



Réf :/UAMOB/FSNVST/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

Adnane Kamélia & Bar Nassima

Thème

Extraits des feuilles du néflier du Japon (*Eriobotrya japonica*): Évaluation de l'activité anti-oxydante

Soutenu le: 14/09/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Lekbal Farouk</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Adrar Nassim Salem</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Djouahra Djamila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

On remercie Monsieur Adrar pour sa patience, son soutien et ses encouragements.

Un énorme Merci pour les Membres du Jury qui nous feront l'honneur d'évaluer notre travail.

On exprime notre gratitude à nos enseignements et nos camarades de classe sans exception.

À tout ce qui nous ont soutenus durant notre parcours et qui nous soutiennent encore et encore de près ou de loin, on vous remercie de fond de notre cœur.

On remercie Madame Atalia, Madame l'ingénieur du laboratoire N° 8, Madame Bensmail, ainsi qu'une étudiante (dont on a oublié le nom) pour son aide.

Kamélia & Nassima

Dédicace

Je remercie fortement mes chers parents pour leur soutien mental tout au long de mes préparations. Je les remercie pour leur présence à mes côtés. Je leur présente ma gratitude et ma reconnaissance pour avoir cru en moi et en mes capacités.

J'aimerais gratifier ma petite sœur Katia pour ses avis.

J'aimerais remercier mes deux frères pour leur présence inconditionnelle : Mohamed Lamine et Abed-El-Moumene.

À ma chère Nassima et à sa famille.

Kamelia

Dédicace

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce petit effort,

À mes très chers parents, la lumière de ma vie, qui m'ont toujours aidé dans ma vie, qui m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux, qui m'ont soutenu tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé.

À mes très chers frères Fouad, Yacine et Nazir pour leur tendresse et leur permanente présence à mes cotés.

À mon cher mari qui est toujours avec moi dans mes beaux et mauvais moments, merci beaucoup à toi Sofiane.

À la fin, je dédie très chaleureusement ce mémoire à ma chère kamelia et à sa famille.

Nassima

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Généralités sur *Eriobotrya japonica*, les radicaux libres et les antioxydants

1. Généralités sur *Eriobotrya japonica*

1.1 Historique.....3

1.2 Habitat.....3

1.3 Fruits.....4

1.4 Graines.....5

1.5 Feuilles.....6

1.6 Activité biologique des feuilles.....6

1.6.1 Effet antidiabétique.....6

1.6.2 Effet anti-inflammatoire.....7

1.6.3 Effet antiasthmatique.....7

1.6.4 Effet antiprolifératif.....7

1.6.5 Effet antioxydant.....8

2. Généralités sur les radicaux libres

2.1 Remarques introductives.....9

2.2 Définition.....10

2.3 Exemples.....10

2.3.1 Anion superoxyde.....10

2.3.2 Monoxyde d'azote radicalaire.....11

2.3.3 Anion peroxydite.....11

2.3.4 Radical hydroxyle.....12

2.4 Impact du stress oxydant.....12

2.4.1 Peroxydation lipidique.....13

2.4.2 Oxydation des protéines.....14

2.4.3 Oxydation de l'ADN.....14

3. Généralités sur les antioxydants

3.1 Définition.....15

3.2 Exemples.....15

3.2.1	Superoxyde dismutase.....	15
3.2.2	Catalase.....	16
3.2.3	Glutathion peroxydase.....	17
3.2.4	Acide ascorbique.....	17
3.2.5	Vitamine E.....	17
3.2.6	Caroténoïdes.....	18
3.2.7	Composés phénoliques.....	18
3.2.7.1	Flavonoïdes.....	19
3.2.7.2	Tanins.....	20
3.2.7.3	Acides phénoliques.....	20

Chapitre 2 : Matériels, méthodes, résultats et discussion

1.	Préparation du matériel végétal.....	22
1.1	Récolte.....	22
1.2	Séchage et broyage.....	22
2.	Extraction de composés phénoliques.....	23
3.	Taux d'extraction.....	24
4.	Dosage des phénols totaux.....	24
5.	Dosage des flavonoïdes.....	25
6.	Capacité de piégeage de radicaux libres.....	27
6.1	Piégeage du radical ABTS ^{•+}	27
6.2	Piégeage du radical DPPH [•]	29
7.	Analyse statistique.....	30
8.	Résultats et discussion.....	31
8.1	Taux d'extraction.....	31
8.2	Teneur en phénols totaux.....	32
8.3	Dosage des flavonoïdes.....	34
8.4	Piégeage du radical ABTS ^{•+}	36
8.5	Piégeage du radical DPPH [•]	37
	Conclusion.....	39
	Références bibliographiques.....	40

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

O₂^{•-} : Anion superoxyde

[•]NO : Monoxide d'azote radicalaire

ONOO⁻ : Anion peroxydinitrite

HO[•] : Radical hydroxyle

ONOOH : Acide peroxydinitreux

[•]NO₂ : Dioxyde d'azote radicalaire

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

[OH]⁻ : Anion hydroxyle

SOD : Superoxyde dismutase

GSH : Glutathion réduit

R-O-OH : Hydroperoxyde

-OH : Groupe hydroxyle

Mo(VI) : Molybdate

H-A : Antioxydant

E T B 5 : Extrait éthanolique brut d'E5

E O A E : Extrait d'acétate d'éthyle

E A C : Extrait aqueux 1

E O C : Extrait du chloroforme

E A A E : Extrait aqueux 2

mg EAG/g d'extrait : mg équivalent acide gallique/g d'extrait

mg EQ/g d'extrait : mg équivalent quercétine/g d'extrait

ONS : Oxyde nitrique synthèses

BHA : Hydroxyanisole butylé

Liste des figures

Figure 1 : Feuilles du néflier du Japon (photo originale).....	22
Figure 2 : Poudre obtenue à partir de feuilles séchées du néflier du Japon (photo originale).....	23
Figure 3 : Schéma montrant les étapes suivies pour le dosage des phénols totaux.....	25
Figure 4 : Préparation de la solution d'acétate de sodium et de chlorure d'aluminium (AlCl_3).....	26
Figure 5 : Schéma montrant les étapes suivies pour le dosage des flavonoïdes.....	27
Figure 6 : Obtention d'une solution d'ABTS sous forme radicalaire.....	28
Figure 7 : Schéma montrant les étapes suivies pour tester la capacité de piégeage du radical ABTS^{*+}	28
Figure 8 : Préparation d'une solution de DPPH sous forme radicalaire dans le méthanol.....	30
Figure 9 : Schéma montrant les étapes suivies pour tester la capacité de piégeage du radical DPPH^{\bullet}	30
Figure 10 : Figure montrant l'apparition d'une couleur bleue qui révèle la présence de phénols totaux (photo originale).....	32
Figure 11 : Graphique montrant la variation de la teneur en phénols totaux en fonction de l'extrait des feuilles du néflier du Japon.....	32
Figure 12 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le calcul de la teneur en phénols totaux.....	33
Figure 13 : Figure montrant l'apparition d'une couleur jaune qui révèle la présence de flavonoïdes (photo originale).....	34
Figure 14 : Graphique montrant la variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de l'extrait des feuilles du néflier du Japon.....	35
Figure 15 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le calcul de la teneur en flavonoïdes.....	35
Figure 16 : Activité de piégeage du cation ABTS^{*+} des extraits de feuilles séchées du néflier du Japon.....	36
Figure 17 : Activité de piégeage du radical DPPH^{\bullet} des extraits de feuilles séchées du néflier du Japon.....	38

Liste des tableaux

Tableau I : Taux d'extraction calculés.....	31
--	----

Introduction

Introduction

Le stress oxydatif est une situation dans laquelle la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) et/ou d'espèces réactives de l'azote (ERN ou RNS) est supérieure à celle d'antioxydants (Bessada et al., 2015). Autrement dit, il peut être définie comme étant un déséquilibre entre les défenses antioxydantes endogènes et la production d'ERO et/ou d'ERN (Kamdem et al., 2013). Ce déséquilibre joue un rôle important dans l'apparition de maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives, dans le vieillissement, ainsi que dans l'apparition de certains cancers (Bessada et al., 2015). D'où, certains antioxydants sont utiles afin de prévenir l'apparition des maladies générées par des radicaux libres (ERO et/ou ERN), étant donné qu'ils jouent un rôle important dans leur élimination (Udayaprakash et al., 2015).

De nombreux antioxydants synthétisés chimiquement sont très efficaces. Cependant, ils possèdent des propriétés toxiques. Par contre, des composés naturels, tels que les flavonoïdes, peuvent montrer une activité antioxydante significative et une faible toxicité. Par conséquent, l'extraction d'antioxydants à partir de sources naturelles est un domaine de recherche très important (Sunil et al., 2014). En d'autres termes, les antioxydants extraits de plantes attirent de plus en plus l'attention, puisque d'une part, ils exercent une influence sur le stress oxydatif grâce à leur capacité de piéger des radicaux libres, et d'autre part, ils permettent de remédier à l'effet toxique de certains antioxydants synthétiques, tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) (Udayaprakash et al., 2015).

Dans le monde entier, la médecine la plus ancienne est celle qui utilise uniquement des plantes pour le traitement de certaines plaies et maladies (Maamar Sameut et al., 2020). En effet, les plantes médicinales sont utilisées depuis les anciennes civilisations afin de remédier à certains problèmes de santé et/ou pour prévenir l'apparition de certaines maladies. En plus, en raison de leurs composés bioactifs naturels (tanins, flavonoïdes, huiles essentielles, ...), les plantes médicinales continuent d'attirer l'attention des chercheurs et peuvent être considérées comme étant de nouvelles sources d'agents thérapeutiques (Landoulsi et al., 2018).

Eriobotrya japonica (loquat ou néflier du Japon) est un exemple de plantes médicinales comestibles, un arbre fruitier de la famille des Rosacées et source naturelle d'antioxydants (Fu et al., 2019). Les feuilles du néflier du Japon contiennent des composés phénoliques qui peuvent procurer une protection naturelle contre les effets négatifs du stress oxydatif et montrer des effets pharmacologiques importants (Hong et al., 2008, Tan et al., 2017). Effectivement, des polyphénols peuvent présenter un effet antiagrégant plaquettaire, anti-

allergènes et anti-thrombotique (Martin and Andriantsitohaina, 2002). Par exemple, des flavonoïdes peuvent procurer une protection vis-à-vis de certains cancers (Kumar and Pandey, 2013). Tandis que, des acides phénoliques, tels que les acides férulique, chlorogénique et caféique, peuvent montrer un effet antibactérien contre différentes souches de *Listeria monocytogenes* (Wen et al., 2003).

Les paragraphes précédents mettent très clairement en évidence l'importance du thème de ce modeste travail, c'est-à-dire, l'importance de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica*. En effet, certaines études ont révélé d'importantes activités biologiques des extraits des feuilles du néflier du Japon, en particulier, leur activité antioxydante (Fu et al., 2019).

Ce modeste travail est divisé en deux chapitres. Le premier est consacré à des généralités sur le néflier du Japon, les radicaux libres et les antioxydants. Le second s'intéresse surtout à :

- L'extraction de composés phénoliques à partir de la poudre fine de feuilles séchées du néflier du Japon.
- La détermination des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits des feuilles séchées du néflier du Japon.
- L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles séchées du néflier du Japon.

Chapitre I
Partie Théorique

Chapitre I : Généralités sur *Eriobotrya japonica*, les radicaux libres et les antioxydants

1. Généralités sur *Eriobotrya japonica*

1.1 Historique

Eriobotrya japonica est une plante à fleurs appelée biwa en japonais (Tan et al., 2014). De cette appellation japonaise dérive son nom de bibacier. Mais, dans les pays de langue anglaise, c'est l'appellation chinoise de loquat qui est surtout utilisée (Rivals and Assaf, 1977). Elle est aussi appelée le néflier du Japon. Cet arbre fruitier a été naturalisé et cultivé au Japon depuis plus de 1000 ans. Cependant, il est originaire du sud-est de la Chine (Perea-Moreno et al., 2020). En effet, il existait en Chine depuis plus de 2 000 ans. Plus précisément, les régions du sud-est du mont Gongga ainsi que les régions basses et moyennes du Danube peuvent être considérées comme ses principales régions d'origine. Quant à la région du Yunnan, elle peut être considérée comme sa région d'origine secondaire. Puis, il a été introduit en France et en Angleterre. Effectivement, le néflier du Guangdong a été introduit dans le jardin national de Paris et dans les jardins botaniques royaux de Kew en 1784 et en 1787, respectivement. Par la suite, il s'est propagé dans des régions du bassin méditerranéen, à savoir, Chypre, l'Espagne, la Turquie, la Grèce, l'Italie, la Tunisie, l'Égypte et l'Algérie. En Californie et en Floride, il a été introduit entre 1867 et 1870 depuis le Japon et l'Europe, respectivement. Alors qu'il aurait été introduit à Hawaï par l'intermédiaire d'immigrants chinois (Badenes et al., 2009).

1.2 Habitat

La famille des Rosaceae (Rosacées) regroupe des plantes à noix, ligneuses, ornementales, aromatiques, herbacées et fruitières (à titre d'exemple, l'amandier, le fraisier, le framboisier, le pommier, le cerisier, le prunier, le pêcher et le poirier). Elle contient environ 3 000 espèces et 100 genres. Des composés issus de certains fruits des Rosacées, tel que l'acide ellagique, ont le potentiel d'induire l'apoptose de certaines cellules cancéreuses et d'empêcher ainsi leur prolifération (Soundararajan et al., 2019).

Eriobotrya japonica (loquat ou le néflier du Japon) est un exemple d'une plante de la famille des Rosacées. C'est un petit arbre (ou arbuste) fruitier avec des branches courtes. Il s'adapte bien aux sols alcalins, acides, argilo-limoneux, sableux, lourds ou légers. Il pousse, à températures modérées, dans des régions subtropicales (entre 20 et 35° de latitude au sud ou au nord de l'équateur). Tandis qu'en climat marin, il peut être cultivé à 45° de latitude. Il se propage rapidement dans des régions du bassin méditerranéen. Il pousse aussi en Asie du Sud-est, en Inde, au Venezuela, au Brésil, sur les montagnes de l'Équateur, en Nouvelle-Zélande, au Guatemala, en Azerbaïdjan, au Mexique, en Géorgie, aux Indes orientales, au Vietnam, au Laos, en Corée du Sud, au Chili, à Madagascar, au Pakistan, en Arménie, en Argentine, au Népal, en Californie, en Australie et en Afrique du Sud. En résumé, même s'il est originaire de Chine et il est cultivé depuis plus de 2 000 ans dans des régions de la Chine, il pousse aussi dans d'autres régions et il partage actuellement avec les agrumes les mêmes zones environnementales (Al-Bachir and Kouddi, 2021, Badenes et al., 2009, Cha et al., 2011, Delfanian et al., 2015, El-Dengawy, 2005, Kikuchi et al., 2014, Walali Loudyi and Skiredj, 2003, Yin et al., 2021).

1.3 Fruits

Le néflier du Japon fleurit au début de l'hiver ou à la fin de l'automne. Ses fleurs et ses jeunes fruits peuvent geler entre -3 et -5 °C. Avec une peau duveteuse ou lisse, ses fruits poussent en grappes et mûrissent au début du printemps ou à la fin de l'hiver. Leur couleur peut être rougeâtre, orange ou jaune et leur forme peut être arrondie (circulaire), ovale ou en forme de poire. Leur pulpe peut être sucrée, aigre-doux (légèrement acide) ou acide et elle peut être de couleur orange, blanche ou jaune. En bref, la couleur et la qualité des fruits du néflier du Japon est fonction de la variété cultivée et de la région où ils poussent (Delfanian et al., 2015, Ercisli et al., 2012, Walali Loudyi and Skiredj, 2003). Effectivement, au cours de la maturité des fruits, un temps brumeux ou l'humidité atmosphérique peuvent avoir un impact sur leur teneur en sucre (saveur). De plus, étant sensibles aux brûlures du soleil, un été chaud peut aussi influencer leur croissance, maturité et qualité (Walali Loudyi and Skiredj, 2003).

En Chine, le néflier du Japon est cultivé sur plus de 100 000 hectares et sa production annuelle peut atteindre 380 000 tonnes. D'où, la Chine peut être considérée comme le premier exportateur et producteur des fruits du néflier du Japon (Ali et al., 2021). Ces fruits populaires sont également utilisés en industrie alimentaire pour la production de confitures et jus (Jing et al., 2023). En outre, étant une source de terpénoïdes, de flavonoïdes (composés phénoliques),

de caroténoïdes et de vitamine C, ils constituent donc une source intéressante de composés phytochimiques qui pourraient jouer un rôle important en santé humaine (Sultan, 2018). En plus des vitamines A et B et de leur valeur énergétique, ils constituent aussi une source intéressante de sucres, de fibres alimentaires, de substances minérales (minéraux) et de sels (Ercisli et al., 2012, Sultan, 2018).

Certains auteurs ont rapporté que la constitution chimique d'un fruit du néflier du Japon, en pourcentage (%) par rapport au poids frais, est la suivante : protéines (0.4 %), glucides (10.6 %), lipides (0.5 %), eau (78 %), fibres (10.2 %), autres composants (0.3 %) (Shahi-Gharahlar et al., 2009). Alors que d'autres ont rapporté que 100 g du fruit du néflier du Japon contiennent une teneur en cendre de 0.4 à 0.5 g et que leurs apports nutritionnels sont les suivants : eau (de 86.5 à 88.2 ml), énergie (de 47 à 168 kcal), flavonoïdes totaux (24.3 mg), phénols totaux (33.6 mg), caroténoïdes totaux (de 196 à 3020 µg), sodium (1 mg), calcium (de 16 à 70 mg), phosphore (de 20 à 126 mg), fer (de 0.28 à 1.4 mg), magnésium (13 mg), potassium (de 266 à 1216 mg), carotène (559 µg), vitamine A (de 1528 à 2340 unités internationales), vitamine C (de 1 à 3 mg), protéines (de 0.43 à 1.4 g), matière grasse (de 0.2 à 0.7 g), fibres alimentaires totales (de 0.8 à 1.7 g), glucides (de 9.6 à 43.3 g) (Pareek et al., 2014).

1.4 Graines

La proportion comestible d'un fruit du néflier du Japon n'est pas très inférieure à celle des autres fruits, bien qu'on ait l'impression que cette proportion comestible est limitée, vu qu'en générale un fruit du néflier du Japon contient de 4 à 7 grosses graines (Kikuchi et al., 2014). Ces dernières sont utilisées comme un médicament traditionnel pour le traitement de l'indigestion et de la toux. En outre, même si le goût amer des noyaux des graines du néflier du Japon les rend non-comestibles, ces noyaux pourraient améliorer la fonction immunitaire chez certains animaux, ils pourraient être utilisés pour traiter l'hémie ou un œdème et ils sont riches en glucides, en protéines, en acides gras, en acides aminés et en amygdaline (Al-Bachir and Koulsi, 2021). Ce dernier fait partie des hétérosides cyanogènes et s'hydrolyse en glucose, en benzaldéhyde et en acide cyanhydrique. En association avec certaines vitamines et les graines de certains fruits (amandes amères, abricots), il est utilisé en médecine alternative et conventionnelle comme une thérapie anticancéreuse. Cependant, étant donné que certaines bactéries anaérobies présentes dans l'intestin ont la capacité d'hydrolyser l'amygdaline en cyanure d'hydrogène grâce à l'enzyme β -glucosidase, et vu qu'à un certain niveau, le cyanure

d'hydrogène peut causer une toxicité, il faut donc trouver le mode d'administration adéquat et la dose optimale afin d'améliorer la capacité anticancéreuse de l'amygdaline et, surtout, pour remédier à la toxicité du cyanure d'hydrogène qui constitue un obstacle pour l'utilisation thérapeutique de l'amygdaline (Jaswal et al., 2018).

1.5 Feuilles

Les feuilles du néflier du Japon sont persistantes et étroites. Elles ont une couleur vert foncé sur leur surface supérieure et plus claire sur leur surface inférieure. Elles peuvent geler à une température de -12 °C (Cha et al., 2011, Delfanian et al., 2015, Walali Loudyi and Skiredj, 2003). En bref, pour des raisons de coût et de facilité de collecte, les études sur les activités pharmacologiques du néflier du Japon se concentrent surtout sur ses feuilles qui sont constituées de divers composants bioactifs (Xu et al., 2012). En effet, elles sont constituées de triterpènes, tels que les acides maslinique, ursolique, oléanolique et corosolique qui pourraient présenter d'importantes activités biologiques, entre autres, un effet antiviral (Taniguchi et al., 2002, Li et al., 2017). À titre d'exemples, l'acide oléanolique et l'acide ursolique (qui sont des isomères difficiles à séparer et toujours présents en même temps dans une même plante) pourraient montrer des effets antimicrobiens et antiprotozoaires. L'acide oléanolique pourrait montrer également des effets hépato-protecteurs et antiulcéreux (Xu et al., 2012). En plus des triterpènes, elles sont constituées aussi de sesquiterpènes, de tanins, de flavonoïdes et d'huiles essentielles (Taniguchi et al., 2002, Li et al., 2017). Par exemple, le p-cymène, le nérolidol, l' α - et le β -farnésène, le linalol, le farnésol, le géraniol, l' α - et le β -pinène figurent parmi les huiles essentielles présentes dans le folium *Eriobotryae* (Chen and Li, 2008).

1.6 Activité biologique des feuilles

1.6.1 Effet antidiabétique

Certaines plantes peuvent présenter un effet antidiabétique, puisqu'elles constituent une source sûre de composés capables de remédier à des dysfonctionnements métaboliques liés au diabète. En d'autres termes, ces composés bioactifs peuvent être utilisés comme compléments à des médicaments antidiabétiques. Par exemple, des feuilles du néflier du Japon constituent une source de composés bioactifs (flavonoïdes, acides phénoliques,...) qui peuvent montrer un impact positif sur l'hyperlipidémie et le diabète. Autrement dit, un extrait des feuilles du

néflier du Japon peut améliorer les niveaux sanguins des lipides et du glucose (Khouya et al., 2022). En plus, un glycoside de sesquiterpènes extrait de feuilles sèches du néflier du Japon a montré un effet anti-hyperglycémiant significatif. Effectivement, les feuilles du néflier du Japon pourraient constituer une source d'agents antidiabétiques (Chen et al., 2008).

1.6.2 Effet anti-inflammatoire

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* contiennent des triterpènes, à titre d'exemples, l'acide oléanolique et l'acide ursolique qui pourraient présenter un effet anti-inflammatoire (Li et al., 2017, Taniguchi et al., 2002, Xu et al., 2012). Plus précisément, *Eriobotrya japonica* pourrait montrer un puissant effet anti-inflammatoire, puisque des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* régularaient la synthèse de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine 8, le facteur de nécrose tumorale alpha et l'interleukine 6 dans les mastocytes. Ils inhiberaient également la phospholipase A2 pro-inflammatoire et la synthèse de cytokines induite par des lipopolysaccharides (Maher et al., 2015).

1.6.3 Effet antiasthmatique

Les métalloprotéinases matricielles constituent une famille d'enzymes protéolytiques qui seraient impliquées dans l'inflammation et dans l'hyperréactivité des voies respiratoires. Par exemple, la métalloprotéinase-9 matricielle est une enzyme protéolytique sécrétée par des cellules inflammatoires impliquées dans l'asthme. *Eriobotrya japonica* pourrait réguler négativement (atténuer) la réponse inflammatoire dans l'asthme allergique, vu que des extraits des feuilles d'*Eriobotrya japonica* pourraient inhiber l'expression de la métalloprotéinase-9 matricielle dans des cellules musculaires lisses de la trachée et dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire. Effectivement, en Chine, les feuilles d'*Eriobotrya japonica* (contenant des composés phytochimiques puissants, tels que des tanins et des flavonoïdes) sont utilisées comme traitement de l'inflammation bronchique et elles sont considérées comme antitussifs et anti-inflammatoires (Kim et al., 2020).

1.6.4 Effet antiprolifératif

Les feuilles d'*Eriobotrya japonica* contiennent des triterpènes qui pourraient présenter un effet anti-tumoral (Taniguchi et al., 2002, Li et al., 2017). En effet, ces triterpènes pourraient

montrer un effet antiprolifératif contre des cellules impliquées dans certains cancers, tels que le cancer du côlon, le cancer du col de l'utérus, le cancer de l'estomac, le cancer colorectal et le cancer du cerveau. Par exemple, l'acide corosolique provenant des feuilles d'*Eriobotrya japonica* pourraient induire l'apoptose et présenter un puissant effet antiprolifératif contre des lignées cellulaires responsables de la leucémie (Uto et al., 2013). De plus, l'acide ursolique peut exercer une cytotoxicité (un effet anti-tumoral) vis-à-vis de certaines cellules cancéreuses (Xu et al., 2012). En outre, des oligomères de procyanidines d'un extrait de feuilles du néflier du Japon serait à l'origine de l'activité cytotoxique de cet extrait contre des tumeurs buccales. En d'autres termes, cet extrait serait bénéfique dans la chimioprévention du cancer buccal (Ito et al., 2000).

1.6.5 Effet antioxydant

Parmi les méthodes fréquemment utilisées afin d'évaluer la capacité de piégeage de radicaux libres par des antioxydants présents dans des extraits d'une plante, il peut être mentionné des techniques de spectrométrie basées sur le piégeage des radicaux ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) et DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Sujarwo and Keim, 2019, Liu et al., 2016).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont démontré que des extraits du néflier du Japon peuvent présenter un fort effet antioxydant qui peut être attribué à des composés phénoliques. En effet, en tenant compte du test utilisé afin d'évaluer la capacité antioxydante en équivalent trolox et celui utilisé pour déterminer le pouvoir réducteur ferrique, des feuilles du néflier du Japon ont présenté un effet antioxydant plus élevé que celui de 54 autres plantes médicinales chinoises. Cependant, il devrait être noté que l'environnement de croissance et le patrimoine génétique ont un impact sur l'effet antioxydant (c'est-à-dire sur la richesse des fruits du néflier du Japon en antioxydants). Effectivement, les fruits d'une variété cultivée en Chine ont montré un effet antioxydant significativement différent de celui des fruits d'une variété cultivée en Turquie. Il devrait être noté aussi que des caroténoïdes joueraient un rôle majeur dans l'effet antioxydant lipophile et que certains composés phénoliques correspondraient aux contributeurs principaux à l'effet antioxydant hydrophile (Liu et al., 2016).

2. Généralités sur les radicaux libres

2.1 Remarques introductives

Les minéraux, les vitamines, les oligo-éléments, les glucides, les lipides et les protéines représentent les composants nutritionnels des aliments ou nutriments. Par oxydation, certains nutriments permettent la production d'énergie (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Autrement dit, étant donné que l'oxygène moléculaire est généralement l'accepteur final d'électrons pour la production d'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) (Pietta, 2000), la production d'ATP à partir de certains nutriments nécessite donc la présence de l'oxygène moléculaire (Koechlin-Ramonatxo, 2006). D'un autre côté, le processus de respiration cellulaire permet au dioxygène d'être réduit en oxydant par phosphorylation oxydative des molécules organiques. Plus précisément, pour qu'il soit réduit et pour donner naissance à deux molécules d'eau, l'oxygène moléculaire doit recevoir quatre électrons et quatre protons (réaction chimique 1). Cependant, sa réduction se fait par étapes et peut être incomplète, vu qu'il est impossible qu'il reçoive quatre électrons et quatre protons à la fois, ce qui peut conduire à la création d'espèces réactives de l'oxygène (Costa et al., 2021). En outre, à cause de la présence de 2 électrons non appariés sur son orbite externe, la molécule d'oxygène peut être considérée comme un radical (biradical) (Phaniendra et al., 2015). Heureusement, les spins des deux électrons non appariés sur la couche externe de l'oxygène moléculaire sont parallèles, ce qui lui confère une stabilité relativement grande, c'est-à-dire que sa réactivité est limitée (Koechlin-Ramonatxo, 2006).



Un réducteur gagne un atome d'oxygène ou perd un électron et un proton (ion hydrogène positif) au cours d'une réaction d'oxydation, c'est-à-dire que l'oxydation est le transfert d'électrons d'un réducteur à un oxydant (Pietta, 2000). Alors qu'un oxydant perd un atome d'oxygène ou gagne un électron et un proton au cours d'une réaction de réduction, c'est-à-dire qu'une molécule oxydée se forme suite à la réduction d'une autre molécule et vice versa (Costa et al., 2021). Par exemple, en cédant des électrons à d'autres molécules, un radical libre se comporte comme un réducteur. À l'inverse, en captant des électrons d'autres molécules, il se comporte comme un oxydant (Tvrdá and Benko, 2020). Cependant, généralement les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) et les espèces réactives de l'azote (ERN ou RNS) sont nommées pro-oxydants ou oxydants et la réduction de ces derniers par l'oxydation d'autres molécules désignées par le terme antioxydants peut être

décrite comme une réaction d'oxydoréduction (redox), c'est-à-dire que les antioxydants sont considérés des réducteurs (Gholivand et al., 2010, Phaniendra et al., 2015).

2.2 Définition

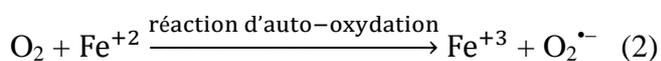
Un radical libre peut être créé soit en ajoutant un électron à un atome ou à une molécule neutre soit en enlevant un électron à un atome ou à une molécule neutre. Un clivage homolytique de liaisons covalentes obtenu en utilisant par exemple des radiations ionisantes, la chaleur ou la lumière ultraviolette comme source d'énergie, peut aussi conduire à la création de radicaux libres (Tvrdá and Benko, 2020). En bref, un atome ou une molécule ayant un ou plusieurs électrons célibataires sur son orbite externe est appelé(e) un radical libre (Phaniendra et al., 2015, Durand et al., 2013). En d'autres termes, les atomes et les molécules contenant au moins un électron non apparié sont appelés radicaux libres. Les radicaux libres les plus importants en biologie sont les ERO et les ERN (Tvrdá and Benko, 2020). On parle d'ERO si l'électron non apparié est localisé sur l'orbite externe d'un atome d'oxygène (Durand et al., 2013). Tandis que, les ERN correspondent à des composés contenant un atome d'azote (Doshi et al., 2012).

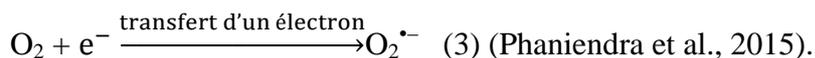
2.3 Exemples

Comme exemples d'ERO et d'ERN, il peut être cité l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le monoxyde d'azote radicalaire ($\bullet NO$), l'anion peroxydite ($ONOO^-$) et le radical hydroxyle (HO^\bullet) (Huet and Duranteau, 2008).

2.3.1 Anion superoxyde

L'anion superoxyde peut résulter de la réduction de l'oxygène après action de certaines enzymes, telles que la NADH-déshydrogénase, la NADPH-oxydase, la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipooxygénase (Huet and Duranteau, 2008, Phaniendra et al., 2015). Il peut aussi être formé de manière non enzymatique par une réaction d'auto-oxydation (réaction chimique 2) ou par une réaction dans laquelle un électron est transféré à l'oxygène moléculaire (réaction chimique 3).





2.3.2 *Monoxyde d'azote radicalaire*

Le radical libre dont l'orbite π contient un électron célibataire (non apparié) représenté par un point sur l'atome d'azote est appelé le monoxyde d'azote radicalaire ou l'oxyde nitrique. À forte concentration, ce dernier agit comme une molécule de stress. Alors qu'à faible concentration, il agit comme une molécule de signal. En d'autres termes, sa fonction dépend de son taux de production (Corpas, 2016).

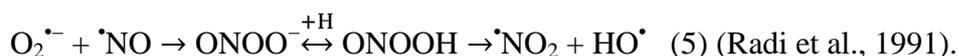
L'expression constitutive d'oxyde nitrique synthases (ONS) au niveau de l'endothélium correspond à la source habituelle du monoxyde d'azote radicalaire. Tandis que, dans un état inflammatoire, l'expression inductible d'ONS au niveau des cellules des muscles lisses et des macrophages peut être la cause d'une production importante de monoxyde d'azote radicalaire (Huet and Duranteau, 2008).

En effet, grâce aux ONS, le monoxyde d'azote radicalaire peut être synthétisé à partir d'une molécule d'oxygène et d'un atome d'azote du radical guanidium de l'acide aminé L-arginine. Plus précisément, les ONS catalysent l'hydroxylation d'un atome d'azote terminal du groupement guanidine du résidu L-arginine, ce qui entraîne la formation d'un résidu L-arginine modifié instable qui donnera naissance au monoxyde d'azote radicalaire et à L-citrulline (réaction chimique 4) (Phaniendra et al., 2015, Beaudoux et al., 2006).



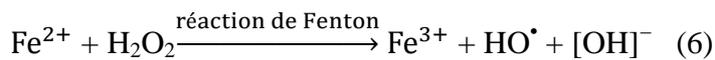
2.3.3 *Anion peroxydinitrite*

L'interaction entre l'anion superoxyde et le monoxyde d'azote radicalaire peut donner naissance à l'anion peroxydinitrite (Huet and Duranteau, 2008). Ce dernier peut se protoner pour donner naissance à l'acide conjugué du peroxydinitrite (l'acide peroxydinitreux) qui est une espèce instable se décomposant spontanément en dioxyde d'azote radicalaire ($\bullet\text{NO}_2$) et en radical hydroxyle (réaction chimique 5). Ces deux radicaux libres et/ou l'acide peroxydinitreux (ONOOH) peuvent initier la peroxydation lipidique en absence de fer (Radi et al., 1991). En résumé, l'anion peroxydinitrite est une espèce hautement réactive qui pourrait jouer un rôle important dans la peroxydation lipidique (Huet and Duranteau, 2008).



2.3.4 Radical hydroxyle

Réagissant de manière non sélective et rapidement avec la plupart des sites riches en électrons des composés organiques, le radical hydroxyle est une espèce électrophile réactive et un oxydant puissant (Minakata et al., 2009). Il peut causer de graves dommages aux cellules en réagissant avec l'acide désoxyribonucléique (ADN), des glucides, des protéines et des lipides. C'est un radical libre hautement réactif qui peut réagir aussi avec des molécules inorganiques. Il correspond à la forme neutre de l'anion hydroxyle et il peut être formé dans des conditions de stress suite un excès de l'anion superoxyde qui cause la libération du fer (Fe^{2+}) de la ferritine (une protéine intracellulaire qui stocke le fer). Ce fer libéré (libre) va réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour donner naissance au radical hydroxyle et à l'anion hydroxyle ($[\text{OH}]^-$) (réaction chimique 6). Ces derniers peuvent aussi être formés suite à une réaction entre le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'anion superoxyde (réaction chimique 7) (Phaniendra et al., 2015).



2.4 Impact du stress oxydant

Une bonne régulation de l'état redox d'une cellule reflète un équilibre entre la production d'antioxydants et celle de pro-oxydants. En d'autres termes, un retour rapide à un équilibre redox d'une cellule apparaît lorsqu'il y a une production suffisante d'antioxydants en réponse à une production de courte durée et faible de pro-oxydants. À l'inverse, un stress oxydant peut être définie comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production d'antioxydants et celle de pro-oxydants. Une telle situation apparaît lorsqu'il y a une production insuffisante d'antioxydants en réponse à une production prolongée et intense de pro-oxydants (Durand et al., 2013).

Les ERO peuvent montrer un impact positif sur l'homéostasie cellulaire et sur certaines voies de signalisation cellulaire (Huet and Duranteau, 2008). Mais, une production excessive d'ERO cause un stress oxydatif qui peut endommager des molécules biologiques. En effet, à cause de son instabilité et de sa grande réactivité et afin de devenir plus stable, un radical libre peut capter des électrons d'une molécule biologique. Cette dernière perd ses électrons suite à

l'attaque du radical libre et devient ainsi un radical libre, ce qui peut déclencher une cascade de réactions qui peut endommager la cellule (Phaniendra et al., 2015).

Certains radicaux libres peuvent jouer un double rôle, c'est-à-dire qu'ils peuvent être bénéfiques ou délétères, puisqu'à des concentrations faibles ou modérées, ils peuvent être impliqués dans la défense contre des agents infectieux, dans des systèmes de signalisation cellulaire, dans la production d'énergie et dans la croissance cellulaire. Alors qu'à une concentration excessive, ils peuvent entraîner un stress oxydatif qui peut endommager l'ADN, l'acide ribonucléique (ARN), des protéines et des lipides, ce qui peut engendrer l'apparition de diverses pathologies (Sen et al., 2010). En résumé, un radical libre est un produit du métabolisme cellulaire normal. Mais, étant un site électrophile contenant au moins un électron non apparié (c'est-à-dire qu'en raison du nombre impair d'électrons sur son orbite externe), il est généralement instable et très réactif et il peut attaquer des sites nucléophiles possédant une densité électronique élevée, tels que des composés contenant une double liaison (acide gras polyinsaturé, phospholipide) ou un atome d'azote (protéine, acide nucléique) (Durand et al., 2013, Phaniendra et al., 2015, Tvrdá and Benko, 2020).

2.4.1 Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique conduit à la formation d'un radical peroxy suite à l'attaque des acides gras polyinsaturés des lipides par le radical hydroxyle. Effectivement, ce dernier forme un radical diène conjugué (qui sera oxydé en radical peroxy) en arrachant un atome d'hydrogène d'un carbone localisé entre deux doubles liaisons. Il en résulte une réaction en chaîne, vu qu'au contact d'autres acides gras polyinsaturés, le radical peroxy se convertit en peroxyde qui à son tour donne naissance à un nouveau radical diène conjugué (Favier, 2003).

L'attaque par le radical hydroxyle peut toucher des phospholipides membranaires et/ou des lipoprotéines circulantes. Dans le premier cas, la fluidité membranaire pourrait être modifiée, ce qui pourrait entraîner un dysfonctionnement de certains transporteurs et récepteurs membranaires, ainsi que celui de la transduction de certains signaux. Dans le second cas, il pourrait y avoir formation de lipoprotéines de basse densité oxydées, ce qui pourraient contribuer à l'apparition de maladies cardiovasculaires, car ces lipoprotéines oxydées pourraient contribuer à la formation des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome (Favier, 2003).

2.4.2 Oxydation des protéines

Certaines pertes d'activités enzymatiques et/ou certains changements structurels pourraient se produire suite à l'attaque de protéines par des ERO et/ou des ERN (Pham-Huy et al., 2008). Plus précisément, les protéines et les enzymes contenant un groupe -SH (sulfhydryle) sont remarquablement sensibles à des attaques par des ERO et/ou des ERN, ce qui pourrait entraîner leur inactivation par oxydation et la perte de leur fonction biologique, vu que la modification de ces protéines par oxydation pourrait augmenter leur hydrophobicité. Ces protéines pourraient alors former, autour et/ou à l'intérieur de certaines cellules, des amas qui, associés avec certains lipides, pourraient donner naissance à des dépôts de lipofuschines apparaissant chez des personnes âgées (Favier, 2003).

2.4.3 Oxydation de l'ADN

L'anion superoxyde et le radical hydroxyle peuvent interagir avec les bases azotées et le désoxyribose d'une molécule d'ADN induisant ainsi des lésions au niveau de cette molécule d'ADN (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Par exemple, le radical hydroxyle pourrait contribuer à l'apparition de cassures au niveau d'une molécule d'ADN double-brin, ainsi qu'à la formation de pontages ADN-protéine. En outre, le stress oxydant pourrait entraîner une modification de certaines bases azotées sensibles à l'oxydation, notamment la guanine. Il pourrait également créer un site abasique en attaquant la liaison glycosidique entre le sucre (désoxyribose) et une base azotée, ou bien créer une brèche au niveau d'une molécule d'ADN simple-brin en attaquant le désoxyribose (Favier, 2003). Enfin, la peroxydation lipidique pourrait aussi contribuer à l'apparition d'un adduit à l'ADN qui est un complexe formé suite à la fixation d'une espèce réactive sur un site situé au niveau d'une molécule d'ADN. Par exemple, un adduit de type guanine-dialdéhyde malonique. Ce dernier pourrait résulter de la dégradation des peroxydes provenant de la peroxydation lipidique (Guichardant et al., 2006, Wiencke, 2002, Favier, 2003).

Pour récapituler, le stress oxydatif pourrait être impliqué dans le processus du vieillissement, il pourrait contribuer à l'apparition de maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et auto-immunes et il pourrait jouer un rôle dans le développement de l'arthrite et de certains cancers. En effet, l'hydroxylation de certaines bases azotées de l'ADN pourrait jouer un rôle dans la cancérogenèse en modifiant la transcription normale de certains gènes. En bref, les radicaux libres pourraient causer des lésions au niveau des molécules

d'ADN qui pourraient contribuer à l'initiation et au développement de certains cancers (Pham-Huy et al., 2008). Autrement dit, à long terme, ces lésions pourraient être à l'origine de l'apparition de certaines mutations (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

3. Généralités sur les antioxydants

3.1 Définition

Un antioxydant est un composé chimique réactif qui permet aux cellules vivantes d'éviter les effets nocifs des radicaux libres (Karak, 2019). À faible concentration relativement à celle d'une substance oxydable, il est capable d'empêcher ou de retarder de façon importante son oxydation, c'est-à-dire qu'il est capable d'inhiber l'apparition d'une lésion oxydative sur une substance oxydable (Halliwell and Gutteridge, 1995).

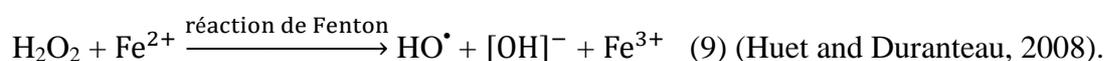
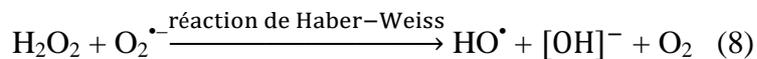
3.2 Exemples

Les antioxydants peuvent être enzymatiques (superoxyde dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydases, ...) ou non enzymatiques (vitamine C (acide ascorbique), vitamine E, caroténoïdes, flavonoïdes, tanins, acides phénoliques, ...). Ils peuvent être retrouvés dans les oléagineux, les noix, le thé, les fruits, le café et les légumes à feuilles vertes. Même à des concentrations relativement faibles, ils ont le potentiel d'inhiber le stress oxydatif et de prévenir l'apparition de certains problèmes de santé, tels que des dysfonctionnements cérébraux, l'hypertension, la cataracte, l'athérosclérose, certains cancers, l'insuffisance cardiaque, des maladies artérielles et coronariennes. En plus, ils pourraient jouer un rôle dans la protection de la stabilité membranaire (en prévenant la formation de radicaux libres ou en les piégeant), dans la stimulation du système immunitaire (par l'augmentation de la production d'immunoglobulines et de cytokines et/ou par l'amélioration de la prolifération des lymphocytes T après une infection), ainsi que dans le ralentissement du processus de vieillissement (Verma and Mishra, 2014).

3.2.1 Superoxyde dismutase

La SOD est une métalloenzyme endogène qui a besoin d'un cofacteur métallique afin d'être active. Il peut être distingué trois types de SODs : la cuivre/zinc-SOD, la fer-SOD et la

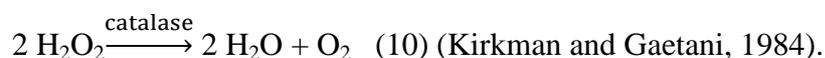
manganèse-SOD, puisque la SOD peut se lier avec le cuivre, le zinc, le fer et le manganèse. C'est un antioxydant de détoxification puissant et contribue à la diminution de la dangerosité de l'anion superoxyde en catalysant la dismutation de 2 molécules de l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et en peroxyde d'hydrogène (Ighodaro and Akinloye, 2018). Autrement dit, en l'absence d'oxyde nitrique, la SOD peut transformer rapidement l'anion superoxyde en une espèce plus stable, le peroxyde d'hydrogène (Huet and Duranteau, 2008), c'est-à-dire que ce dernier peut ne pas être considéré comme un radical libre. Mais, même s'il n'a pas un effet direct sur l'ADN, il peut être impliqué dans la production d'un radical hydroxyle et être ainsi impliqué indirectement dans certaines lésions (Phaniendra et al., 2015). Effectivement, selon la quantité produite en anion superoxyde et en peroxyde d'hydrogène et lors d'un déséquilibre entre la production d'antioxydants et celle de pro-oxydants, le peroxyde d'hydrogène peut se transformer en radical hydroxyle soit par la réaction de Haber-Weiss (réaction chimique 8) ou celle de Fenton (réaction chimique 9) et être ainsi impliqué indirectement dans l'apparition de certaines lésions au niveau des molécules d'ADN, protéiques, et lipidiques (en déclenchant la peroxydation lipidique), étant donné qu'en présence d'un métal de transition (cuivre, fer, ...), le radical hydroxyle (produit suite à la transformation du peroxyde d'hydrogène) peut être très réactif à l'égard des lipides membranaires.



D'autre part, à une concentration relativement élevée, le peroxyde d'hydrogène peut être impliqué dans l'inactivation de certaines enzymes jouant un rôle important dans la production d'énergie cellulaire, comme la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase. Cependant, il peut être éliminé par certaines enzymes antioxydantes, telles que la catalase et la glutathion peroxydase (Phaniendra et al., 2015).

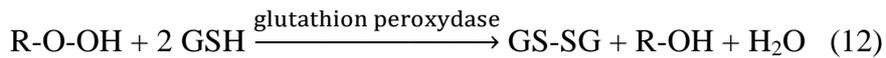
3.2.2 *Catalase*

La catalase est un tétramère formé de quatre sous-unités de 60 kilo-Daltons et de quatre molécules d'hème. Il s'agit d'une oxydoréductase, puisqu'elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (réaction chimique 10).



3.2.3 *Glutathion peroxydase*

En utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons, une glutathion peroxydase est une enzyme qui catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau (réaction chimique 11) ou bien la réduction d'un hydroperoxyde (R-O-OH) en alcool correspondant et en eau (réaction chimique 12).



3.2.4 *Acide ascorbique*

En présence d'ions métalliques et/ou à de faibles concentrations, l'acide ascorbique (vitamine C) pourrait agir comme un pro-oxydant en améliorant l'activité des ERO. Mais, à des concentrations élevées, il se comporte comme un antioxydant, soit en régénérant d'autres systèmes antioxydants, soit en piégeant l'oxygène singulet, le radical hydroxyle et/ou des peroxydes lipidiques dont le piégeage pourrait contribuer à l'induction de l'apoptose (Griffiths and Lunec, 2001). En effet, en plus de son rôle dans la prévention de l'apparition de maladies causées par une carence en vitamine C, il pourrait aussi jouer un rôle dans la réduction du risque du développement de certains cancers et de certaines maladies chroniques, notamment des maladies cardiaques. D'où, une consommation quotidienne de légumes et de fruits frais est essentielle pour garantir un apport suffisant en vitamine C (Vissers et al., 2013). En résumé, le stress oxydatif peut être réduit par l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant (Wani et al., 2021).

3.2.5 *Vitamine E*

En tant qu'un antioxydant liposoluble puissant, la vitamine E pourrait montrer un impact positif contre des troubles de la reproduction. En plus, en empêchant l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés et en piégeant les ERO dans les membranes cellulaires, elle pourrait jouer un rôle dans la protection des membranes cellulaires d'une attaque par des ERO (Mohd Mutalip et al., 2018).

3.2.6 Caroténoïdes

Le terme carotène a été proposé par Wackenroder en 1831 pour décrire un pigment qu'il avait extrait des racines des carottes. Alors que, le mot xanthophylle a été proposé par Berzelius en 1837 pour décrire un pigment de couleur jaune qu'il avait isolé à partir de feuilles sénescents. Mais, à cause du lien chimique qui existe entre les xanthophylles et les carotènes, Tswett a proposé en 1911 le terme caroténoïde afin de regrouper ces deux types de composés dans une même classe de pigments. Les caroténoïdes peuvent jouer un rôle dans la protection contre les effets négatifs de l'oxygène singulet et des radicaux produits par photo-oxydation (Armstrong and Hearst, 1996).

L'activité antioxydante de certains caroténoïdes (qui a été démontrée *in vivo* et *in vitro*) attire l'attention, puisque qu'elle pourrait entraîner l'élimination de certains radicaux libres (oxydants) impliqués dans certains processus pathologiques. Cependant, vu qu'ils contiennent un nombre relativement significatif de doubles liaisons conjuguées, ils devraient être très sensibles à des attaques par certains radicaux libres, ce qui peut leur conférer un caractère pro-oxydant. Autrement dit, ils peuvent se comporter soit comme antioxydants ou bien comme pro-oxydants, en fonction surtout des conditions dans lesquelles ils agissent (Palozza, 1998). Plus précisément, la capacité de certains caroténoïdes d'être des antioxydants efficaces, en piégeant l'oxygène singulet et d'autres radicaux libres, dépendrait de leur structure de base qui consiste en un squelette polyène contenant une série de doubles liaisons conjuguées, étant donné que certains changements dans leur squelette polyène (notamment un changement dans le nombre de doubles liaisons conjuguées), peut influencer leur activité antioxydante (Young and Lowe, 2018).

3.2.7 Composés phénoliques

Présents dans différents aliments et boissons à base de plantes et comprenant un groupe de molécules dont la structure est relativement simple, le groupe des polyphénols et des polymères dérivés des deux précédents groupes, les composés phénoliques représentent une large classe de métabolites secondaires présentant une grande diversité de structures (Cheynier, 2012).

Un cycle phénolique (sous-unité phénolique ou groupe phénol) est un cycle aromatique sur lequel est attaché au moins un groupe hydroxyle (-OH) (Robbins, 2003). Sur la base du nombre de cycles phénoliques, les composés phénoliques peuvent être divisés en phénols

simples et en polyphénols. Par exemple, les flavonoïdes contiennent deux cycles phénoliques ou plus. Tandis que, les tanins contiennent au moins trois cycles phénoliques (Robbins, 2003). En d'autres termes, même si le nom de composé phénoliques est souvent utilisé comme un synonyme du terme polyphénols, ce dernier devrait être réservé aux métabolites secondaires portant au moins deux cycles phénoliques et ne contenant dans leur structure de base aucun groupe fonctionnel à base d'azote (Cheynier, 2012). Pour résumer, la structure chimique des composés phénoliques (lignanes, stilbènes, acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, ...) contient un ou plusieurs groupes hydroxyles avec au moins un cycle aromatique (Zhang et al., 2022).

Certaines études ont révélé qu'il existe une corrélation inverse entre l'incidence de certains problèmes de santé (diabète, obésité, cancer, maladies cardiovasculaires, ...) et un régime alimentaire riche en légumes et en fruits. Cela peut-être dû à la présence dans les légumes et les fruits de certains composés phénoliques antioxydants qui pourraient engendrer des effets positifs sur la santé en piégeant et en neutralisant les effets négatifs des ERO partiellement responsables de l'incidence de certaines maladies (De la Rosa et al., 2019). En d'autres termes, certains composés phénoliques ont un effet antioxydant et jouent ainsi un rôle dans la prévention de l'apparition de pathologies causées par le stress oxydatif (Zhang et al., 2022).

3.2.7.1 Flavonoïdes

Un squelette de quinze atomes de carbone ($C_6-C_3-C_6$ désigné par A, C et B) constitue la structure chimique de base des flavonoïdes. Cette structure contient deux cycles benzéniques (aromatiques : A et B) reliés par trois atomes de carbone formant un hétérocycle contenant un atome d'oxygène (cycle pyrane : C) (Karak, 2019). La structure chimique des flavonoïdes présente des différences dans la stéréochimie des carbones asymétriques du cycle C ainsi que dans le nombre de groupes hydroxyles sur les cycles A et B (Santos-Buelga and Scalbert, 2000). En bref, trois cycles composés de 15 atomes de carbone forment le noyau flavan qui constitue la structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000). Ces derniers se classent parmi les meilleurs composés phytochimiques agissant comme antioxydants, tel que l'arrangement des groupes fonctionnels dans leur noyau flavan a un impact sur leur effet antioxydant (Karak, 2019). Plus précisément, leur effet antioxydant peut être attribué à leurs groupes hydroxyles fonctionnels capables de chélater des ions métalliques ou de piéger des radicaux libres, ce qui devrait prévenir le stress oxydatif et la génération de radicaux libres qui peuvent endommager

des molécules biologiques et être à l'origine de l'apparition de certaines maladies (Tiwari and Husain, 2017). En d'autres termes, l'effet protecteur des flavonoïdes peut être attribué à leur capacité à chélater des ions métalliques, à transférer des électrons à des radicaux libres, à inhiber des oxydases et à activer des enzymes antioxydantes (Alzand and Mohamed, 2012).

3.2.7.2 Tanins

Les flavan-3-ols figurent parmi les polyphénols les plus bioactifs et sont abondants dans notre alimentation. Ils peuvent être sous forme monomérique, oligomérique ou polymérique correspondant aux proanthocyanidines ou tanins condensés (Monagas et al., 2010). Ces derniers sont des flavonoïdes complexes, étant donné que l'unité flavan-3-ol a le squelette typique des flavonoïdes (C₆-C₃-C₆) (Santos-Buelga and Scalbert, 2000). En plus des tanins condensés, les tanins comprennent aussi le groupe des tanins hydrolysables (contenant les ellagitanins et les gallotanins), le groupe des tanins complexes (constitués de deux fractions : tanins hydrolysables et flavonoïdes), et enfin le groupe de composés présents dans les algues : les phlorotanins (Ky et al., 2016).

Les aliments contenant des proanthocyanidines peuvent être considérés comme aliments fonctionnels, puisque ces composés phénoliques présentent diverses activités biologiques, notamment un effet antioxydant (Ashok and Upadhyaya, 2012, Monagas et al., 2010). En effet, la capacité des tanins à piéger des radicaux libres en leur cédant des électrons permet la formation de structures radicalaires plus stables et moins nocives. Plus précisément, le piégeage de radicaux libres, l'inhibition d'enzymes pro-oxydantes et la chélation de métaux de transition correspondent aux mécanismes de base de l'effet antioxydant des tanins. En bref, les tanins peuvent jouer un rôle important dans les mécanismes de la défense antioxydante. D'autre part, il est intéressant de noter que l'activité anti-radicalaire des tanins composés d'acide gallique est plus significative. Cette activité est également dépendante de leur taille ainsi que du nombre de groupes hydroxyles, étant donné qu'elle augmente des monomères aux trimères puis diminue et vu qu'elle augmente aussi avec l'augmentation du nombre des groupes hydroxyles (Macáková et al., 2014).

3.2.7.3 Acides phénoliques

Les acides phénoliques représentent l'un des principaux types de polyphénols. Ils sont caractérisés par la présence d'un groupe acide carboxylique. Ils comprennent principalement

les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïques dérivés de l'acide benzoïque. Par exemple, l'acide syringique, l'acide protocatéchique, l'acide p-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique sont des acides hydroxybenzoïques. Alors que, l'acide sinapique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide chlorogénique sont des acides hydroxycinnamiques dérivés de l'acide cinnamique (Kumar and Goel, 2019). Ce dernier, présente une structure en C₆-C₃, c'est-à-dire, il contient neuf atomes de carbone. Tandis que, l'acide benzoïque présente une structure en C₆-C₁, c'est-à-dire, il possède sept atomes de carbone (Teixeira et al., 2013).

Les acides phénoliques existent rarement sous forme libre, mais plutôt sous forme liée, généralement sous forme de glycosides, d'esters ou d'amides. Ils sont présents surtout dans les feuilles de certains légumes ainsi que dans la peau et les graines de certains fruits. Par rapport à certaines vitamines antioxydantes, leur effet antioxydant *in vitro* est beaucoup plus élevé (Kumar and Goel, 2019). Par exemple, l'acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque ou acide gallique possède un effet antioxydant relativement élevée (Badhani et al., 2015).

Chapitre II
Partie Pratique

Chapitre 2 : Matériels, méthodes, résultats et discussion

Ce chapitre s'intéresse surtout à l'extraction de composés phénoliques à partir de la poudre fine de feuilles séchées du néflier du Japon, à la détermination des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes d'extraits de ces feuilles séchées ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de ces extraits. Certaines manipulations (travaux pratiques) ont été réalisées au niveau du laboratoire F à l'université Akli Mohand Oulhadj de Bouira. Mais, la plupart des manipulations ont été effectuées au sein du laboratoire N° 2 de notre université.

1. Préparation du matériel végétal

1.1 Récolte

Les feuilles du néflier du Japon (Figure 1) ont été récoltées au mois de février 2023 à la wilaya de Bouira. Plus précisément, dans des régions différentes du village de M'chedallah, à savoir : Ath Hemmad: échantillon 1 (E1) ; M'chedallah centre: échantillon 2 (E2); Thala l'Arvaa : échantillon 3 (E3) et Akkache : échantillon 4 (E4).



Figure 1 : Feuilles du néflier du Japon (photo originale).

1.2 Séchage et broyage

Afin d'enlever la poussière et d'autres particules, les feuilles récoltées ont été rincées à l'eau courante. Ensuite, elles ont été séchées à l'air libre pendant un mois. Enfin, à l'aide d'un broyeur électrique, elles ont été réduites en poudre fine. Pour les protéger de la lumière, cette dernière a été conservée dans des sachets fermés et étiquetés (Figure 2). En plus des quatre échantillons récoltés à partir de régions différentes du village de M'chedallah (E1, E2, E3 et

E4), un cinquième échantillon (E5) de 50 g de poudre fine de feuilles séchées du néflier du Japon a été préparé à raison de 12,5 g de poudre de chaque échantillon.



Figure 2 : Poudre obtenue à partir de feuilles séchées du néflier du Japon (photo originale).

2. Extraction de composés phénoliques

L'extraction de composés phénoliques à partir du matériel végétal (c'est-à-dire à partir de la poudre fine de feuilles séchées du néflier du Japon) a été réalisée en suivant la méthode utilisée par Atmani et al. (2009), avec quelques modifications. En bref, la poudre fine de feuilles séchées du néflier du Japon a été macérée dans l'éthanol (1:4, p/v) pendant 24 h. Plus précisément, 50 g de chaque échantillon ont été macérés dans 200 ml d'éthanol pendant 24 h. Après décantation pendant 24 h et après séchage jusqu'à atteindre un poids constant, des extraits éthanoliques bruts ont été obtenus :

- L'extrait éthanolique brut correspondant à E5 a été conservé uniquement sous forme d'extrait éthanolique.
- L'extrait éthanolique brut correspondant à E3 a été mélangé avec du chloroforme et de l'eau distillée (1:3:1, p/v/v). Tandis que, l'extrait éthanolique brut correspondant à E1 a été mélangé avec de l'acétate d'éthyle et de l'eau distillée (1:3:1, p/v/v). Après agitation et macération pendant 24 h, 4 phases (2 aqueuses et 2 organiques) ont été obtenues. Ces 4 phases ont été séchées séparément jusqu'à atteindre un poids constant pour obtenir 2 extraits aqueux (extrait aqueux 1 et extrait aqueux 2), un extrait du chloroforme et un extrait d'acétate d'éthyle. Ces 4 extraits ont été conservés.

3. Taux d'extraction

Le taux d'extraction (rendement ou pourcentage d'extraction) a été calculé en utilisant la formule ci-dessous :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = (X/Y) \times 100.$$

Avec : X = poids après évaporation du solvant – poids vide du creuset et Y = poids de la poudre ou de l'extrait de départ.

4. Dosage des phénols totaux

Le contenu en phénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie à 765 nm en suivant la méthode décrite par Hismath et al. (2011). Pour chaque extrait, 0,3 ml d'extrait (1 mg/ml) ; 1,2 ml d'une solution de carbonate de sodium (7,5 % ; p/v) et 1,5 ml d'une solution du réactif de Folin-Ciocalteu (10 % ; v/v) ont été mélangés. Après agitation et incubation pendant 30 mn à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 765 nm (Figure 3). Un blanc a été préparé en mélangeant 0,3 ml d'eau distillée ; 1,2 ml d'une solution de carbonate de sodium (7,5 % ; p/v) et 1,5 ml d'une solution du réactif de Folin-Ciocalteu (10 % ; v/v). Dans les mêmes conditions et afin de déterminer le contenu des extraits en phénols totaux, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les concentrations ont été exprimées en mg équivalent acide gallique/g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

Enfin, il convient de noter que le test de Folin-Ciocalteu se base sur l'oxydation de composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu (hétéropolyanion molybdo-tungstophosphorique). Ce dernier forme avec les composés phénoliques un complexe de transition au sein duquel il y a un transfert d'électrons des composés phénoliques vers le réactif. Comme le molybdate (Mo(VI)) est plus facilement réduit que le tungstate, le transfert d'électrons se produit principalement entre le Mo(VI) et les composés phénoliques et donne un produit de couleur bleue avec une longueur d'onde maximale à 765 nm (réaction chimique 13). Il convient de noter également qu'au cours de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu, le pH exerce une influence sur la déprotonation des molécules phénoliques et leur capacité à donner des électrons, c'est-à-dire que la réaction de Folin-Ciocalteu dépend du pH. Plus précisément, l'ajout de la solution de carbonate de sodium, c'est-à-dire un pH basic (~pH10), permet un développement visible de la couleur. Mais, le test de Folin-Ciocalteu échouerait si le réactif

de Folin-Ciocalteu et l'échantillon ne sont pas mélangés plusieurs minutes avant l'ajout de la solution de carbonate de sodium (Hao et al., 2021).

$\text{Mo(VI)} \text{ (couleur jaune)} + e^- \rightarrow \text{Mo(V)} \text{ (couleur bleue)}$ (13) (Hao et al., 2021).

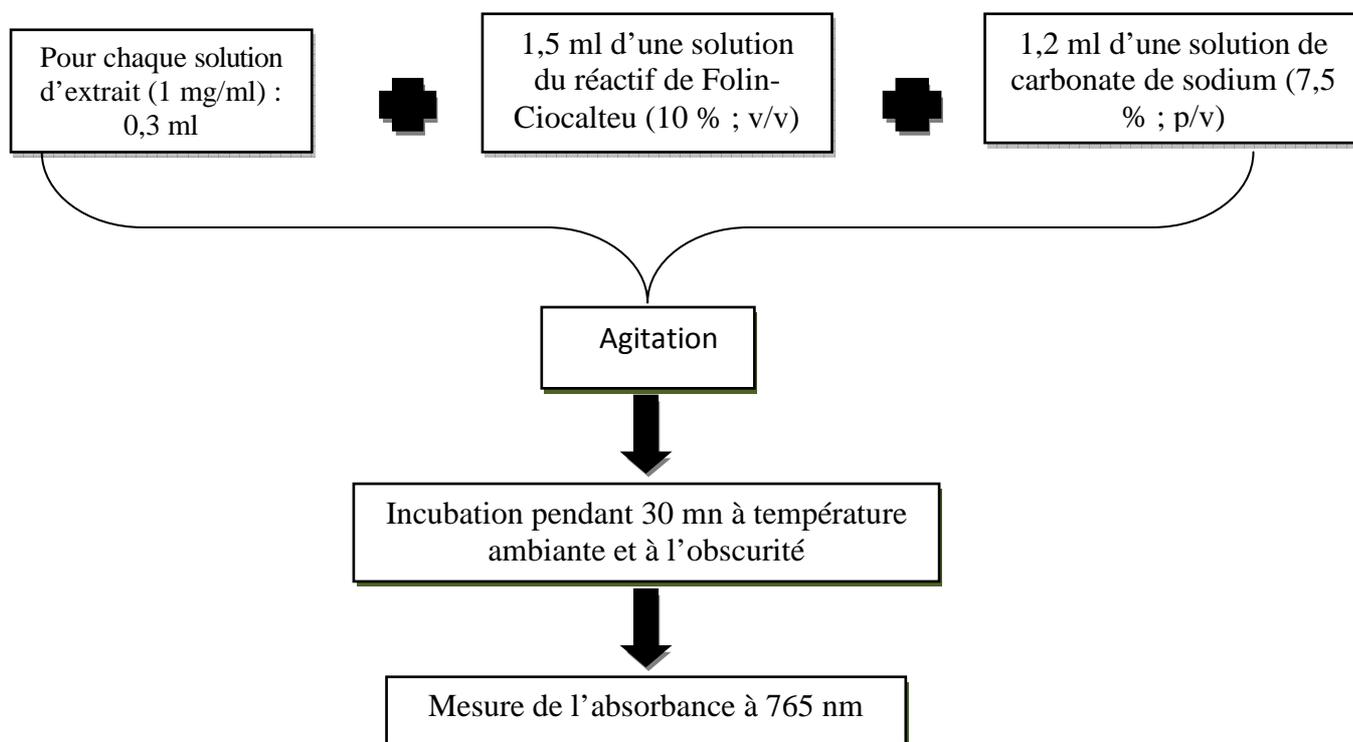


Figure 3 : Schéma montrant les étapes suivies pour le dosage des phénols totaux (Hismath et al., 2011).

5. Dosage des flavonoïdes

D'abord, une solution d'acétate de sodium ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$) et de chlorure d'aluminium (AlCl_3) a été préparée en mélangeant 133 mg d' AlCl_3 et 400 mg de $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$ dans 100 ml d'eau distillée (Figure 4). Les flavonoïdes présents dans les extraits ont été dosés en suivant la méthode décrite par Abdou Bouba et al. (2010). Pour chaque extrait, 2 ml d'extrait (1 mg/ml) et 1 ml de la solution d'acétate de sodium et de chlorure d'aluminium ont été mélangés. Après agitation et incubation pendant 10 min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm (Figure 5). Pour chaque extrait, un blanc a été préparé en mélangeant 2 ml d'extrait (1 mg/ml) et 1 ml d'eau distillée. Dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la quercétine comme standard. Les concentrations ont été exprimées en mg équivalent quercétine/g d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Enfin, il est intéressant de noter que cette méthode se base sur le fait que grâce à leurs groupes hydroxyles libres, les flavonoïdes

sont capables de former des complexes jaunâtres en présence de chlorure d'aluminium (Vedekoi and Selestin, 2021).

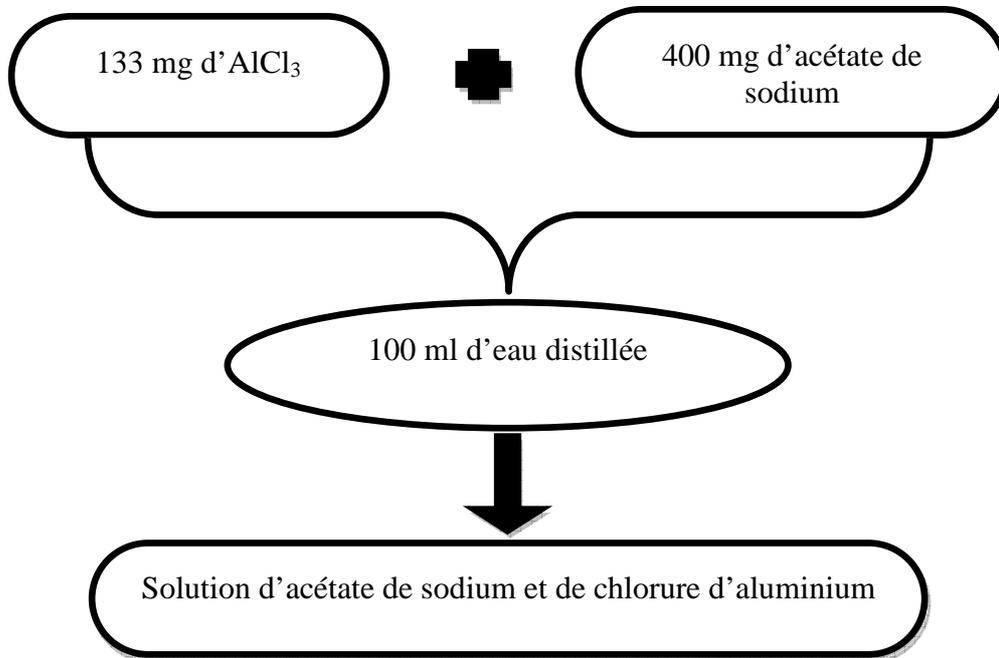


Figure 4 : Préparation de la solution d'acétate de sodium et de chlorure d'aluminium (AlCl_3) (Abdou Bouba et al., 2010).

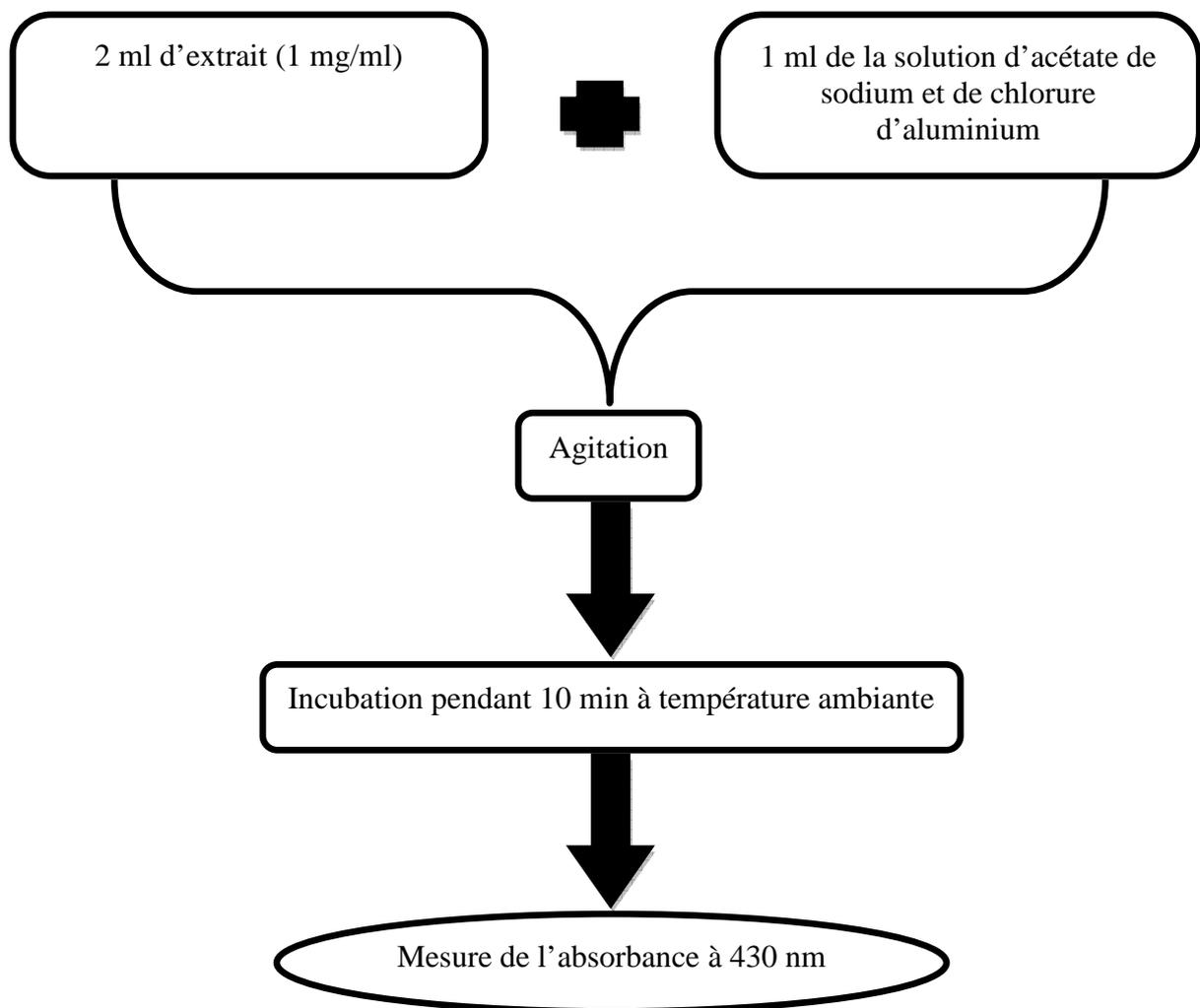


Figure 5 : Schéma montrant les étapes suivies pour le dosage des flavonoïdes (Abdou Bouba et al., 2010).

6. Capacité de piégeage de radicaux libres

Dans la partie théorique, il a été indiqué que des techniques de spectrométrie basées sur le piégeage des radicaux $ABTS^{*+}$ et $DPPH^{\bullet}$ figurent parmi les méthodes fréquemment utilisées afin d'évaluer la capacité de piégeage de radicaux libres par des antioxydants présents dans des extraits d'une plante (Sujarwo and Keim, 2019, Liu et al., 2016).

6.1 Piégeage du radical $ABTS^{*+}$

Une solution d' $ABTS^{*+}$ mère, c'est-à-dire une solution contenant le radical (cation) $ABTS^{*+}$, a été obtenue en faisant réagir du persulfate de potassium avec l' $ABTS$ et en laissant le mélange reposer pendant 16 h, à température ambiante et à l'obscurité avant utilisation (Figure 6) (Re et al., 1999). En bref, le test de piégeage du radical $ABTS^{*+}$ a été réalisé en suivant la méthode décrite par Re et al. (1999), avec quelques modifications. Une solution

d'ABTS^{•+} diluée a été obtenue en diluant la solution d'ABTS^{•+} mère jusqu'à obtention d'une absorbance de 0,70 (± 0.02) à 734 nm. Pour chaque extrait, 0,6 ml d'extrait (100 µg/ml) et 1,9 ml de la solution d'ABTS^{•+} diluée ont été mélangés. Après incubation pendant 7 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 734 nm (Figure 7). Un contrôle ou blanc général a été préparé en mélangeant 0,6 ml de méthanol avec 1,9 ml de la solution d'ABTS^{•+} diluée. En utilisant la formule ci-dessous, l'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage (%) d'inhibition du cation ABTS^{•+}.

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = ((A_{BG} - A_E) / A_{BG}) \times 100.$$

Avec : A_{BG} : absorbance du blanc général et A_E : absorbance de l'extrait.

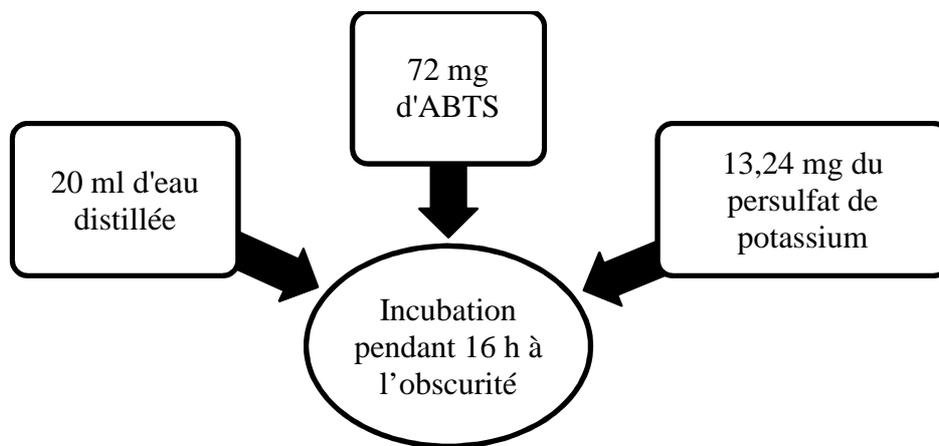


Figure 6 : Obtention d'une solution d'ABTS sous forme radicalaire (Re et al., 1999).

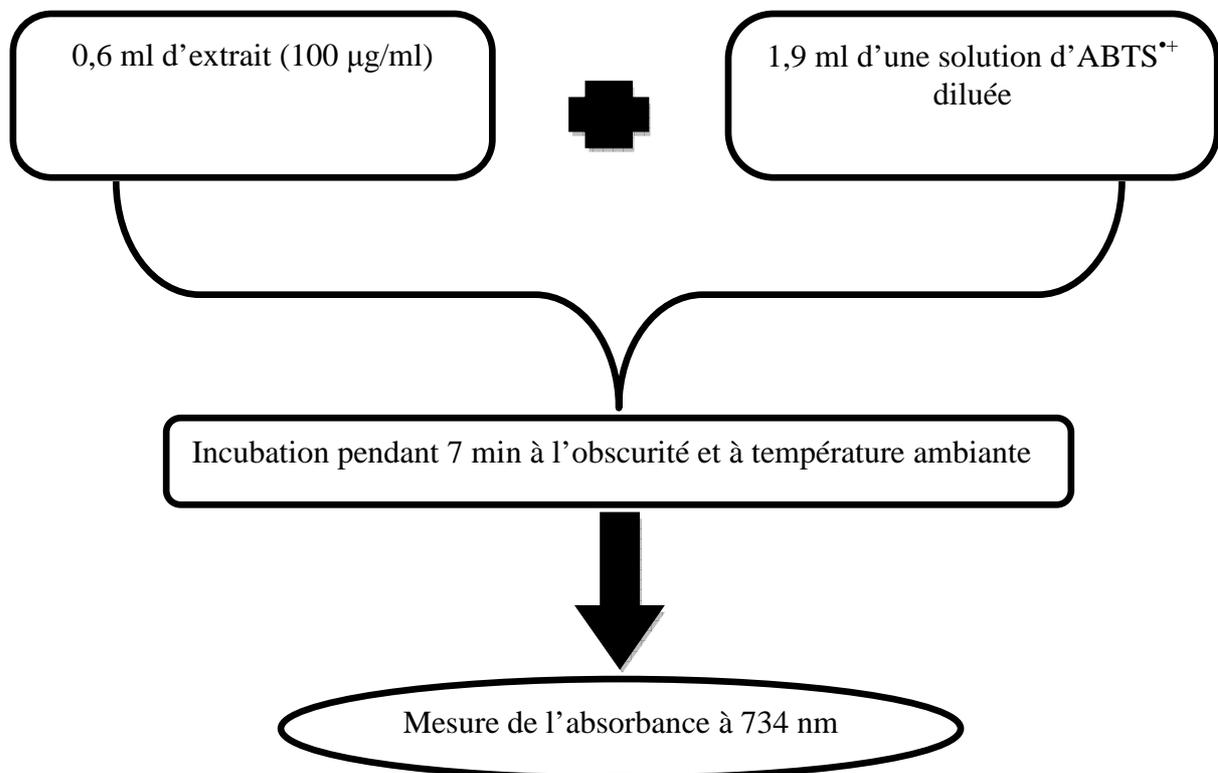


Figure 7 : Schéma montrant les étapes suivies pour tester la capacité de piégeage du radical ABTS^{•+} (Re et al., 1999).

Enfin, il est intéressant de noter que ce test mesure la perte de couleur lorsqu'un antioxydant est ajouté. En effet, la présence d'un antioxydant dans une solution d'ABTS sous forme radicalaire (qui est d'une couleur bleu-verte) entraîne la réduction du radical ABTS^{•+} en ABTS et ainsi la décoloration de la solution d'ABTS (Alam et al., 2013).

6.2 Piégeage du radical DPPH[•]

Le test de piégeage du radical DPPH[•] se base sur le fait que la présence d'un antioxydant dans une solution de DPPH sous forme radicalaire entraîne sa décoloration. Cette dernière est directement proportionnelle à l'effet antioxydant de l'extrait contenant l'antioxydant et elle permet de le mesurer en suivant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Bourkhiss et al., 2010). En d'autres termes, en tant que donneur d'hydrogène, un antioxydant réagit avec le radical DPPH[•] en le réduisant en DPPH₂ (réaction chimique 14), ce qui entraînera la décoloration de la solution de DPPH sous forme radicalaire (qui est d'une couleur violette) pour donner une couleur jaune, ainsi que la diminution de l'absorbance, c'est-à-dire que plus l'absorbance diminue, plus l'activité de piégeage du radical DPPH[•] est élevée (Hemalatha et al., 2010).



Une solution (0,1 mM) de DPPH sous forme radicalaire dans le méthanol a été préparée (Figure 8). En bref, le test de piégeage du radical DPPH[•] a été réalisé en suivant la méthode décrite par Hemalatha et al. (2010), avec quelques modifications. Pour chaque extrait, 3,0 ml d'extrait (100 µg/ml) et 1,0 ml de la solution de DPPH sous forme radicalaire ont été mélangés. Après incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm (Figure 9). Un contrôle ou blanc général a été préparé en mélangeant 3,0 ml de méthanol avec 1,0 ml de la solution de DPPH sous forme radicalaire. Enfin la formule ci-dessous permet de calculer le pourcentage (%) de l'activité de piégeage du radical DPPH[•].

$$\text{Pourcentage de l'activité de piégeage du radical DPPH}^{\bullet} = ((A_{\text{BG}} - A_{\text{E}})/A_{\text{BG}}) \times 100.$$

Avec : A_{BG} : absorbance du blanc général et A_E : absorbance de l'extrait.

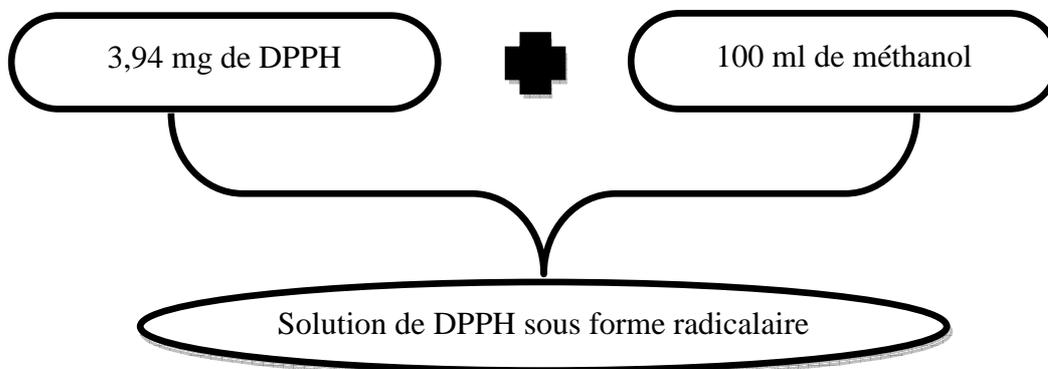


Figure 8 : Préparation d'une solution de DPPH sous forme radicalaire dans le méthanol (Hemalatha et al., 2010).

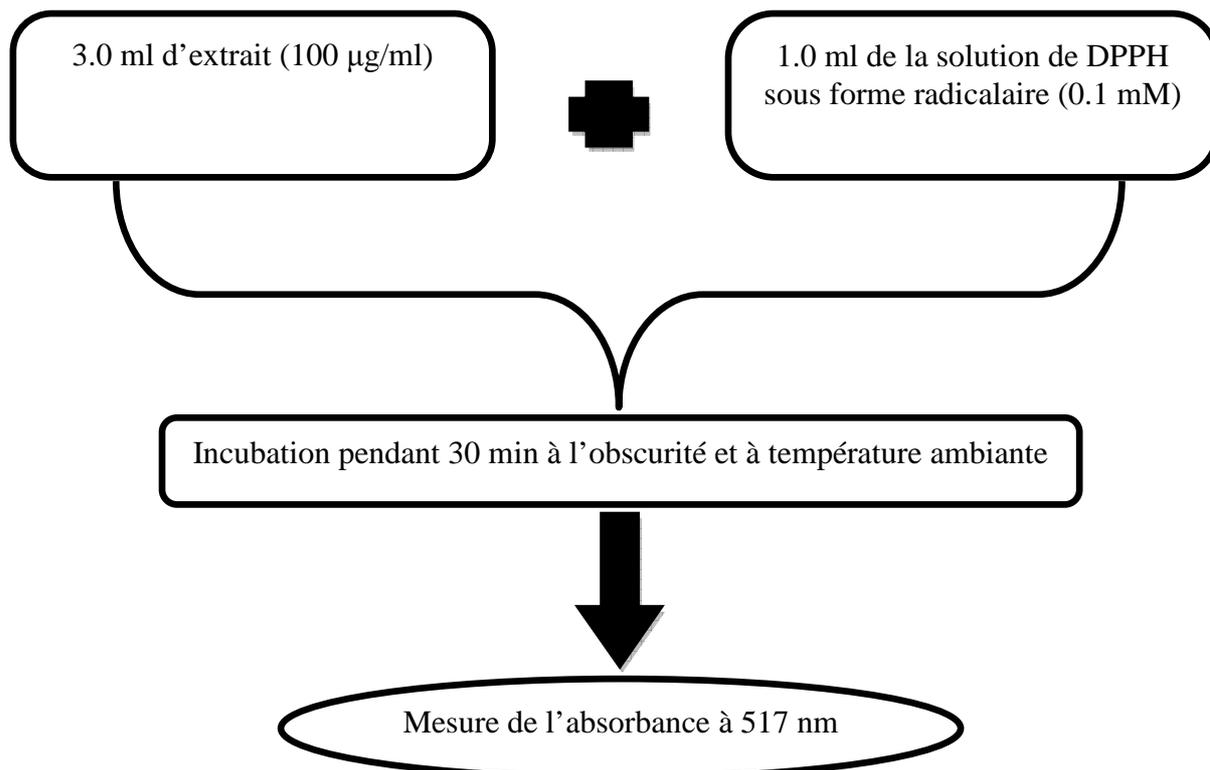


Figure 9 : Schéma montrant les étapes suivies pour tester la capacité de piégeage du radical DPPH^{*} (Hemalatha et al., 2010).

7. Analyse statistique

Pour chaque échantillon étudié, 3 mesures ont été réalisées. L'expression des résultats est sous la forme : moyenne \pm écart-type. En utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,05$.

8. Résultats et discussion

8.1 Taux d'extraction

Le Tableau ci-dessous montre les taux d'extraction calculés.

Tableau I : Taux d'extraction calculés.

Extrait	Taux d'extraction (%)
Extrait éthanolique brut d'E5	25.52
Extrait du chloroforme	11.28
Extrait aqueux 1	17.40
Extrait d'acétate d'éthyle	08.70
Extrait aqueux 2	16.30

L'extraction de composés phytochimiques actifs dépend de la polarité du solvant d'extraction utilisé, car un solvant polaire devrait extraire des molécules polaires. Tandis que, un solvant non-polaire devrait extraire des molécules non-polaires. Il peut être distingué des solvants hautement polaires (un alcool absolu, l'eau), des solvants modérément polaires (l'acétate d'éthyle) et des solvants plutôt non-polaires (le chloroforme) (Das and Chandra, 2012).

Oh et al. (2011) ont rapporté qu'en utilisant des feuilles fraîches ou transformées d'*Eriobotrya japonica*, les rendements des extraits frais d'éthanol (50 %) et d'eau étaient respectivement de 10,7 et 23,7 %. Ces résultats sont relativement compatibles avec ceux présentés dans le tableau précédent. En outre, d'après ce tableau, il peut être déduit que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques, étant donné que le taux d'extraction correspondant à l'extrait éthanolique brut d'E5 est relativement appréciable. En plus, les taux d'extraction correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme sont plus faibles que ceux correspondant aux extraits aqueux 1 et 2. Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes hydroxyles (-OH). En effet, il a été démontré que des extraits d'*Eriobotrya japonica* constituent une source de composés phénoliques polaires (Alshaker et al., 2011).

8.2 Teneur en phénols totaux

La présence de phénols totaux est révélée par l'apparition d'une couleur bleue (Figure 10). La Figure 11 montre la teneur des extraits en phénols totaux exprimée en mg équivalent acide gallique/g d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Plus précisément, la teneur en phénols totaux a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 12).

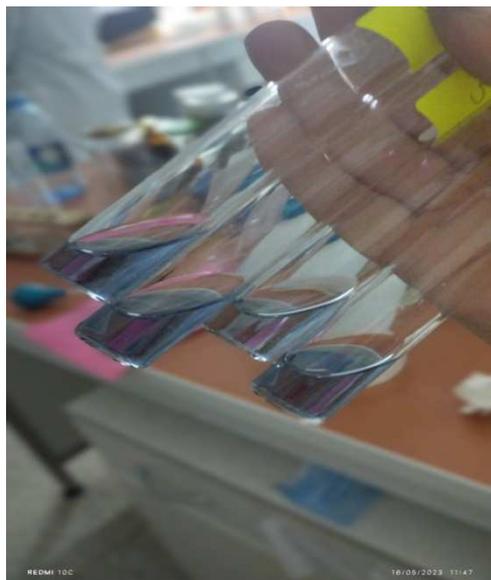


Figure 10 : Figure montrant l'apparition d'une couleur bleue qui révèle la présence de phénols totaux (photo originale).

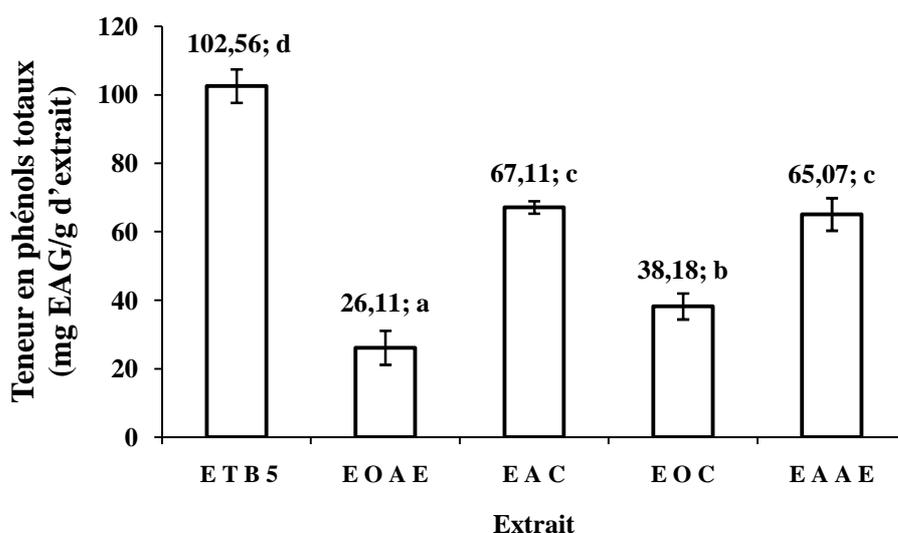


Figure 11 : Graphique montrant la variation de la teneur en phénols totaux en fonction de l'extrait des feuilles du néflier du Japon.

Avec : E T B 5 : Extrait éthanolique brut d'E5 ; E O A E : Extrait d'acétate d'éthyle ; E A C : Extrait aqueux 1 ; E O C : Extrait du chloroforme et E A A E : Extrait aqueux 2. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b, c et d indiquent des différences significatives des teneurs en phénols totaux entre les extraits.

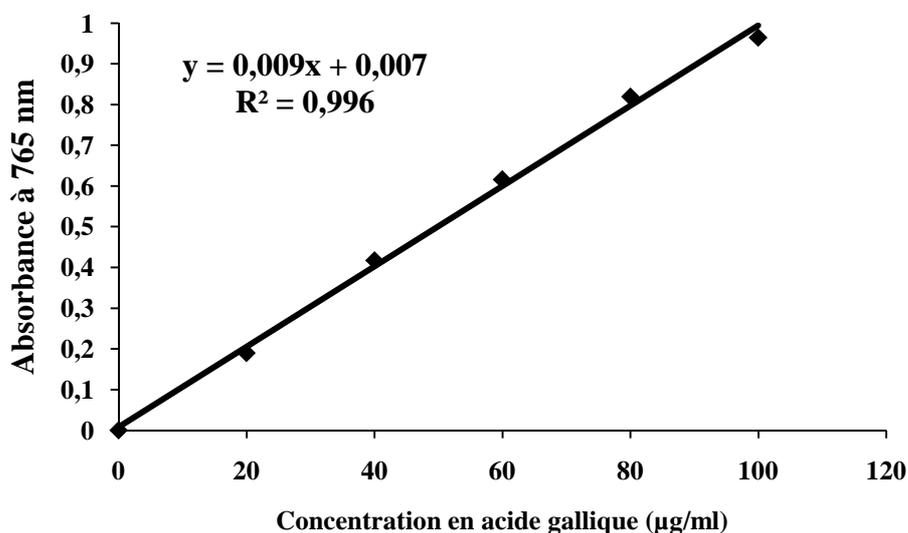


Figure 12 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le calcul de la teneur en phénols totaux.

Avec : $y = 0,009 x + 0,007$: L'équation de la courbe d'étalonnage ; y : Absorbance à 765 nm ; x : Concentration en mg EAG/g d'extrait et R : Coefficient de corrélation.

Kähkönen et al. (1999) ont rapporté que la teneur en phénols totaux varie considérablement entre les matières végétales. Plus précisément, elle varie de 0,2 à 155,3 (mg EAG/g d'extrait). Ces résultats sont compatibles avec ceux présentés dans la Figure 11. En outre, une analyse statistique indique que les teneurs en phénols totaux des extraits aqueux 2 et 1 ($65,07 \pm 4,75$ et $67,11 \pm 1,81$ mg EAG/g d'extrait, respectivement) n'ont pas présenté une différence significative. Alors que, les teneurs en phénols totaux de l'extrait éthanolique brut d'E5 ($102,56 \pm 4,89$ mg EAG/g d'extrait), de l'extrait du chloroforme ($38,18 \pm 3,78$ mg EAG/g d'extrait) et de l'extrait d'acétate d'éthyle ($26,11 \pm 4,96$ mg EAG/g d'extrait) ont présenté une différence significative. En plus, les teneurs en phénols totaux correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme sont plus faibles que celles correspondant aux extraits aqueux 1 et 2 (Figure 11). Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes hydroxyles (-OH).

8.3 Dosage des flavonoïdes

La présence de flavonoïdes est révélée par l'apparition d'une couleur jaune (Figure 13). La Figure 14 montre la teneur des extraits en flavonoïdes exprimée en mg équivalent quercétine/g d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Plus précisément, la teneur en flavonoïdes a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la quercétine comme standard (Figure 15).

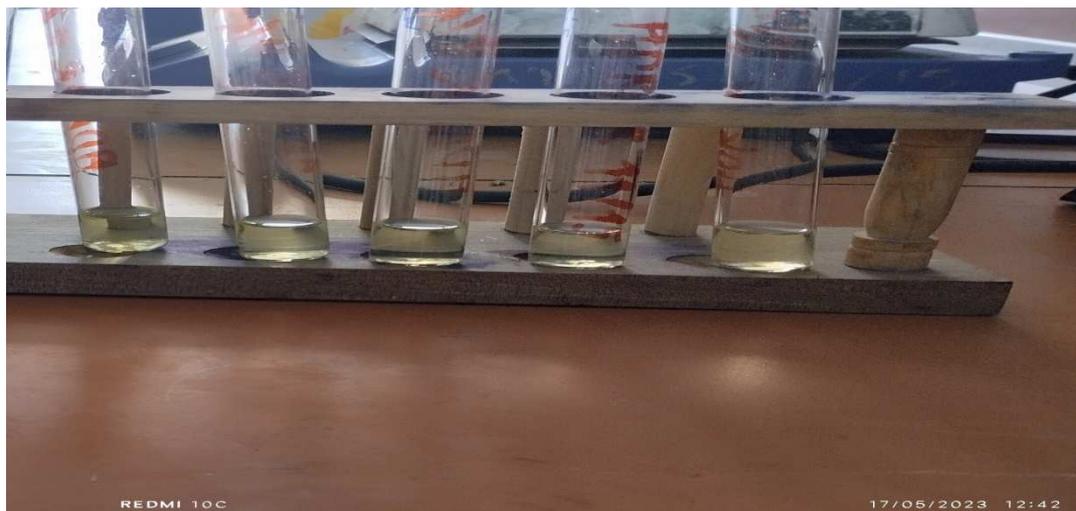


Figure 13 : Figure montrant l'apparition d'une couleur jaune qui révèle la présence de flavonoïdes (photo originale).

Certains auteurs ont rapporté que 100 g du fruit du néflier du Japon contiennent une teneur en flavonoïdes totaux de 24.3 mg (Pareek et al., 2014). Tandis que, Lee and Kim (2009) ont rapporté que la teneur en flavonoïdes totaux d'extraits de feuilles d'*Eriobotrya japonica* peut être de l'ordre de 24,85 mg/g. Ces résultats sont relativement compatibles avec ceux présentés dans la Figure 14. En outre, une analyse statistique indique que les teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux 2 et 1 ($9,60 \pm 0,82$ et $10,35 \pm 0,47$ mg EQ/g d'extrait, respectivement) n'ont pas présenté une différence significative. De même, les teneurs en flavonoïdes des extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme ($0,43 \pm 0,18$ et $1,03 \pm 0,67$ mg EQ/g d'extrait, respectivement) n'ont pas présenté une différence significative. Tandis que, les teneurs en flavonoïdes de l'extrait éthanolique brut d'E5 ($20,70 \pm 0,24$ mg EQ/g d'extrait) et des extraits du chloroforme et d'acétate d'éthyle ont présenté une différence significative. En plus, les teneurs en flavonoïdes correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme sont plus faibles que celles correspondant aux extraits aqueux 1 et 2 (Figure 14). Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques

polaires, tels que des flavonoïdes riches en groupes –OH, car les flavonoïdes présentent différents degrés d’hydroxylation (Ollila et al., 2002).

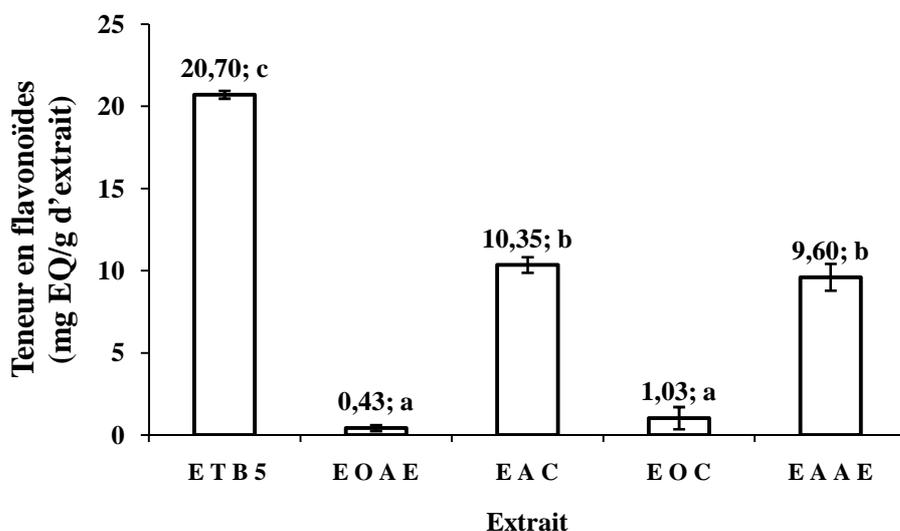


Figure 14 : Graphique montrant la variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de l’extract des feuilles du néflier du Japon.

Avec : E T B 5 : Extrait éthanolique brut d’E5 ; E O A E : Extrait d’acétate d’éthyle ; E A C : Extrait aqueux 1 ; E O C : Extrait du chloroforme et E A A E : Extrait aqueux 2. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b et c indiquent des différences significatives des teneurs en flavonoïdes entre les extraits.

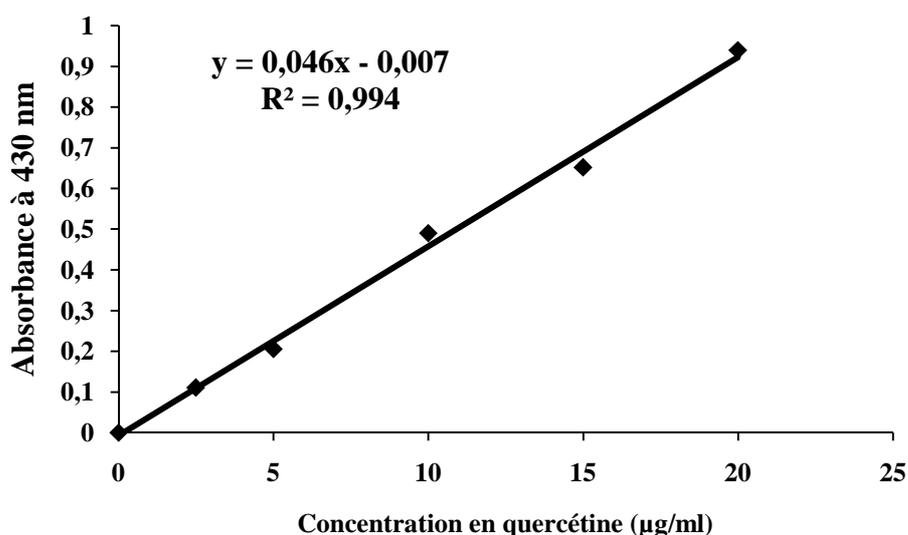


Figure 15 : Courbe d’étalonnage utilisée pour le calcul de la teneur en flavonoïdes.

Avec : $y = 0,046x - 0,007$: L’équation de la courbe d’étalonnage ; y : Absorbance à 430 nm ; x : Concentration en mg EQ/g d’extract et R : Coefficient de corrélation.

8.4 Piégeage du radical ABTS^{•+}

Le test de piégeage du cation ABTS^{•+} peut être appliqué aux antioxydants hydrophiles et lipophiles. Il est très utilisé pour évaluer l'effet antioxydant des plantes. Plus précisément, vu que l'absorption maximale de grandes longueurs d'onde à 734 nm élimine les interférences de couleur dans les extraits de plantes, il est alors préférable de l'utiliser pour des extraits de plantes (Song et al., 2010).

Une analyse statistique indique que le pourcentage d'inhibition du cation ABTS^{•+} de tous les extraits ont présenté une différence significative (Figure 16). Le pourcentage d'inhibition du cation ABTS^{•+} le plus élevé correspond l'extrait éthanolique brut d'E5 (77,85 ± 0,67 %) et il est proche de celui du standard trolox (86,56 ± 0,15 %). En d'autres termes, l'extrait éthanolique brut de feuilles séchées du néflier du Japon a montré une bonne activité de piégeage du cation ABTS^{•+}. Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes –OH. Alors que, les pourcentages d'inhibition du cation ABTS^{•+} correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme (6,31 ± 0,32 et 10,90 ± 0,62 %, respectivement) sont plus faibles que ceux correspondant aux extraits aqueux 2 et 1 (48,68 ± 0,67 et 50,20 ± 0,70 %, respectivement) (Figure 16). Par conséquent, le choix du solvant d'extraction est très important, car la polarité et le type de solvants ont un impact sur le transfert d'électrons et d'atomes d'hydrogène, qui joue un rôle clé dans la mesure de l'effet antioxydant (Jayaprakasha et al., 2008).

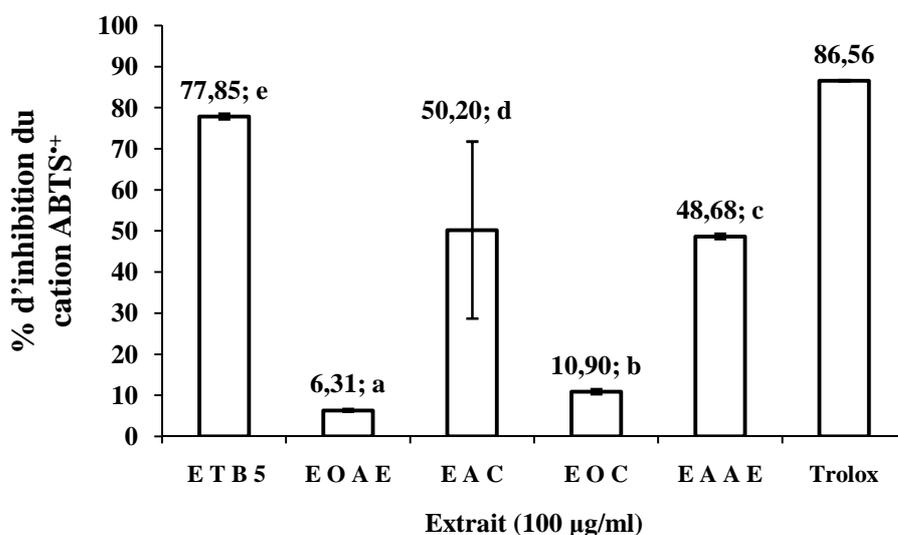


Figure 16 : Activité de piégeage du cation $ABTS^{*+}$ des extraits de feuilles séchées du néflier du Japon.

Avec : E T B 5 : Extrait éthanolique brut d'E5 ; E O A E : Extrait d'acétate d'éthyle ; E A C : Extrait aqueux 1 ; E O C : Extrait du chloroforme et E A A E : Extrait aqueux 2. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b, c, d et e indiquent des différences significatives concernant les activités de piégeage du cation $ABTS^{*+}$ des extraits.

8.5 Piégeage du radical DPPH^{*}

Certains auteurs ont rapporté que le pourcentage de l'activité de piégeage du radical DPPH^{*} d'un extrait méthanolique (0,1 mg/ml) de feuilles d'*Eriobotrya japonica* est de l'ordre de 52,45 % (Uysal et al., 2016). Ces résultats sont relativement compatibles avec ceux présentés dans la Figure 17. En outre, une analyse statistique indique que les pourcentages de l'activité de piégeage du radical DPPH^{*} de tous les extraits ont présenté une différence significative. Les pourcentages de l'activité de piégeage du radical DPPH^{*} correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme ($5,03 \pm 0,88$ et $9,48 \pm 1,05$ %, respectivement) sont plus faibles que ceux correspondant aux extraits aqueux 2 et 1 ($46,31 \pm 1,29$ et $48,49 \pm 1,02$ %, respectivement). En plus, le pourcentage de l'activité de piégeage du radical DPPH^{*} le plus élevé correspond l'extrait éthanolique brut d'E5 ($88,67 \pm 0,91$ %) et il est proche de celui du standard BHA ($96,22 \pm 0,91$ %) (Figure 17). En d'autres termes, l'extrait éthanolique brut de feuilles séchées du néflier du Japon a montré une bonne activité de piégeage du radical DPPH^{*}. Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes -OH. Effectivement, l'activité de piégeage du radical DPPH^{*} des composés phénoliques est due à leur capacité à donner des atomes d'hydrogène et elle devrait être proportionnel au nombre de groupes -OH. Autrement dit, plus le nombre de groupes -OH est grand, plus la capacité à donner des atomes d'hydrogène est élevée et plus l'activité de piégeage du radical DPPH^{*} est élevée (Chen and Ho, 1995).

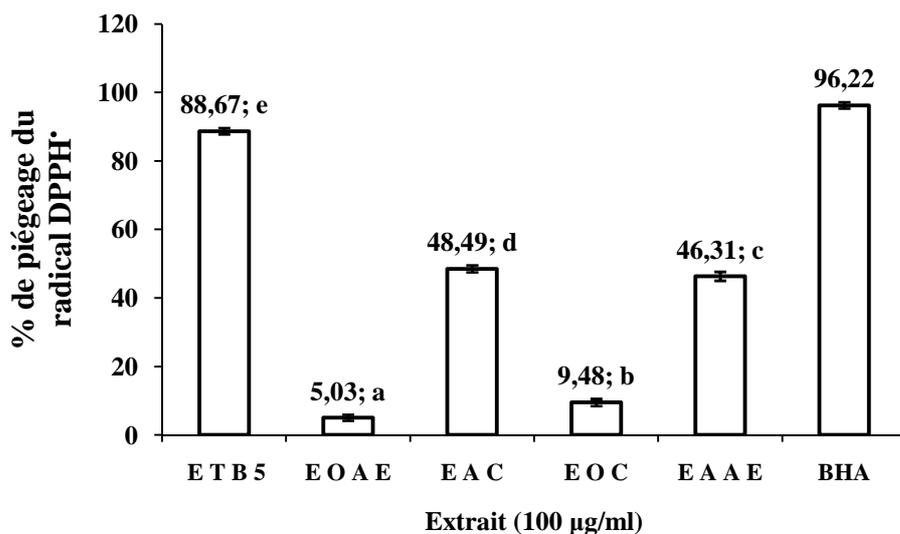


Figure 17 : Activité de piégeage du radical DPPH^{*} des extraits de feuilles séchées du néflier du Japon.

Avec : E T B 5 : Extrait éthanolique brut d'E5 ; E O A E : Extrait d'acétate d'éthyle ; E A C : Extrait aqueux 1 ; E O C : Extrait du chloroforme ; E A A E : Extrait aqueux 2 et BHA : Hydroxyanisole butylé. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b, c, d et e indiquent des différences significatives concernant les activités de piégeage du radical DPPH^{*} des extraits.

Conclusion

Conclusion

Le néflier du Japon est un exemple d'une plante médicinale comestible de la famille des Rosacées. Ses feuilles contiennent des composés phénoliques (flavonoïdes, tanins, acides phénoliques,...) qui peuvent montrer des effets pharmacologiques importants, notamment un effet antioxydant. Ce modeste travail s'est intéressé à l'extraction de composés phénoliques à partir de la poudre fine de feuilles séchées du néflier du Japon, à la détermination des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes d'extraits de ces feuilles séchées ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de ces extraits.

Il peut être déduit de ce modeste travail que c'est toujours l'extrait brut qui a donné les teneurs les plus élevées en phénols totaux et en flavonoïdes. En effet, puisque l'extrait brut représente l'extrait de départ, il devrait donc contenir tous les composés phénoliques. En outre, par rapport aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme, les extraits aqueux 1 et 2 ont donné les teneurs les plus élevées en phénols totaux et en flavonoïdes. D'où, il peut être suggéré que les feuilles du néflier du Japon sont relativement riches en composés phénoliques solubles dans des solvants hautement polaires (un alcool absolu, l'eau). En d'autres termes, il peut être suggéré que les feuilles du néflier du Japon sont relativement riches en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes hydroxyles.

Il peut également être conclu de ce modeste travail que c'est toujours l'extrait brut qui a montré l'activité antioxydante la plus élevée. Autrement dit, l'extrait brut de feuilles séchées du néflier du Japon a montré une bonne activité antioxydante. De plus, les activités antioxydantes correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme sont plus faibles que celles correspondant aux extraits aqueux 1 et 2. Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires capables de donner des électrons et des atomes d'hydrogène à des radicaux libres, ce qui permettra de les piéger et de neutraliser leurs effets négatifs responsables de l'apparition de certaines maladies. Enfin, en perspective, il peut être suggéré que des extraits de feuilles du néflier du Japon pourraient être utilisés comme ingrédient dans la production d'une crème agissant pour ralentir le processus du vieillissement cutané.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- ABDOU BOUBA, A., NJINTANG, Y. N., SCHER, J. & MBOFUNG, C. M. F. 2010. Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 213-224.
- AL-BACHIR, M. & KOUDSI, Y. 2021. Composition and quality characteristics of loquat (*Eriobotrya japonica* L.) kernel. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 27, 66-73.
- ALAM, M. N., BRISTI, N. J. & RAFIQUZZAMAN, M. 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
- ALI, M. M., ANWAR, R., SHAFIQUE, M. W., YOUSEF, A. F. & CHEN, F. 2021. Exogenous application of Mg, Zn and B influences phyto-nutritional composition of leaves and fruits of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Agronomy*, 11, 224.
- ALSHAKER, H. A., QINNA, N. A., QADAN, F., BUSTAMI, M. & MATAKKA, K. Z. 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, 9.
- ALZAND, K. I. & MOHAMED, M. A. 2012. Flavonoids: Chemistry, biochemistry and antioxidant activity. *Journal of Pharmacy Research*, 5, 4013-4020.
- ARMSTRONG, G. A. & HEARST, J. E. 1996. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *The FASEB Journal*, 10, 228-237.
- ASHOK, P. K. & UPADHYAYA, K. 2012. Tannins are astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1, 45-50.
- ATMANI, D., CHAHER, N., BERBOUCHA, M., AYOUNI, K., LOUNIS, H., BOUDAUD, H., DEBBACHE, N. & ATMANI, D. 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112, 303-309.
- BADENES, M. L., LIN, S., YANG, X., LIU, C. & HUANG, X. 2009. Chapter 25 - Loquat (*Eriobotrya* Lindl.). In: FOLTA, K. M. & GARDINER, S. E. (eds.) *Genetics and Genomics of Rosaceae, Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*. New York, NY: Springer Science+Business Media, LLC.
- BADHANI, B., SHARMA, N. & KAKKAR, R. 2015. Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances*, 5, 27540-27557.
- BEAUDEUX, J. L., PEYNET, J., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., THEROND, P., DELATTRE, J. & LEGRAND, A. 2006. Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote: Implication dans la transcription et la régulation des gènes. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64, 373-381.
- BESSADA, S. M. F., BARREIRA, J. C. M. & OLIVEIRA, M. B. P. P. 2015. Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 604-615.
- BOURKHISS, M. B., HNACH, M., PAOLINI, J., COSTA, J., FARAH, A. & SATRANI, B. 2010. Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (vahl) masters du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 79, 141-154.
- CHA, D. S., EUN, J. S. & JEON, H. 2011. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 305-312.
- CHEN, C.-W. & HO, C.-T. 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas. *Journal of Food Lipids*, 2, 35-46.

- CHEN, J. & LI, W.-L. 2008. Progress in studies on phytochemistry and biological activity of folium *Eriobotryae*. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 2, 18-23.
- CHEN, J., LI, W. L., WU, J. L., REN, B. R. & ZHANG, H. Q. 2008. Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). *Phytomedicine*, 15, 98-102.
- CHEYNIER, V. 2012. Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11, 153-177.
- CORPAS, F. J. 2016. Reactive nitrogen species (RNS) in plants under physiological and adverse environmental conditions: Current view. In: CÁNOVAS, F. M., LÜTTGE, U. & MATYSSEK, R. (eds.) *Progress in Botany*. Switzerland: Springer International Publishing.
- COSTA, T. J., BARROS, P. R., ARCE, C., SANTOS, J. D., DA SILVA-NETO, J., EGEE, G., DANTAS, A. P., TOSTES, R. C. & JIMÉNEZ-ALTAYÓ, F. 2021. The homeostatic role of hydrogen peroxide, superoxide anion and nitric oxide in the vasculature. *Free Radical Biology and Medicine*, 162, 615-635.
- DAS, D. & CHANDRA, G. 2012. Mosquito larvicidal activity of *Rauwolfia serpentina* L. seeds against *Culex quinquefasciatus* Say. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5, 42-45.
- DE LA ROSA, L. A., MORENO-ESCAMILLA, J. O., RODRIGO-GARCÍA, J. & ALVAREZ-PARRILLA, E. 2019. Chapter 12 - Phenolic Compounds. In: YAHIA, E. M. (ed.) *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Woodhead Publishing, Elsevier Inc.
- DELFIANIAN, M., ESMAEILZADEH KENARI, R. & SAHARI, M. A. 2015. Antioxidative effect of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit skin extract in soybean oil. *Food Science & Nutrition*, 3, 74-80.
- DOSHI, S. B., KHULLAR, K., SHARMA, R. K. & AGARWAL, A. 2012. Role of reactive nitrogen species in male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10, 109.
- DURAND, D., DAMON, M. & GOBERT, M. 2013. Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48, 218-224.
- EL-DENGAWY, E.-R. F. A. 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loquat (*Eriobotrya japonica*, Lindl) by moist-chilling and GA₃ applications. *Scientia Horticulturae*, 105, 331-342.
- ERCISLI, S., GOZLEKCI, S., SENGUL, M., HEGEDUS, A. & TEPE, S. 2012. Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant capacity of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) fruits from Turkey. *Scientia Horticulturae*, 148, 185-189.
- FAVIER, A. 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, N°270, 108-115.
- FU, Y., YUAN, Q., LIN, S., LIU, W., DU, G., ZHAO, L., ZHANG, Q., LIN, D.-R., LIU, Y.-T., QIN, W., LI, D.-Q. & WU, D.-T. 2019. Physicochemical characteristics and biological activities of polysaccharides from the leaves of different loquat (*Eriobotrya japonica*) cultivars. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 274-281.
- GHOLIVAND, M. B., RAHIMI-NASRABADI, M., BATOOLI, H. & EBRAHIMABADI, A. H. 2010. Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Psammogeton canescens*. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 24-28.

- GRIFFITHS, H. R. & LUNEC, J. 2001. Ascorbic acid in the 21st century – More than a simple antioxidant. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 173-182.
- GUICHARDANT, M., BACOT, S., MOLIÈRE, P. & LAGARDE, M. 2006. Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *OCL-Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 13, 31-34.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 18, 125-126.
- HAO, Z., ZHENG, Q., JIN, L., ZHOU, S., CHEN, H., LIU, X. & LU, C. 2021. Rapid measurement of total polyphenol content in tea by kinetic matching approach on microfluidic paper-based analytical devices. *Food Chemistry*, 342, 128368.
- HEMALATHA, S., LALITHA, P. & ARULPRIYA, P. 2010. Antioxidant activities of the extracts of the aerial roots of *Pothos aurea* (Linden ex Andre). *Der Pharma Chemica*, 2, 84-89.
- HISMATH, I., WAN AIDA, W. M. & HO, C. W. 2011. Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves. *International Food Research Journal*, 18, 931-939.
- HONG, Y., QIAO, Y., LIN, S., JIANG, Y. & CHEN, F. 2008. Characterization of antioxidant compounds in *Eriobotrya fragrans* Champ leaf. *Scientia Horticulturae*, 118, 288-292.
- HUET, O. & DURANTEAU, J. 2008. Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres. *Réanimation*, 17, 387-392.
- IGHODARO, O. M. & AKINLOYE, O. A. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 287-293.
- ITO, H., KOBAYASHI, E., TAKAMATSU, Y., LI, S.-H., HATANO, T., SAKAGAMI, H., KUSAMA, K., SATOH, K., SUGITA, D., SHIMURA, S., ITOH, Y. & YOSHIDA, T. 2000. Polyphenols from *Eriobotrya japonica* and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48, 687-693.
- JASWAL, V., PALANIVELU, J. & C, R. 2018. Effects of the Gut microbiota on amygdalin and its use as an anti-cancer therapy: Substantial review on the key components involved in altering dose efficacy and toxicity. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 14, 125-132.
- JAYAPRAKASHA, G. K., GIRENNAVAR, B. & PATIL, B. S. 2008. Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 376-384.
- JING, D., LIU, X., HE, Q., DANG, J., HU, R., XIA, Y., WU, D., WANG, S., ZHANG, Y., XIA, Q., ZHANG, C., YU, Y., GUO, Q. & LIANG, G. 2023. Genome assembly of wild loquat (*Eriobotrya japonica*) and resequencing provide new insights into the genomic evolution and fruit domestication in loquat. *Horticulture Research*, 10, uhac265.
- KÄHKÖNEN, M. P., HOPIA, A. I., VUORELA, H. J., RAUHA, J.-P., PIHLAJA, K., KUJALA, T. S. & HEINONEN, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- KAMDEM, J. P., OLALEKAN, E. O., HASSAN, W., KADE, I. J., YETUNDE, O., BOLIGON, A. A., ATHAYDE, M. L., SOUZA, D. O. & ROCHA, J. B. T. 2013. *Trichilia catigua* (Catuaba) bark extract exerts neuroprotection against oxidative stress induced by different neurotoxic agents in rat hippocampal slices. *Industrial Crops and Products*, 50, 625-632.

- KARAK, P. 2019. Biological activities of flavonoids: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10, 1567-1574.
- KHOUYA, T., RAMCHOUN, M., ELBOUNY, H., HMIDANI, A., BOUHLALI, E. D. T. & ALEM, C. 2022. Loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl.): Evaluation of nutritional value, polyphenol composition, antidiabetic effect, and toxicity of leaf aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 296, 115473.
- KIKUCHI, S., IWASUNA, M., KOBORI, A., TSUTAKI, Y., YOSHIDA, A., MUROTA, Y., NISHINO, E., SASSA, H. & KOBAYASHI, T. 2014. Seed formation in triploid loquat (*Eriobotrya japonica*) through cross-hybridization with pollen of diploid cultivars. *Breeding Science*, 64, 176-182.
- KIM, T.-M., PAUDEL, K. R. & KIM, D.-W. 2020. *Eriobotrya japonica* leaf extract attenuates airway inflammation in ovalbumin-induced mice model of asthma. *Journal of Ethnopharmacology*, 253, 112082.
- KIRKMAN, H. N. & GAETANI, G. F. 1984. Catalase: A tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81, 4343-4347.
- KOECHLIN-RAMONATXO, C. 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, 165-177.
- KUMAR, N. & GOEL, N. 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- KUMAR, S. & PANDEY, A. K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
- KY, I., LE FLOCH, A., ZENG, L., PECHAMAT, L., JOURDES, M. & TEISSEDER, P.-L. 2016. Tannins. In: CABALLERO, B., FINGLAS, P. M. & TOLDRÁ, F. (eds.) *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Academic Press.
- LANDOULSI, A., ROUMY, V., RIVIÈRE, C., SAHPAZ, S., BENHAMIDA, J. & HENNEBELLE, T. 2018. Composition chimique et activités pharmacologiques des espèces tunisiennes du genre *Eryngium* L. (Apiaceae). *ISTE OpenScience, Phytochimie*, 1, 1-23.
- LEE, K.-I. & KIM, S.-M. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 38, 267-273.
- LI, F., LI, Y., LI, Q., SHI, X. & GUO, Y. 2017. Acute and subacute oral toxicity evaluation of *Eriobotrya japonica* leaf triterpene acids in ICR mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 4837839.
- LIU, Y., ZHANG, W., XU, C. & LI, X. 2016. Biological activities of extracts from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1983.
- MAAMAR SAMEUT, Y., BELHACINI, F. & BOUNACEUR, F. 2020. Étude ethnobotanique dans le sud-est de Chlef (Algérie occidentale). *Revue Agrobiologia*, 10, 2044-2061.
- MACÁKOVÁ, K., KOLEČKÁŘ, V., CAHLÍKOVÁ, L., CHLEBEK, J., HOŠŤÁLKOVÁ, A., KUČA, K., JUN, D. & OPLETAL, L. 2014. Chapter 6 - Tannins and their Influence on Health. In: ATTA-UR-RAHMAN, A. U., RAHMAN, CHOUDHARY, M. I. & PERRY, G. (eds.) *Recent Advances in Medicinal Chemistry*. Bentham Science Publishers Ltd., Elsevier Inc.
- MAHER, K., YASSINE, B. A. & SOFIANE, B. 2015. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Eriobotrya japonica* leaves extracts. *African Health Sciences*, 15, 613-620.

- MARGIS, R., DUNAND, C., TEIXEIRA, F. K. & MARGIS-PINHEIRO, M. 2008. Glutathione peroxidase family – An evolutionary overview. *The FEBS Journal*, 275, 3959-3970.
- MARTIN, S. & ANDRIANTSITOHAINA, R. 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51, 304-315.
- MINAKATA, D., LI, K., WESTERHOFF, P. & CRITTENDEN, J. 2009. Development of a group contribution method to predict aqueous phase hydroxyl radical (HO[•]) reaction rate constants. *Environmental Science & Technology*, 43, 6220-6227.
- MOHD MUTALIP, S. S., AB-RAHIM, S. & RAJIKIN, M. H. 2018. Vitamin E as an antioxidant in female reproductive health. *Antioxidants*, 7, 22.
- MONAGAS, M., URPI-SARDA, M., SÁNCHEZ-PATÁN, F., LLORACH, R., GARRIDO, I., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., ANDRES-LACUEVA, C. & BARTOLOMÉ, B. 2010. Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food & Function*, 1, 233–253.
- OH, J., MIN, O.-J., KIM, H.-A., KIM, Y. J., BAEK, H. Y. & RHYU, D. Y. 2011. Effect of *Eriobotrya japonica* on adipogenesis and body weight. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54, 382-387.
- OLLILA, F., HALLING, K., VUORELA, P., VUORELA, H. & SLOTTE, J. P. 2002. Characterization of flavonoid–biomembrane interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 399, 103-108.
- PALOZZA, P. 1998. Prooxidant actions of carotenoids in biologic systems. *Nutrition Reviews*, 56, 257-265.
- PAREEK, S., BENKEBLIA, N., JANICK, J., CAO, S. & YAHIA, E. M. 2014. Postharvest physiology and technology of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1495-1504.
- PEREA-MORENO, M.-A., MANZANO-AGUGLIARO, F., HERNANDEZ-ESCOBEDO, Q. & PEREA-MORENO, A.-J. 2020. Sustainable thermal energy generation at universities by using loquat seeds as biofuel. *Sustainability*, 12, 2093.
- PHAM-HUY, L. A., HE, H. & PHAM-HUY, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4, 89-96.
- PHANIENDRA, A., JESTADI, D. B. & PERIYASAMY, L. 2015. Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11-26.
- PIETTA, P.-G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
- RADI, R., BECKMAN, J. S., BUSH, K. M. & FREEMAN, B. A. 1991. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 288, 481-487.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. & RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- RIVALS, P. & ASSAF, R. 1977. Modalités de croissance et systèmes de reproduction du néflier du Japon (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Fruits*, 32, 105-115.
- ROBBINS, R. J. 2003. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2866-2887.
- SANTOS-BUELGA, C. & SCALBERT, A. 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – Nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1094-1117.

- SEN, S., CHAKRABORTY, R., SRIDHAR, C., REDDY, Y. S. R. & DE, B. 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3, 91-100.
- SHAHI-GHARAHLAR, A., YAVARI, A. R. & KHANALI, M. 2009. Mass and volume modeling of loquat (*Eriobotrya japonica* Lind L.) fruit based on physical characteristics. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17, 175-189.
- SONG, F.-L., GAN, R.-Y., ZHANG, Y., XIAO, Q., KUANG, L. & LI, H.-B. 2010. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2362-2372.
- SOUNDARARAJAN, P., WON, S. Y. & KIM, J. S. 2019. Insight on Rosaceae family with genome sequencing and functional genomics perspective. *BioMed Research International*, 2019, 7519687.
- SUJARWO, W. & KEIM, A. P. 2019. Chapter 27 - *Spondias pinnata* (L. f.) Kurz. (Anacardiaceae): Profiles and Applications to Diabetes. In: WATSON, R. R. & PREEDY, V. R. (eds.) *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes (Second Edition)*. Academic Press, Elsevier Inc.
- SULTAN, M. Z. 2018. Chapter 55 - Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). In: YAHIA, E. M. (ed.) *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*. Second ed.: John Wiley & Sons Ltd.
- SUNIL, C., IRUDAYARAJ, S. S., DURAI PANDIYAN, V., AL-DHABI, N. A., AGASTIAN, P. & IGNACIMUTHU, S. 2014. Antioxidant and free radical scavenging effects of β -amyrin isolated from *S. cochinchinensis* Moore. leaves. *Industrial Crops and Products*, 61, 510-516.
- TAN, H., FURUTA, S., NAGATA, T., OHNUKI, K., AKASAKA, T., SHIROUCHI, B., SATO, M., KONDO, R. & SHIMIZU, K. 2014. Inhibitory effects of the leaves of loquat (*Eriobotrya japonica*) on bone mineral density loss in ovariectomized mice and osteoclast differentiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 836-841.
- TAN, H., SONAM, T. & SHIMIZU, K. 2017. The potential of triterpenoids from loquat leaves (*Eriobotrya japonica*) for prevention and treatment of skin disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1030.
- TANIGUCHI, S., IMAYOSHI, Y., KOBAYASHI, E., TAKAMATSU, Y., ITO, H., HATANO, T., SAKAGAMI, H., TOKUDA, H., NISHINO, H., SUGITA, D., SHIMURA, S. & YOSHIDA, T. 2002. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli. *Phytochemistry*, 59, 315-323.
- TEIXEIRA, J., GASPAR, A., GARRIDO, E. M., GARRIDO, J. & BORGES, F. 2013. Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview. *BioMed Research International*, 2013, 251754.
- TIWARI, S. C. & HUSAIN, N. 2017. Biological activities and role of flavonoids in human health – A review. *Indian Journal of Scientific Research*, 12, 193-196.
- TVRDÁ, E. & BENKO, F. 2020. I. Oxidative Stress and Pathology. Chapter 1 - Free radicals: What they are and what they do. In: PREEDY, V. R. (ed.) *Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. 1st ed.: Academic Press, Elsevier Inc.
- UDAYAPRAKASH, N. K., RANJITHKUMAR, M., DEEPA, S., SRIPRIYA, N., AL-ARFAJ, A. A. & BHUVANESWARI, S. 2015. Antioxidant, free radical scavenging and GC-MS composition of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Blume. *Industrial Crops and Products*, 69, 175-179.
- UTO, T., SAKAMOTO, A., TUNG, N. H., FUJIKI, T., KISHIHARA, K., OISO, S., KARIYAZONO, H., MORINAGA, O. & SHOYAMA, Y. 2013. Anti-proliferative activities and apoptosis induction by triterpenes derived from *Eriobotrya japonica* in

- human leukemia cell lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 4106-4120.
- UYSAL, S., ZENGIN, G., AKTUMSEK, A. & KARATAS, S. 2016. Chemical and biological approaches on nine fruit tree leaves collected from the Mediterranean region of Turkey. *Journal of Functional Foods*, 22, 518-532.
- VEDEKOI, J. & SELESTIN, S. D. 2021. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Sesbania pachycarpa* (Fabaceae) leaves' extract. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, 9, 49-56.
- VERMA, P. & MISHRA, S. 2014. Antioxidants and disease prevention. *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, 2, 903-911.
- VISSERS, M. C. M., CARR, A. C., PULLAR, J. M. & BOZONET, S. M. 2013. Chapter Seven - The Bioavailability of Vitamin C from Kiwifruit. In: BOLAND, M. & MOUGHAN, P. J. (eds.) *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press.
- WALALI LOUDYI, D. & SKIREDJ, A. 2003. Le cognassier, le néflier, le fraisier, le pêcher et le figuier de barbarie. *Bulletin mensuel de liaison et d'information du PNTTA. Transfert de technologie en agriculture. Ministère de l'Agriculture du Développement Rural, Royaume du Maroc*, 110, 1-4.
- WANI, T. A., ALSAIF, N. A., ALANAZI, M. M., BAKHEIT, A. H., KHAN, A. A. & ZARGAR, S. 2021. Binding of colchicine and ascorbic acid (vitamin C) to bovine serum albumin: An *in-vitro* interaction study using multispectroscopic, molecular docking and molecular dynamics simulation study. *Journal of Molecular Liquids*, 342, 117542.
- WEN, A., DELAQUIS, P., STANICH, K. & TOIVONEN, P. 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiology*, 20, 305-311.
- WIENCKE, J. K. 2002. DNA adduct burden and tobacco carcinogenesis. *Oncogene*, 21, 7376-7391.
- 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, 238-240.
- YIN, L.-F., ZHANG, S.-Q., DU, J., WANG, X.-Y., XU, W.-X. & LUO, C.-X. 2021. *Monilinia fructicola* on loquat: An old pathogen invading a new host. *Journal of Integrative Agriculture*, 20, 2009-2014.
- YOUNG, A. J. & LOWE, G. L. 2018. Carotenoids—Antioxidant properties. *Antioxidants*, 7, 28.
- ZHANG, Y., CAI, P., CHENG, G. & ZHANG, Y. 2022. A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. *Natural Product Communications*, 17, 1–14.

Résumé : Ce modeste travail s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles séchées d'*Eriobotrya japonica* ou néflier du Japon qui est une plante médicinale comestible de la famille des Rosacées et une source naturelle d'antioxydants qui jouent un rôle important dans l'élimination de radicaux libres partiellement responsables de l'apparition de certaines maladies. Les teneurs en phénols totaux correspondant à l'extrait éthanolique brut, à l'extrait du chloroforme, à l'extrait d'acétate d'éthyle et aux extraits aqueux 2 et 1 ont été $102,56 \pm 4,89$; $38,18 \pm 3,78$; $26,11 \pm 4,96$; $65,07 \pm 4,75$ et $67,11 \pm 1,81$ mg EAG/g d'extrait, respectivement. Les teneurs en flavonoïdes correspondant aux extraits aqueux 2 et 1, aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme et à l'extrait éthanolique brut ont été $9,60 \pm 0,82$; $10,35 \pm 0,47$; $0,43 \pm 0,18$; $1,03 \pm 0,67$ et $20,70 \pm 0,24$ mg EQ/g d'extrait, respectivement. Les pourcentages d'inhibition du cation ABTS^{•+} correspondant à l'extrait éthanolique brut, aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme et aux extraits aqueux 2 et 1 ont été $77,85 \pm 0,67$; $6,31 \pm 0,32$; $10,90 \pm 0,62$; $48,68 \pm 0,67$ et $50,20 \pm 0,70$ %, respectivement. Enfin, les pourcentages de l'activité de piégeage du radical DPPH[•] correspondant aux extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme, aux extraits aqueux 2 et 1 et à l'extrait éthanolique brut ont été $5,03 \pm 0,88$; $9,48 \pm 1,05$; $46,31 \pm 1,29$; $48,49 \pm 1,02$ et $88,67 \pm 0,91$ %, respectivement.

Mots clés : Néflier du Japon, extrait éthanolique brut, extrait du chloroforme, extrait d'acétate d'éthyle, extrait aqueux, activité antioxydante

Abstract: This work was interested on the assessment of the antioxidant activity of *Eriobotrya japonica* (loquat) dried leaves extracts. Loquat is an edible medicinal plant of the Rosaceae family and a natural source of antioxidants that play an important role in the elimination of free radicals partially responsible for the appearance of certain diseases. The total phenols contents corresponding to the crude ethanolic extract, chloroform extract, ethyl acetate extract, and to the aqueous extracts 2 and 1 have been $102,56 \pm 4,89$; $38,18 \pm 3,78$; $26,11 \pm 4,96$; $65,07 \pm 4,75$; and $67,11 \pm 1,81$ mg EAG/g of extract, respectively. The flavonoids contents corresponding to the aqueous extracts 2 and 1, ethyl acetate extract, chloroform extract, and to the crude ethanolic extract have been $9,60 \pm 0,82$; $10,35 \pm 0,47$; $0,43 \pm 0,18$; $1,03 \pm 0,67$; and $20,70 \pm 0,24$ mg EQ/g of extract, respectively. The percentages of inhibition of ABTS^{•+} radical corresponding to the crude ethanolic extract, ethyl acetate extract, chloroform extract, and to the aqueous extracts 2 and 1 have been $77,85 \pm 0,67$; $6,31 \pm 0,32$; $10,90 \pm 0,62$; $48,68 \pm 0,67$; and $50,20 \pm 0,70$ %, respectively. Lastly, the percentages of DPPH[•] radical scavenging activity corresponding to the ethyl acetate extract, chloroform

extract, aqueous extracts 2 and 1, and to the crude ethanolic extract have been $5,03 \pm 0,88$; $9,48 \pm 1,05$; $46,31 \pm 1,29$; $48,49 \pm 1,02$; and $88,67 \pm 0,91$ %, respectively.

Keywords: Loquat, crude ethanolic extract, chloroform extract, ethyl acetate extract, aqueous extract, antioxidant activity

ملخص: هنا العمل يهتم بتقييم النشاط المضادة للأكسدة لمستخلص أوراق نبتة طبية تعتبر مصدر لجزيئات مضادة للأكسدة لها دور هام في تثبيط نشاط جنور حرة مسؤولة على ظهور بعض الأمراض. يمكن أن نستنتج من هذا العمل أن الإيثانول مذيب يسمح بإستخلاص مردود جيد نسبيا من الفلا فونويدات و الفينولات الكلية. هذا المذيب يمكن من الحصول على مستخلص خام ذو نشاط مضاد للأكسدة جيد نسبيا. و في الأخير يمكن الافتراض بأن أوراق هذه النبتة الطبية تحتوي على مركبات غنية بمجموعات الهيدروكسيل.

كلمات مفتاحيه: نبتة طبية، مستخلص خام، نشاط مضاد للأكسدة