



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE -EL HADJ LAKHDER -BATNA  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

## MAGISTER

En Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Présenté par

BOUDJELLAL KHAMSSA

## THEME

**Etude de l'activité biologique des extraits  
du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L.**

Devant le jury :

|                             |  |              |
|-----------------------------|--|--------------|
| * M <sup>r</sup> YAHIA M.   | Maître de conférences, université de Batna       | Président    |
| * M <sup>me</sup> HAMBABA L | Maître de conférences, université de Batna       | Rapporteur   |
| * M <sup>me</sup> AMEDAH S. | Maître de conférences, université de Constantine | Examinatrice |
| * M <sup>r</sup> LAROUÏ S.  | Maître de conférences, université de Batna       | Examineur    |

Année Universitaire : 2008/2009

## **Remerciements**

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Aux joyaux de ma vie "mes parents" qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.*

*J'exprime ma profonde gratitude à Mme ROUABAH-HAMBABA LEILA, Maître de conférences à l'Université de Batna qui ma fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail. Ses conseils pertinents m'ont permis de mener à terme ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur YAHIA Mouloud Maître de conférences à l'Université de Batna d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération à Mme AMEDAH Souad Maître de Conférences à l'université de Constantine d'avoir accepté de faire partie du jury.*

*Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Monsieur LAROUI Salah Maître de conférences à la faculté de médecine, Université de Batna d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance à Monsieur ABDEDDAIM Mohamed Maître assistant- chargé de cours à l'université de Batna pour sa contribution à la réalisation de ce travail au niveau de laboratoire de Toxicologie et ses précieux conseils qu'il trouve ici mes sincères remerciements*

*A Monsieur ABERKANE Mohamad Chérif, Maître de Conférences à l'université de Batna, et Monsieur AYACHI Ammar Maître assistant à l'université de Batna  
Qui m'ont accueilli au sein de leurs  
Laboratoires : laboratoire de chimie et phytochimie  
Laboratoire de microbiologie et immunologie  
et qui ont mis à ma disposition les condition matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail tout au long la période de recherche qu'ils ici mon respect et reconnaissance.*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des Figures

Introduction

## Partie I

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre I. Généralités sur l'espèce *Elaeagnus angustifolia* L

|   |   |
|---|---|
| 1. Etymologie.....  | 1 |
| 2. Origine et historique....  | 1 |
| 3. Description botanique...   | 1 |
| 4. Répartition géographique.....  | 2 |
| 5. Place dans la systématique.....  | 3 |
| 6. Composition biochimique du fruit de l'espèce <i>Elaeagnus angustifolia</i> ..... | 4 |
| 6.1. Composition en métabolites primaires.....                                      | 4 |
| 6.2. Composition en métabolites secondaires.....                                    | 6 |
| 7. Propriétés thérapeutiques.....   | 7 |
| 8. Utilisation alimentaire.....   | 9 |
| 9. Autres utilisations .....  | 9 |

#### Chapitre II. Données sur les flavonoïdes et les tanins

|  |    |
|--|----|
| 1. Données sur les flavonoïdes.....                      | 10 |
| 1.1. Définition .....                                    | 10 |
| 1.2. Découverte des flavonoïdes.....                     | 10 |
| 1.3. Structure chimique et classification.....           | 10 |
| 1.4. Distribution et localisation.....                   | 13 |
| 2. Données sur les tanins.....                           | 15 |
| 2.1. Définition.....                                     | 15 |
| 2.2. Structure et classification.....                    | 15 |
| 2.2.1. Tanins hydrolysables.....                         | 15 |
| 2.2.2. Tanins non hydrolysables ou tanins condensés..... | 16 |
| 2.3. Sources végétales des tanins.....                   | 16 |

## **Chapitre III. Activités biologiques des flavonoïdes et des tanins**

|   |    |
|---|----|
| 1. Activité antioxydante.....                   | 17 |
| 2. Activité antimicrobienne.....                | 18 |
| 2.1. Activité antibactérienne.....              | 18 |
| 2.2. Activité antifongique.....                 | 20 |
| 3. Activité antiinflammatoire.....              | 20 |
| 4. Effets antiulcéreux.....                     | 21 |
| 5. Effet anticancéreux.....                     | 21 |
| 6. Propriétés astringente et cicatrisante ..... | 21 |

## **Partie II**

### **Etude Expérimentale**

#### **Chapitre I. Matériel et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| 1. Matériel .....  | 23 |
| 1.1. Choix du matériel végétal.....  | 23 |
| 1.2. Matériel végétal .....  | 23 |
| 1.3. Souches microbiennes utilisées.....   | 24 |
| 1.4. Matériel du laboratoire.....  | 24 |
| 2. Méthodes.....   | 24 |
| 2.1. Détermination de la teneur en eau .....                                     | 24 |
| 2.2. Détermination du taux des cendres.....                                      | 25 |
| 2.3. Préparation des extraits du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> ..... | 25 |
| 2.3.1. Préparation des extraits organiques.....                                  | 25 |
| 2.3.2. Préparation de l'extrait aqueux.....                                      | 26 |
| 2.4. Analyse des extraits du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....     | 27 |
| 2.4.1. Analyse qualitative des extraits du fruit d' <i>E angustifolia</i> .....  | 27 |
| 2.4.1.1. Tests préliminaires.....  | 27 |
| 2.4.1.2. Analyse chromatographiques des extraits du fruit.....                   | 28 |
| 2.4.1.2.1. Chromatographie sur couche mince.....                                 | 28 |
| 2.4.1.2.2. Chromatographie HPLC –RP-C18.....                                     | 29 |
| 2.4.2. Analyse quantitative des extraits du fruit <i>E angustifolia</i> .....    | 29 |
| 2.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....                                      | 29 |
| 2.4.2.2. Dosage des flavonoïdes.....   | 30 |

|   |    |
|---|----|
| 2.4.2.3. Dosage des tanins condensés.....                             | 30 |
| 2.5. Effets des extraits du fruit <i>Elaeagnus angustifolia</i> ..... | 30 |
| 2.5.1. Test de l'activité antimicrobienne.....                        | 30 |
| 2.5.2. Test de l'activité antioxydante.....                           | 31 |
| 2.5.2.1. Test du blanchissement du $\beta$ carotène .....             | 31 |
| 2.5.2.2. Effet scavenger du radical DPPH.....                         | 31 |
| 2.6. Analyses statistiques.....                                       | 32 |

## **Chapitre II. Résultats et discussion**

|   |    |
|---|----|
| 1. Détermination de la teneur en eau du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> ..... | 33 |
| 2. Détermination du taux des cendres.....   | 33 |
| 3. Préparation des extraits à partir du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> ..... | 34 |
| 4. Analyse des extraits du l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....                       | 35 |
| 4.1. Analyse qualitative des extraits de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....         | 35 |
| 4.1.1. Tests préliminaire. ....   | 35 |
| 4.1.2. Analyses chromatographiques.....   | 36 |
| 4.1.2.1. Chromatographie sur couche mince.....  | 36 |
| 4.1.2.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC....                           | 38 |
| 4.2. Analyse quantitative des extraits du l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....        | 42 |
| 4.2.1. Dosage des flavonoïdes et tanins .....   | 42 |
| 4.2.2. Dosage des polyphénols totaux.....   | 44 |
| 5. Effets des extraits du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....               | 46 |
| 5.1. Test de l'activité antimicrobienne.....  | 46 |
| 5.2. Test de l'activité antioxydante.....   | 49 |
| 5.2.1. Test du blanchissement de du $\beta$ -carotène .....                             | 49 |
| 5.2.2. Effet scavenger du radical DPPH .....  | 51 |

## **Conclusion et perspectives**

## **Références bibliographiques**

## Liste des abréviations

**AAR** : Activité antioxydante relative

**ANOVA** : Analyse de variance

**APR** : Pouvoir antiradicalaire

**ATTC** : Collection du type Américain de culture

**BHT**: Butylated hydroxytoluen

**BAW**: n-Butanol/Acide acétique/eau

**CCM**: Chromatographie sur couche mince

**DMSO**: Diméthylsulfoxyde

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

**DSA**: Direction des Services Agricoles

**E**: Elaeagnus

**EAq**: Extrait aqueux

**EC<sub>50</sub>**: Concentration effective à 50%

**EDCM**: Extrait dichlorométhanique

**EEp**: extrait éthérique

**EMet**: Extrait méthanolique

**HPLC**: Chromatographie liquide à haute performance

**IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice à 50%

**Mg EAG/g d'extrait**: milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait

**Mg Ecat/g d'extrait** : milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait

**Mg EQ/g d'extrait** : milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait

**MO** : Matière organique

**MS** : Matière sèche

**PM**: poids moléculaire

**RF** : Rapport frontal

**SD** : Standard déviation

**T<sub>r</sub>** : Temps de rétention

**UV** : Ultraviolet

## Liste des tableaux

| N <sup>o</sup> du tableau | Titre du Tableau   | Page      |
|---------------------------|--|-----------|
| <b>Tableau I.</b>         | Composition en glucides dans le fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .....   | <b>4</b>  |
| <b>Tableau II.</b>        | Contenu des lipides dans la plante <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....   | <b>5</b>  |
| <b>Tableau III.</b>       | Composés séparés de la plante <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....  | <b>6</b>  |
| <b>Tableau IV.</b>        | Le contenu en acides phénoliques du fruit d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....   | <b>6</b>  |
| <b>Tableau V.</b>         | Effet des extraits de la plante vis-à-vis des lésions gastriques induites par l'éthanol chez les rats.....                         | <b>8</b>  |
| <b>Tableau VI.</b>        | Propriétés médicinales de quelques espèces voisines à <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .....  | <b>8</b>  |
| <b>Tableau VII.</b>       | Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe   | <b>13</b> |
| <b>Tableau VIII.</b>      | Sources alimentaires des flavonoïdes.....  | <b>14</b> |
| <b>Tableau IX.</b>        | Teneur en eau dans la pulpe du fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .....  | <b>33</b> |
| <b>Tableau X.</b>         | Taux des cendres dans le fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .....  | <b>33</b> |
| <b>Tableau XI.</b>        | Aspects, couleurs et rendements des extraits de la pulpe d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> par différents solvants.....             | <b>34</b> |
| <b>Tableau XII.</b>       | Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits du fruit <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....               | <b>35</b> |
| <b>Tableau XIII.</b>      | Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique du fruit <i>E.angustifolia</i> dans le système BAW..... | <b>36</b> |
| <b>Tableau XIV.</b>       | Temps de rétention des standards testés.....   | <b>38</b> |
| <b>Tableau XV.</b>        | teneurs des flavonoïdes et tanins dans les extraits du fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .....                              | <b>42</b> |
| <b>Tableau XVI.</b>       | Teneur des polyphénols totaux dans la pulpe du fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .....                                      | <b>44</b> |
| <b>Tableau XVII.</b>      | Résultats de l'activité antimicrobienne du fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> .  | <b>47</b> |
| <b>Tableau XVIII.</b>     | Activité antiradicalaire des extraits du fruit de <i>l'Elaeagnus angustifolia</i> ....   | <b>52</b> |

## Liste des figures

| N° de figure      | Titres des figures   | Page |
|-------------------|--|------|
| <b>Figure 1.</b>  | Fleurs de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....   | 2    |
| <b>Figure 2.</b>  | Fruits et feuilles de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....   | 2    |
| <b>Figure 3.</b>  | Répartition de l'olivier de Bohème dans la région des Aurès  | 3    |
| <b>Figure 4.</b>  | Squelette de base des flavonoïdes.....   | 11   |
| <b>Figure 5.</b>  | Structure chimique de la quercétine .....  | 11   |
| <b>Figure 6.</b>  | Structure chimique de la catéchine.....  | 11   |
| <b>Figure 7.</b>  | Structure chimique de la rutine.....   | 11   |
| <b>Figure 8.</b>  | Structure des tanins hydrolysables.....  | 15   |
| <b>Figure 9.</b>  | Structure des tanins condensés.....  | 16   |
| <b>Figure 10.</b> | Structure de la paroi bactérienne.....   | 19   |
| <b>Figure 11.</b> | Différents parties du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....  | 23   |
| <b>Figure 12.</b> | Extraction par polarité croissante de la poudre de fruit <i>E. angustifolia</i> .....  | 26   |
| <b>Figure 13.</b> | Extraction aqueuse de la poudre du fruit <i>Elaeagnus angustifolia</i>   | 27   |
| <b>Figure 14.</b> | Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique sous la lampe 254nm .....   | 37   |
| <b>Figure 15.</b> | Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique de fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....                          | 37   |
| <b>Figure 16.</b> | Chromatographie sur couche mince des extraits (éther de pétrole dichlorométhane) du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....    | 38   |
| <b>Figure 17.</b> | Chromatogrammes des différents standards testés dans l'HPLC.   | 39   |
| <b>Figure 18.</b> | Profil chromatographique de l'extrait étherique (0,02g/ml) du fruit de <i>L'Elaeagnus angustifolia</i> analysé par HPLC shimadzu...    | 40   |
| <b>Figure 19.</b> | Profil chromatographique de l'extrait méthanolique du fruit de <i>L'Elaeagnus angustifolia</i> analysé par HPLC shimadzu.....          | 40   |
| <b>Figure 20.</b> | Profil chromatographique de l'extrait aqueux (0,03g/ml) du fruit de l' <i>Elaeagnus angustifolia</i> analysé par HPLC shimadzu.....    | 40   |
| <b>Figure 21.</b> | Profil chromatographique de l'extrait méthanolique(0,05g/ml) du fruit de <i>L'Elaeagnus angustifolia</i> analysé par HPLCshimadzu..... | 41   |
| <b>Figure 22.</b> | Profil chromatographique de l'extrait dichloromethanique du fruit de <i>L'Elaeagnus angustifolia</i> analysé par HPLC shimadzu...      | 41   |
| <b>Figure 23.</b> | Courbe d'étalonnage de la quercétine.....  | 43   |
| <b>Figure 24.</b> | Courbe d'étalonnage de la catéchine.....   | 43   |

|                   |  |           |
|-------------------|--|-----------|
| <b>Figure 25.</b> | Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....   | <b>45</b> |
| <b>Figure 26.</b> | Zones d'inhibition des extraits étherique et dichlorométhanique sur <i>S aureus P aeruginosa</i> .....   | <b>48</b> |
| <b>Figure 27.</b> | Désactivation des radicaux libres lipidiques R <sup>•</sup> par les groupes phénols des antioxydants.....                                      | <b>50</b> |
| <b>Figure 28.</b> | Cinétique de blanchissement du β-carotène à 490 nm et en présence des extraits d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> .du BHT.....                   | <b>50</b> |
| <b>Figure 29.</b> | Activité antioxydante relative des extraits du fruit d' <i>Elaeagnus angustifolia</i> , du BHT dans le système carotène /acide linoléique..... | <b>51</b> |
| <b>Figure 30.</b> | Réaction d'un antioxydant avec le DPPH.....  | <b>51</b> |
| <b>Figure 31.</b> | Activité antiradicalaire des standards la quercétine , le BHT .....  | <b>53</b> |
| <b>Figure 32.</b> | Activité antiradicalaire des extraits polaires du fruit <i>Elaeagnus Angustifolia</i> .....  | <b>54</b> |
| <b>Figure 33.</b> | Activité antiradicalaire des extraits apolaires du fruit <i>Elaeagnus angustifolia</i> .....   | <b>54</b> |
| <b>Figure 34.</b> | Corrélation linéaire entre le pouvoir antiradicalaire et le pourcentage de l'activité antioxydante relative ( $p \leq 0,05$ ).....             | <b>55</b> |

## Introduction

A l'origine, la nature constituée d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux hommes peuplant la terre. Mais à coté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvre 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.

L'homme est toujours émerveillé par la beauté de leurs couleurs, la forme de leurs fleurs ou de leurs fruits. Il les considère comme des compagnes fidèles vers lesquelles il se retourne en raison des bienfaits qu'elles procurent et pour leur grande utilité, ce sont de vraies panacées et de véritables pharmacies naturelles (Beloued, 1998).

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il est difficile de définir les molécules responsables de l'action pharmacologique (Bahorun, 1997).

Actuellement plus de 80 % de la population africaine ont recours aux drogues faites essentiellement de matières végétales qui poussent autour de leur ville. En plus dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes et 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle (Diallo, 2005).

Pour le besoin de la présente étude, nous avons choisi l'*Elaeagnus angustifolia* parmi les plantes médicinales 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 médicinale sont utilisés traditionnellement contre une multitude de maux et notamment comme antipyrétique, anti-neuronociceptive et anti-diarrhéique.

Les études récentes soulignent des propriétés curatives (anti-inflammatoire, anti-ulcérogénique) (Ahmadiani et al., 2000 ;Gürbüz et al., 2003)

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance de cette plante médicinale de la région des Aurès et de découvrir certains constituants chimiques et l'étude de certaines activités biologiques de ce fruit et l'utilisation des extraits naturels à la place des antibiotiques.

Dans cette présente étude, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Ø Analyses qualitative et quantitative du contenu en polyphénols, flavonoïdes et tanins des différents extraits aqueux et organiques du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*,
- Ø Etude de l'activité antimicrobienne des différents extraits de ce fruit.
- Ø Etude du pouvoir antioxydant des différents extraits.

# **Partie I**

Synthèse bibliographique

# Chapitre I

Généralités sur l'espèce *Elaeagnus angustifolia* L.

## 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 *elaegnos*, le saule (Jacamon, 1992).

*Elaeagnus*, nom de genre du chalef ou de l'olivier de Bohême (*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 Bohême 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 Bohême 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 Bohême 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 chaire 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)

*Elaeagnus angustifolia* est une espèce strictement calcifuge, qui supporte bien la sécheresse mais peut souffrir des grands froids (Brosse ,2000).



**Figure 1.** Fleurs de l'*Elaeagnus angustifolia* (Muzuka, 2005)



**Figure 2.** Fruits et feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia* (Muzuka, 2005)

#### 4. Répartition géographique

##### 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 es Asie (Japon, Chine), en Amérique du Nord (Etats-Unis) et dans le bassin méditerranéenne, 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.

##### En Algérie

En Algérie, l'*Elaeagnus angustifolia* est subspontané et cultivé comme un ornement des bords des routes (Somon ,1985). L'olivier de Bohème 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).

**Dans les Aurès**

L'olivier de Bohème est subspontané suivant les régions qui sont portées sur la carte : Ain –Touta, Barika, Tazoult et Ouled – Fedhalah. Il est utilisé spécialement comme brise, clôture de jardin et de fermes (DSA, 2004).

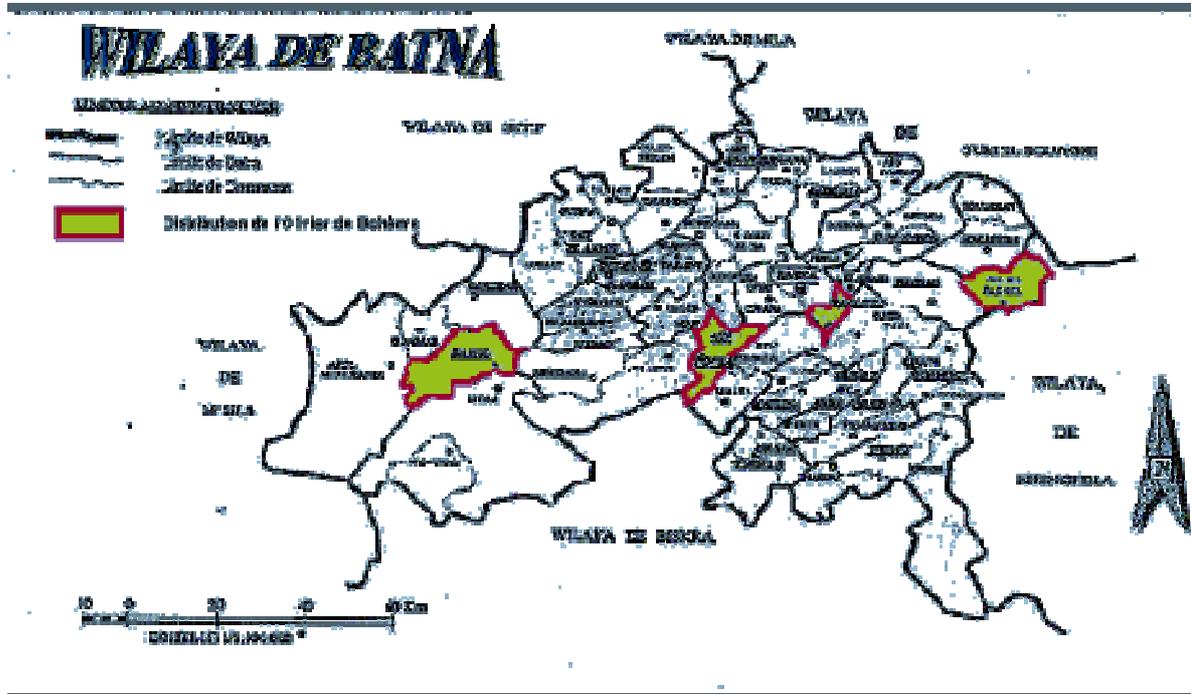


Figure 3 .Répartition de l'olivier de Bohème dans la région des Aurès (DSA, 2004)

**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. Composition biochimique du fruit de l'espèce *Elaeagnus angustifolia*

### 6.1. Composition en métabolites primaires

#### 6.1.1. Glucides

En Turquie, une étude est menée pour quantifier par HPLC et identifier par chromatographie en phase gazeuse des sucres solubles et montre que les sucres prédominants quantifiés sont le fructose (27,1% MS) et le glucose (22,3%MS) alors que le saccharose n'est pas détecté (Ayaz et Bertoft, ,2001).

**Tableau I.** Composition en glucides dans le fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* (Ayaz et Bertoft, 2001)

| Glucides   | La concentration par rapport 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 peut atteindre 10, 6% (Dzhangaliev et al, 2003).

Une étude menée sur les protéines et les d'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 Kusova et Luk 'yanchikova(1989),Goncharova et Glushenkova(1996), Goncharova et Glushenkova (1997), le fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* renferme les acides gras suivants : l'acide palmitique C<sub>16</sub> :0 (4,4%) l'acide palmitoléique C<sub>16</sub> :1(1,9%), l'acide linoléique C<sub>18</sub> :3 (12,2%), l'acide stéarique C<sub>18</sub> :0 (1,4%) et l'acide linoléique C<sub>18</sub> :2 (52,2%).

Le contenu en lipides dans les différents organes de l'*Elaeagnus angustifolia* est représenté dans le tableau suivant.

**Tableau II.** 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                           |

Les graines de l'espèce *Elaeagnus angustifolia* renferment sept constituants : phosphatidylcholine (52,1%), phosphatidyléthanolamine (16,4%), phosphatidylinositol (19,2%), phosphatidyl acides (3,5%), N-acyl-phosphatidyléthanolamine (1,7%) lyso -N-acyl-phosphatidyléthanolamine (3,2) et 3,9% non identifiés.

Le péricarpe du fruit contient trois phospholipides : phosphatidylcholine (45,8%) phosphatidyléthanolamine (25%) et phosphatidylinositol (29,2%) (Bekker et Glushenkova ,2001).

#### 6.1.4. Vitamines et éléments minéraux

La composante vitaminique n'est pas négligeable, le fruit contient de l'acide L-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 6,98 mg/100g, 0,52mg/100g et 0,59mg/100g respectivement. Il contient dans sa partie charnue de la vit A et la vit 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 III.** Composés séparés de la plante *Elaeagnus angustifolia* .

(Extrait de Bekker et GlushenKova, 2001)

| Type de molécules          | Nom des composés  | Organe             |
|----------------------------|---|--------------------|
| Catéchols                  | (+) - Catechol<br>(-) epicatechol                             | L'écorce           |
| Acides phénolcarboxyliques | -acide caféique<br>-acide neochlorogenique<br>-acide gallique | Feuilles et fruits |
| Flavonoïdes                | Isorhamnetin (3, 5, 7, 4- tetrahydroxy<br>-3 -methoxyflavone) | Fruits             |
| Flavones                   | isorhamnetin-3-0-B-D-galactopyranoside<br>chrysin             | Fruits             |
| Huile essentielle          | trans-éthylcinnamate<br>78,88%                                | Fleurs             |
| vitamines liposolubles     | Caroténoïdes 9,8 mg /100g<br>Tocophérols 36,5 mg/100g         | Fruits             |

**Tableau IV.** 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 caféique            | 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, terpénoïdes 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).

Les résultats d'une partie de cette étude sont représentés par le **tableau V**

**Tableau V.** Effet des extraits de la plante vis-à-vis des lésions gastriques induites par l'éthanol chez les rats ( Gürbüz et al., 2003).

| La plante végétale                     | type de l'extrait | Dose (mg/kg) | Index Ulcère (moyenne±E.M.S) | Prévention contre ulcère | Inhibition (%) |
|--|-------------------|--------------|------------------------------|--------------------------|----------------|
| Contrôle                               |                   | -            | 228,6 ± 8,4                  | -                        | -              |
| <i>Elaeagnus angustifolia</i> (fruits) | MeOH              | 3150         | 1,4 ± 1,4*                   | 5/6                      | 99,4           |
| <i>Hibiscus esculentus</i> (fruits)    | MeOH              | 1030         | 9,7 ± 3,4*                   | 2/6                      | 95,8           |
| <i>Papaver rhoeas</i> (racines)        | MeOH              | 670          | 10,1 ± 6,7*                  | 4/6                      | 95,6           |
| <i>Phlomis grandiflora</i> (feuilles)  | H <sub>2</sub> O  | 2670         | 0,0 ± 0,0*                   | 6/6                      | 100,0          |
| <i>Phlomis grandiflora</i> (feuilles)  | MeOH              | 2410         | 1,8 ± 1,3*                   | 4/6                      | 99,2           |
| <i>Rosa canina</i> (fruits)            | H <sub>2</sub> O  | 2070         | 0,0 ± 0,0*                   | 6/6                      | 100,0          |

En France, cette espèce est utilisée pour le traitement de l'insomnie. La fonction cardiaque est améliorée par l'inhalation de l'huile essentielle de ses fleurs (Bekker et GlushenKova, 2001).

Le **tableau VI** montre l'intérêt thérapeutique des différentes espèces appartenant au genre *Elaeagnus*.

**Tableau VI.** Propriétés médicinales de quelques espèces voisines à *Elaeagnus angustifolia*.

| L'espèce                      | Propriétés médicinales                             | Références                 |
|-------------------------------|--|----------------------------|
| <i>Elaeagnus umbellata</i>    | Activité antibactérienne                           | (Sabir et al., 2004)       |
|                               | propriétés anti cancer et activité anti oxydante.  | (Wang et al., 2007)        |
| <i>Elaeagnus glabra</i>       | Activité antibactérienne due aux epigallocathechin | (Mori et al, 1987)         |
| <i>Elaeagnus philippinsis</i> | Traitement de la dysenterie amibienne.             | (Hosseinzadah et al.,2003) |
| <i>Elaeagnus multiflora</i>   | Activité antioxydante et anti inflammatoire        | (Lee et al., 2007)         |

**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 "Turquie".

# **Chapitre II**

Données sur les flavonoïdes et les tanins

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, notamment le 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 polyphénoliques, on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes et les tanins.

## **1. Données sur les flavonoïdes**

### **1.1. Définition**

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).

### **1.2. Découverte des flavonoïdes**

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes, date de la découverte de la vitamine C à la suite des travaux de Szent Gyorgyi (prix Nobel, 1937) (Marfak, 2003), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou de jus de citron riche en vitamine C et des flavonoïdes (Marfak, 2003 ; Hadi, 2004). Alors que l'acide ascorbique seul est inefficace. Les analyses chimiques ont montré que la fraction active était de nature flavonoïque (Hadi, 2004). Cette action des flavonoïdes sur la perméabilité vasculaire a été appelée propriété vitaminique p (p étant la première lettre du mot perméabilité) (Marfak, 2003 ; Hadi, 2004).

### **1.3. Structure chimique et classification**

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés et isolés à partir des milliers des espèces végétales (Forkmann et al., 2001 ; Yanez et al., 2007) et possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones constitué de deux cycles en C<sub>6</sub> (A et B) reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (**figure 4**) (Bruneton, 1999)

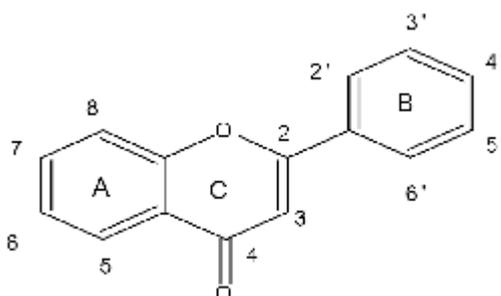


Figure 4. Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

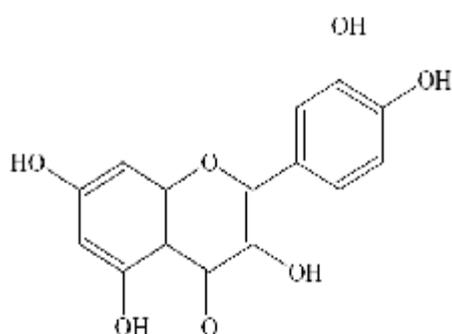


Figure 5. Structure chimique de la quercétine

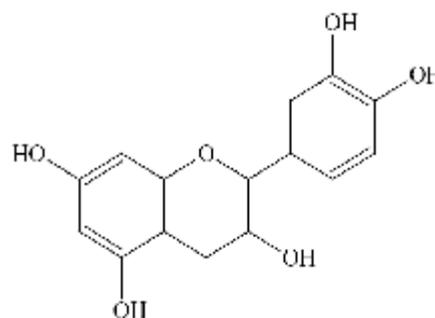


Figure 6. Structure chimique de la catéchine

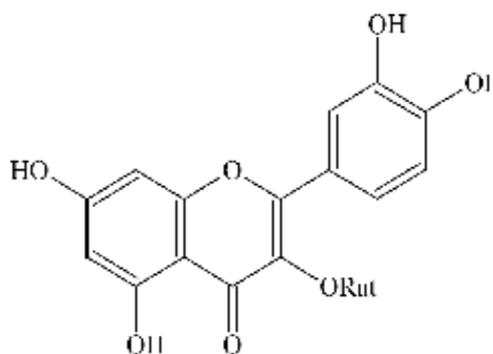


Figure 7. Structure chimique de la rutine (Bruneton, 1999)

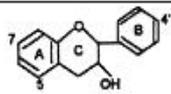
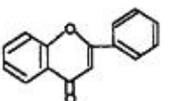
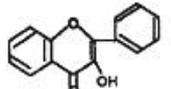
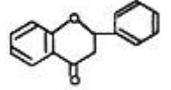
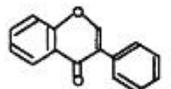
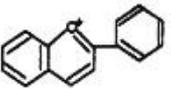
A l'état naturel, on trouve très souvent des flavonoïdes sous forme d'hétérosides (Marfak, 2003, Ghestem et al., 2001). C'est-à dire des dérivés de génines sur lesquelles un ou plusieurs oses sont greffés (Hadi, 2004).

Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont :

- Flavones,
- Flavonols,
- Flavanones,
- Dihydroflavonols, Isoflavones,
- Isoflavon,
- Flavanes,
- Flavanols et anthocyanines.

De plus, le noyau pyranique central peut être ouvert (chalcones) et recyclisé en un noyau furanique (aurones) (Bruneton, 1999 ;Marfak, 2003 ;Skerget et al.,2005).

**Tableau VII.** Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe (D'après Heim et al., 2002)

| Classe                    | structure générale  | flavonoïdes typiques  | Substituants   |
|---------------------------|---|---|--|
| Flavanol                  |    | (+)-catechin<br>(-)-epicatechin<br>Epigallocatechin gallate         | 3,5,7,3',4'-OH<br>3,5,7,3',4'-OH<br>3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate  |
| Flavone                   |    | chrysin<br>apigenin<br>rutin<br><br>luteolin<br>luteolin glucosides | 5,7-OH<br>5,7,4'-OH<br>5,7,3',4'-OH, 3-rutinoses<br><br>5,7,3',4'-OH<br>5,7,3'-OH, 4'-glucose<br>5,4'-OH, 4',7-glucose |
| Flavonol                  |    | kaempferol<br><br>quercetin   | 3,5,7,4'-OH<br><br>3,5,7,3',4'-OH  |
|                           |   | myricetin<br>tamarixetin  | 3,5,7,3',4',5'-OH<br>3,5,7,3'-OH,4'-OMe  |
| Flavanone (dihydroflavon) |  | naringin<br>naringenin<br>taxifolin<br>eriodictyol<br>hesperidin    | 5,4'-OH,7-rhamnoglucose<br>5,7,4'-OH<br>3,5,7,3',4'-OH<br>5,7,3',4'-OH<br>3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoses                |
| Isoflavone                |  | genistin<br>genistein<br>daidzin<br>daidzein                        | 5,4'-OH, 7-glucose<br>5,7,4'-OH<br>4'-OH, 7-glucose<br>7,4'-OH   |
| Anthocyanidin             |  | apigenidin<br>cyanidin  | 5,7,4'-OH<br>3,5,7,4'-OH,3,5-OMe   |

#### 1.4. Distribution et localisation

Selon Hadi (2004), les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal, ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. Par contre, ils sont rencontrés en abondance dans les familles suivantes :

- Polygonacees
- Rutacees
- Legumineuses
- Apiacees
- Asteracees

D'ailleurs, ils sont largement abondants dans les légumes à feuilles (salade, choux, épinards etc.) ainsi que dans les téguments externes des fruits (Marfak, 2003).

Récemment de nombreux travaux ont montré que les fruits, les légumes, le thé, le soja constituent les sources alimentaires des flavonoïdes les plus étudiées (Gervais, 2001 ; Pelli et Lyly ., 2003 ;Cabrera et al.,2007 ). D'après Pelli et Lyly (2003), les colorants des baies fortement colorées telles que les baies rouges, les myrtilles et le cassis, sont des flavonoïdes appelés anthocyanes. Ils peuvent jouer un rôle dans la prévention des cardiopathies.

Les Flavanones ont été aussi reportés en tomates, cacahouète et certaines herbes comme le menthe, le thym (Yanez et al.,2007).

Dans une recherche faite par Gervais (2001), il a été estimé que la consommation actuelle de flavonoïdes dans l'alimentation nord – américaine serait de 10 à 100 mg par jour. Les principales sources sont le thé, les oignons, les pommes et les agrumes.

Le tableau suivant regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

**Tableau VIII.** Sources alimentaires des flavonoïdes (Marfak, 2003).

| <b>Flavonoïdes</b>    | <b>Aliments</b>                |
|-----------------------|--------------------------------|
| <b>Flavanones</b>     |                                |
| naringénine           | fruits du genre citrus         |
| <b>flavones</b>       |                                |
| chrysin               | -peau des fruits               |
| apigénine             | -persil, thym, romarin, céleri |
| lutéoline             | -persil                        |
| <b>flavonols</b>      |                                |
| kaempférol            | -radis, brocoli, thé noir      |
| quercétine            | -oignon, pomme, olive, tomate  |
| myricétine            | -canneberge                    |
| <b>Flavan-3-ols</b>   |                                |
| épicatéchine          | -Thé vert, thé noir            |
| catéchine             | -Thé vert. Thé noir            |
| <b>Anthocyanidols</b> |                                |
| cyanidol              | Cassis, myrtilles              |
| malvidol              | Raisin, fraises, cassis        |
| apigénidol            | Framboises, fraise             |

Le monde animal est lui aussi concerné par les flavonoïdes : la chrysin, la quercétine et la galangine se trouvent dans la propolis des abeilles. Ces insectes les synthétisent à partir des sécrétions de bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau, le sapin et les modifient grâce à leurs enzymes salivaires (Marfak, 2003).

En ce qui concerne la localisation, selon Hadi (2004), les flavonoïdes sous forme d'hétérosides au niveau cellulaire sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisé dans les

chloroplastes et les membranes des végétaux. De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique.

En effet, les flavonoïdes se répartissent volontiers dans les organes aériens jeunes (boutons floraux, jeunes feuilles) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (Hadi, 2004).

## 2. Données sur les tanins

### 2.1. 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).

### 2.2. Structure et classification

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

#### 2.2.1. 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).

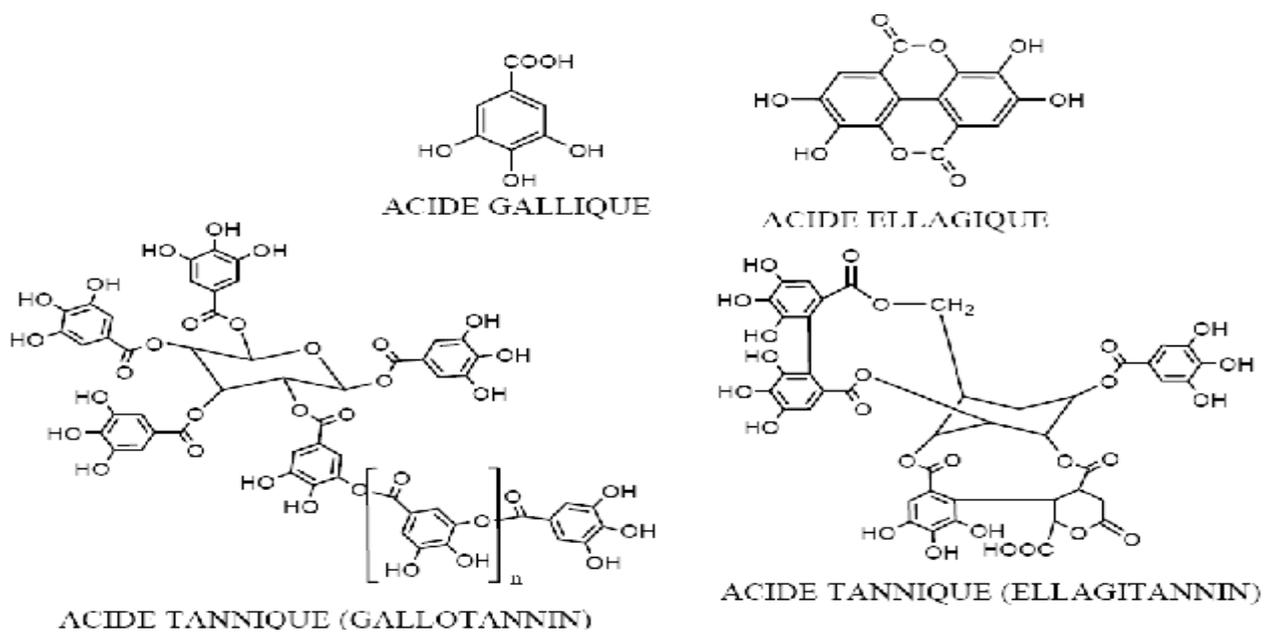


Figure 8. Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

### 2.2.2. Tanins non hydrolysables ou tanins condensés

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'acides 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).

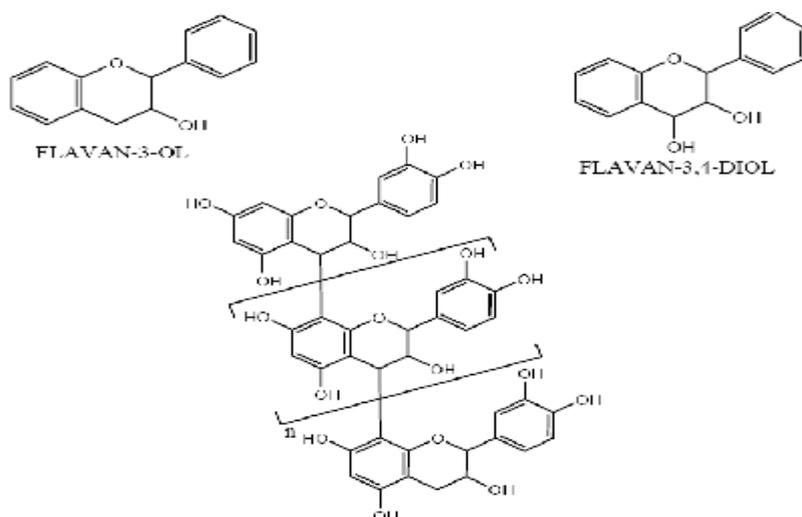


Figure 9. Structure des tanins condensés (Bruneton, 1999)

### 2.3. Sources végétales des tanins

Les tanins sont particulièrement abondants chez les conifères, les Fagaceae, les Rosaceae. (Ghestem et al., 2001). On les trouve dans de nombreuses plantes utilisées dans l'alimentation, notamment les céréales et les légumineuses (orge, haricots secs, petits pois, caroube, sorgho) (Peronny, 2005).

Parmi les fruits riches en tanins sont le cassis, la myrtille, le raisin, la canneberge et la fraise ayant des teneurs maximales observées entre 1,2% et 0,2% du poids frais (Bravo, 1998). Selon (Ghestem, 2001), tous les organes végétaux peuvent en renfermer (racines, écorces, feuilles) mais on note fréquemment une accumulation dans les organes âgés.

# **Chapitre III**

Activités biologiques des flavonoïdes et des tanins

Les produits végétaux sont particulièrement riches en métabolites secondaires qui peuvent exercer des rôles biologiques divers. De nombreuses enquêtes épidémiologiques ont mis en évidence un effet préventif des fruits et légumes vis-à-vis de l'apparition de pathologies majeures.

Les polyphénols et notamment les flavonoïdes et les tanins constituent une des classes des micronutriments les plus abondantes.

Ces composées sont particulièrement intéressantes à étudier parce qu'elles présentent des propriétés biologiques variées telles que :

### **1. Activité antioxydante**

La majorité des auteurs admis aujourd'hui, en l'absence de preuves absolues, l'hypothèse selon laquelle les radicaux libres ont une part de responsabilité dans la genèse des lésions athéromateuses, dans l'apparition de certains cancers ou dans les dégénérescences nerveuses (Bruneton, 1999).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe. La présence d'un électron célibataire leur confère une grande réactivité (Halliwell et Whiteman, 2004).

D'après Dacosta (2003), les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) ; le radical hydroxyle  $OH^{\cdot}$  ; le radical alcoyle ( $RO^{\cdot}$ ) ; l'oxyde nitrique ( $NO^{\cdot}$ ) et le radical hydroperoxyde  $HOO^{\cdot}$

Il existe des mécanismes de défense cellulaires qui détruisent les radicaux oxygénés (peroxydases cellulaires) ou qui piègent les radicaux libres (molécules antioxydantes).

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Mohammedi, 2006).

Ces dernières années, les épidémiologistes ont attiré notre attention sur le rôle des antioxydants présents dans notre alimentation est leur implication dans la prévention de certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives ou encore certains types de cancer (Soulet et al., 2001).

Des études récentes ont montré que les flavonoïdes sont capables de piéger de nombreuses espèces oxydatives comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), le radical peroxy ( $ROO^{\cdot}$ ) ou encore l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Girotti-Chanu, 2006).

Des chercheurs ont montré que les composés possédant un groupement carbonyle en C<sub>4</sub> et une double liaison entre les carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> sont les flavonoïdes dont les activités antioxydantes sont les plus marquées (Picman et al., 1995; Girotti, -Chanu, 2006).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité à piéger les radicaux libres (Marfak, 2003). Leur intérêt comme antioxydants se manifeste également dans le domaine de la protection contre le stress photooxydant cutané induit par l'exposition aux rayons solaires (Mekiou, 2004).

Des essais *in vitro* sur différents tanins extraits de thé montrent que les activités antioxydantes varient selon les composés, le plus efficace parmi les tanins extraits étant un tanin hydrolysable (Hashimoto et al., 2003).

Selon (Bruneton, 1999), les tanins hydrolysables sont des piègeurs de radicaux libres et de l'ion superoxyde. Les tanins hydrolysables procyanidines présentent des propriétés antioxydantes remarquables. Ils inhibent également l'autooxydation de l'acide ascorbique et de linoléate ; et la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Ces tanins sont de très bons capteurs des radicaux libres, ils sont donneurs des protons aux radicaux lipidiques produits lors de la peroxydation d'où la formation des radicaux tanniques plus stables (Wen-Rebaba, 2002).

## **2. Activités antimicrobiennes**

L'activité antimicrobienne a été attribuée à la fonction phénolique des flavonoïdes, cette activité est sensée augmenter avec le nombre de substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucosyle. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones (Picman et al., 1995).

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (Bruneton, 1999 ; Peronny ,2005), dans les infections pulmonaires ils agissent grâce à une action inhibitrice sur la croissance microbienne (Atefeibu, 2002).

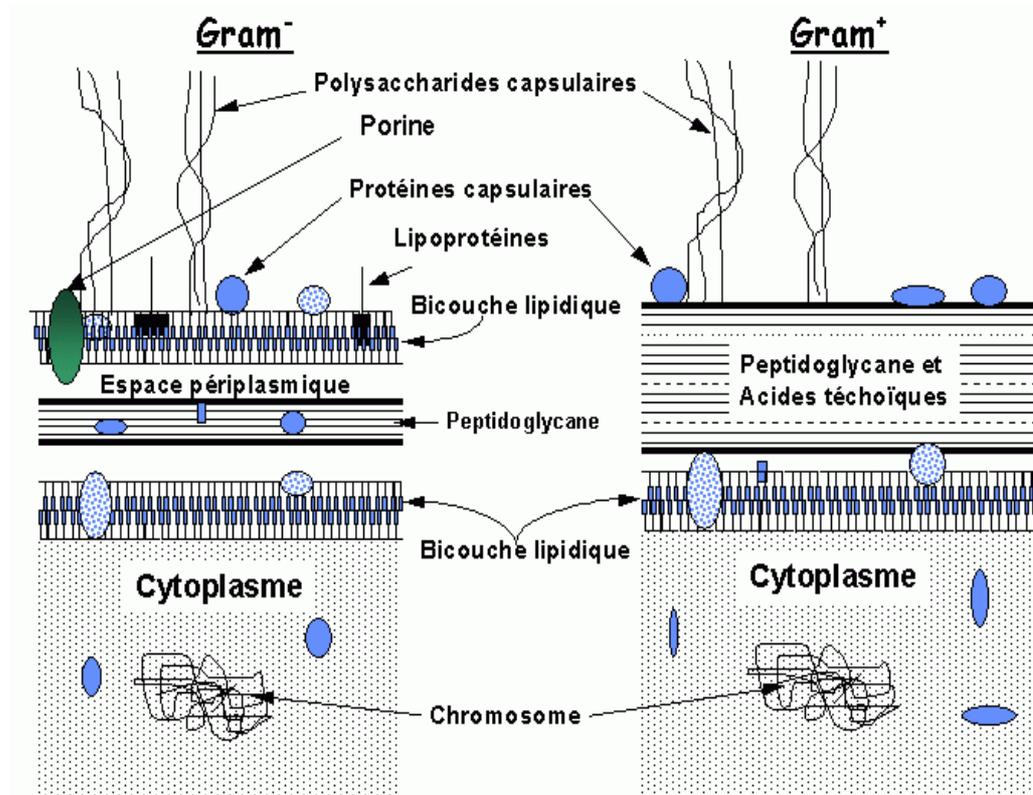
### **2-1. Activité antibactérienne**

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisés par une absence de noyau et d'organites. La plupart des bactéries possèdent une paroi glucidique, le peptidoglycane. Il existe cependant de nombreuses espèces pathogènes à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la tuberculose... (Nauciel, 2000).

Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (gram positif et gram négatif) basés sur la différence de la structure de la composition chimique de la paroi cellulaire (**Figure10**). Parmi les gram positives, une espèce *Staphylococcus aureus* tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales. Alors que pour les gram négatives, on rencontre les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

- *E coli* est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires, elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers.

- *Pseudomonas aeruginosa* se caractérise par la pigmentation bleu verte de ses colonies et possède une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques (Nauciel, 2000).



**Figure 10.** Structure de la paroi bactérienne (Corvec, 2009).

Des substances telles que les flavonoïdes et les tanins possèdent une activité antibactérienne confirmée.

Les tanins galloylés ont montré un grand spectre d'activité antibactérienne (De Bruyne et al., 1999). Par ailleurs, l'activité bactériostatique de ces molécules a été également rapportée sur différentes bactéries ; *Bacillus anthracis*, *B.subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium bolulinum* (Chung et al., 1998).

D'après Hadi (2004), les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase.

L'activité antibactérienne de l'espèce *Elaeagnus glabra* est due à la présence d'un flavonoïde Epigallocatechine qui a une forte activité sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Proteus vulgaris* (Mori et al., 1987).

### **2-2. Activité antifongique**

Les champignons sont des végétaux dépourvus de chlorophylle, devant trouver leur carbone dans les composés organiques, ce qui conditionne souvent les circonstances de leur vie saprophytique ou parasitaire. En fonction de leur habitat, les champignons sont répartis en deux groupes : les endogènes et les exogènes.

Les champignons endogènes sont représentés essentiellement par *Candida albicans*, cette levure vit normalement et de façon exclusive dans le tube digestif de l'homme et de certains animaux (Lysette Bossokpi, 2003).

L'activité antifongique des tanins a été démontré notamment contre les souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Penicillium species*, *Colletotrichum graminicola* (Chung et al., 1998).

### **3. Activité anti –inflammatoire**

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (Hadi, 2004). Les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes.

Par ailleurs, l'acide arachidonique peut être métabolisé par la voie de la lipooxygénase pour aboutir à la formation de leucotriènes et par la voie de la cyclooxygénase pour produire des thromboxanes et des prostaglandines, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoire (Marfak, 2003 ; Girotti-Chanu, 2006). Plusieurs flavonoïdes (le crisiliol et la baicaléine) sont de puissants inhibiteurs de la 5- lipoxygénase et donc la production des leucotriènes ( Bruneton, 1999 ; Girotti-Chanu, 2006).

D'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (Hadi, 2004).

Il a montré que les flavonoïdes inhibent également l'adhésion et l'agrégation plaquettaire en augmentant les taux intracellulaires en AMP<sub>c</sub> à la suite d'une inhibition de phosphodiésterases (Hadi, 2004).

#### **4. Effets antiulcéreux**

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la narangénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques (Marfak, 2003 ; Pelli et Lyly ., 2003 ).

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcéreuses de la quercétine, narangénine, rutine et kaempférol et la production du PAF (Platelet Activating factor) qui est un agent ulcérogène potentiel (Marfak, 2003).

#### **5. Effets anticancéreux**

Des études réalisées in vitro et in vivo suggèrent que les flavonoïdes agissent à tous les stades de la cancérogénèse (initiation, promotion, progression).

Ils inhibent la croissance de lignées cellulaires cancéreuses en interférant avec les mécanismes de transduction des signaux mitogènes (Curtay et Robin ; 2000).

Dans une recherche récente, la quercétine est capable de diminuer chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par la NMU (N-nitrosométhylurée) (Hadi, 2004).

De plus, plusieurs études ont montré que les polyphénols de thé vert sont particulièrement remarquables parce qu'ils protègent des cancers à tous les stades.

Les buveurs réguliers de thé vert réduisent leur risque de cancer de l'œsophage de 60%, même les fumeurs japonais qui boivent du thé vert réduisent leur risque de cancer du poumon de 45%, ce qui expliquerait que le Japon présente à la fois le plus fort pourcentage de fumeurs du monde développé et le plus faible taux de cancers du poumon (Curtay et Robin., 2000)

En effet, de nombreuses enquêtes épidémiologiques attribuent un effet préventif très important à la consommation des fruits et des légumes, riches en ces composés pour divers cancers (poumons, prostate) (Curtay et Robin., 2000 ; Gervais, 2001 ; Pelli et Lyly ., 2003 ).

Les oligomères proanthocyanidines ont montré une activité antivirale contre le virus syncytial respiratoire (RSV), le virus de l'influenza A et l'hépatite A et B (Chung et al., 1998).

La fixation des tanins sur les protéines de la paroi virale inhibe la pénétration de ces protéines virales à l'intérieur de la cellule hôte (Chung et al., 1998).

#### **6. Propriétés astringente et cicatrisante**

Les tanins sont appliqués sur les muqueuses et la peau, ils se produisent une sorte de tannage, ils s'y ajoutent une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux ; cette propriété explique leur emploi dans les hémorroïdes et les blessures superficielles (Atefeibu ,2002).

Les tanins sont utilisés en dermatopharmacie, comme toniques astringents (Ghestem et al.,2001).

Par voie interne, les tanins exercent un effet anti diarrhéique certain quelle que soit la voie d'administration (Bruneton, 1999).

# **Partie II**

Etude Expérimentale

# **Chapitre I**

Matériel et méthodes

## Chapitre I. Matériel et méthodes

### 1. Matériel

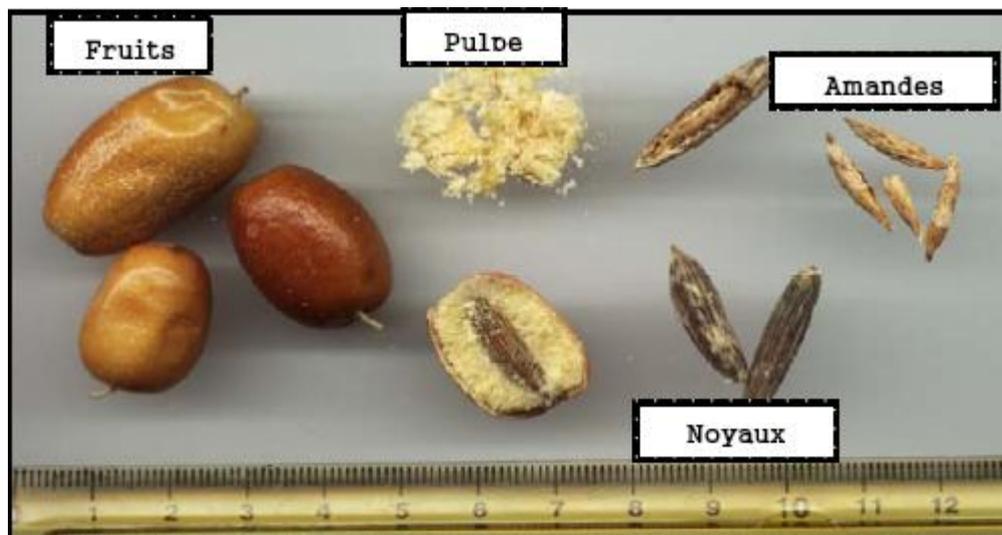


Figure 11. Différentes parties du fruit de l' *Elaeagnus angustifolia* L

#### 1.1. Choix du matériel végétal

Le choix du matériel végétal a obéi à des considérations bibliographiques tout à bord, qui ont montré une chimio-diversité remarquable de cette espèce à travers des travaux effectués sur des échantillons provenant d'Iran, Ouzbékistan et Turquie.

Nous avons voulu, pour notre part, apporter une contribution à cette chimiodiversité par l'étude de la variété Algérienne. Le deuxième critère de choix se rattache aux vertus médicinales de cette plante.

#### 1.2. Matériel végétal

Il est constitué des fruits de l'*Elaeagnus angustifolia* L. récoltés des régions de Batna en septembre- octobre 2007. Après avoir déterminé la teneur en eau, les fruits sont d'abord dénoyautés, en suite la partie comestible a été séchée à l'ombre, à l'abri de la lumière et à température ambiante.

Après séchage, la partie comestible a été broyée sous forme d'une poudre fine qui a servi pour la préparation des extraits.

### 1.3. Souches microbiennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées dans notre étude, sont constituées par :

- Escherichia coli* (ATCC 25922) (*E coli*);
- Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (*S aureus*) ;
- Pseudomonas. aeruginosa* (ATCC 27853) (*P aeruginosa*) ;
- Salmonella thyphimurium*;

La souche fongique testée est *Candida albicans*.

Ces souches citées proviennent toutes des prélèvements au niveau de laboratoire bactériologie de Centre hospitalier universitaire de Batna (CHU).

### 1.4. Matériel du laboratoire

- Etuve ventilée MEMMERT type : SLE 400 ;
- Evaporateur rotatif type HEIDOLPH ;
- Four à moufle MERAIEUS type MR.170 ;
- Lyophilisateur type CHRISA BETAI ;
- HPLC type SHIMADZU.

## 2. Méthodes

### 2.1. Détermination de la teneur en eau

La détermination de la matière sèche a été réalisée juste à l'arrivée des échantillons au laboratoire. La dessiccation a été réalisée par évaporation à  $103 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique, jusqu'à ce que le poids devienne pratiquement constant. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation (Audigie et al, 1978).

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante.

$$H \% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

H% : Teneur en eau.

M1 : masse en g avant étuvage (échantillon + capsule).

M2 : masse en g avant de l'ensemble après étuvage.

P : masse en g de la prise d'essai.

$$\text{La matière sèche (MS) \%} = 100 - H\%$$

## 2.2. Détermination du taux des cendres

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de la température élevée ( $500 \pm 25 \text{ C}^\circ$ ) (Linden, 1981).

La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la carbonisation. La teneur en matière organique est calculée selon la formule suivante.

$$\text{MO}\% = \frac{M_i - M_f}{P} \times 100$$

Où Mo% : Matière organique.

Mi : masse initiale «avant calcination».

Mf : Masse finale «après calcination».

P : Masse de la prise d'essai.

Le taux des cendres est déterminé selon la relation suivante.

$$\text{C}\% = 100 - \text{MO}\%$$

## 2.3. Préparation des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

### 2.3.1. Préparation des extraits organiques

Dans notre laboratoire, la première étape dans la préparation d'extraits végétaux est le broyage du matériel végétal, sous cette forme broyée, la drogue présentera une plus grande surface de contact avec les solvants extracteurs, permettant ainsi d'améliorer le rendement des extractions.

La méthode d'extraction que nous employons est la macération successive par trois solvants à polarité croissante (l'éther de pétrole, le dichlorométhane et le méthanol) selon Diallo et al. (2004). L'extraction par l'éther de pétrole a pour but d'entraîner les graisses ainsi que les substances lipophiles. La deuxième extraction par le dichlorométhane a été faite pour obtenir un extrait riche en composés moyennement polaires. La dernière extraction a été faite avec le méthanol qui extrait les composés polaires.

250g de poudre ont été extraits avec 2x1000 ml d'éther de pétrole et placés sous agitation mécanique pendant 24 heures. Après filtration sur papier, le résidu de l'extraction précédente a été repris par 2x1000ml de dichlorométhane et laissé sous agitation pendant 24 heures, le résidu est à nouveau extrait par 2x1000 ml de méthanol pendant 24 heures dans les mêmes conditions.

A la fin de l'extraction, les extraits organiques (Ep, DCM, Met) ont été concentrés sous vide au rotavapor aux températures 37 C°,40C°et 50C° respectivement. Après la concentration, ces extraits ont été séchés à l'air libre.

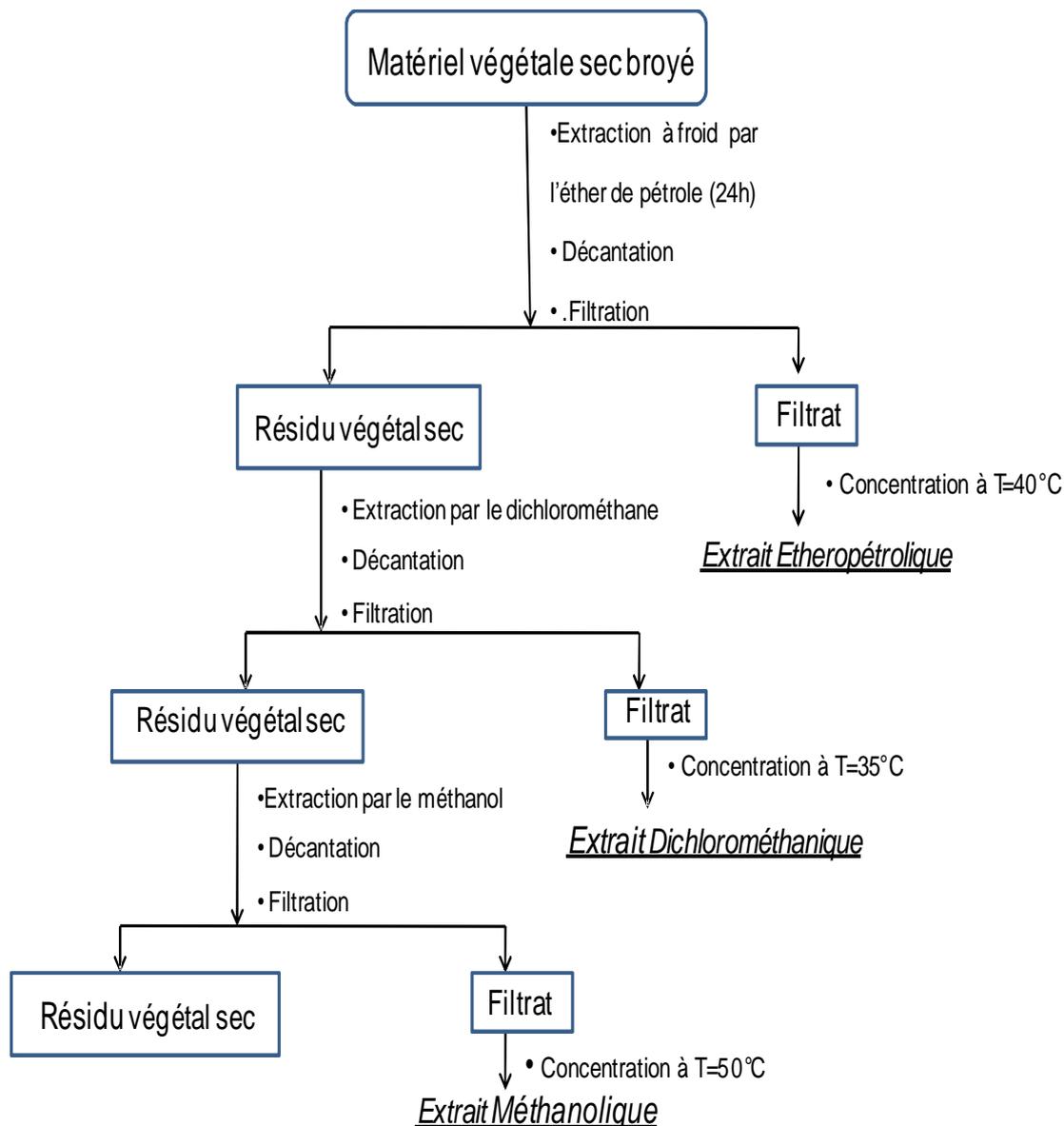


Figure 12. Extraction par polarité croissante de la poudre du fruit *E. angustifolia*

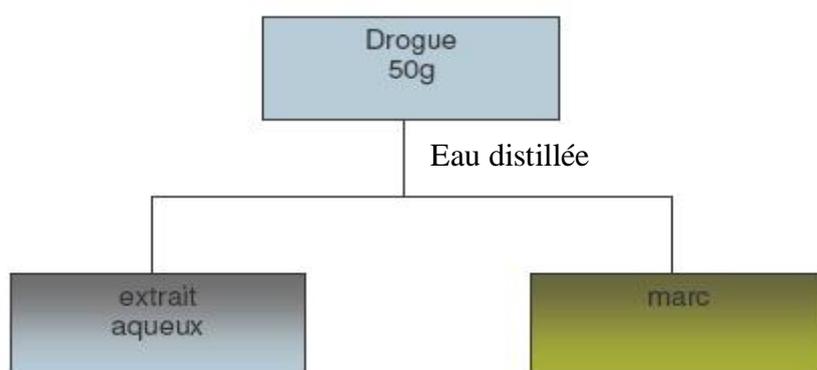
### 2.3.2. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été obtenu par la macération agitée durant 24h de 50g de poudre de l'échantillon dans un volume de 500ml d'eau distillée, la phase aqueuse du macéré a été ensuite filtrée sur un papier filtre. Le filtrat obtenu a été congelé à -4C° pendant une nuit puis lyophilisé.

Selon Dumais et Roux (2003), la lyophilisation (séchage à froid) est un procédé qui consiste à retirer l'eau d'un aliment afin de le rendre stable à la température ambiante et de faciliter sa conservation. On peut décomposer la lyophilisation en trois étapes principales :

- Ø Congélation ( $-80^{\circ}\text{C}$  ; 3h).
- Ø Dessiccation primaire ou sublimation ( $20^{\circ}\text{C}$  ; 24h).
- Ø Dessiccation secondaire ou séchage finale ( $40^{\circ}\text{C}$  ; 5h).

Le lyophilisat a été conservé au dessiccateur jusqu'à la reconstitution avec de l'eau distillée aux concentrations voulues pour l'utilisation.



**Figure 13.** Extraction aqueuse de la poudre du fruit *Elaeagnus angustifolia*

## 2.4. Analyse des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*.

### 2.4.1. Analyse qualitative des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

#### 2.4.1.1. Tests préliminaires

##### Ø Caractérisation des Flavonoïdes

La détection de la présence des flavonoïdes dans les extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* a été faite par la réaction à la cyanidine (Ciulel, 1982). Pour chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de l'HCl et quelques fragments de magnésium. Le test est positif lorsqu'on obtient la couleur rose orange.

##### Ø Caractérisation des Tanins

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à chaque extrait quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (Chlorure ferrique) à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Diallo et al, 2004).

### Ø Caractérisation des alcaloïdes

Le réactif de Mayer a été utilisé pour caractériser la présence des alcaloïdes dans différents extraits du fruit de l'*Elaeagnus. Angustifolia*. Chaque résidu est repris dans quelques ml d'HCL 50 %. La formation d'un précipité jaune, après rajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (mercuritériiodur de potassium), témoigne de la présence d'alcaloïdes (Dohou et al., 2003).

#### 2.4.1.2. Analyses chromatographiques des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

##### 2.4.1.2.1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une technique analytique simple utilisée dans le but de séparer différents constituants d'un mélange complexe en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage. Des plaques du gel de silice (60 GF<sub>254</sub>) ont été utilisées pour analyser les quatre extraits, aqueux, méthanolique, extrait éther de pétrole, extrait dichlométhanique du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*.

Deux systèmes de solvants de migration ont été utilisés pour les extraits polaires, le système de migration est constitué du n- butanol/acide acétique/eau (60 : 15 :35 v/v/v) (Diallo, 2004).

Les échantillons et les standards ont été déposés sur les plaques silicagel, ensuite les plaques sont introduites dans la chambre de migration préalablement saturée par la phase mobile.

Pour les extraits apolaires, on utilise comme système de migration éther de pétrole/ acétate d'éthyle (8 : 2v/v) (Diallo, 2004).

Après développement, les plaques ont été séchées à l'aide d'un sèche cheveux et observées à la lampe UV à 254 et 366 nm puis pulvérisées par un mélange de vanilline sulfurique puis séchées sur la plaque chauffante pendant quelques minutes à fin de révéler les spots issus de la séparation.

Les rapports frontaux sont calculés et comparés à ceux des témoins permettant ainsi l'identification des constituants de différents extraits.

#### 2.4.1.2.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC –RP-C18

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique est la Chromatographie liquide à haute performance (pression), abrégée HPLC (CLHP en français). Afin d'analyser les différents extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*, la technique de l'HPLC -RP-C18 a été utilisée.

La chromatographie liquide à haute performance à **phase inverse** est une technique de séparation, dans laquelle la phase mobile est un liquide polaire (solvant), et la phase stationnaire est une colonne étroitement emballée par des particules **C18** (apolaire), ces particules ayant un diamètre moins de 10µm, ce qui nécessite de pomper la phase mobile à travers la colonne à haute pression. La pompe garde un débit précis de sorte que le temps de rétention de chaque pic peut être employé pour identifier des pics de l'échantillon à tester. Ceci est fait par comparaison des chromatogrammes des standards avec celui de l'échantillon.

Dans notre analyse, nous avons utilisé une élution isocratique dans laquelle une seule source du solvant utilisée pour éluer les composés à travers la colonne (125 x4.6mm). La phase mobile utilisée est un mélange méthanol /eau (60/40), le débit de la phase mobile est 0,5 ml/min. La température est réglée à 40 C<sup>0</sup>, Le détecteur utilisé est un détecteur UV à une longueur d'onde 254nm. (Kuntie et al., 2007).

### 2.4.2. Analyse quantitative des extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

#### 2.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia* est effectué selon la méthode de folin ciocalteu (Wong, 2006). Le réactif précédent est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier, 2006).

Brièvement, 200µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol pour les extraits organiques, et l'eau distillée pour l'extrait aqueux) est ajouté à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée).

Après 4 min, 800µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75g/l) sont ajoutés, après agitation, l'ensemble sont incubés à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre UV. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg /ml). Les résultats sont

exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait).

#### 2.4.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. 1ml de chaque échantillon et du standard (préparé dans le méthanol) est ajouté à 1ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Après 10 min, les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35  $\mu\text{g/ml}$ ) et sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

#### 2.4.2.3. Dosage des Tanins condensés (Méthode de la vanilline)

Le dosage des tanins condensés dans les extraits du fruit de *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).

Pour 400 $\mu\text{l}$  de chaque extrait ou standard, on ajoute 3ml de vanilline (4%) dissout dans le méthanol et 1,5ml d'acide hydrochlorique concentré. Après 15min d'incubation, l'absorbance est mesuré à 500nm. La concentration des tanins condensés (proanthocyanidins) est déduite à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0-30  $\mu\text{g/ml}$ ) et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par un gramme d'extrait (mg ECat/g).

### 2.5. Effets des extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

#### 2.5.1. Test de l'activité antimicrobienne

Le test a été réalisé par la méthode des disques (Choi et al ., 2006). La gélose de Mueller- Hinton est coulée dans des boîtes de pétrie et inoculée avec les souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella thyphimurium*).

Pour l'activité antifongique, on a utilisé le milieu de Sabouraud, Les deux milieux sont écouvillonnés par une suspension microbienne d'une densité optique de 0,5McFarland.

Des disques de papier Wattman n°1de 6mm de diamètre, stérilisés auparavant à l'étuve (120 C° pendant 15 min) sont imbibés par différentes solutions (1g /ml) dissoutes dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) pour les extraits organiques et dans l'eau distillée stérile pour les extraits aqueux.

Les durées et les températures d'incubation ont été de 24h à 37 C<sup>0</sup> pour les souches bactériennes et de 48 h à 37 C<sup>o</sup> pour la souche fongique *Candida albicans*, L'activité antimicrobienne est observée par la présence d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'extrait.

## 2.5.2. Test de l'activité antioxydante

### 2.5.2.1. Test du blanchissement du $\beta$ carotène

L'activité antioxydante des quatre extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* est mesurée selon la méthode de Khartal et al (2007). Dans ce test, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative de  $\beta$  carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

L'émulsion de  $\beta$  carotène /acide linoléique est préparée par solubilisation de 3 mg de  $\beta$  carotène dans 1 ml du chloroforme, 25 $\mu$ l de l'acide linoléique et 200 mg de tween 40 sont additionnés. Le chloroforme est complètement évaporé au rotavapeur, par la suite 100ml d'eau oxygénée est ajouté, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement.

350 $\mu$ l de solution d'extrait ou antioxydant de référence (BHT) (solubilisé dans le méthanol sauf l'extrait aqueux dans l'eau distillée (2mg/ml)) sont additionnés à 25 ml de l'émulsion précédente.

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans lequel l'échantillon est remplacée par 350 $\mu$ l de méthanol) est suivie à 490nm à des intervalles de temps régulières pendant 48 heures. L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{AAR} = \frac{\text{Abs}_{t=48h} (\text{échantillon})}{\text{Abs}_{t=48h} (\text{BHT})} \times 100$$

### 2.5.2.2. Effet scavenger du radical DPPH

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire, des différents extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Mansouri et al (2005).

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picryl hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol.

50µl des solutions d'extraits ou standard (quercétine) sont ajoutés à 1,95ml de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min, et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{(\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon})}{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle}} \times 100$$

Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0-3,5mg/ml, 0-2,5mg/ml, 0-10mg/ml, 0-2.5mg/ml pour les extraits : Ep, DCM, Mét, Aq respectivement. Alors que pour les antioxydants standard (Quercétine, BHT), elles sont comprises entre 0 à 50µg/ml.

## **2.6. Analyses statistiques**

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$ SD. Les sigmoïdes de l'activité antiradicalaire des différents standards et extraits sont effectués par le logiciel (Graph Pad Prism V 5,00).

La différence entre les extraits et les contrôles et la détermination des taux de signification sont effectués par test ANOVA suivi du test Tukey.

# **Chapitre II**

Résultats et discussion

### 1. Détermination de la teneur en eau du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

La détermination de la teneur en eau a été réalisée selon la méthode décrite par Audigie et al. (1978). Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau IX.

**Tableau IX.** Teneur en eau dans la pulpe du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*.

| Teneur en eau (%) | Matière sèche (%) |
|-------------------|-------------------|
| 56±0,01           | 44±0,01           |

Les valeurs représentent la moyenne de 30 essais ± SD

Selon Bretaudeau et Fauré (1992), c'est la teneur en eau qui tient en dissolution tous les sels minéraux, les sucres, les enzymes et d'autres composés dans les fruits. Les pourcentages d'eau sont de l'ordre de 80 à 90% pour les fruits charnus, bien moins élevés mais très variables pour les fruits secs tels que les dattes de 5 à 50 %.

La teneur en eau de la pulpe du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* est étroitement proche des valeurs trouvées par Sayed et al. (2005) et celles révélées par Zouhar (2005) qui sont de l'ordre de 64,4% pour l'*Elaeagnus umbellata* et 65,6% pour la même espèce.

Si l'on compare la teneur en eau de notre baie à celle de l'*Elaeagnus iatifolia* qui est de l'ordre de 88,6% (Patthamaknoporn et al., 2008), nous constatons que cette dernière est largement supérieure.

La variation de la teneur en eau peut être due aux :

- Ø différences des espèces;
- Ø expositions à différentes conditions pédoclimatiques ;
- Ø stade de maturation;
- Ø répartition géographique.

### 2. Détermination du taux des cendres

Les résultats analytiques du taux des cendres et de la matière organique de la pulpe du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* sont résumés dans le tableau suivant.

**Tableau X.** Taux des cendres dans le fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

| Teneur en cendre (%) | Matière organique (%) |
|----------------------|-----------------------|
| 1,34 ±0,1            | 98,66 ±0,1            |

Les valeurs représentent la moyenne de 15 essais ± SD

Le contenu minéral total est de 1,34% de matière sèche, cette valeur obtenue est assez proche à celle trouvée par Sayed et al (2005) sur la variété *Elaeagnus umbellata* soit 1,04% de la matière sèche.

### 3. Préparation des extraits à partir du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia*

La préparation des extraits à partir du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia* a été effectuée selon la méthode de Diallo et al. (2004), la partie comestible de fruit séchée et broyée a été soumise à une extraction générale avec des solvants à polarité croissante (Ether de pétrole → dichlorométhane → méthanol). Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits bruts : l'extrait étherique, l'extrait dichlorométhanique et l'extrait méthanolique. Pour l'extrait aqueux, on a effectué une macération aqueuse à 10% suivie d'une lyophilisation.

Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement par rapport à la drogue sèche. Ces éléments sont figurés dans le tableau suivant.

**Tableau XI.** Aspects, couleurs et rendements des extraits de la pulpe d'*Elaeagnus angustifolia* par différents solvants.

| Extrait    | Aspect     | Couleur         | Rendement (%) |
|------------|------------|-----------------|---------------|
| <b>Ep</b>  | Huileux    | Vert jaunâtre   | 0,35          |
| <b>DCM</b> | Huileux    | Vert noir       | 0,40          |
| <b>Met</b> | pâteux     | Couleur de miel | 8             |
| <b>Aq</b>  | lyophilisé | Blanc jaunâtre  | 30,46         |

Au regard de ce tableau, nous avons observé le plus grand rendement avec les extraits polaires aqueux et méthanolique avec 30,46% ; 8% respectivement et le plus faible rendement avec les extraits dichloraméthane et étherique avec 0,40% ; 0,35% respectivement.

#### 4. Analyse des extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

##### 4.1. Analyse qualitative des extraits de *Elaeagnus angustifolia*

##### 4.1.1. Tests préliminaires.

Les résultats de ces tests phytochimiques sont reportés dans le **tableau XII**

**Tableau XII.** Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*.

| Groupes chimiques                              | Extraits | Résultats des réactions en tube |
|--|----------|---------------------------------|
| <b>Flavonoïdes (réaction à la cyanidine)</b>   | Met      | + + +                           |
|  | Aq       | + +                             |
|  | DCM      | -                               |
|  | Ep       | -                               |
| <b>Tanins (réaction avec FeCl<sub>3</sub>)</b> | Met      | + +                             |
|  | Aq       | +                               |
|  | DCM      | -                               |
|  | Ep       | -                               |
| <b>Alcaloïdes (reactif de mayer)</b>           | Met      | -                               |
|  | Aq       | -                               |
|  | DCM      | -                               |
|  | Ep       | -                               |

(+++): Réaction positive, (++) : réaction moyennement positive, (+) : réaction louche

(-) : réaction négative

Les essais phytochimiques effectués sur les extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia* ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins et l'absence des alcaloïdes.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs dont l'analyse phytochimique a donné des résultats positifs pour les flavonoïdes et des résultats négatifs pour les alcaloïdes (Ahmadiani et al., 2000).

La prédominance des tanins dans le fruit *Elaeagnus angustifolia* a aussi été démontrée par Kusova et al, en 1987).

Nous notons aussi la présence des flavonoïdes et des tanins dans les extraits polaires (Aq et Met) et l'absence de ces substances dans les extraits apolaires (DCM et Ep).

#### 4.1.2. Analyses chromatographiques

##### 4.1.2.1. Chromatographie sur couche mince.

Pour une caractérisation partielle des différents extraits de la pulpe du fruit de l'*E.angustifolia*, une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée suivant la méthode de Diallo et al (2004). Pour les extraits polaires, Le système solvant utilisé (n-butanol/ acide acétique) eau (12 :3 :7 V/V/V) a permis d'obtenir une très bonne séparation chromatographique en utilisant trois standards qui sont la catéchine, la quercétine et la rutine. La révélation est réalisée par un mélange de vanilline sulfurique après l'observation sous lumière ultraviolette.

Seulement l'extrait méthanolique a été soumis à la CCM, l'extrait aqueux a été éliminé du fait qu'il ne migre pas avec différents systèmes.

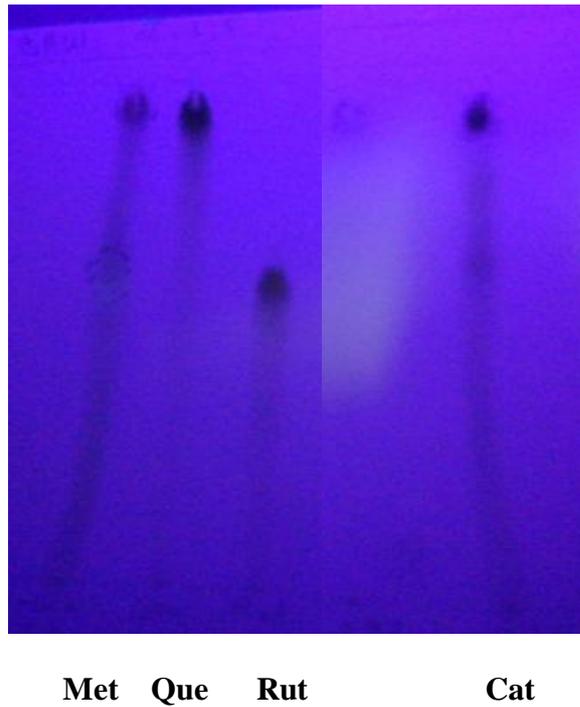
L'utilisation de différents solvants à polarités différentes a permis de séparer ces composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Les résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique sont reportés dans le **tableau XIII** et les chromatogrammes sont illustrés dans les figures **14** et **15**

**Tableau XIII.** Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique du fruit de l'*E .angustifolia* dans le système BAW : n Butanol-Acide acétique-Eau (12 :3 :7)

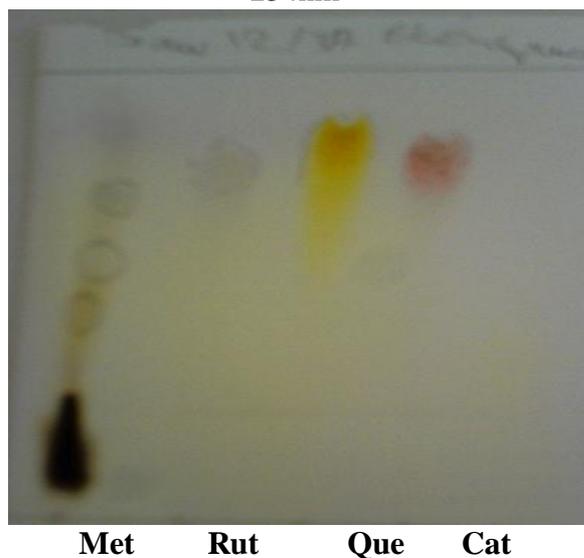
|                   | N°spot | RF   | couleur      | 254 nm        | 366nm           |
|-------------------|--------|------|--------------|---------------|-----------------|
| <b>Quercétine</b> |        | 0,91 | Jaune orange |               | Bleu            |
| <b>Rutine</b>     |        | 0,66 | Jaune claire | Visible       | –               |
| <b>Catéchine</b>  |        | 0,54 | Rouge        |               | –               |
| <b>Met</b>        | 1      | 0,64 | Jaune orange | 3 taches      | Une tache bleue |
|                   | 2      | 0,54 | Jaune claire | Bleu          |                 |
|                   | 3      | 0,77 | Bleu         | Fluorescentes |                 |
|                   | 4      | 0,96 | mauve        |               |                 |

Les colorations jaune orange de la tache à RF 0,64 nous oriente sur la présence d'un flavonoïde qui est probablement la rutine par comparaison de leur rapport frontal (rutine RF= 0,66).

Selon Yang (2008), la rutine est un flavone (quercétine-3-rhamnosyl glucoside) qui a des propriétés antioxydantes démontrées.



**Figure 14.** Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique sous la lampe 254nm



**Figure 15.** Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

Pour les extraits apolaires, les standards sont éliminés du fait que le système de migration ne correspond pas à ces substances flavonoïques hautement polaires.

Les résultats de séparation par la chromatographie sur couche mince des extraits apolaires sont représentés par **figure 16**.



**DCM                  Ep**

**Figure 16.** Chromatographie sur couche mince des extraits (Ep et DCM) du fruit de *l'E angustifolia*

Après révélation par la vanilline sulfurique, les deux extraits ont des différentes taches qui semblent similaires, nous notons plusieurs taches avec multiples couleurs.

On a deux taches roses claires pour les deux extraits, deux autres bleues violettes.

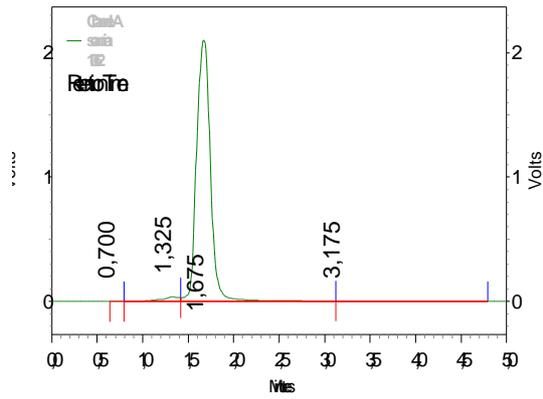
Ces résultats confirment la richesse de ces deux extraits en substances apolaires. Ces derniers restent tout de même préliminaires et nécessitent d'autres études approfondies.

#### 4.1.2.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC

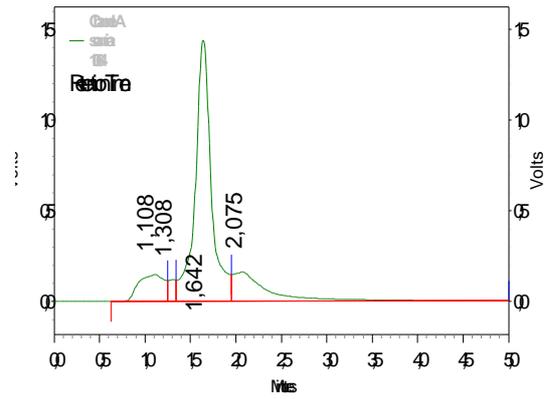
Les différents extraits ont été analysés afin de comparer leurs profils chromatographiques et d'obtenir une information sur la composition de ces extraits en flavonoïdes et certains acides phénoliques en comparaison avec les différents standards.

**Tableau XIV.** Temps de rétention des standards testés

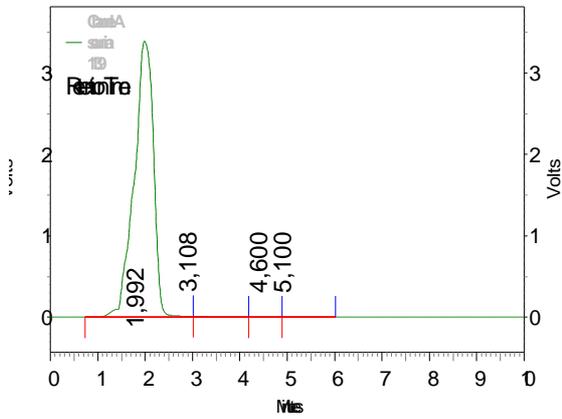
| Standards      | (T <sub>r</sub> ) min |
|----------------|-----------------------|
| Quercétine     | 6,5                   |
| Rutine         | 3,3                   |
| Catéchine      | 1,7                   |
| Acide caféique | 1,9                   |
| Acide tannique | 1,64                  |
| Acide gallique | 1,67                  |



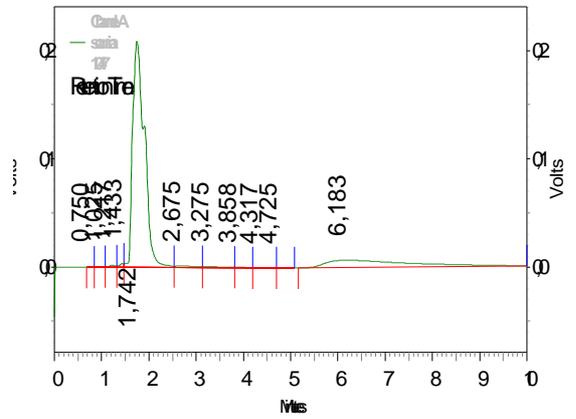
Acide gallique



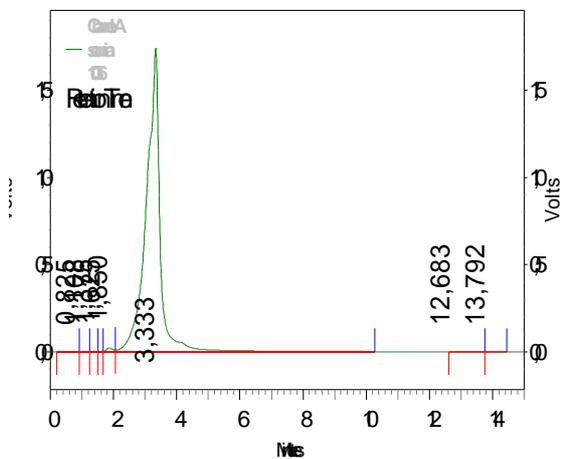
Acide tannique



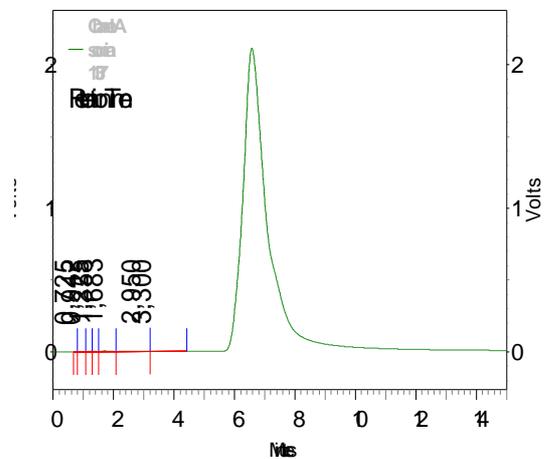
Acide caféique



Catéchine



Rutine



Quercétine

Figure 17. Chromatogrammes des différents standards testés par l'HPLC.

Les résultats de la séparation des différents extraits du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia* par la chromatographie liquide à haute performance HPLC sont illustrés par les spectres suivants:

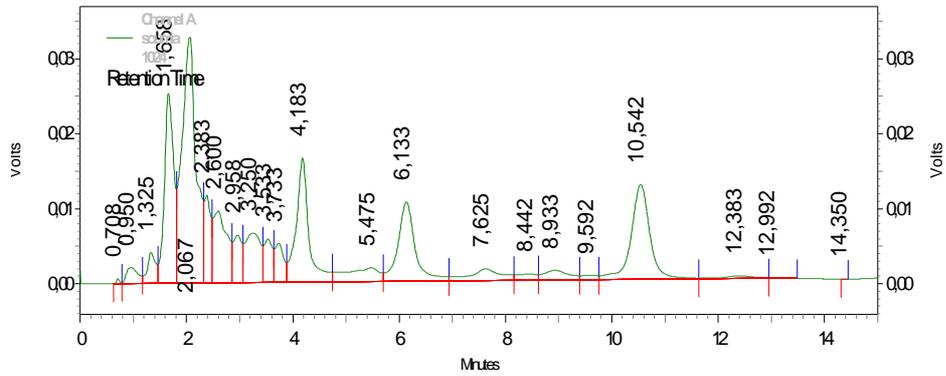


Figure 18. Profil chromatographique de l'extrait étherique (0,02g/ml) du fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* analysé par HPLC shimadzu

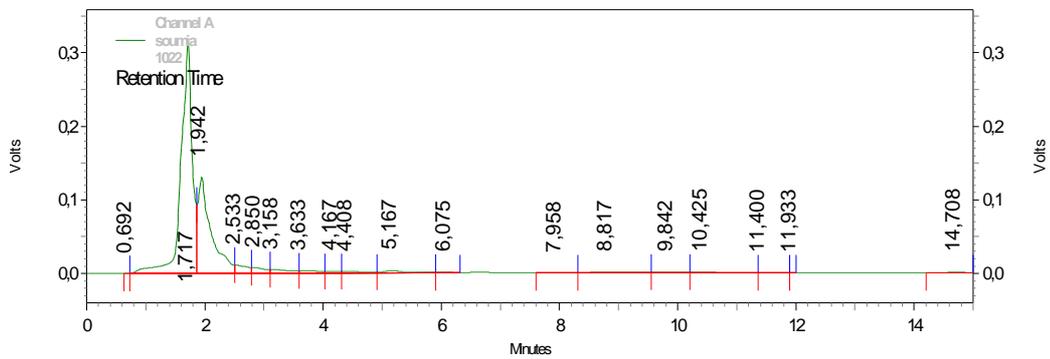


Figure 19. Profil chromatographique de l'extrait méthanolique du fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* analysé par HPLC shimadzu

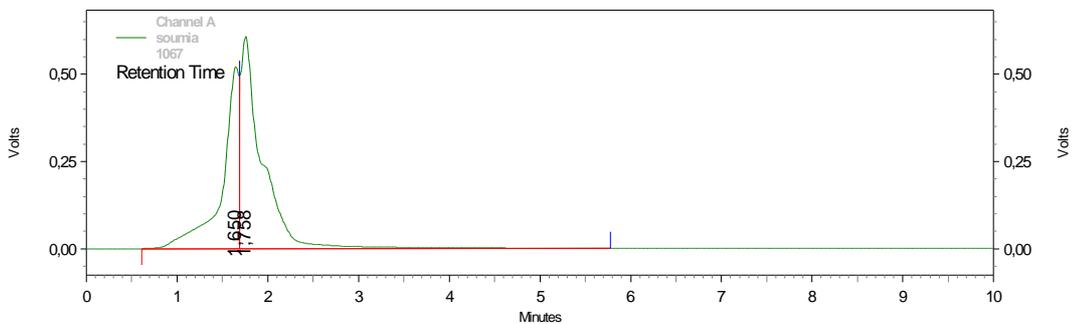
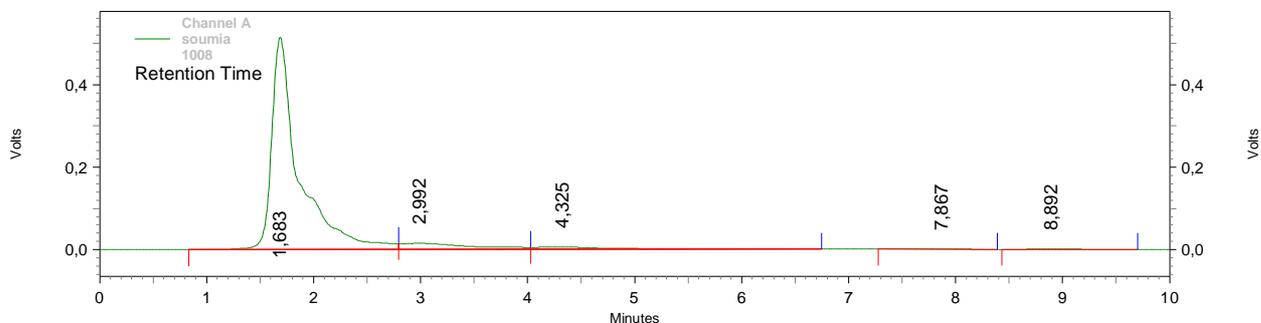
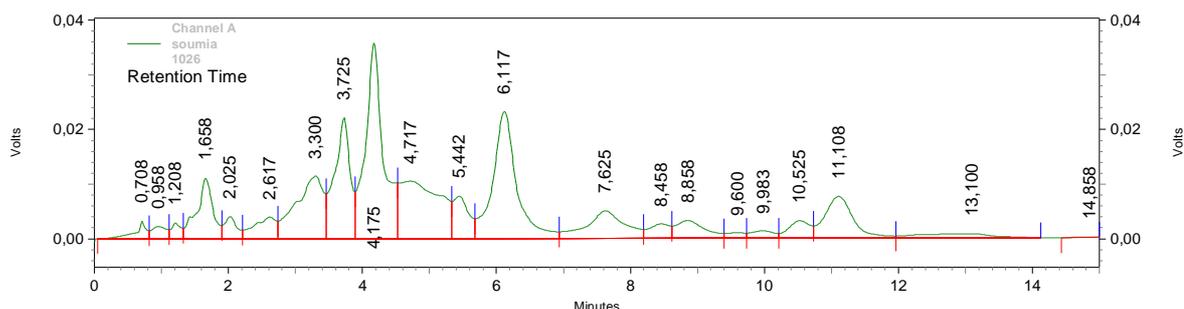


Figure 20. Profil chromatographique de l'extrait aqueux (0,03g/ml) du fruit de

l'*Elaeagnus angustifolia* analysé par HPLC shimadzu

**Figure 21.** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique (0,05g/ml) du fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* analysé par HPLC shimadzu



**Figure 22.** Profil chromatographique de l'extrait dichloromethanique du fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* analysé par HPLC shimadzu

A partir du spectre de l'extrait éther de pétrole, nous avons noté la présence d'un grand nombre de substances, ce qui confirme l'intérêt de notre extrait.

Pour l'extrait méthanolique, on a un grand pique majoritaire avec un temps de rétentio  $T_r=1,71$  et un autre pique avec un temps de rétentio  $T_r=1,94$

Nous notons aussi plusieurs substances (plus de quinze) n'étaient pas séparés clairement, la comparaison de temps de rétentio de ces deux piques avec celui des standards a révélé la présence de la catéchine et l'acide caféique dans notre extrait.

Ces résultats obtenus sont en accord avec les travaux des auteurs (Ayaz et al., 2001) qui ont travaillé sur la composition en sucres solubles et acides phénoliques dans le fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* et qui ont démontré la richesse de ce fruit en acide caféique.

La détection de la présence de la catéchine dans le fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* a été aussi confirmée par une étude faite par Kusova et al (1987).

L'extrait aqueux présente un pique majoritaire avec un temps de rétention  $T_r=1,65$ , ce dernier est presque similaire à celui de l'acide tannique.

L'extrait dichloromethane apparait avec plusieurs piques majoritaires, l'un entre eux, ( $T_r=1,65$ ) correspond probablement à l'acide tannique et ( $T_r=2,02$ ) à l'acide caféique.

## 4.2. Analyse quantitative des extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

### 4.2.1. Dosage des flavonoïdes et des tanins

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996) en utilisant comme standard la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

L'analyse des tanins condensés a été réalisée par la méthode décrite par Heimler et al (2006) en utilisant comme standard la catéchine, la teneur en tanins est exprimée en milligramme d'équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg Ecat /g d'extrait).

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

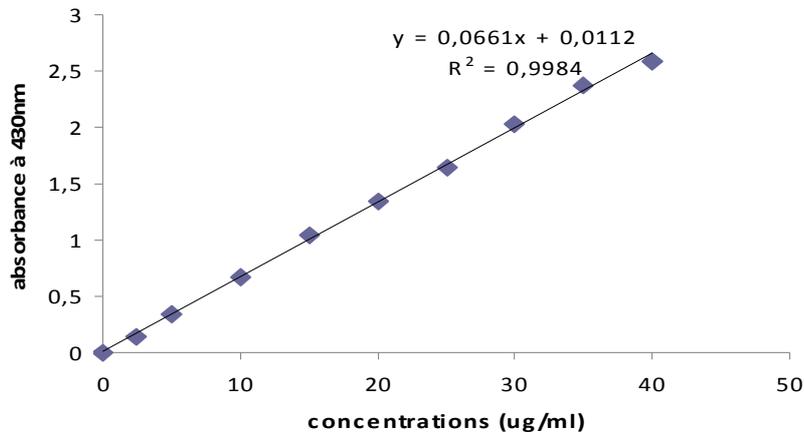
**Tableau XV** .Teneurs en flavonoïdes et tanins dans les extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

| Extrait | <sup>(a)</sup> Teneur en flavonoïdes | <sup>(b)</sup> Teneur en tanins |
|---------|--------------------------------------|---------------------------------|
| Met     | 0,13± 0,06                           | 1,51 ± 1,15                     |
| Aq      | 0,15± 0,06                           | 2,57 ±0,35                      |
| DCM     | -                                    | -                               |
| Ep      | -                                    | -                               |

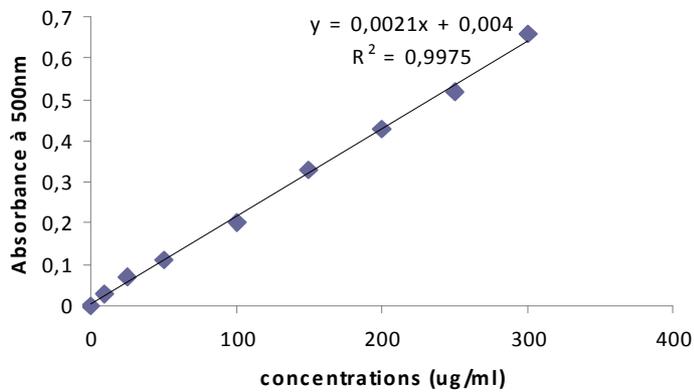
Les valeurs obtenues représentent la moyenne de deux essais ± SD

<sup>(a)</sup> mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait

<sup>(b)</sup> mg d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait



**Figure 23.** Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne  $\pm$  SD de deux essais)



**Figure 24.** Courbe d'étalonnage de la catéchine (moyenne  $\pm$  SD de deux essais)

La détermination du taux des flavonoïdes montre que l'extrait Aq contient  $0,15 \pm 0,06$  mg EQ/g d'extrait suivi par l'E met avec  $0,13 \pm 0,06$  mg EQ/g d'extrait.

L'extrait Aq est également le plus riche en tanins avec  $2,57 \pm 0,35$  mg E cat /g d'extrait suivi par l'extrait Met  $1,51 \pm 0,08$  mg Ecat / g d'extrait, ça peut confirmer le goût astringent de notre fruit.

D'après les teneurs obtenues dans notre étude, nous pouvons dire que le fruit de l'*E. angustifolia* constitue une source non négligeable de tanins. L'importance des drogues à tanins est liée à leur propriété astringente (Bruneton, 1999), ils ont un pouvoir de stopper les hémorragies (Ghesterm. et al. ,2001) et de lutter contre les infections (Diallo, 2005).

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par la littérature sur la richesse du fruit de l'*E. angustifolia* en substances bioactives notamment les tanins (kusova et al., 1987).

La faible teneur des flavonoïdes dans tous les extraits pourrait être expliquée par la diminution des composés polyphénoliques durant la maturation comme elle l'a démontrée une étude faite par Sakamura et Suga (1987) sur les fruits des espèces *E. multiflora* et *E. umbellata*

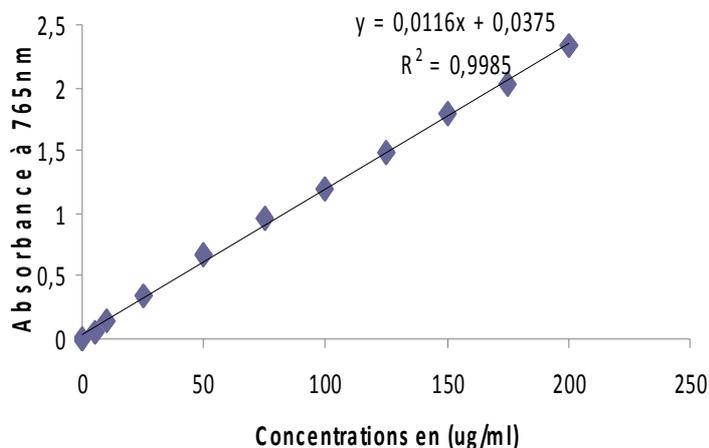
#### 4.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode de folin ciocalteau (Wong et al, 2006) en utilisant comme standard l'acide gallique (**figure 25**), la teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EA<sub>g</sub>/g d'extrait).

**Tableau XVI.** Teneur des polyphénols totaux dans la pulpe du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

| Extrait | Polyphénols |
|---------|-------------|
| Met     | 3,94± 0,07  |
| DCM     | 2,9 ± 0,7   |
| Ep      | 1,96 ± 0,7  |
| Aq      | 2,32± 0,48  |

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD



**Figure 25.** Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de deux essais)

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits de la pulpe du fruit de l'*E.angustifolia* montre que l'extrait méthanolique (Met) contient une teneur élevée avec  $3,94 \pm 0,07$  mg EAg /g d'extrait suivi par l'extrait dichlorométhanique (DCM) avec  $2,9 \pm 0,7$  mg EAg/g d'extrait. Les extraits aqueux et étherique représentent des teneurs assez faibles qui sont respectivement  $2,32 \pm 0,48$  mg EAG/g d'extrait et  $1,96 \pm 0,32$  EAG/g d'extrait.

Mavlyanov et al, (2003) dans une étude faite sur l'espèce *E.angustifolia*, a trouvé que le taux des polyphénols totaux est de 4,5%.

Si on se réfère aux travaux de Patthamakorn et al. (2008) sur l'espèce *E.iatifolia*, la teneur des polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique est  $0,94 \pm 6,3$  mg EAG/g d'extrait qui est largement inférieure à celle trouvée dans l'extrait méthanolique de notre espèce avec  $3,94 \pm 0,07$  mg EAG/g d'extrait, ce qui confirme l'utilisation du fruit de l'*E.angustifolia* dans la médecine traditionnelle.

Selon une étude faite par Patthamakorn et al., en 2008 a montré que la variation de la teneur en polyphénols pourrait être due aux conditions de conservation du fruit à froid.

D'un autre côté, le taux des polyphénols des fruits du genre *Elaeagnus* diminue avec le degré de la maturation. Ce paramètre a été expliqué par Sakamura et Suga (1987) et Bekker et Gluchencova (2001).

## 5. Effets des extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

### 5.1. Test de l'activité antimicrobienne.

Les résultats de l'activité antibactérienne du fruit de *Elaeagnus angustifolia*, ont montré que les extraits apolaires dichlorométhanique et étherique ont produit des zones d'inhibition plus grandes que celles obtenues avec les extraits polaires méthanolique et aqueux. Ceci peut être dû à leur contenu en lipides. Selon Bekker et Gluchencova (2003), les lipides des fruits de la famille Elaeagnaceae ont des activités biologiques importantes démontrées. Notre résultat corrobore avec celui obtenu par Khan qui a démontré que l'extraction des principes actifs par un solvant comme le DCM augmente l'activité antibactérienne (Diallo, 2005)

De plus, le solvant utilisé pour dissoudre les résidus secs de ces extraits organiques (DMSO) n'a donné aucune zone d'inhibition.

L'extrait dichlorométhanique s'est révélé plus actif sur les Grams positifs seulement, *Staphylococcus aureus* (15,71mm).

Les diamètres d'inhibition pour l'extrait étherique avec les souches *S. aureus*, *P. aeruginosa* varient de 9,32 mm à 13,84 mm avec *S. aureus* comme espèce la plus sensible et *P. aeruginosa* comme espèce la moins sensible. Ce résultat est en accord avec celui de Sabir et al, (2007) qui a étudié l'activité antibactérienne des fleurs et des fruits de *Elaeagnus umbellata* et qui a trouvé que l'extrait étherique est efficace contre *P. aeruginosa*, *S. aureus*.

Pour les souches *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, aucune zone d'inhibition de croissance n'a été constatée autour des disques, ce qui montre la résistance de ces souches. Cette dernière est due à la différence de la structure de la paroi cellulaire entre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives (Ali-Shtayeh et al, 1998).

L'extrait aqueux du fruit de *Elaeagnus angustifolia* a donné une faible activité avec *S. aureus* (7mm), contrairement, l'extrait aqueux de baie d'*Elaeagnus umbellata* inhibe fortement la croissance de la bactérie *E. coli*, *S. aureus*. Ce qui explique que l'activité antibactérienne varie d'une plante à une autre et d'un germe à l'autre (Yameogo, 2003)

La souche fongique *Candida albicans* a montré une résistance avec tous les extraits de notre fruit.

**Tableau XVII.** Résultats de l'activité antimicrobienne du fruit de *Elaeagnus angustifolia*

| Extraits   | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomona aeruginosa</i> | <i>Salmonella thyphimurium</i> | <i>Candida albicans</i> |
|------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| <b>Ep</b>  | 13,46±0,8                    | -                       | 9,32±0,57                    | -                              | -                       |
| <b>DCM</b> | 15,71±2,42                   | -                       | -                            | -                              | -                       |
| <b>Met</b> | 10,57±0,81                   | -                       | 11±1,4                       | -                              | -                       |
| <b>Aq</b>  | 7,5±0,7                      | -                       | 8±0,0                        | -                              | -                       |

Les valeurs sont une moyenne de 2 à 3 essais±SD (les zones sont mesurées en mm)



Zones d'inhibition de l'extrait DCM sur *S aureus*



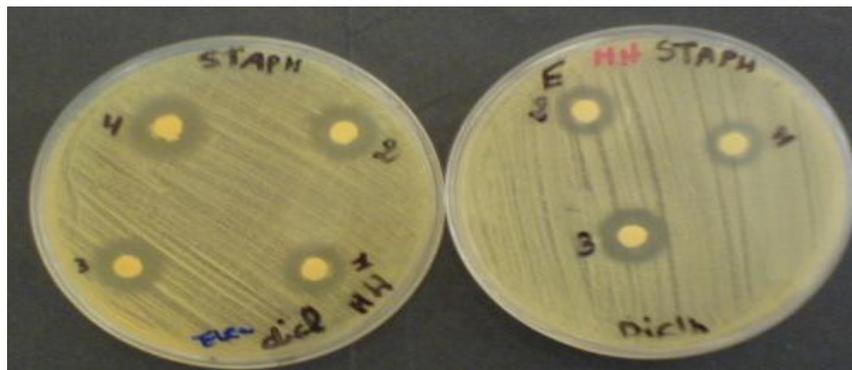
Zones d'inhibition de l'extrait Met sur *P aeruginosa*



Zones d'inhibition de l'extrait Ep sur *P aeruginosa*



Zones d'inhibition de l'extrait Ep sur *S aureus*



Zones d'inhibition de l'extrait DCM sur *S aureus*

**Figure 26.** Zones d'inhibition des extraits éthérique et dichlorométhanique sur *S aureus* *P aeruginosa*.

## 5.2. Test de l'activité antioxydante

### 5.2.1. Teste du blanchissement du $\beta$ -carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir de groupements méthylènes de l'acide linoléique. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène. La cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène en absence et en présence des extraits de *L'Elaeagnus angustifolia*, des antioxydants standards et les activités antioxydantes relatives (AAR) sont représentés dans les **Figures 28** et **29**.

D'après ces résultats, il est évident que le BHT et les différents extraits testés du fruit de *L'Elaeagnus angustifolia* inhibent d'une manière significative ( $p \leq 0,05$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$  carotène par rapport au contrôle négatif qui représente 100% de la peroxydation. Les extraits méthanolique et aqueux montrent la plus grande activité inhibitrice. Etant donné qu'il n'existe pas une différence significative entre ces deux extraits, dont leurs activités antioxydantes relatives sont de 44,82% et de 41,49% respectivement, mais ces AAR restent significativement inférieures ( $p \leq 0,001$ ) à celle de BHT. L'AAR de l'extrait Aq (41,49%) est statistiquement similaire à celle de l'extrait DCM (35,34%). Nous notons aussi que l'extrait éther de pétrole représente l'extrait le moins actif (32,17%) qui est similaire à l'AAR de DCM. En comparaison avec le BHT, l'extrait Met est 2.2 fois moins actif que le BHT, alors ce dernier est 1,4 fois plus actif que l'extrait éthérique.

L'activité antioxydante des extraits polaires pourrait s'expliquer par leur richesse en substances polyphénoliques. De nombreuses études ont déjà montré les propriétés antioxydantes des flavonoides et des tanins (Ferrari, 2002). Les noyaux phénoliques des antioxydants agissent en neutralisant les radicaux libres des lipides et du peroxyde d'hydrogène, devenant aussi des radicaux libres phénoxyde qui existent sous trois formes interchangeable (**figure 27**), celles -ci normalement restent stables, c'est-à-dire ne provoquent pas de peroxydation ultérieure (Dacosta, 2003).

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du  $\beta$ -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyana-Pathirana et al., 2006).

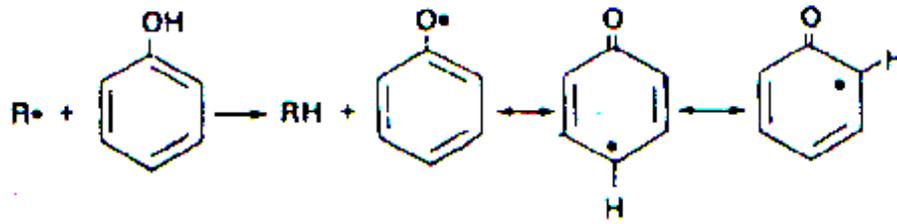


Figure 27. Désactivation des radicaux libres lipidiques  $R^\bullet$  par les groupes phénols des antioxydants

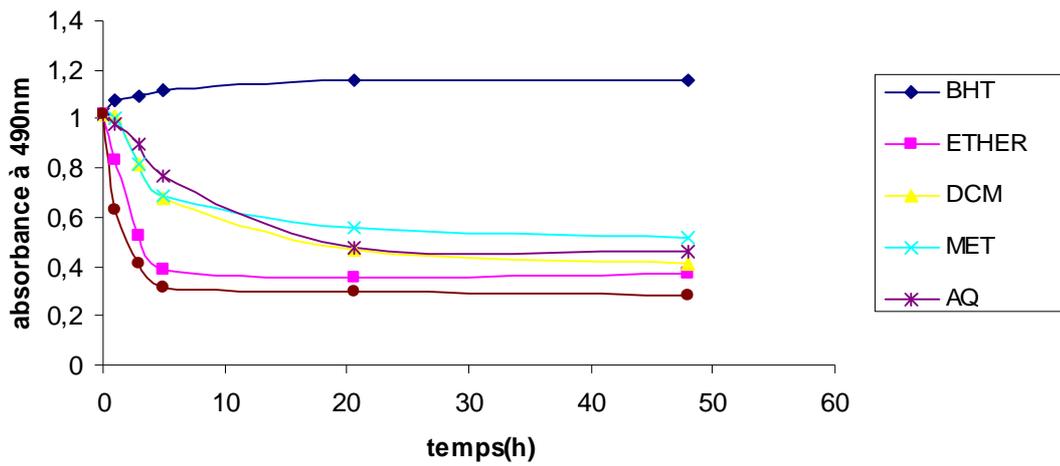
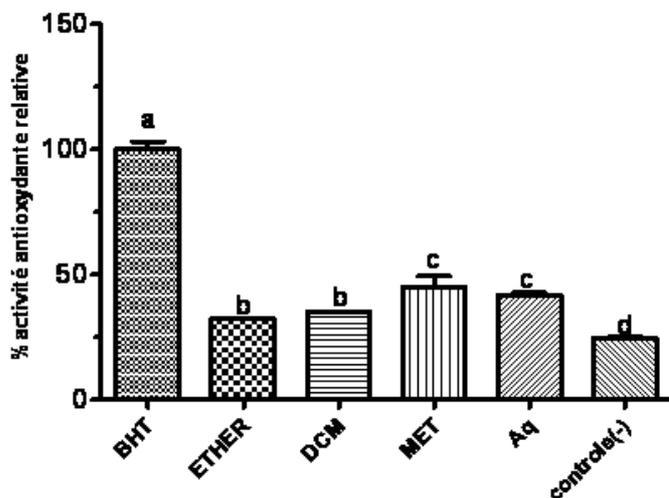


Figure 28. Cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène à 490 nm en absence et en présence des extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia* et du BHT

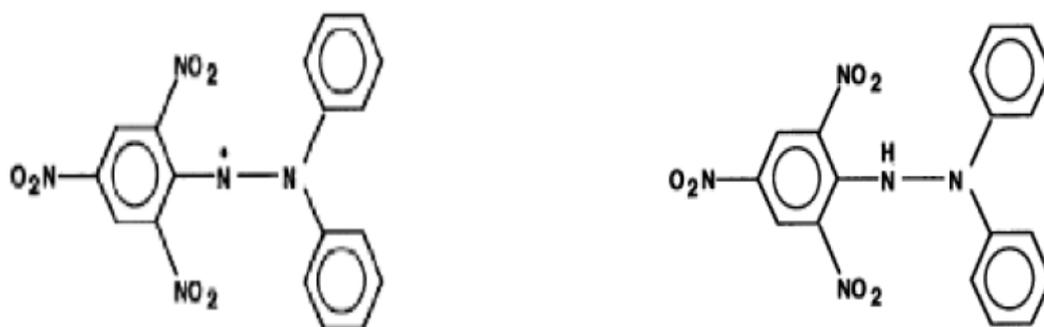
(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais).



**Figure 29.**Activité antioxydante relative des extraits du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia* et du BHT dans le système acide linoléique/ $\beta$ -carotène(Les valeurs sont la moyenne de trois mesures, les barres avec les lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ( $p \leq 0,05$ )).

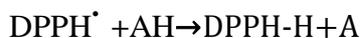
### 5.2.2. Effet scavenger du radical DPPH

Pour détecter l'activité antiradicalaire des différents extraits du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia*, nous avons utilisé le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH), un radical stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm. Le protocole appliqué en routine repose sur la disparition de ce maximum lorsque le DPPH est réduit par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration selon la réaction suivante :



DPPH<sup>•</sup> Radical libre (couleur violet)

DPPH-H Forme réduite (couleur jaune)



**Figure 30.** Réaction d'un antioxydant avec le DPPH (Molineux ,2004).

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les extraits possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante, les IC<sub>50</sub> de chacun des différents extraits ont été déterminées. Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, deux autres paramètres sont introduits :

- **Calcul de l'EC<sub>50</sub>** qui prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, EC<sub>50</sub> = (IC<sub>50</sub>/mg de DPPH/ml)]
- **Calcul du pouvoir antiradicalaire (APR)** qui est inversement proportionnel à l'EC<sub>50</sub> (APR = 1/EC<sub>50</sub>) (Prakash *et al.*, 2007).

**Tableau XVIII.** Activité antiradicalaire des extraits du fruit d'*Elaeagnus angustifolia*

|                   | IC <sub>50</sub> (µg /ml) | EC <sub>50</sub> (µg /µg DPPH) | APR         |
|-------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------|
| <b>Quercétine</b> | 0,44±0,00                 | 0,02 ± 0,00                    | 50 ±0 00    |
| <b>BHT</b>        | 4,47±1,00                 | 0,21±0,04                      | 4,77±1,09   |
| <b>Met</b>        | 808,81±31,60              | 40,44±1,58                     | 0,02±0,00   |
| <b>Aq</b>         | 678,46±87,14              | 33,92±4,35                     | 0,02±0,00   |
| <b>DCM</b>        | 1065±188,49               | 53,25±7,42                     | 0,018±0,002 |
| <b>Ep</b>         | -                         | -                              | -           |

A des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés, la quercétine et le BHT, ils ont montré une activité antiradicalaire puissante avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 4,47µg/ml et 0,44 µg/ml et des APR de l'ordre de 4,77 et 50 pour le BHT et la quercétine respectivement dont le pouvoir antioxydant de la quercétine est 10,4 fois plus actif que celui de BHT.

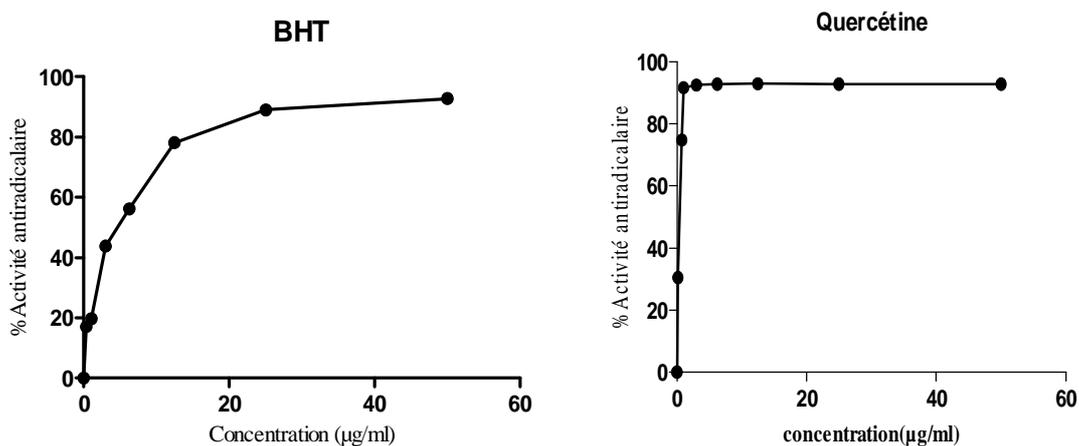
Parmi les quatre extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*, l'extrait aqueux représente l'extrait le plus actif avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 678,46µg /ml et un APR de 0,02 suivi par l'extrait Met avec une IC<sub>50</sub> de 808,81µg/ml et un APR de 0,02.

L'activité antiradicalaire de ces extraits pourrait s'expliquer par la présence des tanins et des flavonoïdes qui sont détectés uniquement dans les extraits polaires de notre étude (tests préliminaires, dosage). En effet les flavonoïdes et les tanins sont des piègeurs de radicaux libres (Diallo, 2005). Par ailleurs, Uchida et ses collaborateurs suggèrent que les tanins ont

une action de piégeage radicalaire sur le radical 1-1 diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (De Bruyne et al., 1999).

Par contre l'extrait apolaire (DCM) montre une très faible activité antiradicalaire avec une  $IC_{50}$  1065  $\mu\text{g/ml}$  et un APR de 0,018, ce qui montre que les antioxydants apolaires sont inactifs vis-à-vis le DPPH. Alors pour l'extrait éthérique, le pouvoir antiradicalaire n'atteint même pas 50% (**Figure 33**).

En comparaison avec les antioxydants standards, tous les extraits testés s'avèrent moins actifs. L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation linéaire significative ( $r^2=0,90$ ,  $p\leq 0,05$ ) entre l'activité antioxydante relative (test au DPPH) et le pouvoir antiradicalaire (Test du blanchissement du  $\beta$ -carotène) (**Figure 34**).



**Figure 31.** Activité antiradicalaire des standards la quercétine et le BHT

(Chaque valeur représente la moyenne de deux essais)

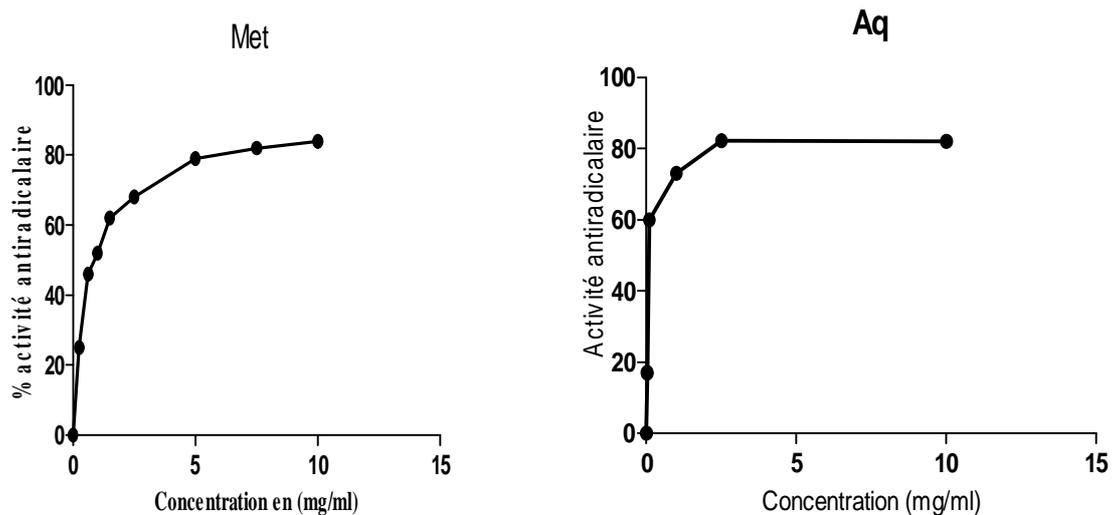


Figure 32. Activité antiradicalaire des extraits polaires du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

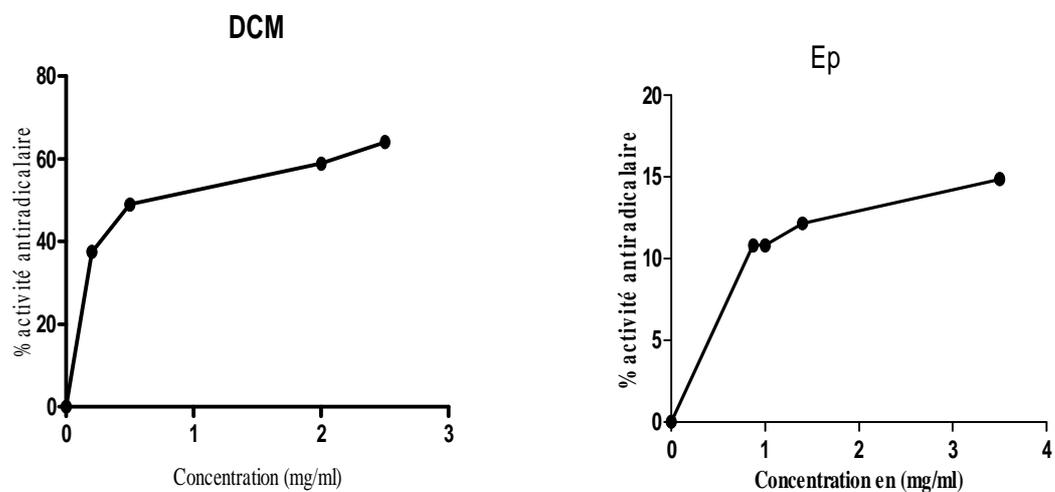
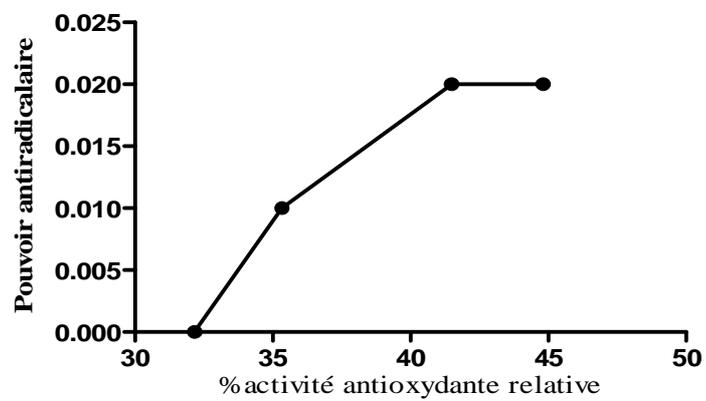


Figure 33. Activité antiradicalaire des extraits apolaires du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

$$R^2=0,90$$



**Figure34.** Corrélation linéaire entre le pouvoir antiradicalaire et le pourcentage de l'activité antioxydante relative ( $p \leq 0,05$ ).

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux effets antibactérien et antioxydant des différents extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*

Du point de vue phytochimique, nous avons réalisé une extraction générale dont le plus grand rendement est observé avec l'extrait aqueux (30,46 %) par contre le plus faible rendement a été obtenu avec les extraits éther de pétrole et de dichlorométhane (0,35 ; 0,40) respectivement.

S'agissant des réactions de caractérisation, nous avons révélé la présence des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits polaires et leur absence dans les extraits apolaires du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*. Cependant, les alcaloïdes sont absents dans tous les extraits.

La Chromatographie sur couche mince nous a permis de révéler un flavonoïde qui est la rutine mais ce résultat reste relatif.

L'analyse des différents extraits dans le fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* par HPLC a montré la présence de quelques composés phénoliques tels que la catéchine et l'acide caféique dans l'extrait méthanolique alors que pour l'extrait aqueux, nous avons détecté la présence de l'acide tannique. Dans l'extrait DCM, cette analyse a montré la présence de l'acide tannique et l'acide caféique.

Le dosage des flavonoïdes et des tanins nous a permis de confirmer les réactions de caractérisation, en ce qui concerne la présence des substances dans les extraits polaires et leur absence dans les extraits apolaires.

Concernant l'analyse quantitative des polyphénols totaux, nos résultats montrent que l'extrait méthanolique est riche en polyphénols avec une teneur de  $3,94 \pm$  mg EAG/g d'extrait par rapport aux autres extraits suivis par l'extrait dichlorométhane avec une teneur de  $2,9 \pm 0,7$ mg EAG/g d'extrait respectivement. Cependant, nous avons remarqué une faible teneur en polyphénols dans l'extrait éther de pétrole.

Selon les résultats obtenus, nous avons remarqué que le fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* semble avoir des propriétés antibactériennes. Les tests effectués sur les bactéries ont donné quelques résultats positifs dont l'extrait dichlorométhane (DCM) a montré le plus d'efficacité avec un diamètre de 15,71 mm sur la souche *Staphylococcus aureus*. L'extrait éther de pétrole a montré aussi une activité antibactérienne sur les deux souches

(*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les extraits méthanolique et aqueux sont eux qui présentent la plus évidente activité

Par contre le test antifongique, tous nos extraits ne seraient pas actifs sur la souche fongique *Candida albicans*.

Bien sur, ces résultats obtenus in vitro ne constituent qu'une première étape de recherche de nouveaux produits antimicrobiens et naturels. Des études complémentaires devant pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Concernant l'activité antioxydante des différents extraits du fruit de *Elaeagnus angustifolia*, nous avons utilisé deux méthodes ; le test de blanchissement de  $\beta$ - carotène et le test au DPPH qui ont révélé que les extraits polaires sont les extraits les plus actifs alors que les extraits apolaires sont moins actifs.

En effet, les résultats obtenus au cours des différents dosages, des réactions de caractérisation et des tests biologiques ont permis de confirmer l'utilisation traditionnelle de *Elaeagnus angustifolia*.

Il s'avéra indispensable de pouvoir approfondir les études sur les conditions biochimiques et autres activités biologiques afin d'envisager la formulation d'un médicament traditionnel amélioré dans le futur.

Enfin, nous recommandons une culture des plantes médicinales et alimentaires pour permettre à la population d'avoir des médicaments et des denrées alimentaires moins chers et d'éviter la disparition de certaines espèces intéressantes.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

**Ahmadiani A., Hosseiny J., Semnian S., Javan M., Saeedi F., Kamelinejad M., Saremi S.** (2000). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. *Journal of Ethnopharmacology*, **72**:287-292.

**Ali Shtayeh M-S, Yaghmour R-M-R., Faidi Y-R., Salem K., Al Nuri M-a.** (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, **60**:265-271.

**Allain Y.M** ; 1988. les arbustes Larousse. (Ed) Pierre Angland. Paris. 128 p.

**Askoy A et Sahin U.** (1999). *Elaeagnus angustifolia* L. as a Biomonitor of heavy metal pollution. *Turk.J.Bot*, **23**:83-87.

**Atefeibu E.S.I** . (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii. Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar. 33p

**Audigie C-L., Figarella J., Zonszain F.** (1978). Manipulation biochimique. Doin (Ed). Paris, 274p.

**Ayaz F-A., Kadioglu A., Dogru A.** (1999). Soluble sugar composition of *Elaeagnus angustifolia* L. var orientalis (L) Kuntze ( Russian Olive). *Fruits Turk J of Botany*, **23**:349-354.

**Ayaz .FA et Bertoft E** . (2001). Sugar and phenolic acid composition of stored commercial Oleaster fruits. *Journal of food composition and analysis*, **14**:505-511.

**Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur T., Gazin TC., Pinkas M., Luycky M., Gazin M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arznein Forsch/Drug Res* 1-6.

**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

**Beloued A.** (1998). Plantes medicinales d'algérie. Dép de botanique à l'institut national agronomique d'El-Harrch-Algérie. p:277.

**Bekker N-P et Glushenkova A.I.** (2001). Components of certain species of the Elaeagnaceae family. *Chemistry of natural compound*, **37** :97-116.

**Boizot N et Charpentier J-P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des Techniques de l'Inra*. pp79-82.

**Bock B.** (2008). *Elaeagnus angustifolia* L. olivier de Bohême. *Tela Botanica*, **4** :2 p.

**Boussard R., Luissance P.** (1984). Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes. Tec et Doc (Ed), Paris. 600p

- 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
- Bravo L** (1998). Polyphenols : chemistry dietary sources; metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11): 317-333.
- Bretaudeau J et Fauré Y.** (1992). Atlas d'arboriculture fruitière. Tec et Doc (Ed).Paris, 289p
- Brosse J.** (2000).Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed).Canada, 576p.
- Bruneton J.** (1999).Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3ème édition, lavoisier, Paris, 1120 p.
- Cabrera M ., Simoens M ., Falchi G. Lavaggi M.L ., Puo O-E ., Castellano E-E ., Vidal A., Azqueta A ., Monge A ., Cerain A.L ., Sagraera G ., Seoane G ., Grecetto H. and Gonzalez M.**(2007). Synthetic chalcones,flavanones and flavones as antitumoral agents : Biological evaluation and structure activity relationships , *Bioorganic et Medical Chemistry*, 15:3356 -3367.
- Choi Y-M ., Noh D-O ., Cho S-Y ., Suh H-J ., Kim K-M ., Kim J-M.** (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, 39:756-761.
- Chung K-t et Wei C-I.** (1998). Are tannins a double edged sword in biology and health?.*Trends in Food Science et Technology*, 9:168-175.
- Ciulel I.** (1982) .Methodology for analysis of vedetable drugs. Ed I.P.A.C.Romania.67p
- Corvec S.** (2009).Anatomie fonctionnelle bactérienne.La paroi bactérienne.Laboratoire de bactériologie,UFR de médecine,Nantes.32p
- Couplan F.**(2000).Dictionnaire étymologie de botanique .Nestlé (Ed).Luisane.Paris, 283p.
- Curtay J-P & Robin J-M.** (2000).Intérêt des complexes antioxydants. Nutrithérapie INFO.6p
- Dacosta Y.**(2003).Les phytonutriments bioactifs. (Ed)Paris.317p
- De Bruyne T.,Pieters ., Deelstra H., Vlietink A.**(1999).Condensed vegetable tannins :Biodiversity and biological activities .*Biochemical Systematics and Ecology*,27 :445-459.
- Diallo D ., Sanogo R ., Yasambou H ., Traré A ., Coulibaly K ., Maïga A.** (2004).Etude des constituants des feuilles de *Zizyphus mauritiana lam.*(Rhamnaceae).utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali.*C.R.Chimie*,7 :1073-1080.
- 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

**Dohou N ., Yani K ., Thahrouch S ., Idrissi Hassani L-M ., Badoc A ., G mira N.**(2003). Screaming phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides* .Bull..Soc.Pharm.Bordeaux.**142**:61-78.

**DSA.** (2004). Distribution de l'olivier de Bohème dans la wilaya de Batna.

**Dumais O et Roux J-L.** (2003).lyophilisation.2p

**Dzhangaliev A-O ., Salova T-N ., Tuekhanova P-M.** (2003).The wild fruit and plants of kazakstan. *Horicultural Revioes*, **29**:46-52.

**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

**Ferrari J.** (2002).Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles:Gnidia involucrata Steud.ex A. Rich. Thèse de doctorat. Université de Lausanne.225p

**Forkmann J et Martens S.** (2001).Metabolic engineering and application of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology*, **12**:155-160.

**Gervais N.** (2001) .Aliments fonctionnels et produits nutraceutiques. Les fibres, les vitamines et les autres éléments nutritif .*Le médecin de Québec*, **36** (4) : 64-68.

**Ghestem A., Segun E ., Paris M ., Orecchioni A-M.** (2001).Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273p

**Girotti-channu C.** (2006).Etude de la lipolyse et de synthèse des composés du Derme sous l'effet de la Cirsimarine ,Flavone extraite de *Microtea Debilis*. Thèse de Doctorat .Institut national des sciences appliquées de Lyon.127p

**Gloaguen J C.** (1982). Connaitre et reconnaitre les arbres et les arbustes des flores et des compagnes, Ouest France (Ed).Rennes,220p.

**Gonchaorva N-P et Glushenkova A-I.** (1996).Detection of diol lipids in plants of Elaeagnaceae family and the properties of their synthetic analogs.*Chemistry of Natural Compound*, **32(5)**:686-688.

**Goncharova N-P et Glushenkova A-I.** (1997). Extract of *Elaeagnus angustifolia* flowers. *Chemistry of Natural Compounds*, **33(3)** :276-277.

**Guignard J-L.**(1998).Abrégé de botanique. Masson (Ed) Paris, 212p.

**GürbüZ I ., Ustüm C ., Yeslacla E ., Sezck E ., and Kutsal O.**(2003). Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal of Ethnopharmacolgy*,**88** :93-97.

**Halliwell B et Whiteman M.** (2004).Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of pharmacology* .**142**:31-2.

**Hashimoto F., One M., Masuoka C., Ito Y., Sakata Y., Chimizu K., Nonaka G., Nichioka I., Nohara T.** (2003). Evaluation of the antioxidant effects (in vitro) of tea polyphenols. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **67** (2) :396-401.

**Heim E-K., Tagliaferro A-R., Bobilya D-J.** (2002) Flavonoid antioxidants : chemistry , metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **13**: 572-584.

**Heimler D., Vignolini P., Giulia Dini M., Francesco Vincieri F., Rmani A.** (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, **99**:464-469.

**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 dendrologie. FNGEF (Ed) Nancy, 274p.

**Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée.** (1985).

**Khartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A.** (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, **100**:584-589

**Kuntie V., Pejje N., Ivkovic B., Vugie Z., Ilie K., Miele S., Vukojevic V.** (2007). Isocratic R-P-HPLC method for rutin determination in solid oral dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **43**:718-721.

**Kusova R-D., Luk'yanchikov M-S.** (1989). Fatty acid Composition of the fruit of *Elaeagnus angustifolia*. *Khimiya prirodnykh Soedinenii*. p846.

**Lee Y-S., Chang Z-Q., Oh B-C., Park S-C., Shin S-R., Kim N-W.** (2007). Antioxidant activity anti-inflammatory activity. And whitening effects of extracts multiflora Thumb. *J Med Food*, **10**:126-133.

**Linden G.**, 1981. Technique d'analyse et de controle dans les industries agro-alimentaires Ed. collection sciences et techniques. Paris, 434p.

**Liyana-Pathirana C-M., Shahidi F.** (2006). Antioxidant properties of commercial soft and Hard winter wheats (*Triticum aestivum* L) and their milling fractions. *Journal of science of Food and agriculture*, **86**:477-485

**Lysette Bossokpi I-P.** (2003). Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako. 127p.

**Mansouri A., Ennabek G., Kokkalou E., Kefalas P.** (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, **89**:411-420.

**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

**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.

- Mekiou R.** (2004). Thèse de Doctorat. Université de Mentouri Constantine.
- Hadi M.** (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p
- Mohammed Z.** (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des Huiles essentielles et Flavonoïdes de quelques Plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université de Tlemcen.140p
- Molineux P.** (2004).The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J-Sci.Technol*, **26**:211-219
- Mori A .,Vishino C., Enoki N., Twata S.** (1987). Antibacterial activity and mode of action of plant Flavonoids against *Proteus Vulgaris* and *Staphylococcus Aureus*. **26**:2231-2234.
- Muzika R-M.** (2005). Russian Olive. *Elaeagnus angustifolia* L.2p
- Nauciel C.** (2000) .Bactériologie médicale, Masson(Ed).Paris, 275p.
- Patthamakanokporn O.,Puwastien P.,Nitithamyong A.,Sirichakwal P.**(2007).Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits .*Journal of Food Composition and analysis*,**21**:241-248.
- Parakash D ., Upadhyay G ., Brahma N ., Singh H-B.** (2007). Singh antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*, **104**:783-790.
- Pelli K., Lyly M.** 2003.Les antioxydants dans l'alimentation.Finlande.28p.
- 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
- Picman A-K ; Schneider E –F ; Picman J.** (1995). Effect of flavonoids on mycelial growth of *verticillium albo-atrum*.*Biochemical Systematics and ecology*, **23**:683-693.
- Poletti A.** (1987). Fleurs et Plantes 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. La maison 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 Magistère .université de Batna.80p.
- Sabir S -M.,Ahmed S-D.,Hussain M-I.,Tahir M- K.**(2004).Antibactériale activity of *Elaeagnus umbellata* (Thunb) a medicinal plant from Pakistan. *Saudi Medical Journal*, **28**:259-263.
- Sakamura F.,Suga T.**1987. Changes in chemical components of ripening oleaster fruits. *Phytochemistry* , **26**(9):2481-2484p.

**Sanchez-Moreno C.** (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*, **8**:121-137p

**Saulet S., Iecoupeau J-P., Vercauteren J.** (2001). Implication chimique et biologique de la présence de polyphénols dans le cacao. Deuxième journée scientifique de l' UFR de sciences pharmaceutiques. *Pharm. Bordeaux*, **140**:127-166.

**Schofield P., Mbugua D-M., Pell A N.** (2001). Analyses of condensed tannins: a review *Animal Food and Technology*, **91**:21-40.

**Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A-R., Simonic M., Knez Z.** (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, **89**:191-198.

**Somon E.** (1985). Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. OPU (Ed). Algérie, 143p.

**Syed D., Ahmad., Mubasher S., Sabir., Hussain S., Asad.** (2005). Morphological and biochemical variations in *Elaeagnus umbellata* Thunb. from mountains of Pakistan, university College of agriculture, Pakistan, **64**:121-128.

**Tesky.** (1992). *Elaeagnus angustifolia*, disponible sur: <http://issg.org/database/species/Similarspecies.asp> consulté le 30/05/2007.

**Wang S-V., Bouman L., Ding M.** (2007). Variation in free radical Scavenging capacity and antiproliferative activity among different genotypes of autumn olive (*Elaeagnus umbellata*). *Planta Med*, **75**(5) :468-477.

**Wanyuan M.** (1998). A study on *Elaeagnus angustifolia* for Fuelwood and Fodder in Arid Zone. *Research Institute of Forestry, China*

**Wen-Rehaba A-I.** (2002). étude des activités biologiques et la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera Indica L.* (Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako. 128p.

**Wong S-P., Leong L-P., William Koh J-H.** (2006). Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food chemistry*. **99**:775-783

**Yameogo N.** (2003). Etude de la contribution de l'aviculture traditionnelle urbaine et périurbaine dans la lutte contre les pathologies aviaires au Burkina Faso, CRDI. Université de Ouagadougou.

**Yanez J-A., Anderus P-K., Davies N-M.** (2007). Methods of analysis and separation of chiral flavonoïds. *Journal of Chromatography*, **B848**:159-181.

**Yang J., Guo J., Yuan J.** (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT*, **41**:1060-1066

**Zouhar K.** (2005). *Elaeagnus angustifolia* in fire effect informations system. Fire science laboratory. US department of Agriculture. Rocky Mountain Research Station (Ed). Etats Unis d'Amérique. Disponible sur : [http://www.FS.fed.US/dobase/fois plants/tree/elaag/](http://www.FS.fed.US/dobase/fois_plants/tree/elaag/) consulter le 13/11/2007.

## Résumé

Dans la présente étude, les activités antimicrobiennes et antioxydantes ont été évaluées dans les extraits du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia*. L'analyse qualitative (CCM, HPLC) des différents extraits a montré la présence des flavonoïdes et des tanins. Les teneurs des extraits en polyphénols totaux, en tanins condensés et en flavonoïdes ont été aussi déterminées.

L'analyse quantitative a montré que l'extrait méthanolique est riche en polyphénols totaux avec une teneur de  $3,94 \pm 0,07$  mg E AG/g d'extrait suivi par les extraits dichlorométhane et aqueux avec des valeurs de  $2,9 \pm 0,7$  mg E AG/g d'extrait et de  $2,32 \pm 0,48$  mg EAG/g d'extrait.

Le dosage par spectrophotométrie des flavonoïdes et des tanins a montré la présence de ces substances dans les extraits polaires et leur absence dans les extraits apolaires.

L'effet antibactérien des extraits du fruit de *l'Elaeagnus angustifolia* est réalisé par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats obtenus ont montré un meilleur effet antibactérien des deux extraits (DCM, Ep)

Le test de l'activité antioxydante (test de blanchissement de  $\beta$ - carotène, test au DPPH) a révélé que les extraits polaires sont les plus actifs.

**Mots clés :** *Elaeagnus angustifolia*, effet antimicrobien, activité antioxydante, extraits polaires (Aq, Met), extraits apolaires (Ep, DCM)

### Abstract

In This Works, the antimicrobial activity and antioxidant activity are evaluated of fruit from *l'Elaeagnus angustifolia*. the qualitative analysis (CCM, HPLC) of different extracts showed the presence of flavonoids and tannins.

Also total phenolic content, associates tannins and flavonoids are determined in this extracts.

The quantitative analysis are showed that the height content of total phenolic was concentrated in the methanolic extract with  $3,94 \pm 0,07$  mg EAG/g of extracts, in the second level the Aq extract and DCM extract with  $2,9 \pm 0,7$  mg EAG/g of extracts and  $2,32 \pm 0,48$  mg EAG/g of extracts respectively .

The content of flavonoids and associates tannins was determined specrophotométrically and showed the presence of these in the polar extracts (Met and Aq) and their absence in apolar extracts (DCM, Ep).

Antibacterial effect was realized by the disc diffusion method, the results obtained showed by the (DCM, Ep) have the highest antibacterial effect.

The assay of antioxidant activity ( $\beta$ -carotene bleaching assay, the DPPH test) revealed the antioxidant capacity of the polars extracts.

**Key words:** *Elaeagnus angustifolia*, Antibacterial effect, antioxidant activity, polar extracts, apolar extracts

### الملخص :

خلال هذا الدراسة تم تقييم النشاط الأوكسدي و العمل التثبيطي للبكتيريا لمختلف مستخلصات ثمار *l'Elaeagnus angustifolia* التحليل النوعي لهذه المستخلصات بواسطة CCM كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة و HPLC كروماتوغرافيا السائلة ذات الفعالية العالية كشف عن وجود الفلانونويدات و الصباغ التي تم تحديد كمياتها.

-اثبت التحليل الكمي أن المستخلص المثنانولي يحتوي على كمية تقدر ب  $0,07 \pm 3,94$  مغ مكافئ الغاليك / غ مستخلص يليه المستخلص DCM و المستخلص Aq بقيمة هي على التوالي  $0,7 \pm 2,9$  مغ مكافئ الغاليك / غ مستخلص  $2,32 \pm 0,48$  مغ مكافئ الغاليك / غ أدت الدراسة الكمية لهذه المستخلصات إلى الكشف عن وجود الفلافونويدات في المستخلص المثنانولي و المستخلص Aq و غيابها في DCM و المستخلص Ep.

العمل التثبيطي لمستخلصات ثمار *Elaeagnus angustifolia* اثبتت فعالية كل من مستخلص DCM و المستخلص Ep تقييم النشاط الأوكسدي بطريقة  $\beta$  كاروتين و اختبار DPPH كشف فعالية المستخلصات (Met, Aq). الكلمات المفتاحية:

ثمرة *l'Elaeagnus angustifolia* ، العمل التثبيطي للبكتيريا ، النشاط الأوكسدي ، التحليل النوعي ، التحليل الكمي . المستخلصات (Met, Aq) ، المستخلصات (Ep, DCM)