

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

*Évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits d'une plante
de la région de Laghouat*

Présenté par :

- MESSAOUDENE Aïcha
- GOUCHIDA Abdellah

Soutenu le 21/06/2023

Devant le jury composé de:

KOUADRI Youcef

MCB

Président

BELHADJ TAHAR Samira

Docteur

Examinatrice

NIA Samira

MCA

Encadrante

Année universitaire 2022-2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nous remercions Dieu le Tout Puissant de nous avoir accordé la santé, la volonté et le pouvoir d'entamer et d'achever ce travail.

Et qui ne remercie pas les gens ne remercie pas le bon Dieu

Nous tenon à exprimer notre gratitude envers

Mme Nia Samira et Mme Benguechoua Madjda

Pour leurs précieux conseils et leur suivi attentif et enrichissant.

*Nos remerciements vont également aux membres du jury **Mr Kouadri Youcef et Mme Belhadj tahar Samira** pour avoir accepté de juger notre modeste travail.*

Finalement, nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail, messieurs et mesdames enseignants qui ont veillé à notre formation, à nos collègues avec qui nous avons fait notre cursus universitaire.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma chère mère Fraiha

Mon cher père Molay Tayeb

*Qui ont été derrières moi depuis le premier jour de ma naissance,
qu'ils étaient et ils le sont toujours des lumières dans les nuits
obscurées par leurs prières sincères et protectrices. Ils étaient et ils
sont toujours un socle sur lequel on s'appuie. Je leur dit sans votre
présence, je ne pouvais jamais atteindre ce beau jour, je ne peux
jamais fêter ce jour et je ne pourrai jamais trouver plus chers que
vous.*

mes chers frères Tamah , Mohamad Tahar et ma chère sœur Hafidha

Mon mari Yahiaoui Tahar

*Qui m'a aidé avec ses conseils, son soutien moral qui a adouci les
nuits blanches et l'effort pénible.*

Mes amies chacune avec son nom

Pour leurs aides et supports dans les moments atroces.

Aicha

Résumé

L'étude menée portait sur l'activité antioxydante de la plante *Elaeagnus angustifolia*. Elle a débuté par l'extraction des composés phénoliques en utilisant deux solvants : le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle. L'extrait de dichlorométhane a présenté le rendement le plus élevé (4,056%) par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle (2,1%). Ces composés ont été quantifiés à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu par la méthode spectrophotométrique UV-visible, qui a également été utilisée pour quantifier les flavonoïdes à l'aide du trichlorure d'aluminium et les tanins par la vanilline. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle est riche en phénols totaux par rapport à l'extrait de dichlorométhane tandis que l'extrait de dichlorométhane est le plus riche en flavonoïdes et en tanins. L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a révélé que les extraits étudiés présentaient des propriétés antioxydantes remarquables, en particulier l'extrait dichlorométhane de la plante *Elaeagnus angustifolia*.

Mots-clés : *Elaeagnus angustifolia*, polyphénols, flavonoïdes, tanins, activité anti-oxydante, test DPPH

Abstract:

The study conducted focused on the antioxidant activity of the plant *Elaeagnus angustifolia*. It began with the extraction of phenolic compounds using two solvents: dichloromethane and ethyl acetate. The dichloromethane extract showed the highest yield (4.056%) compared to the ethyl acetate extract (2.1%). These compounds were quantified using the Folin-Ciocalteu reagent by the UV-visible spectrophotometric method, which was also used to quantify the flavonoids using aluminum trichloride and the tannins using vanillin. The results shown that ethyl acetate extract is rich in total phenols compared to dichloromethane extract while dichloromethane extract is the richest in flavonoids and tannins. Assessment of antioxidant activity by the DPPH test revealed that the studied extracts showed remarkable antioxidant properties, in particular the dichloromethane extract of the plant *Elaeagnus angustifolia*.

Keywords: *Elaeagnus angustifolia*, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity, DPPH test.

ملخص:

ركزت الدراسة على النشاط المضاد للأكسدة لنبات أوراق نبتة الزيتون الروسي (خلاف ضيق الأوراق). بدأت باستخلاص المركبات الفينولية باستخدام مذيبين: ثنائي كلورو ميثان و خلاص الإيثيل. أظهر مستخلص ثنائي كلورو ميثان أعلى مردود (4.056%) مقارنة بمستخلص أسيتات الإيثيل (2.1%). تم قياس كمية هذه المركبات باستخدام كاشف فولين-سيوكالتو بطريقة القياس الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية ، والتي تم استخدامها أيضًا لتحديد كمية مركبات الفلافونويد باستخدام ثلاثي كلوريد الألومنيوم والعفص باستخدام الفانيلين. اظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل غني بالفينولات الكلية مقارنة بمستخلص ثنائي كلورو ميثان بينما يعتبر مستخلص ثنائي كلورو ميثان هو الأغنى بمركبات الفلافونويد والعفص ، وقد أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة اختبار DPPH أن المستخلصات المدروسة أظهرت خصائص مضادة للأكسدة ملحوظة ، لا سيما مستخلص ثنائي كلورو ميثان من نبات خلاف ضيق الأوراق.

الكلمات المفتاحية: الزيتون الروسي (خلاف ضيق الأوراق)، الفينولات، الفلافونويدات، العفص، النشاط المضاد للأكسدة، اختبار DPPH

Liste des Figures

Figure01: Fruits et feuilles de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i>	5
Figure 02 : structure de l'acide hydro cinnamiquus.....	10
Figure 03 : structure de l'acide benzoïque.....	10
Figure 04 : structure de lignames.....	11
Figure 05 : structure de coumarines.....	11
Figure 06 : structure des stilbènes.....	12
Figure 07 : squelette de base des flavonoïdes.....	12
Figure 08 : structure des différentes classe de flavonoïdes.....	13
Figure 09 : structure de tannins hydrolysables.....	14
Figure 10 : structure de tannins condensés.....	15
Figure 11 : schéma montrant le stress-oxydant.....	15
Figure 12 : représentation schématique des étapes d'extraction des composés phénolique.....	22
Figure 13 : Protocol de dosage de polyphénols.....	23
Figure 14 : Protocol de dosage des flavonoïdes.....	24
Figure15 : Protocol de dosage des tanins.....	24
Figure 16 : la réduction du radical libre DPPH.....	25
Figure 17 : Protocol du DPPH.....	26
Figure 18 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	29
Figure 19 : courbe d'étalonnage de la quercétine.....	30
Figure 20 : courbe d'étalonnage de la catéchine.....	31
Figure 21 : courbe du pourcentage de standard (vitamine C).....	33

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Composition en glucides dans le fruit de l'Elaeagnus angustifolia.....	6
Tableau 02 : Contenu des lipides dans la plante Elaeagnus angustifolia.....	6
Tableau 03 : Principaux composé séparés de l'espèce Elaeagnuss angustifolia.....	7
Tableau 04 : Contenu en acides phénoliques du fruits d'Elaeagnus angustifolia.....	8
Tableau 05 : Couleur et le rendement des extraits bruts.....	28
Tableau 06 : Teneurs en phénols totaux	29
Tableau 07 : Tteneurs en flavonoïdes.....	30
Tableau 08 : Teneurs en tannins.....	32
Tableau 09 : Valeurs de VCEAC des extraits phénolique des feuilles d'Elaeagnus angustifolia.....	33

Liste des Abréviations

DCM : Dichlorométhane.

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

EAG : équivalente acide gallique.

EC : équivalente catéchine.

EQ : équivalente quercétine.

ERO : espèces réactives à l'oxygène.

EVC : équivalente vitamine C.

FRAP : Capacité de réduction ferrique du plasma.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HO : Hydroxyle.

HOCL : Acide hypochloreux.

HO₂ : Hydroperoxyde.

O₂ : Oxygène moléculaire.

O₂⁻ : L'ion superoxyde.

O₃ : Ozone.

ROO : Radicale peroxyde.

ROOH : Peroxydes organiques.

UV-Visible : Spectroscopie ultraviolet-visible.

VCEAC : capacité antioxydante équivalente vitamine C.

Table des Matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Abréviations	
Table des Matières	
Introduction	1

I. Synthèse bibliographique

I-Généralités sur l'espèce <i>Elaeagnus angustifolia</i>	3
1. Etymologie.....	3
2. Origine et historique.....	3
3. Description botanique.....	3
4. Répartition géographique.....	4
4.1. Dans le monde.....	4
4.2. En Algérie.....	4
5. Place dans la systématique.....	5
6. Composition en métabolites primaires.....	5
6.1. Glucides.....	5
6.1.2. Protéines et acides aminés.....	6
6.1.3. Lipides.....	6
6.1.4. Vitamines et éléments minéraux.....	7
6.2. Composition en métabolites secondaires.....	7
7. Propriétés thérapeutiques.....	8
8. Utilisation alimentaire.....	9
9. Autres utilisations.....	9
II. Composés phénoliques.....	9
II.1.Définition.....	9
II.2.Classification.....	9
1.1. Acides phénoliques.....	9
1.1.1. Acides hydroxy cinnamiques.....	10

1.1.2. Acides hydroxy benzoïques.....	10
2.2. Lignanes.....	10
2.3. Coumarines.....	11
2.4. Stilbènes.....	11
2.5. Flavonoïdes.....	12
2.6. Tanins.....	13
2.6.1. Définition.....	13
2.6.2. Structure et classification.....	13
2.6.2.1. Tanins hydrolysables.....	13
2.6.2.2. Tanins non hydrolysables ou tanins condensées.....	14
III. Activité anti-oxydante.....	15
III.1. Stress oxydant.....	15
III.2. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène	16
III.3. Antioxydants.....	16
III.3.1. Définition.....	16
III.3.2. Classification des antioxydants.....	17
III.4. Mécanismes d'action des antioxydants.....	17

Partie II : Matériels et méthodes

1. Matériels.....	20
1.1. Matière végétale.....	20
1.2. Produits chimiques.....	20
1.3. Matériels du laboratoire.....	20
2. Méthodes.....	20
2.1. Extraction des composés phénoliques.....	20
2.2. Calcul du Rendement.....	21
3. Dosage des phénols totaux.....	23
3.1. Principe.....	23
4. Dosage des flavonoïdes.....	23
4.1. Principe.....	23

5.Dosage des Tanins (Méthode de la vanilline).....	24
5.1.Principe	24
5.2.Mode opératoire	24
5.3. Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	25
6. Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test DPPH.....	25
6.1. Principe.....	25
6.2. Mode opératoire.....	25

Partie III. Résultats et Discussions

1.Rendement d'extraction.....	28
1.1 Résultats.....	28
1.2. Discussion.....	28
2.Dosage des composés phénoliques.....	28
2.1. Teneur en phénols totaux.....	28
2.1.1.Résultats.....	28
2.1.2.Discussion.....	29
2.2..Teneur en flavonoïdes.....	30
2.2.1.Résultats.....	30
2.2.3. Discussion.....	30
2.3.Dosage des tanins.....	31
2.3.1.Résultats.....	31
2.3.2.Discussion.....	32
3.Test DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl).....	32
3.1. Résultats.....	32
3.2.Discussion.....	33
6.Conclution.....	34
Références bibliographiques.....	36

Introduction

Introduction

A l'origine, la nature constituée d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux hommes peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes, notamment le pouvoir de guérison. En effet cette faculté de guérison des plantes fut connue longtemps de nos ancêtres depuis les temps reculés. Elle deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées notoires qu'on peut lui attribuer.

De nos jours, il y a des éléments chimiques qui sont responsables des caractéristiques des plantes médicinales : les quinones, les polyphénols, polyterpènes et stérols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les protéines, les glucides et les alcaloïdes (**Kémajou et al., 2012**). Donc, nous reconnaissons que les principes actifs des plantes médicinales sont liés aux produits des métabolites secondaires, qui sont utiles en thérapeutique et pour le traitement, comme les antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (**Bourgaud et al., 2001**).

Pour préserver notre santé et même traiter diverses maladies et combattre les radicaux libres avec des sources naturelles, l'étude de l'activité antioxydante des plantes est cruciale. Les herbes sont des sources d'antioxydants, qui peuvent nous aider à nous protéger contre les effets du stress oxydant (**Meta et al., 2007**).

Dans la présente étude, nous avons choisi la plante *Elaeagnus angustifolia* qui est le moins fréquemment employé dans notre pays à cause de l'ignorance de sa valeur nutritionnelle et médicale. Les extraits de cette plante sont utilisés traditionnellement contre une multitude de maux et notamment comme antipyrétique, anti-neuronocéptive et anti-diarrhéique.

Notre travail est divisé en trois parties. La première partie concerne les principales informations sur l'espèce *Elaeagnus angustifolia* L., des notions sur les composés phénoliques et de l'activité antioxydante : stress oxydatif, les radicaux libres et les antioxydants, sous forme d'une synthèse bibliographique.

La seconde partie présente le matériel et la méthodologie de travail et la troisième partie porte les principaux résultats obtenus suivis des discussions. On termine notre travail par une conclusion.

Partie I Synthèse bibliographique

I-Généralités sur l'espèce *Elaeagnus angustifolia*

1. Etymologie

Le mot *Elaeagnus* vient du grec *elaios*, olivier et *agnos*, qui désigne le gattilier ou agneau chaste (*vitex agnus-castus*). Ce nom a été donné à la plante par Karl Von hinné en 1753, les grecs anciens désignant par *elaeagnos*, le saule (Jacamon, 1992).

Elaeagnus, nom de genre du chalef ou de l'olivier de Bohème (*Elaeagnus angustifolia*) et d'espèces voisines, désignant en grec un arbrisseau (Couplan, 2000).

Angustifolia veut dire, à feuilles étroites (Jacamon, 1992) Chalef vient de «Kalef »qui désigne un saule en arabe. En effet, les feuilles du chalef ont la forme de certaines espèces de saules (Brosse, 2000).

2. Origine et historique

L'olivier de Bohème est originaire de plusieurs régions, sud de l'Europe, centre de l'Asie et Himalaya (Bailly, 1994).

Actuellement, on le rencontre dans 17 états dans l'Ouest des Etats-Unis, bordées de L'Est Djakarta, Nebraska, Kansas, Oklahoma et Texas, et a connu une expansion de l'Ouest vers le littoral du pacifique (Tesky, 1992).

En premier lieu cultivé en Allemagne en 1736, l'olivier de Bohème a été introduit aux Etats-Unis en 1800, et a été planté comme un ornemental. Le service de la conservation du sol Américain a recommandé l'utilisation de l'olivier de Bohème comme brise-vent (Bailly, 1994).

3. Description botanique

Elaeagnus angustifolia porte le nom vernaculaire d'olivier de Bohême car il rappelle l'olivier par son port et son feuillage argenté.

C'est un arbre ou arbrisseau de 2 à 12 mètres, parfois épineux, ses feuilles caduques de 4 à 8 cm de long à la fois proches de celles des oliviers, sont étroites, linéaires, d'un vert grisâtre sur le dessus et d'un gris écailleux argenté au revers. Les fleurs sont jaunes et très parfumées. Les fruits ovales, jaunâtres ou rougeâtres, sont comestibles et à chair farineuse ont une saveur douceâtre, mais sucrée (Poletti, 1987; Allain, 1988 ; Brosse, 2000; Bock, 2008).

L'écorce brun foncé ; luisante, lisse puis gerçure écailleuse (Gloaguen, 1982 ; Dzhangaliev et al., 2003). Son bois léger, assez cassant (Rol, 1965; Jacamon, 1992).

Les rameaux couverts d'écailles argentées, brillantes, ramilles épineuse, ainsi que des bourgeons assez rarement transformés en piquants (Rol, 1965; Baussard et Cuisance, 1984).

4. Répartition géographique

4.1. Dans le monde

Elaeagnus angustifolia est l'un des espèces appartenant au genre *Elaeagnus* (Elaeagnaceae) qui sont souvent distribués dans les régions nord d'Asie jusqu'au l'Himalaya et l'Europe (Ahmadiani et al., 2000).

Selon Brosse (2000), cette espèce se développe dans l'altitude tempérée. Elle est distribuée en Asie (Japon, Chine), en Amérique du Nord (Etats-Unis) et dans le bassin méditerranéen, Elle est aussi substantielle dans tous le Sud de l'Europe (Emil et al., 1997)

En Turquie, cette plante est largement cultivée, Pour ses fruits comestibles en centre et l'Est d'Anatolie (Ayez et Bertoft, 2001).

Selon Poletti en 1987, cette espèce est spontanée, mais peu fréquente, qui pousse dans le bassin de la Méditerranée sur les pentes bien exposées au soleil.

4.2. En Algérie

En Algérie, l'*Elaeagnus angustifolia* est subspontané et cultivé comme un ornement des bords des routes (Somon, 1985). L'olivier de Bohême se localise en Algérie surtout dans les hauts plateaux. Il a été introduit et planté systématiquement aux emplacements suivants : Djelfa, Biskra, Relizane, Mascara et le Sud de Tennes et de Cherchelle (Journal d'agriculture tropical et de botanique Appliqué, 1958).



Figure 1 :Fruits et feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia* (Muzuka, 2005).

5. Place dans la systématique

Selon Guignard (1998) et Bock, (2008), l'*Elaeagnus angustifolia* est classé comme suit :

Règne	végétal
Embranchement	spermaphytes
Sous embranchement	angiospermes
Classe	dicotylédones
Sous classe	dialypétales
Série	calciflores
Ordre	Elaeagnales
Famille	Elaeagnaceae
Genre	Elaeagnus
Espèce	<i>Elaeagnus angustifolia</i>

6.1. Composition en métabolites primaires

6.1.1. Glucides

Tableau 01 :Composition en glucides dans le fruit de *l'Elaeagnus angustifolia*(Ayaz et Berfort, 2001)

Glucides	La concentration par rapport à la matière sèche en%
Fructose	27,1 • ±1 ,28
Glucose	22,3 • ±1,13
Saccharose	Trace

Par ailleurs, le glucose et le fructose sont considérés comme les sucres les plus importants pour la détermination de la qualité des fruits et légumes (Ayaz et al ., 1999). Une étude récente réalisée en Algérie a révélée que la pulpe du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia* contient les sucres solubles avec une teneur de 17,01% et 13,50% pour les sucres réducteurs (Saadoudi, 2008).

6.1.2. Protéines et acides aminés

Les fruits de *l'Elaeagnus angustifolia* .sont riches en protéines dont la teneur peutatteindre 10, 6% (Dzhangaliev et al, 2003).

Une étude menée sur les protéines et les acides aminés a montré que les graines de *l'Elaeagnus angustifolia* contiennent 42% de protéines avec dominance dans leur composition de l'acide glutamique et l'arginine (Bekker et Glushenkova ,2001).

6.1.3. Lipides

Selon les travaux de KusovaetLuk'yanchikova(1989),Goncharova etGlushenkova(1996), Goncharova et Glushenkova (1997), le fruit de *l'Elaeagnus angustifolia*renferme les acides gras suivants : l'acide palmitique C₁₆:0 (4,4%) l'acide palmitoléiqueC₁₆:1(1,9%), l'acide linoléique C₁₈:3 (12,2%), l'acide stéarique C₁₈:0 (1,4%) et l'acidelinoléique C₁₈:2 (52,2%).Le contenu en lipides dans les différents organes de *l'Elaeagnus angustifolia* estreprésenté dans le tableau suivant.

Tableau 02 :Contenu des lipides dans la plante *Elaeagnus angustifolia*
(Extrait de Bekker et Glushenkova ,2001).

Organe	le rendement des lipides en%
Graines	3,5 -26,0
Le péricarpe	0,8 -1,2
Feuilles	1,4 -9,5
Fleurs	3,0

6.1.4. Vitamines et éléments minéraux

La composante vitaminique n'est pas négligeable, le fruit contient de l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique 22 mg /100 g au maximum qui diminue avec le mûrissement (Bekker et Glushenkova, 2001).

Récemment en Algérie, une étude a montré que la pulpe du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* contient des teneurs élevées en éléments minéraux majeurs en magnésium (474,69mg/100g), potassium (329,89mg/100g) et calcium (381,88mg/100g). Elle contient également des teneurs non négligeables en oligoéléments : fer, zinc, cuivre avec de 6,98mg/100g, 0,52mg/100g et 0,59mg/100g respectivement. Il contient dans sa partie charnue de la vitamine A et la vitamine E avec 2,40mg/100g et 1,62mg/100g respectivement (Boudraa, 2008).

D'après Dzhangaliev et al., (2003), ces fruits sont très riches en vitamines C, A et E et contiennent des tanins.

6.2. Composition en métabolites secondaires

De nombreuses études ont montré que les fruits de l'espèce *Elaeagnus angustifolia* sont très riches en plusieurs constituants bioactifs (Ayaz et al., 1999 ; Bekker et Glushenkova, 2001) qui ont des activités biologiques importantes .

Les polyphénols de la pulpe du fruit sont constitués majoritairement de la catéchine (1,2%), gallocatéchine (0,2%), epigallocatechine (0,8%), proanthocyanidines (1,6%) flavonols (0,7%) (Mavlyanov et al., 2003). Le tableau ci-après illustre les principaux composés séparés de l'espèce *Elaeagnus angustifolia*.

.Tableau 03 : Les principaux composés séparés de l'espèce *Elaeagnus angustifolia*.

Type de molécules	Nom des composés	Organe
Catéchols	(+) - Catechol (-) epicatechol	L'écorce
Acides phénolcarboxyliques	-acide caféique -acide neochlorogénique -acide gallique	Feuilles et Fruits
Flavonoïdes Flavones	Isorhamnetin (3, 5, 7, 4- tetrahydroxy -3 -methoxyflavone) isorhamnetin-3-O-B-D- galactopyranoside chrysin	Fruits Fruits

Huile essentielle	trans-éthylcinnamate 78,88%	Fleurs
vitamines liposolubles	Caroténoïdes 9,8 mg /100g Tocophérols 36,5 mg/100g	Fruits

Tableau 04 :Le contenu en acides phénoliques du fruit d'*Elaeagnus angustifolia*(Ayaz et Berfort, 2001)

Acides phénoliques	Concentration (mg/100g de la matière sèche)
Acide benzoïque	11,6 • ±1,20
Acide 4-hydroxybenzoïque	45,8 • ±0,68
Acide vanillique	14,7 • ±0,81
Acide 4 hydroxycinnamique	18,4 • ±1,09
Acide protocatéchique	28,1 • ±0,58
Acide férulique	2,3 • ±0,18
Acide caféïque	32 • ±0,99

7. Propriétés thérapeutiques

Des études phytochimiques in vivo effectuées sur la phase aqueuse du fruit de l'espèce *Elaeagnus angustifolia*, ont montré sa richesse en flavonoïdes, terpénoides qui ont des effets anti-inflammatoires, anti-nociceptifs (analgésiques) (Ahmadiani et al., 2000).

En médecine traditionnelle Iranienne, les fruits et les fleurs de l'*Elaeagnus angustifolia* sont prescrites en traitement des nausées, vomissements, l'ictère, l'asthme et les flatulences (Hosseinzadeh et al., 2003).

Les fleurs sont aussi traditionnellement utilisées en traitement de tétanos. Une étude a été faite sur des rats suggère que les graines de fruit de cette espèce exercent une activité relaxante sur les muscles due aux flavonoïdes (Hosseinzadeh et al., 2003).

Selon (Poletti, 1987), les feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia* sont employées pour leurs propriétés sédatives et antispasmodiques contre l'insomnie, la toux, l'angoisse et les tremblements des membres.

Les fleurs et les feuilles de cette plante sont bien connues par leurs actions diurétiques et antipyrétiques en médecine traditionnelle et les fruits aussi sont consommés durant l'hiver comme un apéritif en Turquie (Ayaz et Bertoft, 2001).

Le fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* est utilisé comme un agent analgésique afin de soulager les douleurs du rhumatisme et de l'arthrite (Ramezani et al., 2001).

En Turquie, des études pharmacologiques réalisées in vivo sur des rats en provoquant un ulcère gastrique par l'éthanol, ont montré une réduction ulcérogénique (effet gastroprotectif)

par l'extrait méthanolique du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* (Gürbüz et al., 2003).

8. Utilisation alimentaire

Au Kazakhstan, les fruits d'*Elaeagnus angustifolia* L. sont largement consommés à l'état frais et utilisés pour la préparation des différents assaisonnements (Dzhangaliev et al., 2003).

Selon Facciola (1990), les fruits peuvent être transformés en farine, gelée et en jus.

9. Autres utilisations

En chine, les feuilles sont utilisées largement comme une réserve fourragère d'appoint vu leur richesse en protéines, lipides (Wenyuan, 1998).

D'après Askoy et al (1999), les feuilles et les fruits de l'*Elaeagnus angustifolia* sont utilisées comme un indicateur de pollution pour des métaux lourds: Pb, Cd, Cu et Zn en

II. Les composés phénoliques

II.1. Définition :

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, notamment les cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoires, antioxydants (Bahorun, 1997). Selon Diallo, (2005), les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié des groupements hydroxyles, ces molécules représentent une famille de plus 8000 composés (Dacosta, 2003).

Parmi les composés poly phénoliques, on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes et les tanins.

II.2. Classification :

1.1. Acides phénoliques

Quelques composés organiques de grande importance en biochimie, contenant au moins la fonction de carboxyle et d'hydroxyle phénolique appelé «acide phénolique». Ce

terme est utilisé dans la chimie des plantes uniquement sur les dérivés d'acide benzoïque et d'acide cinnamique.

1.1.1. Acides hydroxy cinnamiques

Les acides hydroxy cinnamiques dérivent de la structure de l'acide cinnamique, ils sont très importants, ils ont une structure (C6-C3). Les éléments importants pour la réaction chimique de ces molécules sont le degré d'hydroxylation de cycle benzoïque et leur possibilité de leur modifier par rétroaction secondaire. L'ester d'acides quiniques, acide shikimique et acide tartrique sont les formes sur lesquelles les acides cinnamiques sont présents dans les plantes.

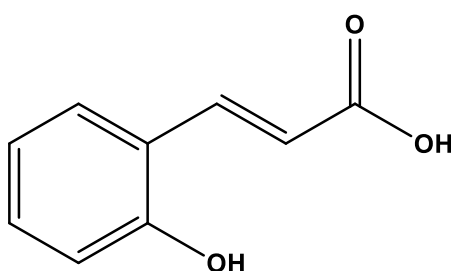


Figure 02 : Structure de l'acide hydroxy cinnamique

1.1.2. Acides hydroxy benzoïques

L'acide benzoïque est l'acide à partir duquel l'acide hydroxy benzoïque dérive de sorte qu'il a une formule (C6-C1) qui consiste à: p-hydroxy benzoïques, vanillique, gentistique, gallique, salicylique, protocatéchique et syringique. Après hydrolyse alcaline des molécules végétales (notamment la lignine et de quelque tannins), ces acides sont libérés. La forme sous laquelle il existe est soit un ester méthylique, soit un glycosylé (Macheix JJ et al., 2005).

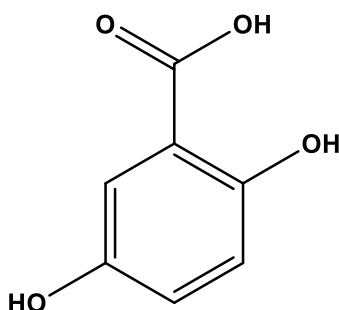


Figure 03 : Structure de l'acide hydroxy benzoïque.

2.2. Lignanes :

La condensation des unités (C6-C3) en phénylpropaniques permet les lignanes.

Elle se caractérise par l'expansion de sa distribution végétale, ainsi environ soixante-dix familles ont été isolées contiennent des centaines de ces molécules (**Benhammou, 2012**).

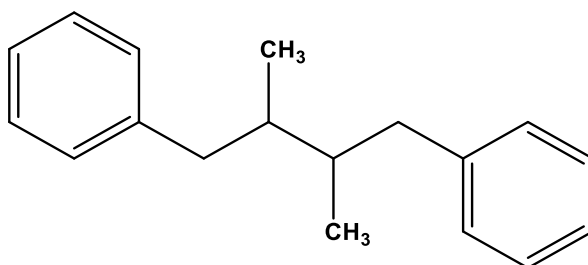


Figure04 : structure de lignanes.

2.3.Coumarines :

Les coumarines sont un groupe de composés bien connus appartenant à benzopyrones. Elles sont dérivées de (C6-C3) et toutes remplacées en C7 par un hydroxyle. Les coumarines dérivent du métabolisme de la phénylalanine et ceci est fait par l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique. Dans le cas de la nature, elles sont libres ou bien associées avec des sucres. Son rôle est de donner au foin cette odeur distinctive (**Bouhaddouda, 2016**).

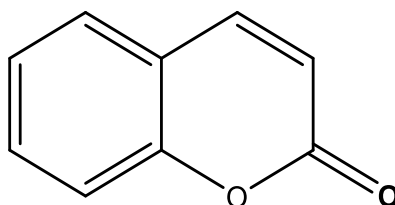


Figure 5 : structure de coumarines.

2.4. Stilbènes

Ce sont des composés phénoliques (**Meguelliati, 2019**). La structure des individus de cette famille est (C6-C2-C6), ces composés sont dans notre alimentation en petites quantités. Les plantes les produisent pour réagir aux pathogènes fongiques, viraux et bactériens (ce sont des phytoalexins). Les raisins, les arachides et le soja sont les principales sources de stilbènes. Lors de l'étude des activités biologiques des plantes médicinales, la propriété anticancéreuse du resvératrol a été mise en évidence qui est la plus célèbre de ces molécules, cette dernière a été largement étudiée (**Bouhaddouda, 2016**).

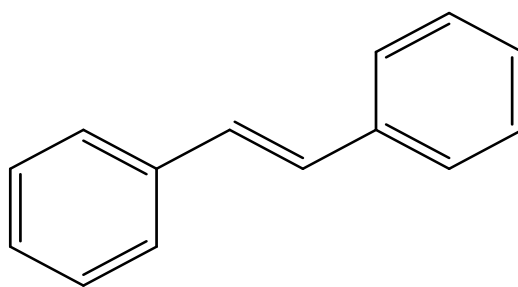


Figure 06 : Structure des stilbènes

2.5. Flavonoïdes :

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Ghestem et al.,2001).

On les trouve d'une manière très générale dans toutes les plantes vasculaires où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles (Marfak, 2003 ; Hadi, 2004). Ils sont divisés selon le nombre, la nature de substitution et l'emplacement de la liaison entre le noyau A et l'hétérocycle C en plusieurs sous classes, qui sont les suivants : flavanols, flavanones, flavons, isoflavonoïdes et anthocyanes (**Labbani, 2022**).

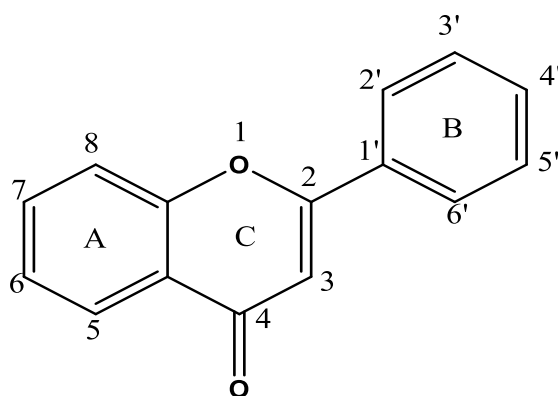


Figure07 : Squelette de base des flavonoïdes.

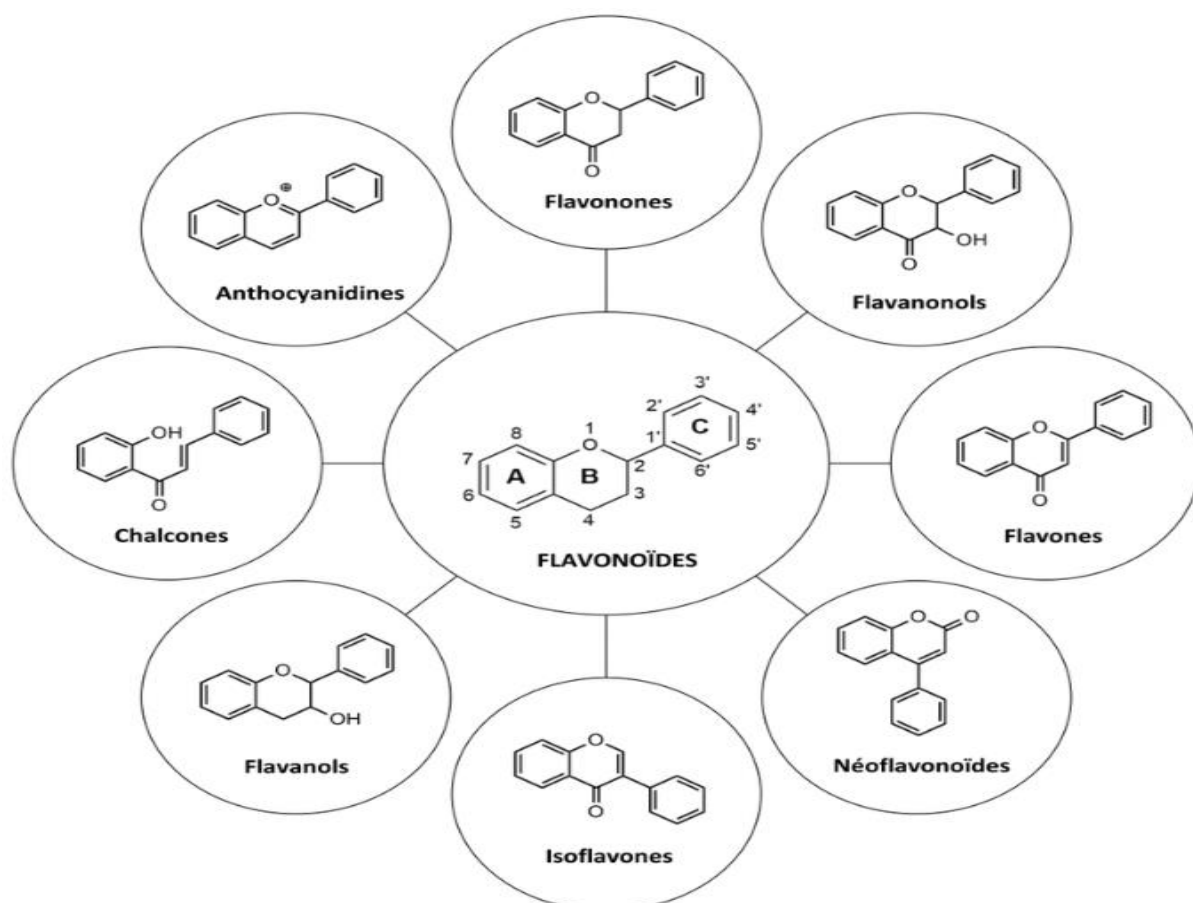


Figure 08. Structure des différentes classes de flavonoïdes.

2.6. Tanins

2.6.1. Définition

Ils sont d'origine végétale et non azotée. Ce sont des composés polyphénoliques de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. La masse moléculaire des tanins est comprise entre 500 et 3000 (PM) (Ghestem et al., 2001 ; Atefeibu , 2002).

2.6.2. Structure et classification

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique.

2.6.2.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types :

- Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.

- Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagiques (Bruneton, 1999 ; Atefeibu, 2002). Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique (Ghestem et al., 2001).

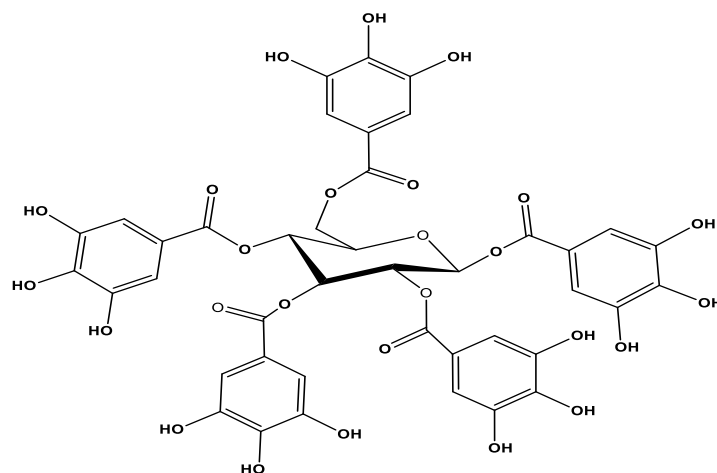


Figure09 : Structure des tannins hydrolysables.

2.6.2.2. Tanins non hydrolysables ou tanins condensées

De structure plus complexe, on les appelle également proanthocyanidines, largement présents dans le règne végétal, et que l'on rencontre dans de nombreux produits alimentaires (Fruit, légumes, boissons....) (Peronny, 2005). Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule ; ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannases mais en présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges : les phlobaphènes (exemple : rouge de cola) (Atefeibu, 2002). Ce sont des polymères de flavan-3-ols., appelés aussi catéchines et de flavan-3,4-diols appelés leucoanthocyanidines ou un mélange des deux (Atefeibu, 2002 ; Peronny, 2005).

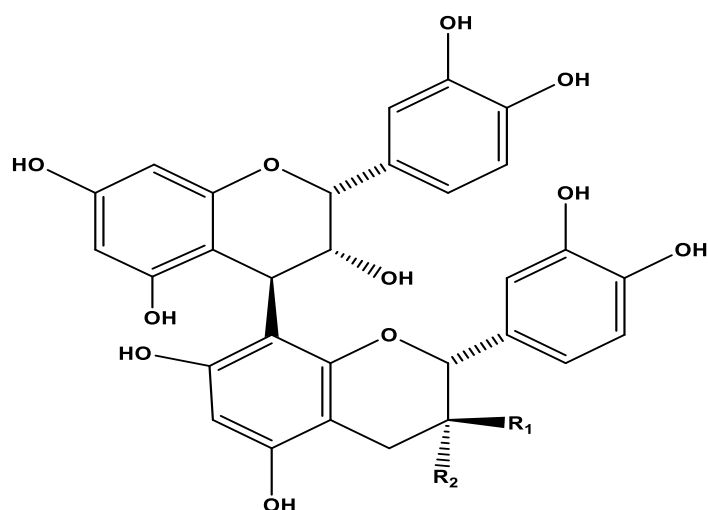


Figure10 : Structure de tannins condensés.

III.Activité anti-oxydante

1II.1. Stress oxydant

Le stress oxydant définit comme un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (**Figure 11**), est de plus en plus reconnu par la société scientifique comme un facteur important intervenant dans la genèse de maladies chroniques et inflammatoires.(**Young et al., 2001**).

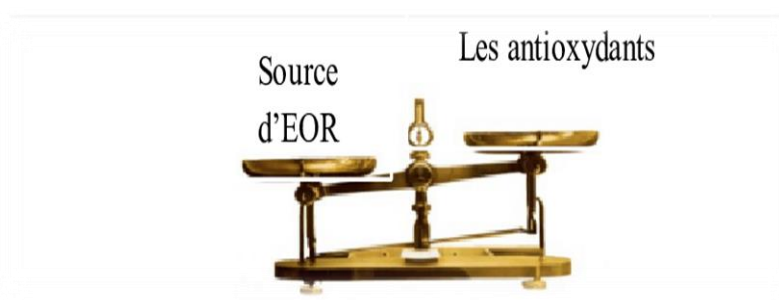


Figure 11 : Schéma montrant le stress oxydant (Beaich et Boujraf, 2016)

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles à l'organisme à des doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense. Dans des circonstances normales, on dit que la balance antioxydantes/ prooxydants est équilibrée. Si ce n'est pas le cas, soit à cause d'un déficit en antioxydants, soit à cause d'une surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé Stress oxydatif. Il est maintenant admis que le phénomène de stress oxydant est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington),

de désordres pathologiques, mais également dans les phénomènes de vieillissement. (**Favier., 2003**)

III.2.Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un nombre impair d'électrons sur sa couche périphérique. Ces molécules sont caractérisées par leur instabilité et leur réaction rapide avec d'autres composants, afin de capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical attaque la molécule stable la plus proche, en lui arrachant son électron ; la molécule attaquée devient alors elle-même une molécule instable(**Bayir, 2005**).les espèces réactives de l'oxygène ERO sont une classe spécifique de radicaux, incluant des radicaux libres comme le radical hydroxyl ($\text{OH}\cdot$), le radical superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), et sa forme protonée ($\text{HO}_2\cdot$), le radical peroxy ($\text{ROO}\cdot$) ainsi que des espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) l'acide hypochloreux (HOCl) et l'ozone (O_3), qui peuvent être facilement transformés en radicaux(**Gupta., 2010**).

Cependant, les ERO sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes physiologiques à des doses raisonnables au cours du métabolisme normal. La production endogène est plus importante que celle d'origine exogène. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense et est impliquée dans le bon déroulement de la réaction immunitaire, de la phagocytose et de la communication cellulaire. Les réactions enzymatiques, le transport mitochondrial des électrons, la transduction des signaux, l'activation des facteurs de transcription nucléaires, l'expression des gènes et l'action antimicrobienne des neutrophiles et des macrophages (**Bayir., 2005**).

III.3.Antioxydants

III.3.1.Définition :

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (**berger, 2006**). Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive(**Shimizu, 2004**). Le terme « antioxydant » désigne toute molécule capable de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres avant qu'ils attaquent les cellules (**Eboh,2014**).

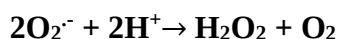
II1.3.2. Classification des antioxydants

➤ les antioxydants enzymatiques

a. **la catalase** : La catalase transforme le peroxyde d'hydrogène en oxygène et eau

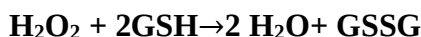


b. **les super oxydes dismutases** : ou SOD catalyse la dismutation de l'O₂ •– en dioxygène et H₂O₂ selon la réaction :



c. **Glutathion peroxydases:**

Les GSHPx, enzymes antioxydantes, constituent l'une des principales lignes de défense contre les agressions produites par les radicaux libres de l'oxygène. Les glutathions peroxydases sont chimiquement différentes mais partagent le même rôle de détoxifiant des espèces réactives de l'oxygène (peroxyde d'hydrogène et hydroperoxydes organiques). Leur activité enzymatique est directement proportionnelle à l'apport en sélénium et il existe donc un lien étroit entre la carence en sélénium et le stress oxydatif (**DUCROS et FAVIER, 2004**). Les GSHPx réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**GOUDABLE et FAVIER, 1997**).



➤ les antioxydants naturels

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le Picnogénol. La plupart des antioxydants d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes (O₂•) (**Antolovich et al., 2002 ; Bartosz, 2003 ; Burda et Oleszek, 2001 ; Rice-Evans et al., 1995**).

II1.4. Mécanismes d'action des antioxydants :

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**FAVIER, 2006**).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire **(FAVIER, 2006)**.

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur **(FAVIER, 2006)**.

Partie II : Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de biochimie, département de biologie, université de Laghouat dans le but d'étudier l'activité anti-oxydante de la plante olivier de Bôhéme.

3. Matériels :

1.1. Matière végétale

Notre travail est basé sur l'étude de l'activité antioxydante de la plante Olivier de bohème, dans cette étude, nous nous sommes appuyés sur les feuilles récoltées la région de Hamda de la wilaya de Laghouat, les feuilles de la plante sont séchées à l'abri de la lumière pendant 15 jours, Puis broyées avec un moulin électronique.

1.2. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés sont les suivants :

- ☐ Hexane (C_6H_{14})
- ☐ Dichlorométhane (CH_2Cl_2)
- ☐ Méthanol (MeOH)
- ☐ Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- ☐ Folin – ciocalteu
- ☐ Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$)
- ☐ Acide gallique ($C_7H_6O_5$)
- ☐ Quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$)
- ☐ L'acide ascorbique (vitamine C) ($C_6H_8O_6$)
- ☐ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

1.3. Les matériels du laboratoire

UV-visible , Balance , Rotavapor, spectrophotomètre.

2. Méthodes :

2.1. Extraction des composés phénoliques :

L'objectif de l'étape d'extraction est de séparer les substances phénoliques de la poudre solide et de les faire passer en solution.

Protocole d'extraction

5.009g de poudre de la plante étudié est macéré dans 100 ml d'un mélange (MeOH/Eau 8/2) pendant 48 heures à température ambiante à l'abri de la lumière, après cette période le mélange est filtré à l'aide du papier filtre, après évaporation une extraction liquide-liquide

avec des solvants à polarité croissante (Hexane , dichlorométhane, acétate d'éthyle.) est effectuée .

- **L'évaporation** : Les extraits bruts sont évaporés sous vide à 40°C à l'aide d'un rotavapor. Après l'évaporation du solvant, l'extrait sec est solubilisé dans le méthanol.

2.3. Calcul du Rendement

Le rendement est calculé par la formule suivant :

$$R\% = m/m^{\circ} \times 100$$

- **R%** : Rendement exprimé en %.
- **m** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- **m°** : Masse en gramme du matériel végétale sec.

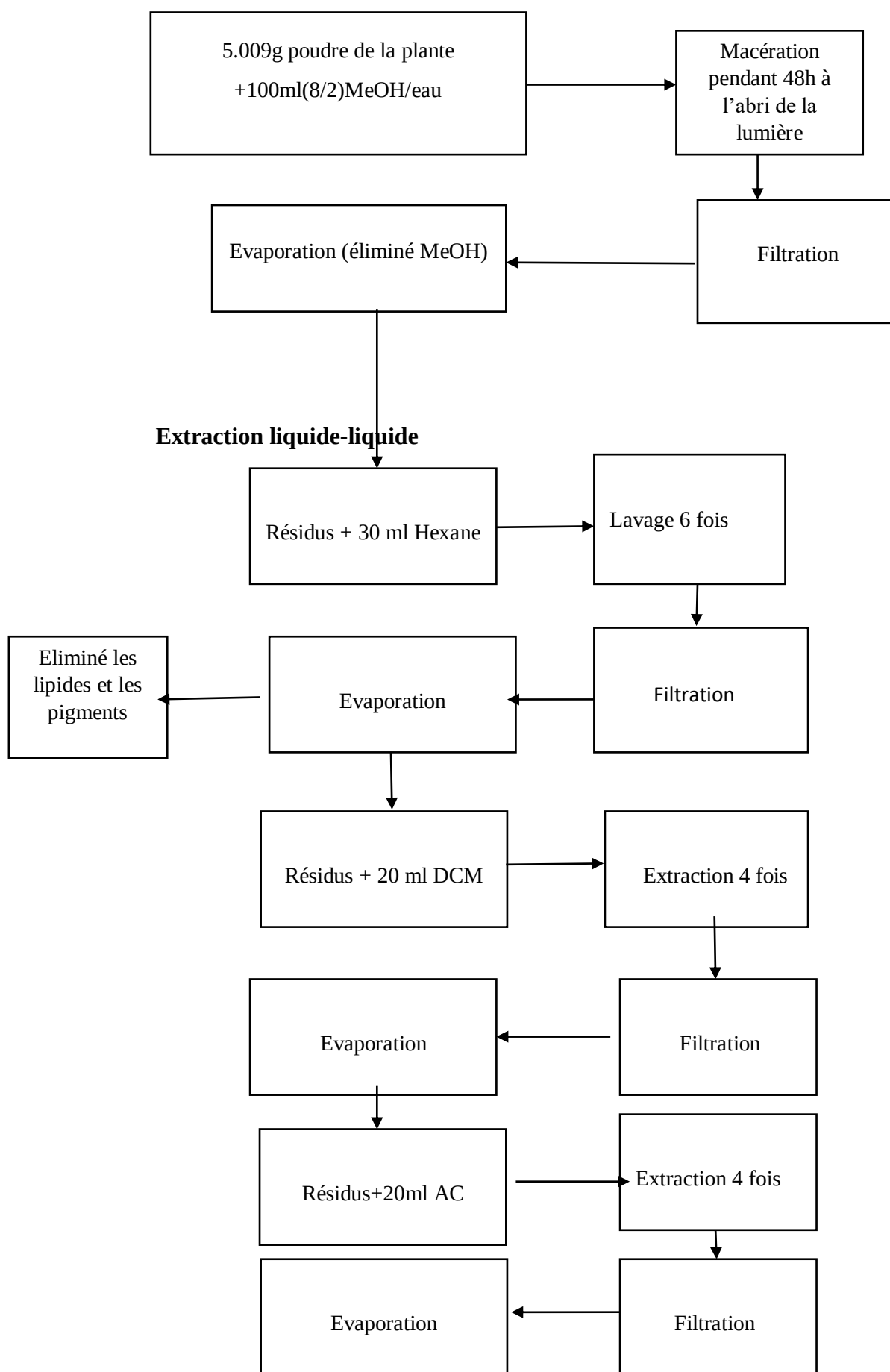


Figure 12 : Représentation schématique des étapes d'extraction des composés phénoliques.

3. Dosage des phénols totaux :

3.1. Principe :

La méthode la plus utilisée dans l'analyse quantitative des composés phénoliques dans les extraits végétaux est de Folin-Ciocalteu qui est basé sur la capacité de ces composés à réduire le mélange acide phosphotungstique($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique($H_3PMo_{12}O_{40}$) du réactif de Folin qui a une couleur jaune en un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption est mesurée à 760nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal.

-Mode opératoire :

Pour déterminer la quantité des composés phénoliques dans nos extraits on a suivi le Protocole suivant : 100 μ l de chaque extrait (ou de standard Ag 0.5g/l) est mélangé avec 500 μ l de réactif de Folin(10%), après deux minutes 2 ml Na_2CO_3 (5%) est ajouté, ce mélange est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité puis la lecture des absorbances est faite à une longueur d'onde 760nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.(figure13)

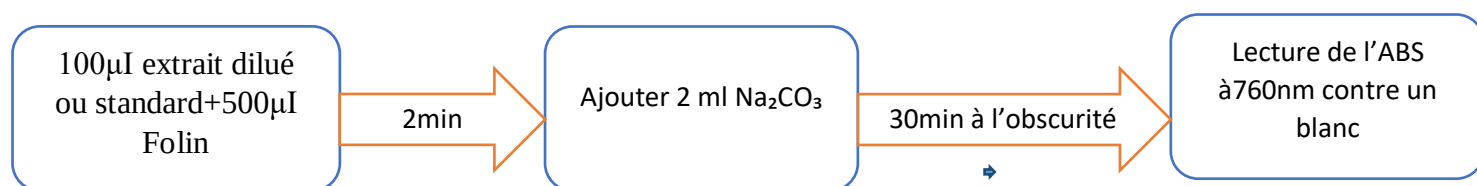


Figure13 : Protocol de dosage de polyphénols.

4.Dosage des flavonoïdes :

4.1.Principe :

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ qui forme un complexe jaunâtre avec les flavonoïdes qui absorbe dans le visible à 430nm. Ce complexe forme par chélation des métaux (Al) par les flavonoïdes dont Al perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule de flavonoïde comme donneur d'électrons.

-Mode opératoire :

Un volume de 500µl de trichlorure d'aluminium AlCl_3 2% est ajouté à 500µl de l'extrait(ou quercétine 0.1g/l), après incubation pendant 15 min, la lecture de l'absorbance est faite à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 430nm(figure14).

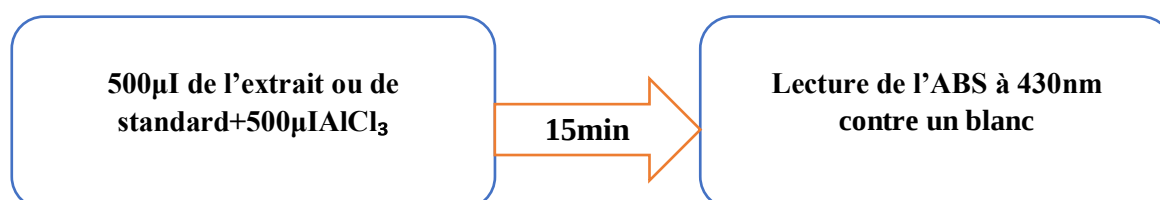


Figure14: Protocol de dosage des flavonoïdes.

5.Dosage des Tanins (Méthode de la vanilline)

5.1.Principe :

Le dosage des tanins dans les extraits du *l'Elaeagnus angustifolia* est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par Heimler et al. (2006).

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm (Schofield et al .,2001).

5.2.Mode opératoire :

Pour 500µl de chaque extrait ou standard, on ajoute 2.5ml de (vanilline + d'acide hydrochlorique concentré). Après 20min d'incubation, l'absorbance est mesuré à 500nm.

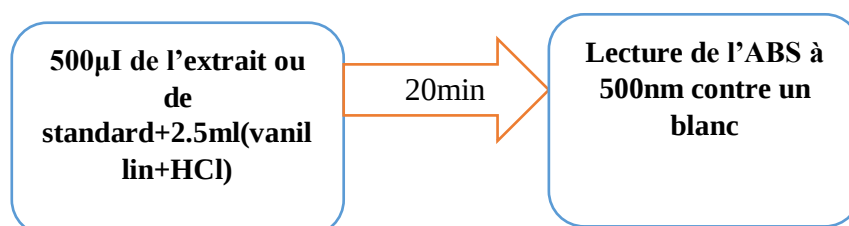


Figure15 : Protocol de dosage des tanins.

5.3. La courbe d'étalonnage de la catéchine :

Pour établir la courbe d'étalonnage, la catéchine est utilisée comme un standard. La préparation d'une solution mère de concentration 3g/l.

6. Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test DPPH :

6.1. Principe

La molécule de DPPH (ou 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) est définie comme radical libre stable. Il réagit avec des groupements amine, les phénols et les acides (**Gulcin et al., 2003**). Le test DPPH mesure l'activité donneuse d'un atome d'hydrogène ou d'un électron, donc il mesure l'activité antioxydant de piégeage des radicaux libres. Les antioxydants présents dans l'échantillon, ce qui entraîne une décoloration. Le DPPH a une couleur violette foncée en présence des piègeurs de radicaux libres. Lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle (réduit à 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazine) (**Burits et Bucar, 2000**).

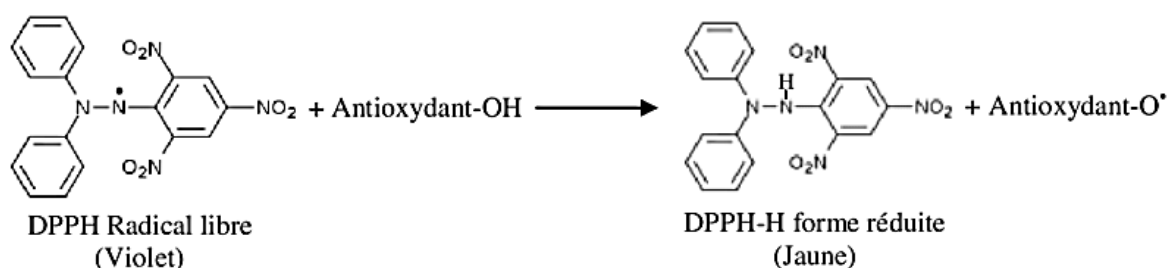


Figure 16 : La réduction du radical libre DPPH (Celiktas et al.2007).

6.2. Mode opératoire

Un volume de 500 µl de chaque extrait (avec différentes concentrations) est placé dans des tubes à essais, 500 µl de solution de DPPH (250 M) qui est préparée dans le MeOH est ajouté, après 30min d'incubation à l'obscurité les absorbances sont effectuées à 517 nm par spectrophotomètre contre un blanc. Le témoin est préparé en parallèle (500µl de solution de DPPH + 500 µl de méthanol). Nous avons testé également la vitamine C comme anti oxydante de référence.



Figure17 : Protocol du DPPH

Le pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres pour le DPPH est calculé comme suit :

$$I\% = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

A₀ = Absorbance de contrôle

A = Absorbance d'échantillon

Résultats et Discussions

1.Le rendement d'extraction

1.1. Résultats

Le rendement des extraits (par DCM et AC) de la plante a été déterminé par rapport au matériel végétal sec, les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 05**.

Tableau 05 : La couleur et le rendement des extraits bruts.

Les extraits	Couleur	Le rendement en (%)
extraits par DCM	Vert	4.056%
Extraits par AC	jaune	2.1%

1.1. Discussion

D'après les résultats, nous constatons que l'extrait obtenu par le **DCM** a donné le rendement le plus élevés (4.056%), parcontre l'extrait obtenu par le **AC** a donné le rendement le plus faible (2.1%). ceci est dû au type de métabolites extraits par chaque solvant.

Généralement le rendement d'extraction varie selon les techniques d'extraction utilisées (Fiorucci, 2006), les conditions de l'environnement, la durée d'extraction, la nature des solvants, ect (Tsai et al .2008).

2. Le dosage des composés phénoliques

Deux extraits phénoliques sont étudiés à l'aide du dosage spectro-photométrique pour déterminer la teneur totale en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins.

2.1.Teneur en phénols totaux

2.1.1.Résultats

Les analyses quantitatives des phénols totaux des extraits sont effectuées par la méthode de **Folin-Ciocalteu**, cette méthode a donné une couleur bleu. La teneur de ces phénols est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.

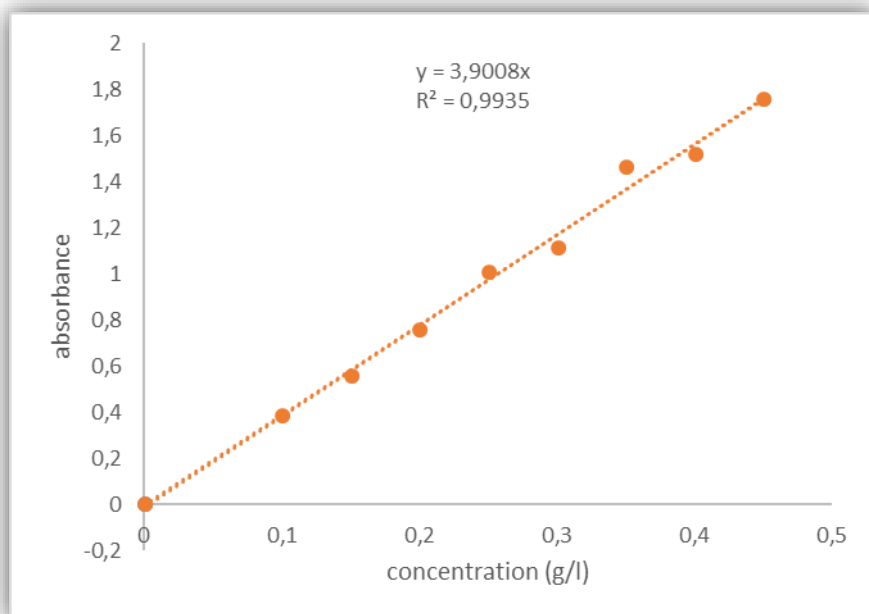


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs en phénols totaux des deux extraits sont présentées dans le **tableau 06**.

Tableau 06 : Teneurs en phénols totaux.

Les extraits de plante	Teneur en phénols totaux (mg EAG/g de matière sèche)
Extraits par DCM	0.739± 0,097
Extraits par AC	2.006± 0.053

2.1.2.Discussion

Des teneurs en phénols totaux appréciables sont révélées dans les extraits des feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia*.

On remarque que l'extrait de la plante par DCM a donné le taux le plus bas (0.739mgEAG/g MS), Alors que l'extrait de la plante par AC a présenté la teneur la plus élevé (2.006mg EAG/g MS), on constate que les feuilles de notre plante sont riches en phénols polaires.

2.2.Teneur en flavonoïdes

2.2.1Résultats

Pour déterminer la quantité des flavonoïdes, on a utilisé la méthode de **trichlorure d'aluminium**, cette méthode a donné une couleur jaune. Elle est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme de matière sèche.

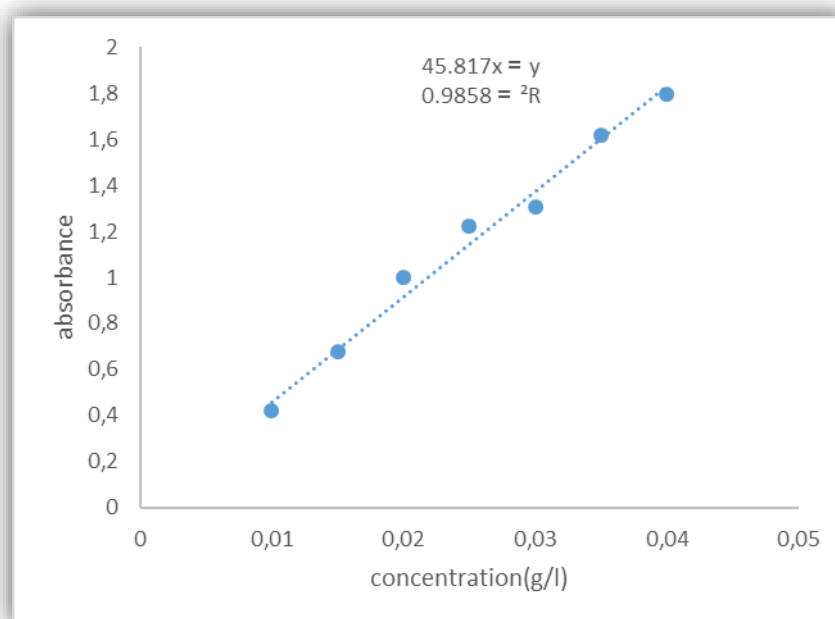


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Le tableau ci-dessus représente les résultats de la teneur en flavonoïdes de nos échantillons :

Tableau 07 : Teneurs en flavonoïdes.

Les extraits de la plante	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g de matière sèche)
Extraits par DCM	0.264± 0.024
Extraits par AC	0.223±0.033

2.2.2. Discussion

Les résultats précédents (Tableau 07) présentent des teneurs en flavonoïdes proches entre eux (0.264± 0.024 et 0.223± 0.033) mg EQ/g de matière sèche) , ces valeurs présentent des

pourcentages de 35,72% (pour l'extrait de DCM) et 11,12% (pour l'extrait d'acétate d'éthyle) des polyphénols totaux, donc l'extrait de DCM est riche en phénols totaux par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle , aussi Les teneurs obtenus en flavonoïdes des extraits des feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia* sont très inférieures à celles des phénols totaux ce qui indique que les extraits contiennent en plus des flavonoïdes d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acide phénoliques, tanins, stilbènes...).

2.3. Dosage des tanins

2.3.1. Résultats

Pour déterminer la quantité des tanins , on a utilisé la méthode **décrite par Heimler et al (2006)** , en utilisant comme standard la catéchine, la teneur en tanins est exprime en milligramme d'équivalent de la catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg Ecat / g MS).

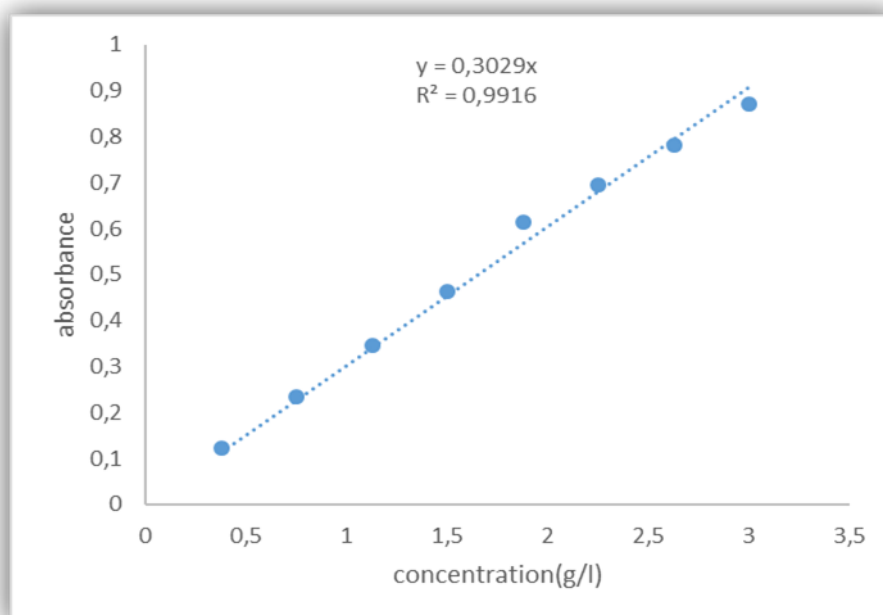


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats sont représentés dans le **tableau 08**

Tableau 08: Teneurs en tanins

Les extraits de la plante	Teneur en tanins (mg EC/g de matière sèche)
Extraits par DCM	1.087±0.037
Extraits par AC	0.255±0.035

2.3.2. Discussion

On remarque que l'extrait des feuilles de *Elaeagnus angustifolia* par DCM a donné le taux le plus élevé en tanins (1.087 mg EC/g MS), cette valeur est très élevée par rapport à la teneur en phénols totaux de même extrait, cela peut être dû à la vanilline qui réagit avec tous les composés qui ont une structure semblable aux tanins, par contre l'extrait par AC a présenté la teneur la plus basse (0.255mg EC/g MS), cette valeur présente un pourcentage de 12.71% des phénols totaux on constate que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de notre plante est pauvre en tanins.

Il faut signaler que la méthode utilisée pour le dosage des tanins peut donner une estimation sur les teneurs en tanins mais ça reste insuffisant, donc il est nécessaire d'utiliser d'autres méthodes pour quantifier les tanins.

3. Test DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

3.1. Résultats

Pour étudier l'activité antioxydante de nos extraits, on a utilisé la méthode la plus connue (Test DPPH), pour évaluer l'activité antioxydante on a calculé les valeurs de VCEAC (capacité antioxydante équivalente en vitamine C) exprimées en mg/g de matière végétale à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine C, plus la valeur de VCEAC est grande plus l'extrait est un bon antioxydant.

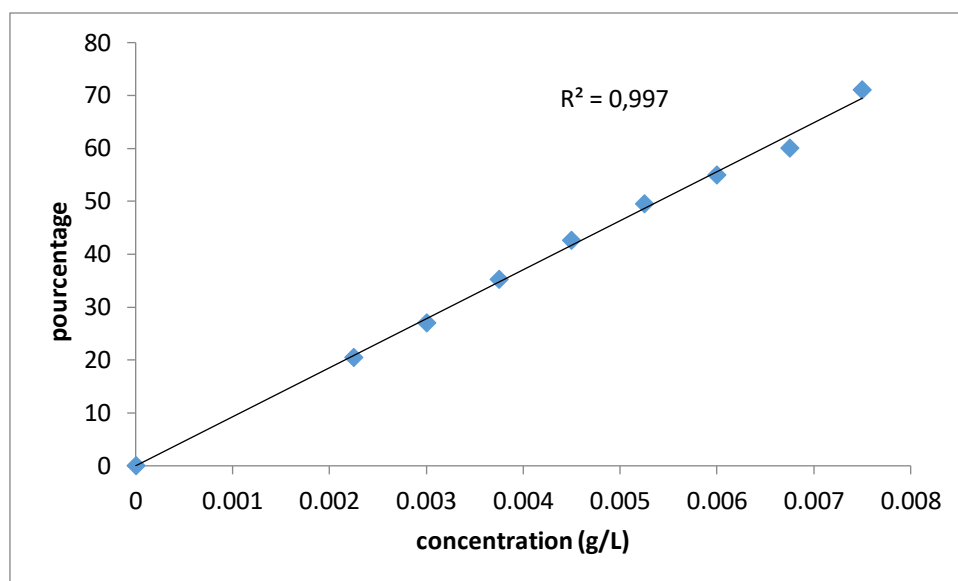


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la vitamine C

Tableau 09: Valeurs de VCEAC des extraits phénoliques des feuilles d'*Elaeagnus angustifolia*

Les extraits de plante	Valeurs de VCEAC (mg EVC/g de matière sèche)
Extrait par DCM	0.263 ± 0,003
Extrait par AC	0.125± 0.007

3.2. Discussion

A partir des résultats du tableau 9, on remarque que l'extrait de DCM présente la valeur de VCEAC la plus élevée (0.263±0.003 mg EVC/g MS) par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle (0.125±0.007 mg EVC/g MS), cela indique que l'extrait de DCM renferme des composés phénoliques ayant une capacité antioxydante très importante.

Si on compare les valeurs de VCEAC des deux extraits avec les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins, on remarque que ces valeurs varient dans le même sens avec les teneurs des flavonoïdes et des tanins donc on peut dire que l'activité antioxydante des feuilles de notre plante est due à la richesse de cette plante en flavonoïdes et en tanins, mais généralement l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la quantité des composés phénoliques, mais aussi de leurs structures chimiques, pour confirmer cette hypothèse, il faut étudier plusieurs extraits par d'autres méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante comme : ABTS, phosphomolybdate.....

Conclusion

L'usage des plantes médicinales constitue un vrai patrimoine de l'être humain, la plus part des médicaments actuels sont à base des plantes, ces dernières renferment des métabolites secondaires d'une grande diversité de structures chimiques qui ont plusieurs activités biologiques.

Le but de cette étude est d'apporter une contribution à la valorisation de la plante olivier de bohème en évaluant l'activité antioxydante des extraits obtenus par deux solvants de différentes polarités.

Les valeurs des rendements d'extraction sont très variables selon le solvant d'extraction dont le rendement le plus remarquable est celui de l'extrait de dichlorométhane (4,056%).

La quantification des phénols totaux est effectuée par la méthode de Folin- Ciocalteu, les résultats obtenus ont indiqués que l'extrait de la plante par acétate d'éthyle est le plus riche en polyphénols par rapport à l'extrait de DCM.

Pour mesurer la quantité des flavonoïdes et les tanins, les méthodes de trichlorure d'aluminium($AlCl_3$) et de la vanilline ont été utilisées, L'analyse de l'ensemble des résultats obtenus montre que l'extrait de dichlorométhane est le plus riche en flavonoïdes et en tanins.

L'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits par le test DPPH, a révélé des réponses inhibitrices à piéger le radical DPPH.

L'ensemble des résultats de ce travail a permis de mieux connaître l'intérêt de l'étude de l'olivier de bohème. Ainsi ces résultats remarquables nous ont encouragés de sélectionner cette plante pour des recherches approfondies à savoir :

- L'étude in vitro et in vivo des autres activités biologiques : enzymatique et anti-inflammatoire....
- L'identification des molécules naturelles responsables de ces activités

Références Bibliographiques

Bibliographie

- Ahmadiani A., Hosseiny J., Semnanian S., Javan M., Saeedi F., Kamelinejad** *angustifolia* L. var *orientalis* (L) Kuntze (Russian Olive). *Fruits Turk J of Botany*, **23**:349-
- Antolovich M., Prenzler D., Patsalides E., McDonald., S Robards .(2002).** *Methods for testing antioxidant activity. Analyst*, **127**, 183-198
- Araújo, M. E. M. (2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food chemistry*, **103**(3), 778-786.
- Askoy A et Sahin U. (1999).** *Elaeagnus angustifolia* L. as a Biomonitor of heavy metal pollution. *Turk.J.Bot*, **23**:83-87.
- Atfeibu E.S.I . (2002).** Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p
- Ayaz .FA et Bertoft E . (2001).** Sugar and phenolic acid composition of stored commercial
- Ayaz F-A., Kadioglu A., Dogru A.(1999).** Soluble sugar composition of *Elaeagnus*
- Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritius* pp 83-94.
- Bailly L-H. (1994).** Standard cyclopaedic of horticulture. Macmillan Co (Ed). London. UK, 12350p
- Bayır, H., Kagan, V. E., Borisenko, G. G., Tyurina, Y. Y., Janesko, K. L., Vagni, V.A., ... & Kochanek, P. M. (2005).** Enhanced oxidative stress in iNOS-deficient mice after traumatic brain injury: support for a neuroprotective role of iNOS. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **25**(6), 673-684.
- Bekker N-P et Glushenkova A.I. (2001).** Components of certain species of the Elaeagnaceae family. *Chemistry of natural compound*, **37** :97-116
- Benhammou, N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. *Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen, Algérie: Thèse de Doctorat*, 30.
- Berger, M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **20** :48-53.
- Boudraa S. (2008).** Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de : *Celtis australis.*, *Crataegus azarolus.*, *Crataegus monogyna* Jacq ., *Elaeagnus angustifolia* L et *Zizyphus lotus*. thèse de Majister .université de Batna,156p
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, **161**(5), 839-851.[3]
- Boussard R., Luissance P. (1984).** Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes .Tec et Doc (Ed), Paris. 600p
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3ème édition, lavoisier, Paris, 1120 p.
- Couplan F.(2000).** Dictionnaire éthymologie de botanique .Nestlé (Ed).Luisane.Paris, 283p.
- Diallo A-M. (2005).** Etude des plantes médicinales de niafunke (region Tombouctou) Phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée).Thèse de Doctorat. Université de Bamako.125p

- Ducros V., Favier A.**, 2004- Métabolisme du sélénium, EMC-Endocrinologie 1.19–28.
- Dzhangaliev A-O ., Salova T-N ., Tuekhanova P-M.** (2003).The wild fruit and plants of kazakstan. *Horicultural Revioes*, **29**:46-52.
- Eboh, A. S. (2014).**Biochemistry of free radicals and oxidants scholars. Academic journal of biosciences (SAJB), 2(2): 110-118.
- Emile P E., Bombard a., Tazief H.** (1997).La nature. Hachette (Ed).Italie,217p.
- Faciola S.** (1990). Cornucopia: a source book of edible plants Kampong Publications,Vista.676p.
- Faciola S.** (1990). Cornucopia: a source book of edible plants Kampong Publications,Vista.676p.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10), 863-832.
- Favier, A. (2006, November).** Stress oxydant et pathologies humaines. In Annalespharmaceutiques françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- Ghestem A., Segun E ., Paris M ., Orecchioni A-M.** (2001).Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273p
- Gloaguen J C.** (1982). Connaitre et reconnaître les arbres et les arbustes des flores et des compagnes, Ouest France (Ed).Rennes,220p.
- Gloaguen J C.** (1982). Connaitre et reconnaître les arbres et les arbustes des flores et des compagnes, Ouest France (Ed).Rennes,220p.
- Goncharova N-P et Glushenkova A-I.** (1997). Extract of *Elaeagnus angustifolia* flowers. *Chemistry of Natural Compounds*, **33(3)** :276-277.
- Goudable J. et Favier A., 1997-** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutr. Clin.Metabol., Vol. 11: 115-20.
- Gupta, S. D. (Ed.). (2010).** Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants.CRC press, 362p.
- Hadi M.** (2004). La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p
- Hosseinzadeh H., Ramezani M., Namjo N .** (2003). Muscle relaxant activity of *Elaeagnus angustifolia*L . fruit seeds in mice .*Journal of ethnopharmacology*.**84**:275-278
- Jacamon M .** (1992). Guide de dendrology.FNGEF (Ed) Nancy, 274p.
- Kémajou, A., Mba, L., & Bagda, A. A. (2012).** Effet du séchage sur les principes actifs des plantes médicinales: cas des alcaloïdes totaux des écorces de *Alstonia boonei* Wild, plante antipaludéenne. *Nature & Technology*, (7), 62.
- Kusova R-D., Luk'ynanchikov M-S.** (1989). Fatty acid Composition of the fruit of *Elaeagnus angustifolia*. *Khimiva prirodnykh Soedinenii*.p846.
- Labbani, P. (2022).** Les composés phénoliques.

- M.,Saremi S.** (2000).Antinociceptive and anti –inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract .*Journal of Ethnopharmacology*, **72**:287-292
- Marfak A.**, (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p
- Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., &**
- Mavlyanov S-M., Abdulladzhanova N-g., Dalimo D-N.** (2003). Polyphenols from certain fruiting plants growing in Uzbekistan. *Chemistry of Natural compounds*. **39**:450-452.
- Meguellati. (2019).** Analyse de la diversité chimique d eTeucrium polium geyrii Maire Du Hoggar par les composés phénoliques et propriétés .
- Oleaster fruits . *Journal of food composition and analysis*, **14**:505-511.
- Peronny S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .151p
- Poletti A.** (1987). Fleurs et Plants médicinales. Tome 1. Delachaux et Niestlé (Ed) Paris. 198p.
- Ramezani M.,Hoseinzadeh H.,Daneshmand N.** (2001).Antinociceptive effect of *Elaeagnus angustifolia* fruit seeds in mice.*Fitoterapia*,**72** :255-262.
- Rol R.**(1965).Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux, Tome4.Essences introduites. Lamaison rustique (Ed).Pris, 95p.
- Saadoudi M.** (2008). Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis.*, *Crataegus azarolus.*, *Crataegus monogyna* Jacq ., *Elaeagnus angustifolia* L et *Zizyphus lotus*.Thèse de Majister .université de Batna.80p.
- Shimizu, H., Kiyohara, Y., Kato, I., Kitazono, T., Tanizaki, Y., Kubo, M., & Iida, M.**(2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, **35**(9), 2072-2077.
- Tesky.**(1992).*Elaeagnus angustifolia*, disponiblesur:<http://issg.org/database/species/Similarspecies.asp>,consulté le 30/05/2007.
- Wanyuan M.** (1998). A study on *Elaeagnus angustifolia* for Fuelwood and Fodder in Arid Zone. *Reasearch Institue of Foresting*, China
- Yang J ., Guo J ., Yuan J.** (2008).In vitro antioxidant properties of rutin .*LWT*, **41**:1060-1066
- Young I. S., Woodside JV. (2001).** Antioxidant in health. *Science*. **54** (3); 176-186.