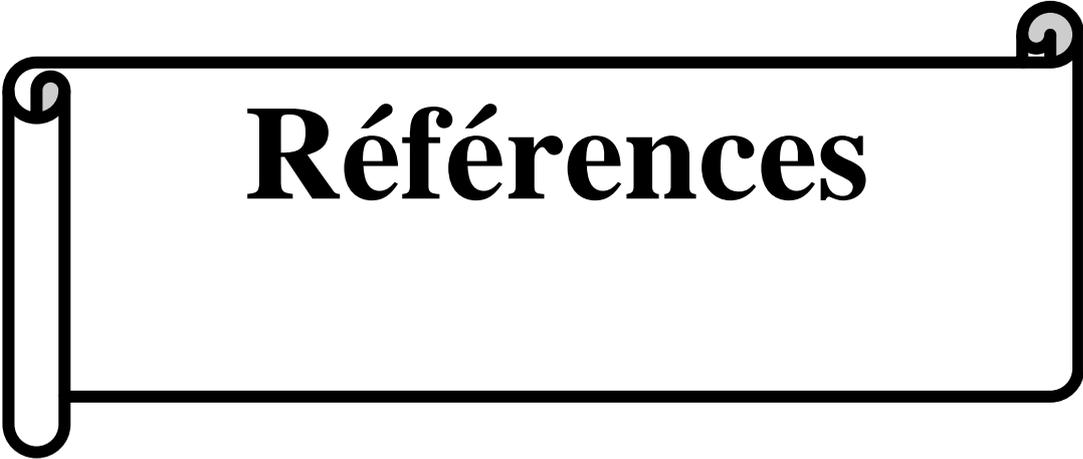
Eriobotrya japonica Lindl est une plante très connue dans la zone méditerranéenne et est utilisée par la population locale comme plante médicinale car elle présente un grand intérêt pharmacologique, mais malheureusement leur usage n'est pas très connu en Algérie.

C'est une source de métabolites secondaires, mais elle est encore sous-utilisée dans le domaine médical en raison de ses performances thérapeutiques et de sa faible toxicité, notre étude a été réalisée sur leurs feuilles et fleurs, ce qui nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

- D'après les résultats d'extraction, nous avons constaté que l'extrait méthanolique à donner un taux d'extraction important cela montre la richesse des feuilles et des fleurs d'*Eriobotrya japonica* en métabolites par rapport aux autres extraits, cela pourrait postuler la richesse des plantes en métabolites secondaires de polarité élevé.
- Suite au screening phytochimique, nous avons noté que l'*Eriobotrya japonica* lindl, est très riche en polyphénols surtout l'extrait méthanolique.
- Les résultats de dosage des composés phénoliques montrent que la plante présente des teneurs appréciables en phénols totaux. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait éthanolique.
- En ce qui concerne l'activité antibactérienne, l'extrait méthanolique a montré une forte activité contre *Staphylococcus aureus* et moyennement actif contre *Escherichia coli*.

Ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur l'extraction, les teneurs en composés phénoliques, et l'activité antibactérienne des feuilles et des fleurs d'*Eriobotrya Japonica* L.

Enfin, il serait souhaitable d'aller plus loin en essayant d'étudier l'efficacité et la toxicité des extraits *in vivo* en essayant de réaliser d'autres tests antioxydants et anti-inflammatoires.



Références

Références

- ❖ **Adom, K. K., Sorrells, M. E., & Liu, R. H. (2005).** Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2297-2306. <https://doi.org/10.1021/jf048456d>.
- ❖ **Alshaker, H., Qinna, N., Qadan, F., Bustami, M and Matalka1, K.-Z. (2011).** *Eriobotrya japonica* hydrophilic extract modulates cytokines in normal tissues, in the tumor of Meth-A-fibro sarcoma bearing mice, and enhances their survival time. *BMC Complementary and Alternative Medicine*: 11:9.
- ❖ **Ayouni, K., & Adrar, S. (2017).** Thème Evaluation de l'activité anti - oxydante des extraits des feuilles de *Mentha spicata* L.
- ❖ **Barboni T. (2006)** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli
- ❖ **Benmassaoud, Y., Adrar, S., & S, A.-Z. (n.d.).** Mémoire de fin de Cycle. 2013–2014.
- ❖ **Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytotherapie*, 15(6), 379–383. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1101-8>
- ❖ **Bruneton J. (2008).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3èmeéd. Paris: Tecand Doc. pp 1095.
- ❖ **Chen, J., & Li, W. (s. d.).** Progress in Studies on Phytochemistry and Biological Activity of *Folium Eriobotryae*. 6.
- ❖ **Chen, J and Li, W.-L. (2008).** Progress in studie on phytochemistry and biological activity. Global science books: 18-22.
- ❖ **Dharambir Kashyap, Hardeep Singh Tuli et Anil K. Sharma,** « Ursolic acid (UA) : A metabolite with promising therapeutic potential », *Life Sciences*, vol. 146, 1er février 2016, p. 201–213 (DOI 10.1016/j.lfs.2016.01.017) – Recherche Google. (s. d.). Consulté 20 mai 2021, à l'adresse

[https://www.google.com/search?source=univ&tbm=isch&q=.+Dharambir+Kashyap,+Hardeep+Singh+Tuli+et+Anil+K.+Sharma,+%C2%AB+Ursolic+acid+\(UA\)+:+A+metabolite+with+promising+therapeutic+potential+%C2%BB,+Life+Sciences,+vol.+146,%E2%80%8E+1er+f%C3%A9vrier+2016,+p.+201%E2%80%93213+\(DOI+10.1016/j.lfs.2016.01.017\)&client=firefox-b-d&sa=X&ved=2ahUKEwj94KO7tjwAhWvzIUKHUjuBrsQjJkEegQIAhAB&biw=1233&bih=614](https://www.google.com/search?source=univ&tbm=isch&q=.+Dharambir+Kashyap,+Hardeep+Singh+Tuli+et+Anil+K.+Sharma,+%C2%AB+Ursolic+acid+(UA)+:+A+metabolite+with+promising+therapeutic+potential+%C2%BB,+Life+Sciences,+vol.+146,%E2%80%8E+1er+f%C3%A9vrier+2016,+p.+201%E2%80%93213+(DOI+10.1016/j.lfs.2016.01.017)&client=firefox-b-d&sa=X&ved=2ahUKEwj94KO7tjwAhWvzIUKHUjuBrsQjJkEegQIAhAB&biw=1233&bih=614)

- ❖ **Ding, C.-K., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y., & Wang, C. Y. (2001).** Metabolism of Phenolic Compounds during Loquat Fruit Development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2883-2888. <https://doi.org/10.1021/jf0101253>
- ❖ **Edward, F., Gilman, J.-W and Dennis, J.-W. (1993).** *Eriobotrya japonica* Loquat. Fact Sheet ST-235: 1-3.
- ❖ **EL-Haoud, H., Boufellous, M., & Berrani, A. (s. d.).** SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE : *Mentha Spicata* L. 9.
- ❖ **EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018).** SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: *Mentha Spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 226–233. www.american-jiras.com
- ❖ **En, C., Amel, A., & Salim, K. (2016).** Analyse physico-chimique et morphologique de cinq variétés de.
- ❖ **Ercisli, S., Gozlekcib, S., Sengulc, S., Hegedusd, A and Tepee, S. (2012).** Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant capacity of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) Fruits from Turkey. *Scientia Horticulturae*, 148: 185–189.
- ❖ **Er-Na, L., Guo-Dong, Z and Ling-Yi, k. (2009).** Chemical constituents from the leaves of *Eriobotrya Japonica*. *Chin J Nat Med*, 7(3) :190-192.
- ❖ ***Eriobotrya japonica*—Bibacier ou Néflier du Japon ou Loquat. (s. d.).** Consulté 20 mai 2021, à l'adresse

- <https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Eriobotrya&variete=japonica>
- ❖ ***Eriobotrya japonica.pdf***. (s. d.). Consulté 21 mai 2021, à l'adresse http://apps.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Eriobotrya_japonica.PDF
 - ❖ **Et, I., Des, I., Du, L., Du, F., Ou, B., & Vakinankaratra, R. D. E. (2015).** *Eriobotrya japonicas (ROSACEAE) DE LA.*
 - ❖ ***Escherichia coli (Edition 2015).pdf***. (s. d.). Consulté 1 juin 2021, à l'adresse [https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Escherichia%20coli%20\(Edition%202015\).pdf](https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Escherichia%20coli%20(Edition%202015).pdf)

 - ❖ **Foster, T. (1996).** *Staphylococcus*. In S. Baron (Éd.), *Medical Microbiology* (fourth éd.). University of Texas Medical Branch at Galveston. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448/>

 - ❖ **Gentile, C., Reig, C., Corona, O., Todaro, A., Mazzaglia, A., Perrone, A.2016**
 - ❖ **Gilman, E. F., & Watson, D. G. (1993).** *Eriobotrya japonica*. November, 1–3.
 - ❖ **Godoy, H. T., & Amaya, D. B. (1995).** Carotenoid composition and vitamin A value of Brazilian loquat (*Eriobotrya japonica Lindl.*). *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, 45(4), 336-339.
 - ❖ **Goulas, V., Minas, I. S., Kourdoulas, P. M., Vicente, A. R., & Manganaris, G. A. (2014).** Phytochemical content, antioxidants and cell wall metabolism of two loquat (*Eriobotrya japonica*) cultivars under different storage regimes. *Food Chemistry*, 155, 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.054>.
 - ❖ **Gupta, V., BansaKumar, D., & L, P. (2010).** Pharmacological potential OF *eriobotrya japonica*– an over irjp 1 (1) Dec 2010. January.

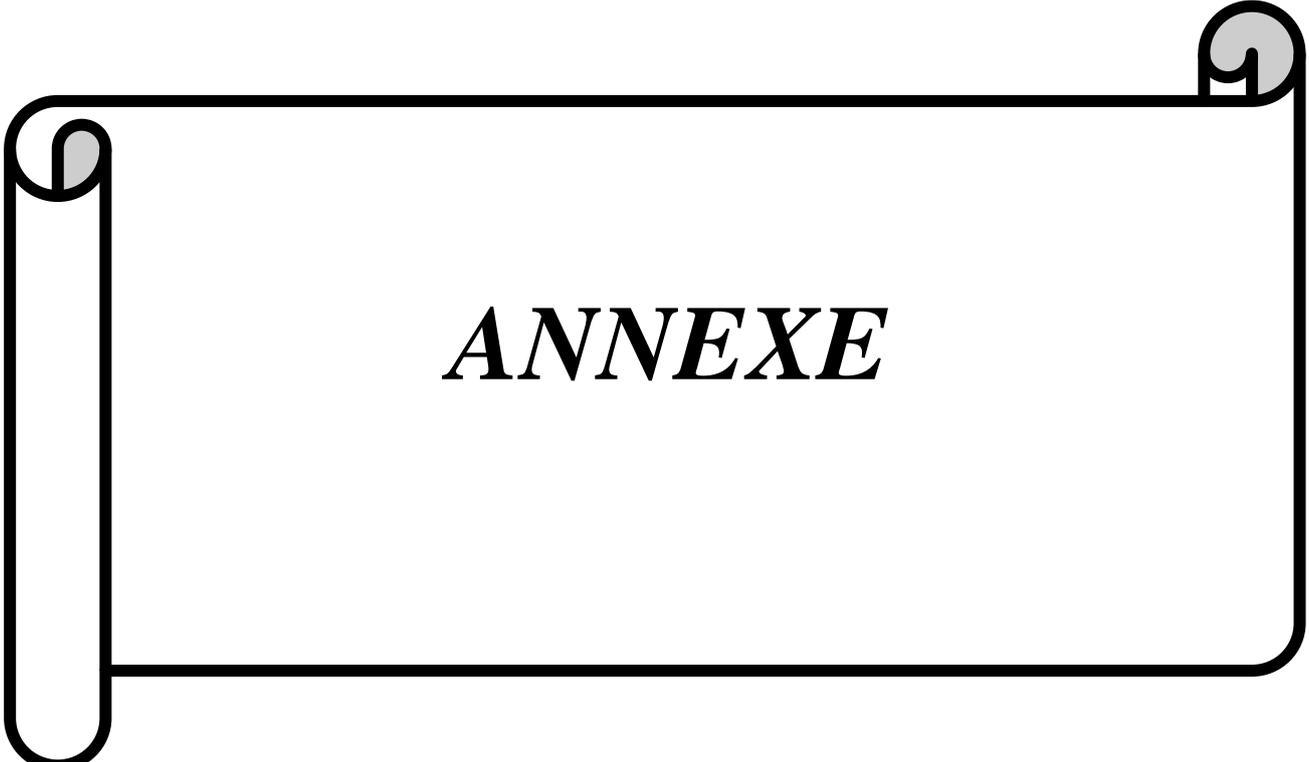
 - ❖ **Herodež, Š. S., Hadolin, M., Škerget, M., & Knez, Ž. (2003).** Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves. *Food Chemistry*, 80(2), 275-282. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00382-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00382-5)

- ❖ **Hui-ya, H., Kuang-yao, L., Wen-chuan, L., Susumu, K and Jin-bin, W. (2010).** Regulation and improvement of triterpene formation in plant cultured cells of *Eriobotrya japonica* Lindl. *Journal of Biosciences and Bioengineering*, 110(5), 588–592.
- ❖ <https://diag-innov.biomerieux.fr/pourquoi-la-concentration-minimale-inhibitrice-cmi-est-un-indicateur-important-pour-guider-le-clinicien-dans-sa-prescription/>).
- ❖ **Jin, O., Min, O.-J., Hyeon, A. -K., Kim, J.-K, Hum, Y.-B, Dong, Y.-R. (2011).** Effect of *Eriobotrya japonica* on Adipogenesis and Body Weight. Corresponding author; *J. Korean Soc. Appl. Biol, Chem*, 54(3):382-387.
- ❖ **Junko, Y. (2007).** Gastro protective activity of *Eriobotrya japonica* seed extract on experimentally induced gastric lesions in rats, the japanese society of pharmacognosy and springer.
- ❖ **Kammoun). Gastron Ali, Y., Bezzine, S. (2015).**Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Eriobotrya japonica* leaves extracts, *African health sciences*, 15(2):613–620.
- ❖ **LEHOUT, R., & LAIB, M. (2015).** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. 76.
- ❖ **Li, E.-N., Luo, J.-G., & Kong, L.-Y. (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), 338-343. <https://doi.org/10.1002/pca.1134>
- ❖ **Liu, Y., Zhang, W., Xu, C., & Li, X. (2016a).** 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>
- ❖ **Mostafa Z. Sultan., &Elhadi M Yahia(2017).**Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health, 2nd Edition.Chapter 55.
- ❖ **Nacz MandShahidi F. (2003)** Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL : CRC Press.

- ❖ **NAIT MOULOUD, Y, & IKKEN, K. (2014).**Thème Etude de l'activité antioxydante des Extraits des feuilles d'Eriobotrya Japonica L (Néflier du japon).
Pizzi, A. (2019). Tannins : Prospectives and Actual Industrial Applications. *Biomolecules*, 9(8), 344.
<https://doi.org/10.3390/biom9080344>
- ❖
- ❖ **Ray, M.-C. (S. d.). Flavonoïde. Futura.** Consulté 23 mai 2021, à l'adresse <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/nutrition-flavonoide-15856/>
- ❖ **Richter, G. (1993).**Métabolisme des Végétaux – Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. viii.
- ❖ **Rivera, L. L. (s. d.).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. 335.
- ❖ **Salifou, A., Alidou, C., Tchobo, F., & Soumanou, M. (2015).** Connaissances endogènes et importance des courges (*Cucurbitacées*) pour les populations autochtones productrices des graines au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 92(1), 8639. <https://doi.org/10.4314/jab.v92i1.8>
- ❖ **Shahi, A., Yavari, A., & Khanali, M. (2009).** Mass and volume modeling of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit based on physical characteristics. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17, 175-189.
- ❖ **Shi, J., Chen, W., Zou, X., Xu, Y., Huang, X., Zhu, Y., & Shen, T. (2018).** Detection of triterpene acids distribution in loquat (*Eriobotrya japonica*) leaf using hyperspectral imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 188, 436-442. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.07.023>
- ❖ **Stalikas, C. D. (2010).** Phenolic Acids and Flavonoids : Occurrence and Analytical Methods. In R. M. Uppu, S. N. Murthy, W. A. Pryor, & N. L. Parinandi (Éds.), *Free Radicals and Antioxidant Protocols* (p. 65-90). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-029-8_5

- ❖ **Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang LandZhang Y. (2011)** Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* 49: 2689-2696
- ❖ **Takuhiro,U.,Ayana,S.,Nguyen,H.T.,Tsukasa,F.,Kenji,K.,Shigeru,O.,Hiroko,K.,Osamu,M.and Yukihiro,S.(2013).**Anti-proliferative Activities and apoptosis induction by tritérpenes derived from *Eriobotrya japonica* in human leukemia cell lines . *International Journal of Molecular Sciences.*14: 4106-4120.
- ❖ **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi,J., Hilali, A.(2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.).CODEN : JMESCN, 6 (4) : 1111-1117.
- ❖ **_Taniguchi, S., Imayoshi, Y., Kobayashi, E., Takamatsu, Y., Ito, H., Hatano, T., Sakagami, H., Tokuda, H., Nishino, H., Sugita, D., Shimura, S., & Yoshida, T. (2002a).** Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli. *Phytochemistry*, 59(3), 315-323. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00455-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00455-1)
- ❖ **TokindrainyAnjarasoaJC_SN_M2_15.pdf. (s. d.).** Consulté 20 mai 2021, à l'adresse http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/tokindrainyAnjarasoaJC_SN_M2_15.pdf
- ❖ **Tonelli, N et Gallouin, F. (2013).** Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Lavoisier SAS : 728.
- ❖ **Walali L. & Skiredj A. (2003).** Transfert de technologie en agriculture. Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat. Royaume du Maroc. Page 1-2.
- ❖ **Xu, H., & Chen, J. (2011a).** Commercial quality, major bioactive compound content and antioxidant capacity of 12 cultivars of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits: Fruit quality, bioactive compounds and antioxidant capacity of loquat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6), 1057-1063. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4282>
- ❖ **Xu, X.-H., Su, Q., & Zang, Z.-H. (2012).** Simultaneous determination of oleanolic acid and ursolic acid by RP-HPLC in the leaves of *Eriobotrya*

- japonica* Lindl. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2(3), 238-240.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2012.01.006>
- ❖ **Zhang, W., Zhao, X., Sun, C., Li, X., & Chen, K. (2015).** Phenolic Composition from Different Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Cultivars Grown in China and Their Antioxidant Properties. *Molecules*, 20(1), 542-555.
<https://doi.org/10.3390/molecules20010542>
- ❖ **Zhou, C., Chen, K., Sun, C., Chen, Q., Zhang, W., & Li, X. (2007).** Determination of oleanolic acid, ursolic acid and amygdalin in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. By HPLC. *Biomedical Chromatography*, 21(7), 755-761.
<https://doi.org/10.1002/bmc.8>



ANNEXE

Annexe

Matériel Analytique

Appareils

- Balance de précision
- Hôte
- Rotavap
- Spectrophotomètre
- Agitateur magnétique.
- Vortex.
- Bec benzène.
- Autoclave.

Verrerie et petits matériels

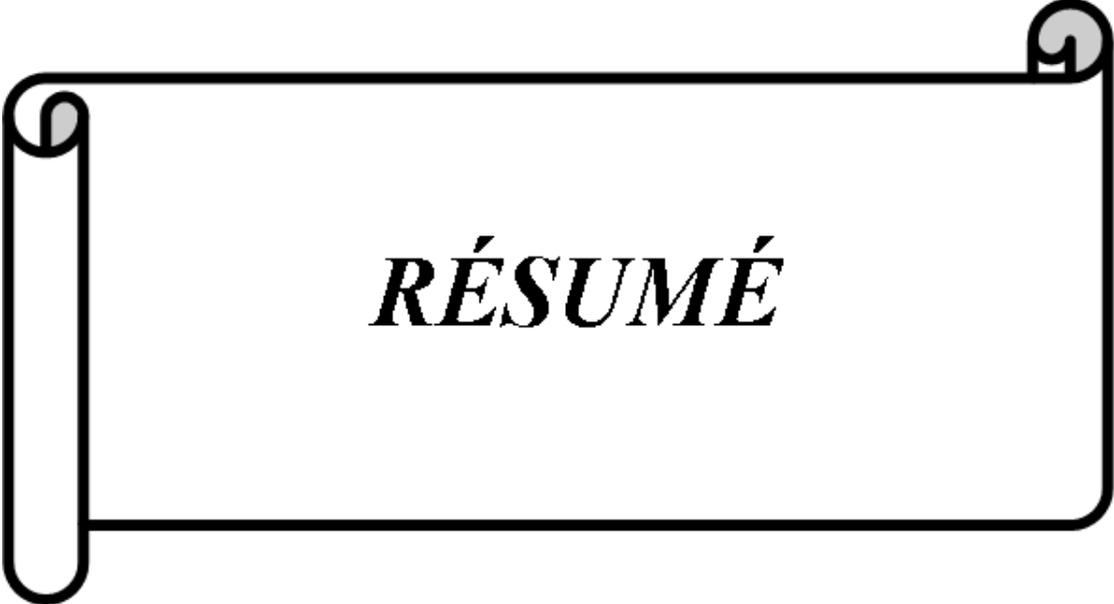
- Spatule.
- Erlenmeyer.
- Bécher.
- Ballon.
- Entonnoir.
- Papiers filtre wattman.
- Eprouvettes.
- Micropipettes.
- Pompe pipette.
- Pipette pasteur.
- Boîtes de pétris.

- Anse de platine.

Produits et réactifs

- Dichlorométhane
- Méthanol.
- Ethanol.

- Eau distillée.
- Chlorure de fer.
- Folincioaltea.
- Magnésium.
- Milieu Miller Hilton.
- Bouillon nutritif.
- FeCl₃.
- Bicarbonate de sodium.
- Acide gallique.



RÉSUMÉ

Résumé

Les métabolites secondaires présents dans les plantes ont une variété de rôles responsable d'effets thérapeutiques. Par conséquent, l'utilisation de ces molécules végétales naturelles peut être très bénéfique pour la santé humaine. L'objectif de ce travail a été de caractériser les métabolites secondaires de la partie aérienne d'*Eriobotrya japonica* L et de tester son activité antibactérienne.

Nous avons tout d'abord réalisé un screening phytochimique pour une évaluation qualitative, suivie d'un dosage des phénols totaux pour pouvoir faire une appréciation quantitative. Les résultats expérimentaux ont montré que les extraits d'*Eriobotrya japonica* contiennent des quantités importantes de phénols totaux et d'autre part, le screening phytochimique montre des fortes concentrations de tanins catéchiques.

Les extraits de cette espèce ont montré une forte activité antibactérienne à l'égard de *Staphylococcus* et moyenne contre *Escherichia coli*.

Mots clé : *Eriobotrya japonica* L, métabolite secondaire, Activité antibactérienne, Composés phénoliques, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*.

Abstract

Secondary metabolites present in plants have a variety of roles responsible for therapeutic effect. Therefore, the use of these natural plant molecules can be of great benefit to human health. The objective of this work was to characterize the secondary metabolites of the aerial part of *Eriobotrya japonica* L and to test its antibacterial activity.

We first carried out a phytochemical screening for a qualitative assessment, followed by a determination of total phenols to be able to make a quantitative assessment. The experimental results have shown that the extracts of *Eriobotrya japonica* contain significant amounts of total phenols and on the other hand, the phytochemical screening shows high concentrations of catechic tannins.

Extracts from this species showed strong antibacterial activity against *Staphylococcus* and moderate against *Escherichia coli*.

Key words: *Eriobotrya japonica* L, secondary metabolite, Antibacterial activity, Phenolic compounds, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*.

نبذة مختصرة

للأيضات الثانوية الموجودة في النباتات مجموعة متنوعة من الأدوار المسؤولة عن التأثير العلاجي، لذلك فإن استخدام هذه الجزيئات النباتية الطبيعية يمكن أن يكون ذا فائدة كبيرة لصحة الإنسان. كان الهدف من هذا العمل هو توصيف المستقلبات الثانوية للجزء الجوي من *Eriobotrya japonica* L واختبار نشاطها المضاد للبكتيريا.

أجرينا أولاً فحصاً كيميائياً نباتياً لتقييم نوعي، تلاه تحديد إجمالي الفينولات حتى نتمكن من إجراء تقييم كمي. أظهرت النتائج التجريبية أن مستخلصات *Eriobotrya japonica* تحتوي على كميات معنوية من إجمالي الفينولات، ومن ناحية أخرى، أظهر الفحص الكيميائي النباتي تراكيز عالية من العفص الكاثوليكي.

أظهرت المستخلصات من هذا النوع فعالية قوية مضادة للجراثيم ضد المكورات العنقودية ومعتدلة ضد الإشريكية القولونية.

الكلمات المفتاحية *Eriobotrya japonica* L، المستقلب الثانوي، النشاط المضاد للبكتيريا، المركبات الفينولية، المكورات العنقودية، الإشريكية القولونية..

