

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA -1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'étude en Vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option: Phytothérapie et Santé

Thème :

***Dosage et détermination de certaines activités biologiques des tanins
de fruits de *Quercus ilex* L. (chêne vert)***

Présentées par : M^{lle} SidoummouImane. Soutenu : 18 Septembre 2016

M^{lle} ElahceneImene.

Devant le jury :

M^{me} : Bradea M. S Maitre de conférences A UB1 Présidente

M^{me} : BENASSEL N. Maitre assistante A UB1 Examinatrice

M^r : Ruibi Maitre de conférences A UB1 Promoteur

M^{me} : Halli Doctorante CRD Co-promoteur

Promotion

2 0 1 5 - 2 0 1 6

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH, le tout puissant qui nous a donné la force, la patience et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance vont à nos Directeur de mémoire Mr RUIBI. A pour son dévouement, ses conseils et son soutien tout au long de l'élaboration de ce travail.

Nous remercions vivement Madame HALLI.L ainsi que l'ensemble du personnel du CRD SAIDAL d'El-Harrach pour leur convivialité, et disponibilité.

Nous remercions Madame BRADEA M.S de nous avoir honoré de présider notre jury de soutenance.

Nous remercions Madame BENASSEL qui a bien voulu examiner ce manuscrit et pour sa présence parmi les jurys.

Nos pensées vont à tous les enseignants qui ont participé à notre formation.

À tous les étudiants de master II de la promotion 2016.



*Avec mes sentiments de gratitudes les plus profonds, Je dédie ce
modeste travail :*

*A mes très chers parents, pour m'avoir supporté, soutenu, pour
leurs sacrifices, leurs encouragements, leurs efforts durant toutes
mes études et mes recherches.*

A ma chère sœur Yassmine et mon cher frère Abdelrahim.

*A mon adorable amie Sidoummou imene pour sa gentillesse et son
soutien.*

A ma chère cousine Manel.

A mes amies Manel, Nesrin, Zahra, Hayat.

A mon fiancé Omar

A tous ceux qui m'aiment

ELAHCENE IMENE



Je dédie ce modeste

*Travail et ma profonde gratitude à ma mère
et mon père pour leur soutien et tout leur sacrifice.*

*A mes précieuses sœurs Khadidja et Nacera,
et mes deux chers frères Sofiane et Abd nour.*

*A ma très chère tante Houria, et mes cousines
Ameena et marwa.*

*A ma meilleure amie, ELahcene imene qui
m'a supporté durant ces trois dernières années.et
chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.*

*Pour mes Adorables amies Manel, Nassima,
khadidja et Nesrine.*

A tous mes collègues de la promotion 2016.

Sidoummou imane.

Tableau I : certaines plantes riches en tanins.....	19
Tableau II : Microorganismes utilisés dans l'activité antimicrobienne.....	24
Tableau III : Concentrations testées dans le test antioxydant.....	38
Tableau IV : Test phytochimique de chêne vert <i>Quercus ilex</i> L.....	41
Tableau V :Résultats quantitatifs du dosage de tanins condensés et hydrolysables.....	43
Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches microbiennes en présence de l'extrait aqueux et l'extrait de tanins des glands de <i>Quercus ilex</i> L.....	45
Tableau VII : Les IC ₅₀ l'acide ascorbique et extraits tannique.....	50
Tableau VIII : Pourcentage d'inhibition et la densité optique de l'extrait tannique des fruits de chêne vert selon la méthode de DPPH.....	Annexe 3
Tableau IX : Pourcentage d'inhibition et la densité optique de l'acide ascorbique.....	Annexe 3
Tableau X :Lot témoin : souris ayant reçu la solution physiologique.....	Annexe4
Tableau XI : Lot de référence :souris ayant reçu le produit de référence.....	Annexe 4
TableauXII : Lot essais 1 : souris ayant reçu l'extrait aqueux de fruits de chêne vert.....	Annexe 4
TableauXIII : Lot essais 2 : souris ayant reçu l'extrait tannique de fruits de chêne vert.....	Annexe 4
Tableau XIV : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux et l'extrait de Tanin de fruits et de chêne vert.....	Annexe 4

% (I) : Pourcentage d'inhibition.

ATTC : American type culture collection = Collection américaine des cultures type.

DO : Densité Optique.

DPPH : 2-2- diphényl picryl-1-hydrazyl.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50 %.

O.M.S : organisation mondiale de la santé.

R : Rendement.

Figure 01 : (A) Arbre de chêne vert (<i>Quercus ilex</i>), (B) Ecorce de chêne vert.....	04
Figure02 :morphologie de <i>Quercus ilex</i>	04
Figure03 : (A) Feuillage de chêne vert en avril avec floraison des nouvelles pousses vert grisâtre(B) chaton mâle.....	05
Figure04 : les feuilles et les fruits <i>Quercus ilex</i> (chêne vert).....	06
Figure05 : Répartition du chêne vert dans le monde.....	08
Figure06 : répartition géographique de chêne vert dans l'Algérie.....	09
Figure07 : Structure des tanins hydrolysables et leur monomère.....	17
Figure08 : Structure des tanins condensés et leur monomère.....	18
Figure09 : protocole expérimentale de l'extraction des tanins.....	28
Figure 10 : méthode de diffusion sur gélose.....	32
Figure11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire.....	37
Figure 12 : variation des pourcentages de l'œdème et pourcentage de Réduction de l'œdème chez les souris en fonction des différents traitements : lots traités : Lot Témoin, lotde référence, lot E1 (extrait aqueux) et lot E2 (extrait de tannins).....	47
Figure13 : Pourcentage d'inhibition pour l'extrait tannique et l'acide ascorbique en fonction des différentes concentrations.....	49
Figure14 : les étapes de l'activité anti-inflammatoire.....	Annexe5
Figure15 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des glands de chêne vert.....	Annexe6
Figure17 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des glands de chêne vert.....	Annexe6

Introduction.....	01
Chapitre I :Présentation de la plante.	
I.1 Généralité sur le chêne.....	03
I.2 Description botanique de chêne vert (<i>Quercus ilex</i> L.).....	03
I.3 Écologie.....	06
I.4 La récolte.....	07
I.5Etymologie.....	07
I.6Systématique.....	07
I.7Répartition géographique du chêne vert.....	07
I.7.1Dans le monde.....	07
I.7.2EnAlgérie.....	08
I.8 Propriétés médicinales.....	10
I.9Toxicologie.....	10
I.10 Principaux constituants chimiques.....	10
Chapitre II : les métabolites secondaires.	
II. Les métabolites secondaires.....	12
II.1. Classification des métabolites secondaires.....	12
II.1.1 Les Terpénoïdes.....	12
II.1.2 Les alcaloïdes.....	12
II.1.3 Les composés phénoliques.....	13
A) Les acides phénoliques.....	13
B) Les flavonoïdes.....	13
C) Les anthocyanes.....	14
D) Les coumarines.....	14
E) Les tanins.....	15
E.1 Généralités sur Les tanins.....	15
E.2 Définition des tanins.....	15
E.3 Classification des tanins.....	16
E.3.1 Tanins hydrolysables.....	16
E.3.2 Tanins condensés.....	17
E.4 Plantes à tanins.....	18
E.5 Propriétés physico-chimiques des tanins.....	19
E.6 Propriétés pharmacologiques des tannins.....	20
E.7Activité antioxydant des tanins.....	21
E.8 Inhibition enzymatique.....	21
E.9 Activité thérapeutique due à l'astringence.....	21
E.10 Activités antimicrobiennes des tanins.....	21
E.11 Prévention des maladies cardiovasculaire.....	22
Chapitre III : Matériel et méthodes.	
III. Matériel et méthodes.....	23
III.1. Matériel.....	23
III.1.1. Matériel biologique.....	23

III.1.2 Matériel non biologique.....	24
III.2 Méthodes.....	24
III.2.1 Identification des principaux constituants chimiques.....	24
III.2.1.1 Préparation de poudre.....	24
III.2.1.2 Préparation de l'infusé.....	25
III.2.2 Extraction des tanins.....	27
III.2.2.1 Méthode d'extraction de tanins.....	27
III.2.2.2 Détermination du rendement de l'extraction des tanins.....	29
III.2.3 Estimations quantitatif des tanins.....	29
III.2.4 Tests biologiques.....	31
III.2.4.1. Test antimicrobienne.....	31
III.2.4.2 Test anti-inflammatoire.....	34
III.2.4.3 Test antioxydant.....	37

Chapitre VI : Résultats et discussion.

IV.1. Composition chimique du chêne vert (<i>Quercus ilex</i> L.).....	41
IV.2. Détermination quantitative des tanins.....	42
IV.3. Teneur des tanins.....	42
IV.4. Résultats des activités biologiques.....	44
IV.4.1 Activité antimicrobienne.....	44
IV.4.2. Test anti-inflammatoire.....	47
IV.4.3. Test antioxydant.....	50
Conclusion.....	52
Annexes	
Références bibliographiques	

Glossaire

Anti-diarrhéique: qui combat la diarrhée.

Antimicrobien : un antimicrobien est une substance qui tue ou inhibe la croissance des micro-organismes.

Antioxydant : molécule ou substance qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.

Anti-inflammatoire : qui combat des processus inflammatoires (liée à une infection, à des rhumatismes).

Aponévrose plantaire : est un tissu fibreux du pied situé sous la peau, au niveau de la voûte plantaire et fixé au talon et aux premières phalanges.

Astringent : qui renforce les muqueuses de la peau, réduisant ainsi les sécrétions et les saignements.

Diurétique : qui favorise l'élimination par voie urinaire.

Carraghénine : mucopolysaccharide sulfaté extrait d'une algue marine.

Gram : méthode ou coloration de Gram ; méthode d'analyse bactérienne qui consiste à colorer les microbes de manière à pouvoir distinguer ceux qui restent coloré, dits Gram positifs (Gram+), et ceux qui se décolorent, dits Gram négatifs (Gram-).

Monoïque : qualifie une plante à fleurs de sexes séparés, mais appartenant à une même espèce.

Pivotant : qualifie un organe souterrain très développé, de forme conique, qui émet des racines secondaires pouvant elles-mêmes se ramifier.

Vasoconstricteur : qui resserre les vaisseaux.

Quercus ilex L. est un arbre appartenant à la famille des *Fagaceae*, qui est très répandu dans le bassin méditerranéen. Il est connu communément en Algérie sous le nom de « EL-Ballot ».

Notre travail se repose sur la mise en évidence des propriétés antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydant de l'extrait tannique et l'extrait aqueux des glands de *Quercus ilex L.*

Le criblage phytochimique réalisée sur les glands de *Quercus ilex L.* a permis de mettre en évidence la présence des tannins (notamment les tanins galliques), glucosides, leuco-anthocyanes, saponosides, coumarines et quinones libres.

L'estimation quantitative des tanins dans l'extrait analysés montre que la plante est riche en ces métabolites avec un rendement de 8%.

Le dosage des tanins effectué sur l'extrait tannique de *Quercus ilex L.* a montré une diminution de la teneur des tanins condensés par rapport aux tanins hydrolysable, les rendements respectifs sont : 0.78 %, 4.61%.

Nos résultats ont montré que l'extrait tannique de *Quercus ilex L.* possède une activité antioxydant importante avec un IC50 de 0.5 mg/ml identique avec l'IC50 de l'acide ascorbique qui est de 0.5 mg/ml.

L'évaluation du pouvoir antimicrobienne de l'extrait tannique révèle qui a une action inhibitrice sur les bactéries testées *Escherichia coli* 22 mm, *Staphylococcus aureus* 16 mm et *Pseudomonas aeruginosa* 19 mm, et une légère action sur une levure (*Candida albicans* 12 mm), tandis que l'extrait aqueux a un pouvoir moins important.

L'étude pharmacologique *in vivo* a révélé que l'extrait tannique possède un bon pouvoir anti-inflammatoire avec un pourcentage de réduction d'œdème de 43.73 % tandis que 22.55% pour l'extrait aqueux.

Mots clés :

Quercus ilex L., Extrait aqueux, Extrait tannique, Activité antimicrobienne, Activité anti-inflammatoire, Activité antioxydant.

*Quercus ilex*L. is a tree belonging to the family of the **Fagaceae** that is very widespread in the Mediterranean. It is known commonly in Algeria under the name of "EL-Ballot".

Our work is based on the highlighting of the antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant of the tannic extract properties and the aqueous extract of the acorns of *Quercus ilex* L.

Screening phytochemical performed on the acorns of *Quercus ilex* L. helped to highlight the presence of tannins (including the Gallic tannins), glucosides, leucoanthocyanins, flavonoids, coumarins and free quinones.

The quantitative estimate of the tannins in the analyzed extract shows that the plant is rich in these metabolites with a yield of 8%.

The dosage of tannins on extraction of tannins from *Quercus ilex* L. showed a decrease in the content of tannins condensed 0.78% compared to the hydrolysable tannins 4.61%.

Our results showed that *Quercus ilex* L. tannin extract has an important antioxidant activity with IC50 are 0.5 mg/ml comparatively to Ascorbic acid, which has 0.5 mg/ml.

The antimicrobial effect evaluation of tannin extract reveals that it has an inhibitory action on tested bacteria and a slight action on yeast, while aqueous extract has a less important power.

The pharmacological study *in vivo* has revealed that tannin extract is a good anti-inflammatory.

Key words: *Quercus ilex* L, aqueous extract, extract of tannins, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity, antioxidant activity.

البلوط الاخضر *Quercus ilex* L هو شجرة من عائلة (Fagaceae) , حيث يوجد بكثرة في منطقة البحر الابيض المتوسط. يعرف في الجزائر تحت اسم البلوط.

يشمل هذا العمل دراسة حول خصائص الدباغة les tanins المستخرجة من ثمار البلوط الاخضر و كذلك المستخلص المائي للثمار , حيث قمنا بتحليل كيميائية و دراسة فعاليتها ضد الميكروبات و كذلك خصائصها المضادة للالتهاب و الاكسدة.

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي أن هذه النبتة غنية بالمركبات الثانوية: ، الدباغ (tanins)، الغلوكوزيدات (glucosides)، اللوكو-انتوسيانان (leuco-anthocyanes) الصابونين (saponosides)، الكومارينات (coumarines) و الكينونات الحرة (quinones libre).

التقدير الكمي للثمار اظهر انها غنية بهذه المركبات بعائد 8%.

كشفت نتائج التحليل النوعي لمستخلص الدباغ ان ثمار البلوط الاخضر تحتوي على les tanins hydrolysables اكثر من les tanins condensés.

بينت هذه الدراسة ان مستخلص الدباغ (extrait tannique) له خصائص مضادة للاكسدة , مضادة للالتهاب و كذلك فعاليتها ضد الميكروبات, في حين ان المحلول المائي اضهر نتائج اقل فاعلية.

الكلمات المفتاحية: *Quercus ilex* L، الفحص الكيميائي. مضاد للاكسدة , ميكروبات, التهاب, الفحص الكيميائي.

L'emploi des plantes médicinales est très valorisé dans toutes les traditions, les moyens thérapeutiques naturels étaient les seuls remèdes dont disposait l'humanité. **(Grunwald et Janicke,2006).**

A ce jour, plus de 10000 espèces de plantes différentes sont utilisées par les scientifiques et de nombreux médicaments sont élaborés à partir de leurs principes actifs. L'organisation mondiale de la santé (O.M.S) considère que dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remèdes. **(Ali-Dellile, 2010).**

En Algérie la phytothérapie a toujours existé et il serait plus juste de parler de médecine traditionnelle car la population algérienne a toujours eu recours à la guérison via les plantes médicinales; cela, par le biais de guérisseurs et de tradipraticiens ayant un grand savoir-faire dans le domaine**(Baba-Aissa, 2000).**

Selon **Salle (1991)**, la matière végétale contient un grand nombre de molécules appelées métabolites secondaire, Parmi ces métabolites secondaires, on trouve les tanins qui sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils ont un effet anti-diarrhéique, vaconstricteur, antioxydant, antiseptique et anti-inflammatoire **(Bruneton, 1999).**

Pendant des siècles, beaucoup de Fagaceae ont constitué une source de tanins **(Botineau, 2010)**, principalement le chêne, qui renferme des tanins en quantité très variable (8-20 %) **(Bruneton, 1999).**

Ce travail vise à contribuer à étudier la valorisation thérapeutique de *Quercus ilex*L. (Chêne vert) qui est très répandue en Algérie, mais pas suffisamment étudié et moins fréquemment employé par la population.

C'est dans cette optique que l'étude a porté sur la recherche des constituants chimiques et sur l'évaluation des activités biologiques. Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Screening phytochimique.
- Extraction des tanins.
- Dosage des tanins.

-
- Evaluation de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux à 10% et de l'extrait tannique par la méthode de diffusion en milieu gélosé.
 - Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait tannique par la méthode d'inhibition du radical DPPH (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

I.1. Généralité sur le chêne :

Le chêne est l'arbre qui symbolise la force, la sagesse, le savoir, l'autorité. Un arbre sacré de nombreuses traditions, il tire leur nom de la racine Celte « Kaarquez » qui veut dire bel arbre(Lemaire,2010).

Ils appartiennent à la famille des fagacées et plus particulièrement au genre *Quercus*. Il existe environ 600 espèces de chênes dans le monde, situés majoritairement dans l'hémisphère nord(Lemaire,2010).

On distingue deux grandes catégories de chênes : les chênes à feuilles caduques (chêne sessile, pédonculé, pubescent, tauzin et chevelu) et les chênes à feuilles coriaces et épineuses (chênes verts, liège et kermès) (Lemaire,2010).

Les premiers perdent leurs feuilles en hiver et sont des arbres de première grandeur pouvant atteindre plus de 30m de hauteur. Ils vivent sous les climats continentaux ou océaniques tandis que les seconds ont un feuillage persistant tout l'année et sont plutôt présents sur le pourtour du bassin méditerranéen(Lemaire,2010).

I.2. Description botanique de chêne vert (*Quercus ilex*L.) :

Le chêne vert est un arbre Originaire du sud de l'Europe et d'Afrique du nord, près du littoral méditerranéen (Brunie et al., 2006).

C'est un arbre à tronc court, qu'il peut attendre 15 à 20 m de hauteur (Boussard et Cuisane, 1984).

L'écorce gris vert et lisse quand elle est jeune, puis elle devient noirâtre et se fissure longitudinalement et se détachant en petites plaques (Polse, 2007).

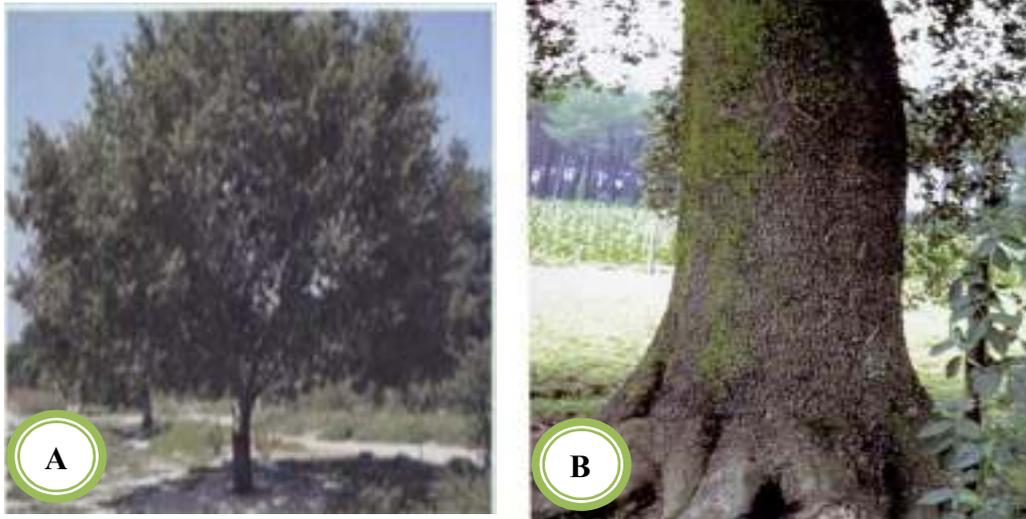


Figure 01 : (A) Arbre de chêne vert (*Quercus ilex*)(Gilman,1997).

(B) Ecorce de chêne vert (Losange,2008).

Les feuilles sont Persistant leur duré de vie est de 2 à 3 ans, de 3à 7 cm de long, épaisses, coriaces, présentant 12 à 20 nervures secondaires, vert très foncé, glabres et luisantes à la face supérieure, couvertes d'un duvet gris blanchâtre à la face inférieure, très variables de forme ; elliptique, ovales-lancéolées ; entières sur les arbre âgés, bordées de dents piquantes chez les jeunes sujets(Brosse,2004).



Figure02 :Morphologie de *Quercus ilex*L. (Brosse,2004).

Les fleurs sont unisexuées (arbre monoïque), La floraison s'étend d'avril à mai (Brosse, 2004), les fleurs mâles appelé chatons mâles sont allongées et pendantes, d'un vert virant au jaune à maturité, les fleurs femelles sont minuscules, groupées par 2 ou 3 à l'extrémité des rameaux et portées par un court pédoncule (Polse, 2007).



Figure03 : (A) Feuillage de chêne vert en avril avec floraison des nouvelles pousses vert grisâtre (Tassin, 2012), (B) chaton mâle (Liagre, 2006).

Le fruit est un akène monosperme appelé gland (Somon, 1987) Mûrs en septembre-octobre se sont des glands longs de 2 à 4 cm de diamètre, roux noirâtre, terminés par une pointe raide, inclus pour moitié environ dans une cupule grise tomenteuse à petites écailles triangulaires pédoncule court (Brosse, 2004).

Selon Maire (1961) le chêne vert présente deux types de glands :

- Glands amers et âpres, variété « *Genuina P. cout* ».
- Glands doux, un peu sucrés, variété. « *Ballota (desf)* ».



Figure04 : les feuilles et les fruits *Quercus ilex*L.(Tassin,2012).

La fructification est annuelle et se fait du mois de Novembre au mois de Décembre, mais ne commence que lorsque l'individu atteint environ 12 ans. A partir de 25 à 30 ans, elle devient appréciable et finalement abondante entre 50 et 100 ans (Boudy, 1952). La pollinisation est effectuée par les insectes, mais les fruits sont dispersés par les animaux.

Le chêne vert a une croissance très lente (3m en 20 ans) ; elle peut atteindre et même dépasser 1 000 ans. (Brosse,2004).

I.3.Écologie :

Le chêne vert supporte bien la chaleur et la sécheresse ; il a besoin d'une forte luminosité et est très sensible au froid : il se contente des sols les plus médiocres, même peu profonds et rocailleux, et préfère les terrains calcaires.

Il préfère les sols profonds mais tolère les sols superficiels, sol neutre à basique(Liagre, 2006).

I.4. La récolte :

La récolte des feuilles s'effectue en été, l'écorce en automne et les glands quand ils sont bien mûrs c'est-à-dire lorsqu'ils se détachent spontanément de la cupule (Djerromi et Nacef, 2004).

I.5. Etymologie :

Nom arabe : البلوط, Bellot, Elkarrouche (Ait Yousef, 2006).

Nom français : chêne vert, yeuse (Brosse, 2004).

Nom anglais : holmoak, evergreen (Boussard et Cuisane, 1984).

I.6. Systématique :

Quercus ilex L., Linné ayant définitivement fixé le nom de cette espèce. C'est une essence qui appartient à l'ordre des Fagales et à la famille des Fagacées, la classification adoptée est celle de (Brosse, 2004).

Règne	: Plantae
Embranchement	: Spermaphytes
S/ Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Dicotylédones
Ordre	: Fagales
Famille	: Fagacées
Genre	: <i>Quercus</i>
Genre Espèce	: <i>Quercus ilex</i> L. (1753).

I.7. Répartition géographique du chêne vert :**I.7.1. Dans le monde :**

Dans le monde, le chêne représente 33 % de la superficie boisée soit la moitié des feuillus qui occupe 66 % des massifs forestiers. Cet arbuste pousse surtout dans le bassin méditerranéen ; la Sicile, l'Italie, la Sardaigne, la Corse, le midi de la France, l'Espagne, l'Algérie, la Tunisie, le Maroc et le Portugal (Bouderoua, 1995).

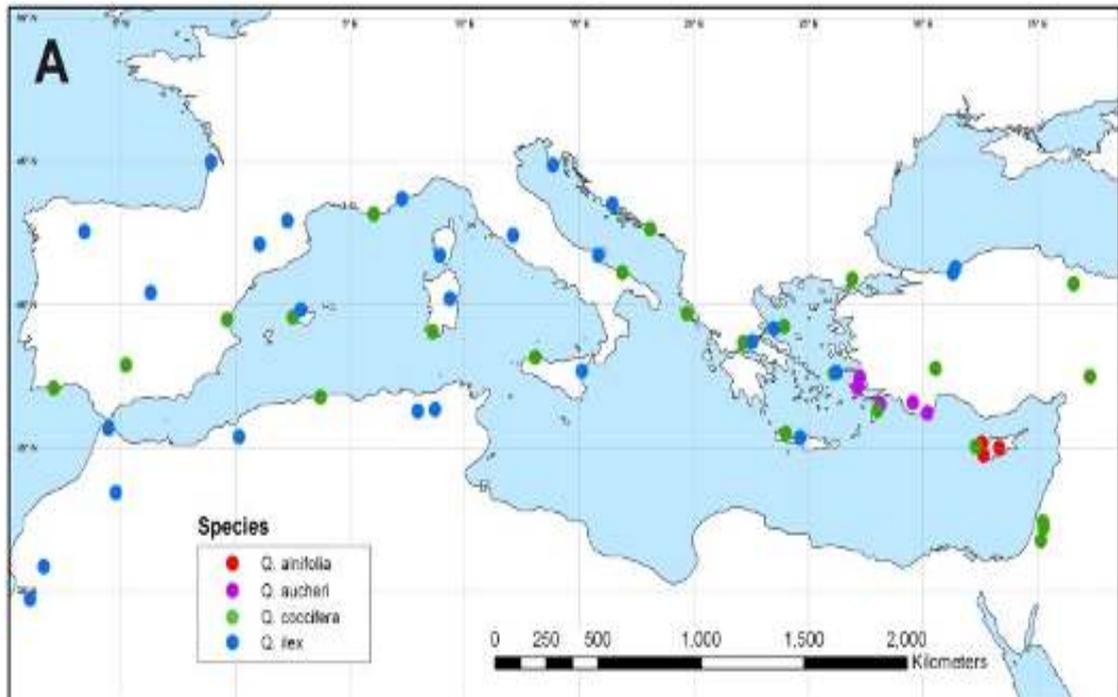


Figure05 : Répartition du chêne vert dans le monde (Marco et al., 2016).

I.7.2. En Algérie :

Les chênes algériens s'étendent tout au long de l'Atlas Tellien ou elles étaient estimées à 1128000 ha (Belaroussi, 1991). Cependant, l'aire de répartition du chêne vert est subdivisée en trois grandes régions :

- La région Est : Batna, Sétif, Bejaia, Tébessa, Jijel, Souk-Ahras.
- La région Centre : Tizi-Ouzou, Chleff, Blida, AinDefla, Tipaza, Bouira, Médéa, Djelfa.
- La région Ouest : Tlemcen, Sidi Bel Abbas, Mascara et Tiaret

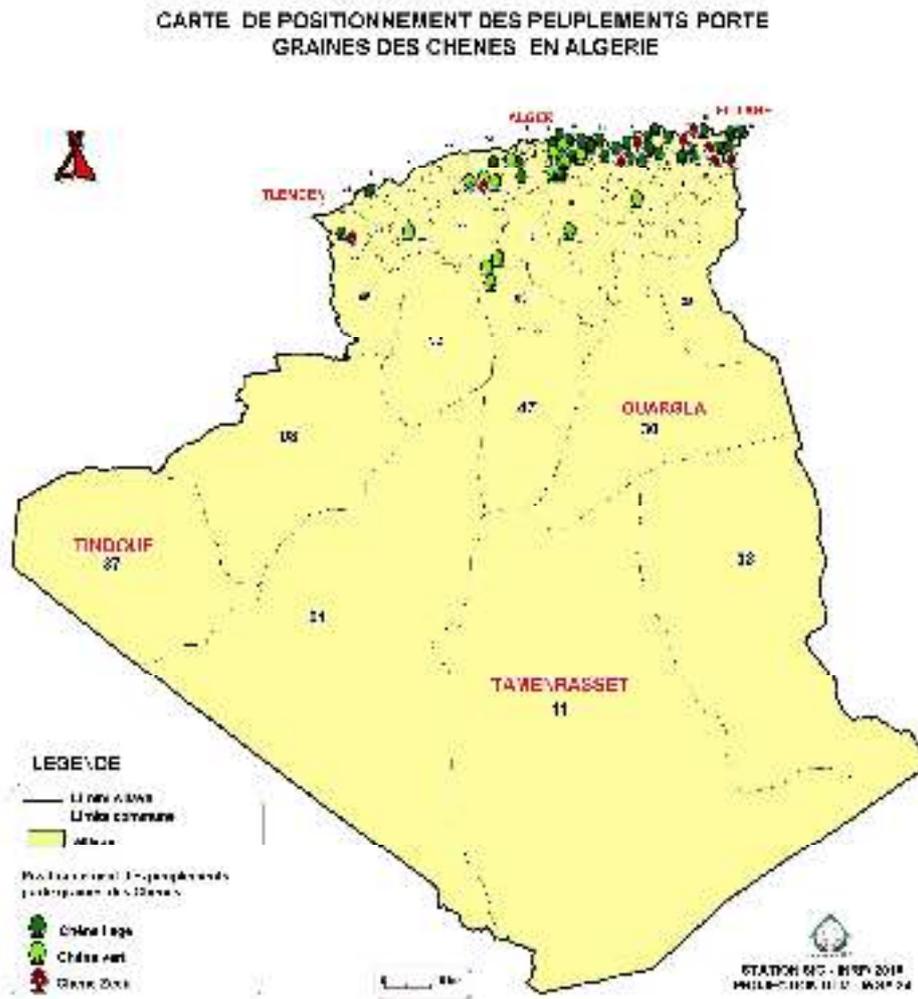


Figure06 : répartition géographique de chêne vert dans l'Algérie (Institut National de Recherche Forestière Edition 2011).

1.8. Propriétés médicinales :

Le chêne est utilisé pour les propriétés astringentes de son écorce, de ses feuilles et de ses glands.

L'écorce en décoction est employée contre les irritations de la gorge et l'angine.

On l'administre en lavement et on l'applique en onguent ou en lotion pour soigner les hémorroïdes, les fissures anales, les petites brûlures et les affections de la peau (Iserin, 2001).

L'écorce en compresse est employée contre les gerçures et les dermatoses, en poudre elle est antihémorragique (Djerroumi et Nacef, 2004).

Les glands et les feuilles de chêne sont astringents, antiseptiques, fébrifuges et sont donc un remède de choix pour les troubles digestifs, les angines et les affections cutanées. (Lacoste, 2015).

En tisane, bains ou gargarismes, on utilisera les décoctions de feuilles ou le café de glands dans les cas de diarrhées, les problèmes gastriques ou circulatoires, les transpirations excessives et bien sûr la fatigue, le rachitisme et la faiblesse générale (Lacoste, 2015).

Les feuilles en infusion soignent surtout les saignements, les varices et les diarrhées.

Les glands torréfiés et pulvérisés sont efficaces contre les maux digestifs (diarrhées, coliques, etc.) (Djerroumi et Nacef, 2004).

1.9. Toxicologie :

La consommation excessive de glands provoque fréquemment des troubles essentiellement digestifs (Botineau, 2010).

En grande concentration, les tanins sont toxiques voire même cancérigènes (Bouchet, 2009).

1.10. Principaux constituants chimiques

Les glands de *Quercus ilex* contiennent 47 à 60% d'amidon (Kékos et Kaukios, 1985) 7 à 14,4% de lipides (UFA), Ofcarick et Burns (1971); Dodd et al., (1993); Cantos et al., (2003) et Lopes et Bernardo-Gil (2005) ont rapporté que les principaux acides gras (FA) à glands étaient oléique (48-63%), linoléique (16,5 à 17%), palmitique (12,1 à 13%), stéarique (3-6%), linoléique (1-

5%), et myristique, palmitoléique, l'acide arachidique, 11-eicosénoïque, béhénique. La quantité de cholestérol était faible (0,1%).

En plus de cette composition biochimique, des glands de chêne contiennent des facteurs anti-nutritifs bioactifs y compris des tanins (7%) qui possèdent une activité antioxydant (**Rakíc et al., 2007**).

L'écorce de chêne renferme des tanins (environ 10 à 20%), (**Bruneton, 1999**) Ainsi, la galle contient environ 50% de tanins (**Iserin et al., 2007**).

Les feuilles contiennent des glucides (quercitrine, quercétol) et des tanins. (**Couplan, 2009**).

II. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal (**Cuendet, 1999 ; Gravot, 2008**). Les métabolites secondaires, issus de métabolites primaires interviennent dans la structure des plantes mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (**Gravot, 2008 ; Kansole, 2009**).

II.1. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des produits en très faible quantité, dont plus de 200000 molécules ont été identifiées. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes (**Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006**).

II.1.1. Les Terpénoïdes :

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**). Ils sont synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même par les animaux (**Benaïssa, 2011**).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (**Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011**).

II.1.2. Les alcaloïdes :

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin, présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**). Ils possèdent presque une molécule d'azote qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées comme l'atropine (**Iserin, 2001**).

Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**).

II.1.3. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont l'une des trois plus grandes familles de métabolites secondaires (**Vercautern et al., 1998**). Ils sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1993**).

Les polyphénols constituent un groupe largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante, ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de shikimate et d'acétate (**Hopkins, 2003 ; Lugasi et al., 2003 ; Lebham, 2005**).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyles, La structure de ces composés varie, des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules hautement polymérisées (tanins condensés) (**Macheix et al., 2005**).

A) Les acides phénoliques :

Les composés phénoliques sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxy-cinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxy-benzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, et présents chez toutes les céréales (**Barboni, 2006**).

B) Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) représente une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**).

Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002 ; Médicet *al.*, 2004 ; Fiorucci, 2008**). Ils sont des pigments quasiment universels des végétaux presque toujours hydrosolubles, ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton, 1999**).

C) Les anthocyanes :

Les anthocyanes (en grec Anthos signifie fleur et kyanos signifie bleu) sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces (**Kong *et al.*, 2003**).

Ils forment une vaste famille de molécules aux formules chimiques très diverses dont les couleurs varient du bleu au rouge en passant par le mauve et l'orange, ils dépendent de leur structure et du PH de milieu intracellulaire (**Smouelian *et al.*, 2009**). Ces pigments végétaux confèrent leur couleur aux fruits, aux fleurs et même aux feuilles (**Roux *et Catier*, 2007**), ils s'accumulent dans la vacuole des cellules les plus externe (**Guignard, 2000**).

D) Les coumarines :

Elles constituent un groupe de lactones très largement répandues, issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydro-xy-cinnamique (acide coumarique) par cyclisation interne de la chaîne latérale de celui-ci (**Hopkins, 2003**). Les coumarines à l'état naturel existent non seulement sous forme hétérosidique mais aussi sous forme libre, celle-ci peut constituer les principes actifs de nombreuses plantes (**Gazengel *et Orecchioni*, 2001**).

Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004**).

E) Les tanins :**E.1. Généralités sur Les tanins :**

Historiquement, l'importance des drogues à tanins, est liée à leur propriété tannante, c'est-à-dire à la propriété, qu'ils ont de transformer la peau fraîche en matière imputrescible : le cuir. Le tannage, est obtenu par l'intermédiaire de composé minéral mais pendant plusieurs millénaires, il a nécessité le recours exclusif aux végétaux (**Bruneton, 1999**).

Utilisés depuis l'Antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits. En première approximation, on peut considérer que les tanins sont des formes phénoliques considérées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter (**Macheix et al., 2005**).

E.2. Définition des tanins :

Une première définition a été proposée par **Bate-Smith (1973)** : « des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3 000 Da qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines ». Même si cette définition reste valable, elle a été complétée grâce aux méthodes d'analyse récentes qui ont permis d'éclaircir la structure de ces polyphénols.

On les trouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux où ils jouent le rôle d'armes chimiques défensives contre certains parasites, champignons et prédateurs (**Bruneton, 2009**).

Sur le plan chimique, ils sont constitués soit de polyol (glucose le plus souvent), ou de catéchine ou de triterpénoïde auquel sont attachés des unités gallyoles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols (**Bruneton, 2009**).

E.3. Classification des tanins :

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

E.3.1. Tanins hydrolysables :

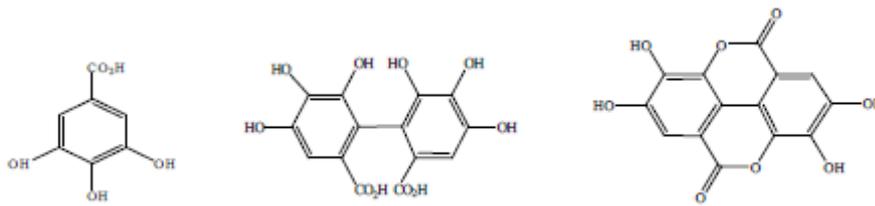
Les tanins hydrolysables sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol. Le sucre est très généralement le glucose (**Bruneton, 1999**).

Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinine) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins comme le tanin de Chine, quelque fois appelé acide tannique) soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tanins ellagiques ou ellagitannins comme ceux du châtaignier). Une forme simple des tanins hydrolysables est le penta-galloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, par exemple le castalagine chez le châtaignier ou le chêne (**Macheix et al, 2005**).

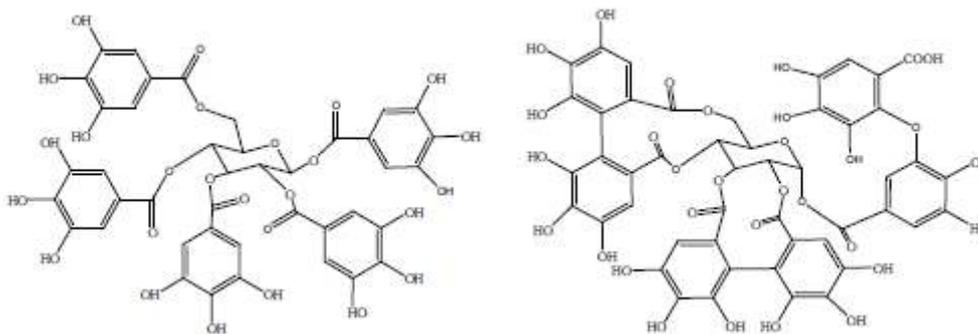
Les tanins hydrolysables sont présents chez certaines familles d'Angiospermes dicotylédones et quelques familles de Fagaceae, d'Anacardiaceae, d'Aceraceae et de Geraniaceae (**Bruneton, 1999**). Par contre, ils sont absents des Gymnospermes et des Monocotylédones (**Jean-Blain, 1998**).

- **Propriétés thérapeutiques des tanins hydrolysables :**

Les tanins hydrolysables protègent la peau et les muqueuses de l'irritation et diminuent le gonflement et l'inflammation, leur effet asséchant est utile pour la sécrétion de mucus, le saignement et la diarrhée excessive (**McIntyre, 2011**).



Acide gallique Acide hexahydroxydiphénique Acide Ellagique



Acide Tannique (gallotannin) Acide Tannique (ellagitannin)

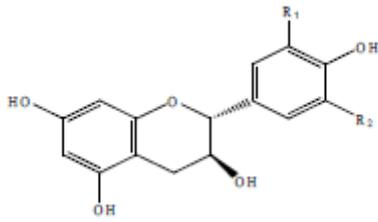
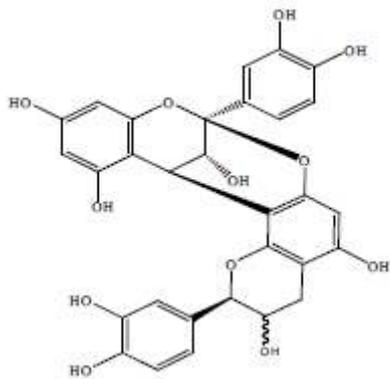
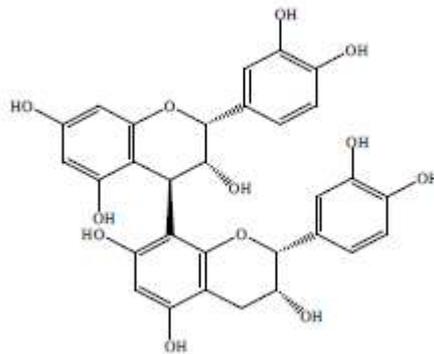
Figure07 : Structure des tanins hydrolysables et leur monomère (**Bruneton, 1999**).

E.3.2. Tanins condensés :

Ce sont des polymères de certains flavanols, les catéchines ou catéchols. Ces tanins se rencontrent chez l'ensemble des végétaux, des fougères aux plantes à fleurs (**Guignard, 2000**).

Les tanins condensés ou proanthocyanidols, sont des polymères flavaniques, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone résultante du couplage entre le C-4 électrophile d'un flavanyle issu d'un flavan-4-ol ou d'un flavan-3,4-diol et une position nucléophile d'une autre unité, généralement un flavan-3-ol (**Bruneton, 1999**).

Les tanins condensés sont en général plus répandus dans le règne végétal et plus abondants dans les plantes que les tanins hydrolysables (**Jean-Blain, 1998**). Ils se rencontrent chez de nombreuses plantes vasculaires chez les Angiospermes et les Gymnospermes (**Bruneton, 1999**).

**Flavan-3-ol****Procianidinol A-1****Procianidinol B-2****Figure08** : Structure des tanins condensés et leur monomère (Bruneton, 1999).

- **Propriétés thérapeutiques des tanins condensés :**

Les tanins condensés connus pour leurs propriétés antioxydant et cardiovasculaires. Elles sont présentes dans le thé vert et noir, le pépin de raisin. L'extrait de pépin de raisin a une forte action antioxydant, protégeant contre le dommage des radicaux libres et les affections cardiovasculaires, et prévenant la dégénérescence du tissu conjonctif (McIntyre, 2011).

E.4. Plantes à tanins :

Les tanins sont présentés chez certaines plantes. Le tableau suivant regroupe certaines plantes :

Espèce	Famille	Partie utilisé	Pourcentage en tanin (%)
Le chêne (<i>Quercus sp</i>)	Fagacée	Ecorce et gland	8 à 20 % (Bruneton, 1999).
Potentille ou Quintefeuille (<i>potentilla repans L.</i>)	Rosacées	la racine	20% (Beloued, 2012).
Betoinne officinale (<i>Betonica officinalis L.</i>)	Lahiatae	Planteentière	15% (Beloued, 2012).
Hamamélis (<i>HamamelisvirginianaL.</i>)	Hamamelidaceae	Les feuilles	10 % (Bruneton, 1999).
Fraisier (<i>FragariavescaL.</i>)	Rosacées	Rhizome séché	8 % (Bruneton, 1999).
Tormentille (<i>Tormentillaerhizoma</i>)	Rosacées	Le rhizome	7 % (Pharmacopée Européenne, 2008).
Alchémille vulgare (<i>AlchemillavulgarisL.</i>)	Rosacées	Les parties aériennes séchées	6-8 % (Bruneton, 1999).
Aune (<i>Alnus glutinosa</i>)	Bétulacées	l'écorce	5 à 9 % (Beloued, 2012).
Aigremoine (<i>Agrimonia eupatoria L.</i>)	Rosacées	toute la partié aérienne	5 % (Schauenberg et Ferdinand, 1977).

Tableau I : certaines plantes riches en tanins.

E.5. Propriétés physico-chimiques des tanins :

Les tanins sont hydrosolubles(**Blot et Gouillier, 2013**). Ils se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente).

Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone. Les solutions aqueuses ont une stabilité variable selon la structure, généralement modérée. Ainsi, lors de l'extraction par l'eau bouillant, un tanin comme la géraniine est décomposé en 30 minutes en acide gallique, acide ellagique et corilagine(**Bruneton, 1999**).

Ces substances de composition chimique variable ont une caractéristique commune : leur faculté de coaguler les albumines, les métaux lourds et les alcaloïdes (**Blot et Gouillier, 2013**).

Comme tous les phénols les tanins réagissent avec le chlorure ferrique. Ils sont précipités de leurs solutions aqueuses par les sels de métaux lourds. Tanins hydrolysables et tanins condensés peuvent être distingués sur la base de leur comportement en milieu acide à chaud. (**Bruneton, 1999**).

E.6. Propriétés pharmacologiques des tanins :

Les tanins sont des molécules biologiquement actives, douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets caractéristiques sur la santé humaine (**Chavan et al., 2001 ; Okuda, 2005**).

La présence des tanins dans une plante nous apporte l'indication qu'elle a une propriété astringente, c'est-à-dire qu'elle possède la capacité de resserrer les tissus, cette propriété astringente permet à la plante d'être anti-diarrhéique, antibactérienne, antivirale (grâce aux ellagitanins), anti-inflammatoire. Elle présente également une activité hémostatique (**Verbois, 2015**).

Les décoctions et autres préparations à base de principes riches en tanins s'emploient, en application externe surtout, contre les inflammations de la cavité buccale, les rhumes, les bronchites, les hémorragies locales, les brûlures et les engelures, les plaies, les inflammations cutanées, les hémorroïdes et la transpiration excessive.

A l'usage interne, les tanins sont utiles contre le refroidissement intestinal, les affections de la vésicule, et comme antidote (contrepoison) en cas d'empoisonnement par les alcaloïdes végétaux (**Blot et Gouillier, 2013**).

E.7. Activité antioxydant des tanins :

Les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (**Perret, 2001**).

De nombreux tannins présentent des propriétés anti-oxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions pro-oxydants (**Bruneton, 1999 ; Feucht et Treutter, 1999 ; Hässig et al., 1999 ; Lim et al., 2007**).

E.8. Inhibition enzymatique :

L'une des conséquences directes de la capacité des tannins à complexer les protéines est l'inactivation des enzymes soit directement, par fixation aux sites actifs, soit indirectement par l'encombrement stérique créé par la fixation des molécules de tannins sur l'enzyme (**Zimmer et Cordesse, 1996**).

E.9. Activité thérapeutique due à l'astringence :

Par voie interne, ils exercent un effet anti-diarrhéique. Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; ils ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant les pertes en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlure (**Bruneton, 1999**).

E.10. Activités antimicrobiennes des tanins :

De nombreuses études ont montré l'activité antibactérienne des tanins. Ces molécules ont été rapportées comme bactériostatique ou bactéricide sur plusieurs souches bactériennes (**Chung et Wei, 2001**).

E.11. Prévention des maladies cardiovasculaire :

Il est intéressant de rappeler que les tannins du jus de raisin auront un effet préventif à l'égard des maladies cardiovasculaires(**Bruneton, 1999**).

III. Matériel et méthodes :

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du Laboratoire des Substances Naturelles, Pharmacotoxicologie, et Microbiologie de la CRD SAIDAL d'El Harrach, du mois de février au mois de juin 2016. Cette étude a été basée sur des analyses phytochimique, pharmacologique et microbiologique des glands du chêne vert (*Quercus ilex L.*).

Le travail entrepris se résume dans les étapes suivantes :

- ✓ Analyse phytochimique et mise en évidence des principaux métabolites secondaires dans les glands de chêne vert.
- ✓ L'extraction et le dosage quantitatifs des tanins des glands.
- ✓ Une étude de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire et l'activité anti-oxydante de l'extrait tannique.
- ✓ Une étude de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des glands.

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel biologique

❖ A. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est le gland (mésocarpe) du chêne vert, récolté en décembre 2016 dans la région de Menacer (wilaya de Tipaza). Ce matériel végétal a été identifié au niveau de l'Institut Nationale d'Agronomie d'El Harrach.

❖ A.1. Conservation du fruit :

Deux kilogrammes de fruit du chêne vert (mésocarpes) a été séché à l'abri de la lumière pendant une dizaine de jours dans des sacs en papier et stocké dans un endroit sec et aéré pour d'éventuelles utilisations.

❖ **B. Matériel animal :**

L'étude de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée sur 24 souris Albinos du sexe male d'un poids moyen de 20 à 22 g, fournis par l'animalerie de la CRD SAIDAL d'El Harrach. Ils ont été hébergés à une température de 20 à 24 °C et une humidité ambiante 50%. Les souris avaient accès à un aliment granulé.

❖ **C. Les Micro-organismes :**

Le tableau ci-dessous présente les microorganismes utilisés pour les besoins de l'étude :

Tableau II : Microorganismes utilisés dans l'activité antimicrobienne

Souches microbiennes	Références	Type de bactéries
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Gram -
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Gram +
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Gram +
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	Gram -
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763	

III.1.2. Matériel non biologique (voir Annexe1).

III.2. Méthodes :

III.2.1. Identification des principaux constituants chimiques (Criblage phytochimique) :

Dans le but de mettre en évidence les métabolites secondaires présents dans les glands de chêne vert (*Quercus ilex* L.).

III.2.1.1. Préparation de poudre :

La poudre des fruits séchés du chêne a été préparée et finement broyée avec un mortier ensuite dans un mixeur et conservée dans des boîtes en verre sombre et fermées.

III.2.1.2. Préparation de l'infusé :

20g de poudre des glands de chêne vert ont été placés dans 100ml d'eau distillée bouillante. Après 15min, le mélange est filtré et le volume du filtrat est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée.

➤ A) Identification des Anthocyanes :

1 g de poudre végétale est mis à ébullition dans 10 ml d'éthanol pendant 10 min. après filtration, on rajoute le zinc métallique et quelques gouttes d'HCl. La réaction donne une coloration bleue en présence des Anthocyanes (**Bruneton, 1999**).

➤ B) Identification des Leuco anthocyanes :

2 g de poudre végétale sont mis dans 20 ml d'un mélange propanol/Acide chloridrique (1/1) et portés en bain marie à 100 degré C° pendant quelques minutes.

Une coloration rouge se développe en présence des Leuco anthocyanes.

➤ C) Identification des tanins :

À 5 ml d'infusé on rajoute quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5 %. La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins (**Bruneton, 1999**).

• C).1. Tanins catéchiques :

A 15 ml d'infusé sont additionnés 5 ml de réactif de Stisany.

La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

• C).2. Tanins galliques :

A 5 ml d'infusé on rajoute 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl₃

La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins galliques.

➤ **D) Identification des Quinones :**

• **D).1. Quinones libres :**

2 g de poudre végétale humectés par 2 ml d'acide chloridrique 1 N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme, puis on filtre. Le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque $\frac{1}{2}$ N. Formation d'une coloration rouge en présence des quinones libres (**Bruneton, 1999**).

• **D).2. Quinones combinées :**

A 2 g de poudre végétale on ajoute 5 ml d'acide sulfurique 2 N, le mélange est porté à reflux pendant 2 heures.

La solution extractive est filtrée puis épuisée par 20 ml de chloroforme, cette solution chloroformique est évaporée à sec puis épuisée par l'ammoniaque $\frac{1}{2}$ N.

La réaction donne une coloration rouge en présence de quinones combinées (**Bruneton, 1999**).

➤ **E) Identification des saponosides :**

Introduisez dans une fiole 5 ml d'Hcl 0,1 N, introduisez dans une deuxième fiole 5 ml de NaOH à 0,1 N, puis rajouter dans chacune d'elle 2 à 3 gouttes d'infusé. La formation des mousses indique la présence des saponosides (**Bruneton, 1999**).

➤ **F) Identification des alcaloïdes :**

Faire macérer 5 g de poudre végétale humecté avec l'ammoniaque $\frac{1}{2}$ N pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par l'acide chloridrique 2N.

Des réactions de précipitation sont effectuées sur la solution Chloridrique. En présence d'alcaloïde, le réactif de Dragendorff donne un précipité rouge tandis que le réactif de Valser Mayer donne un précipité blanc jaunâtre (**Gherib, 1988**).

➤ **G) Identification des coumarines :**

Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min puis filtré.

A 5 ml du filtrat on rajoute 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10 % et quelques gouttes d'HCL à 10%.

Formation d'un trouble indique la présence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

➤ **Identification des flavonoïdes :**

A 5 ml d'infusé additionner 5 ml d'Hcl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool iso amylique.

La réaction donne une coloration rouge orangé en présence des flavonoïdes(**Bruneton, 1999**).

➤ **J) Identification des glucosides :**

À 2 g de poudre végétale rajouter quelques gouttes de H₂SO₄. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides (**Gherib, 1988**).

III.2.2 Extraction des tanins :

III.2.2.1 Méthode d'extraction de tanins :

L'extraction de ces derniers a été faite par la méthode suivante :

30 g de poudre végétale a été dégraissée en les laissant macérer dans 100 ml d'éther de pétrole pendant 24 h.

Après filtration, le macéra est récupéré alors que la chlorophylle et les lipides sont éliminés. Le macéra récupéré est repris par 50 ml d'éther diéthylique ensuite il sera filtré pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique.

Le macéra est repris une deuxième fois par 100 ml de méthanol. Il est filtré dans un ballon préalablement pesé. Le filtrat méthanolique est soumis à une évaporation sous vide pour obtenir un résidu sec. C'est un extrait pur de tanins qui sera pesé(**Bruneton, 1999**).

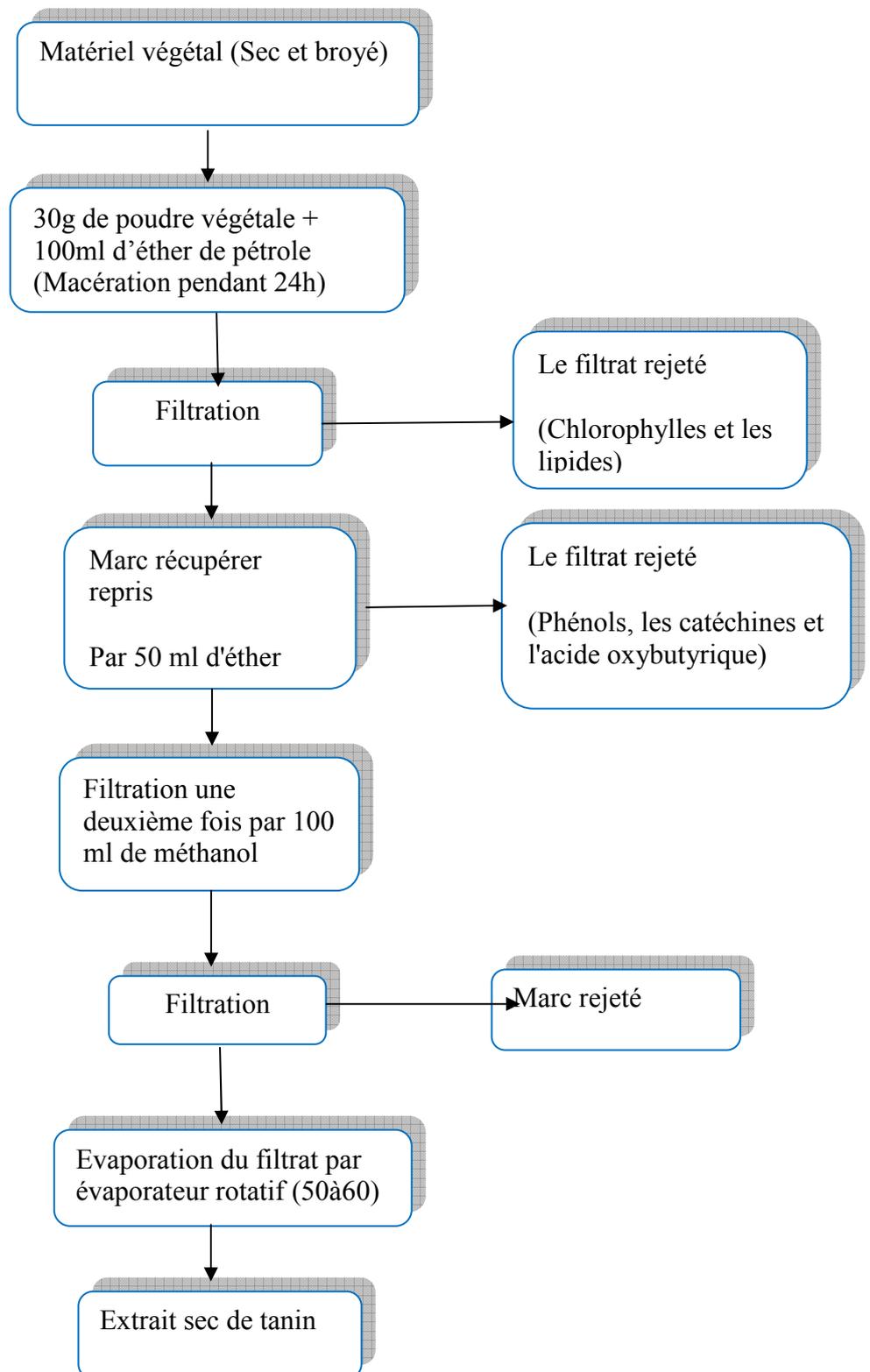


Figure09 : protocole expérimentale de l'extraction des tanins (Brunteon, 1999).

III.2.2.2 Détermination du rendement de l'extraction des tanins :

Après extraction des tanins, la détermination du taux des tanins se fait par le calcul du rendement (RD) en pourcentage par la formule suivante :

$$RD = \frac{\Delta P \times 100}{M}$$

M : Masse de prise d'essai.

P₀ : Poids du verre à montre vide.

P₁ : Poids du verre à montre avec résidu.

ΔP : Poids du résidu (P₁ - P₀).

III.2.3 Estimations quantitatif des tanins :

❖ A. Dosage des tanins condensés (Test de vanille avec H₂SO₄) :

La méthode de détermination du taux des tanins condensés a été proposée par SWAIN et HILLIS(1959).

❖ A.1 Le Principe :

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanille en milieu acide. Il est spécifique des flavanes-3-ol (Price et al., 1978).

❖ A.2 Mode opératoire

Solution A : [Vanille à 1% (1 g dans 100 ml) dans 70% d'acide sulfurique] .

Dans un tube, nous avons mélangé 2 ml de solution B et 1 ml de l'extrait tannique, précédemment préparées. Ensuite, nous avons mis le tube dans un bain marie pendant 15 min à 20°C et nous avons mesuré l'absorbance à 500 nm.

❖ A.3. Expression des résultats

La teneur en tanins condensés est calculée comme suite :

$$T \% = 5,2 \times 10^{-2} \times \frac{DO \times V}{P}$$

$5,2 \times 10^{-2}$: Constante exprimé en équivalents de cyanidines.

DO : Densité optique.

V : Volume d'extrait utilisé.

P : Poids de l'échantillon.

❖ B.Dosage des tanins hydrolysables :**❖ B.1 Principe :**

La méthode de **MOLE et WATERMAN (1987)** est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique.

Le mélange extrait tannique plus réactif ($FeCl_3$) provoque la coloration rouge violette du complexe d'où la formation des ions (Fe^{3+}) (**Mole et Waterman, 1987**).

❖ B.2 Mode opératoire :

Nous avons préparé le réactif B ($FeCl_3$ à 0,01M dans Hcl à 0,001M) puis nous avons mélangé dans des tubes, 1 ml de l'extrait des tanins et 3,5 ml de réactif B. Ensuite, nous avons mesuré l'absorbance à 660 nm, 15 secondes après l'addition de réactif B.

❖ B.3 Expression des résultats :

La formule permettant le calcul de la teneur en tanins hydrolysables est la suivante :

$$T \% = \frac{DO \times M \times V}{K \text{ mole. } P}$$

DO : Densité optique.

K : 2169 de l'acide gallique.

M : 300.

V : Volume d'extrait utilisé.

P : Poids de l'échantillon.

III.2.4. Tests biologiques :**III.2.4.1. Test antimicrobien :****❖ But**

L'objectif souhaité de cette analyse est de tester une éventuelle activité antimicrobienne des tanins et de l'infusé de la poudre des fruits de chêne vert *Quercus ilex* L. En procédant à des tests sur des souches de microorganismes références.

❖ Principe :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux et l'extrait tannique des glands de chêne vert *Quercus ilex* L. a été réalisé en utilisant la technique de contact direct en milieu solide ou diffusion sur gélose (méthode de l'aromatogramme).

III.2.4.1.1. Aromatogramme :

❖ Principe :

Des disques absorbants stériles de 9 mm imprégnés de l'extrait aqueux et de l'extrait tannique, sont déposés sur une gélose inoculée de souches. La diffusion de l'extrait aqueux et tannique sur la gélose permet d'inhiber la croissance des germes tout autour du disque (zone d'inhibition). La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de chacune des souches à l'aide d'un pied à coulisse (**Ozcanetal., 2003**).

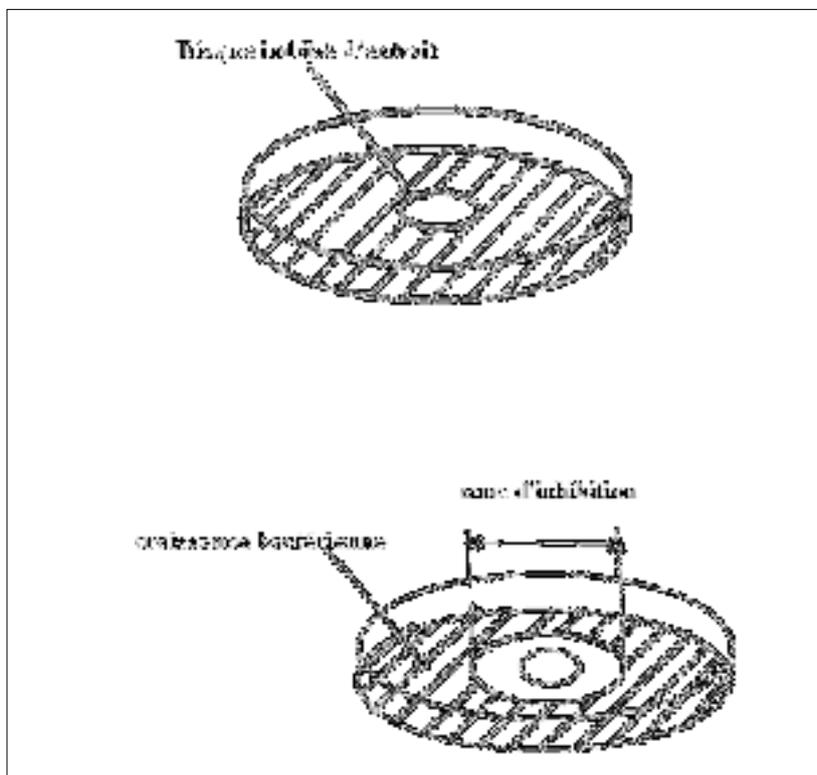


Figure 10 : méthode de diffusion sur gélose (**originale,2016**).

❖ Mode opératoire

Cette méthode est validée par le laboratoire de microbiologie de groupe SAIDAL à El Harrach.

✓ Préparation de la première couche (couche support)

Deux milieux de culture solides sont utilisés, à savoir ; milieu Miler Hilton (pour la culture des bactéries) et le milieu Sabouraud (pour la culture des champignons).

Les milieux de culture sont coulés aseptiquement (devant la flamme d'un bec benzène) dans des boites de pétrie de 90 mm de diamètre à raison de 15ml par boite.

✓ Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une jeune culture de 18 heures pour les bactéries et de 48 heures pour les champignons. Pour chaque souche microbienne, 4 à 5 colonies bien distinctes sont prélevées et introduites dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Les suspensions microbiennes sont obtenues après agitation au vortex.

✓ Préparation de la deuxième couche

Les deux milieux de culture (Miler Hilton et milieu Sabouraud) sont liquéfiés dans un bain marie à 42°C est distribué dans des flacons à raison de 40ml par flacon.

Nous obtenues 6 flacons au totale correspondant aux 6 souches microbiennes que nous avons testées (4 souche bactérienne et 2 souches fongiques).

Les 6 flacons sont inoculés par 200µl de chaque suspension microbienne à raison d'une souche par flacon, le tout est agité manuellement.

4 ml de chaque milieu de culture inoculée sont déposés à la surface de la première couche de gélose solidifié (couche support) en l'étalant immédiatement.

✓ Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, des disques stériles de 9 mm de diamètre sont plongés dans l'infusé à 10 % et l'extrait tannique pure jusqu'à imprégnation totale, puis déposés sur la surface du milieu gélosé contenant la souche à tester. Les boites de Pétri sont laissés sur la paillasse pendant 30, minutes pour permettre la diffusion de l'infusé et de l'extrait

tannique dans la gélose, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

✓ **La lecture des résultats :**

L'infusé et l'extrait de tanins de la plante étudiées possèdent une activité antimicrobienne si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation dépasse le diamètre du disque absorbant.

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Mutai et al., (2009)**

Très fortement inhibitrice : $D > 30 \text{ mm}$.

Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} < D < 16 \text{ mm}$.

Non inhibitrice : $D < 10 \text{ mm}$.

III.2.4.2. Test anti-inflammatoire :

❖ **La réponse inflammatoire :**

C'est un terme général qui désigne la mise en place locale de la réponse immune suite à une atteinte tissulaire en un lieu donné de l'organisme. Elle se traduit par une accumulation locale de fluide, de protéines plasmatiques et de leucocyte (**Espinosa et Chilli, 2010**).

❖ **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :**

Pour mettre en évidence la propriété anti-inflammatoire de l'extrait aqueux et l'extrait de tanins, nous avons suivi la méthode de **Levy (1969)**.

✓ **Principe**

L'injection de la Carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de références correspond.

✓ **Mode opératoire :**

A. Répartitions des animaux :

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'infusé et l'extrait de tanins du fruit de chêne vert (*Quercus ilex L.*), 4 lots de 6 souris blanches Albinos de sexe mâle et femelle du poids compris entre 20-22 sont constitués :

- Lot 1 : témoin.
- Lot 2 : référence.
- Lot 3 : essai 2.
- Lot 4 : essai 3.

B. Administration et injection :

Les souris sont mises à jeun 12 heures avant l'essai et privées d'eau 2 heures avant.

Au temps 0 (gavage) :

✓ Administrer aux trois lots les suspensions suivantes :

Lot 1 témoin : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau physiologique.

Lot 2 : référence : chaque souris reçoit 0.5 ml de produit de référence Diclofénac®.

Lot 3 : essai 1 : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'infusé à 10% du chêne vert.

Lot 4 : essai 2 : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'extrait tannique 480 mg/ml.

✓ **Au temps T0 + 30 min :**

Injecter la solution carraghénine à 1% (0.5g de carraghénine dans 50ml d'eau distillée plus quelque goutte de tween 80%) sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0.025 ml à tous les animaux mise en expérience.

✓ **Au temps T0 + 4 heure :**

-Sacrifier les animaux par l'éther.

-Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique

❖ **C.Expression des résultats :**

-Calculer les moyennes arithmétiques des poids de la patte droite et la patte gauche pour chaque lot.

-Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% de l'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ de l'œdème} = \frac{\text{moyenne des poids de patte gauche} - \text{moyenne des poids de patte droite}}{\text{Moyenne des poids de patte droite}} \times 100$$

-Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} : \frac{\% \text{ de l'œdème de témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ d'œdème témoin}} \times 100$$

➤ Préparation des échantillons

Nous avons préparé des dilutions pour avoir différentes concentrations de notre échantillon pour (l'extrait tannique et l'acide ascorbique).

Tableau III : Concentrations testées dans le test antioxydant.

Concentration des échantillons mg/ml	1.6	1.4	1.2	1	0.8	0.6	0.4	0.2
--------------------------------------	-----	-----	-----	---	-----	-----	-----	-----

❖ Test au DPPH

Le test du DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Mansouri et al., (2005)**, où 25µl de chacune des dilutions de notre extrait tannique testées et de l'acide ascorbique sont mélangés dans la cellule placée dans la cuvette de spectrophotomètre avec 975µl de la solution de DPPH. Après une période d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique et à la température ambiante du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm, l'acide ascorbique a été utilisé comme témoin.

❖ Expression des résultats

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante : (**Wang et al., 2002**).

$$\% \text{d'inhibition} = \frac{\text{DO Témoin} - \text{DO Echantillon}}{\text{DO Témoin}} \times 100$$

Où : **DO Témoin** : Absorbance du blanc (Solution de DPPH dans l'eau distillée).

Calcul des IC₅₀ :

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC₅₀ sont déterminés graphiquement ou bien sont calculées par l'équation de régression linéaire des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

IV.1. Composition chimique du chêne vert (*Quercus ilex* L.) :

Le screening phytochimique effectué sur les glands de *Quercus ilex*L. a permis d'obtenir les résultats suivants :

Tableau IV: Test phytochimique de chêne vert *Quercus ilex* L.

Les métabolites secondaires	Réaction	Résultat
Anthocyane	Coloration rouge	-
Leuco anthocyane	Coloration rouge	+
Tanins	Coloration bleue noir	+
Tanins catéchiques	Coloration rouge	-
Tanins galliques	Coloration bleu foncé	+
Quinones libres	Coloration rouge	+
Quinones combinées	Coloration rouge	-
Saponosides	Formation des mousses	+
Alcaloïdes	Précipité rouge ou précipité blanc jaunâtre	-
Coumarines	Formation d'un trouble	+
Flavonoïdes	Coloration rouge orangé	-
Glucosides	Coloration rouge brique puis violette	+

(-) Absence de métabolite secondaire.

(+) Présence de métabolite secondaire.

Les résultats expérimentaux de l'étude phytochimique ont montrés la richesse de la plante en tanins (notamment les tanins galliques), glucosides, leuco anthocyanes, coumarines et en quinones libres et les saponosides.

Les flavonoïdes, les alcaloïdes, les quinones combinés, les tanins catéchique et les anthocyanes sont totalement absent dans les fruits de chêne vert.

La richesse de la plante en polyphénols confère à *Quercus ilex* L. des vertus thérapeutiques importantes.

Selon **Atsatt et Ingram (1983)**, les feuilles de *Quercus agrifolia* contenant 40% des composés phénoliques et environ 16 % de tanins condensés. Cependant l'analyse phytochimique de chêne liège (*Quercus suber*) réalisée par **Hassikou et al., (2014)**, a révélé la présence de composés phénoliques dont les flavonoïdes et les tanins et l'absence des alcaloïdes.

Le criblage phytochimique préliminaire de *Quercus infectoria* a montré la présence de phénols, des flavonoïdes, des stéroïdes, des triterpènes, des tannins, des saponines et des alcaloïdes (**Shrestha et al., 2014**).

Nous pouvons dire que la variation chimique de l'espèce végétale, est liée à leur provenance géographique et les conditions climatiques dans lesquels elle évolue.

IV.2. Détermination quantitative des tanins :

30 g de poudre de gland de chêne vert donne un rendement de 8%.

Selon **Bruneton(1999)**, le *Quercus* sp possède 8 à 20 % des tanins, ce qui confirme la richesse de *Quercus ilex* L. en tanins.

IV.3. Teneur des tanins :

Le dosage des tanins effectué sur l'extrait tannique de *Quercus ilex* L. a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans les tableaux suivants :

Tableau V : Résultats quantitatifs du dosage de tanins condensés et hydrolysables.

	Tanins Condensés	Tanins Hydrolysables
Longueur d'onde (nm)	500	660
Densité optique (DO)	4.55	10
La teneur en Tanins (%)	0.78	4.61

La teneur en tanins condensés atteint 0.78% Cependant la teneur en tanins hydrolysable atteint 4.61%. Des variations quantitatives et qualitatives de la teneur en tanins ont été observés chez plusieurs espèces de chênes plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques, des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga et Mosase, 2001).

En effet les travaux de Luczajet *al.*, (2014) réalisé sur plusieurs espèces de Chênes polonais *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens* et *Q. rubra*, afin de déterminer des différences géographiques ou interspécifiques majeurs en tanin et total contenu phénolique en glands, ont montrés que leur teneur en tanins varie chez ces espèces entre 2.78 et 10.73%.

Les travaux de Smallwood et Peters (1986) réalisé dans le même contexte, indiquent que la teneur en tanin dans le groupe du chêne blanc est beaucoup inférieure et varie de 0,5 à 2,5 %.

Selon Rakić *etal.*, (2004) la teneur en tanin en glands de *Q. robur* varie selon la méthode de séchage et l'extraction des échantillons, de 7,76 à 20,4 %.

Les résultats de notre étude phytochimique est difficiles à comparer avec les données de la littérature, en raison des différences dans le séchage, l'extraction et l'analyse des échantillons de gland. Les Tanins sont un groupe très polyvalent de composés

polymères habituellement, et les différentes méthodes analytiques peuvent exclure ou inclure certains sous-groupes de cette catégorie de composés (Luczaj *et al.*, 2014).

IV.4. Résultats des activités biologiques :

IV.4.1 Activité antimicrobienne :

Les mesures de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux et l'extrait tannique de l'espèce *Quercus ilex* L. ont été effectuées par la méthode de diffusion sur gélose sur quatre souches bactériennes et deux levures.

Cette méthode permet d'évaluer l'effet des molécules actives sur des germes considéré comme pathogènes. L'efficacité des extraits est traduite par la présence d'une zone d'inhibition. Les diamètres de la zone d'inhibition observée après 24h d'incubation à 37°C pour les bactéries et 48h pour la levure sont illustrés par les figures (Annexe 7) et résumés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches microbiennes en présence de l'extrait aqueux et l'extrait tannique des glands de *Quercus ilex* L.

Souches testées		Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
		Extrait de Tanins	Extrait aqueux
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	22	14
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16	12
	<i>Bacillus subtilus</i>	16	–
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	16
Levures	<i>Candida albicans</i>	12	–
	<i>Saccharomyces cerevisia</i>	–	–

(-) : absence de la zone d'inhibition.

Selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Mutai et al., (2009)**, les résultats des extraits aqueux et de tanins ont révèlent que :

Les zones d'inhibitions obtenues avec l'extrait aqueux sont respectivement de **14 mm, 12 mm et de 16 mm** pour les bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui montre que ce dernier a une action inhibitrice légère sur ces bactéries. Par contre ce même extrait n'exerce aucune action inhibitrice sur *Bacillus subtilis* (zone d'inhibition est nulle).

La zone d'inhibition des levures *Candida albicans* et *Saccharomyces Cerevisia* est nulle, ceci prouve que l'extrait aqueux n'a pas un pouvoir anti fongique.

Selon les résultats du même tableau nous remarquons que l'extrait tannique agit sur toutes les souches bactériennes testés et leur pouvoir inhibiteur diffère d'une souche à l'autre.

Les diamètres d'inhibition des souches testées varient de **16 à 20 mm**, donc les tanins du chêne vert possède une activité plus ou moins inhibitrice sur les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Concernant la Levure *Candida albicans* la zone d'inhibition est de **12 mm**, ce qui montre que l'extrait tannique a une action légèrement inhibitrice. En revanche *Saccharomyces cerevisia* montre une résistance vis-à-vis l'extrait tannique avec une zone d'inhibition nulle.

De ce fait, les tanins de gland de chêne vert ont une action inhibitrice sur les quatre bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et une action légèrement inhibitrice sur la levure *Candida albicans*, alors que l'extrait aqueux présente une action inhibitrice sur trois bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par **Gulluceetal., (2004)** qui ont indiqué que l'extrait méthanolique des feuilles de *Quercus ilex* L. a une action inhibitrice sur les bactéries de genre *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Une autre étude sur l'extrait éthanolique de fruit de *Quercus brantia* a montré une action inhibitrice sur *Escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus* (**Sadeghian et al., 2012**).

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différents bactéries, virus et champignons (**Backous et al., 1997**).

Selon **Peronny (2005)**, le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les attaques fongiques et bactériennes. Ainsi, de nombreuses études ont montré l'activité antibactérienne des tanins en particulier l'acide tannique. Ces molécules ont été rapportées comme bactéricide sur plusieurs souches bactériennes : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (**Chung et Wei, 2001**).

Dans le but d'étudier leur effet inhibiteur sur la croissance de 3 bactéries in vitro, **Min et al., (2007)**, ont montré que les tanins provenant de feuilles de chêne avaient une plus grande activité antimicrobienne comparativement aux tanins provenant de huit espèces de différentes de plantes ligneuses (à des doses variables).

IV.4.2. Test anti-inflammatoire :

Pour le test anti-inflammatoire, nous avons utilisé la méthode de l'œdème plantaire chez les souris par injection de la carraghénine à 1 % (0.5g de carraghénine dans 50ml d'eau distillée plus quelque goutte de tween 80%) sous l'aponévrose plantaire. (**Test de Levy**).

Les résultats concernant l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait tannique et l'extrait aqueux de chêne vert *Quercus ilex* L. sont mentionnés dans les Tableaux (**IX, X, XI, XIII, XIV**) (voir **Annexe 4**) et sont illustrés par la figure suivante :

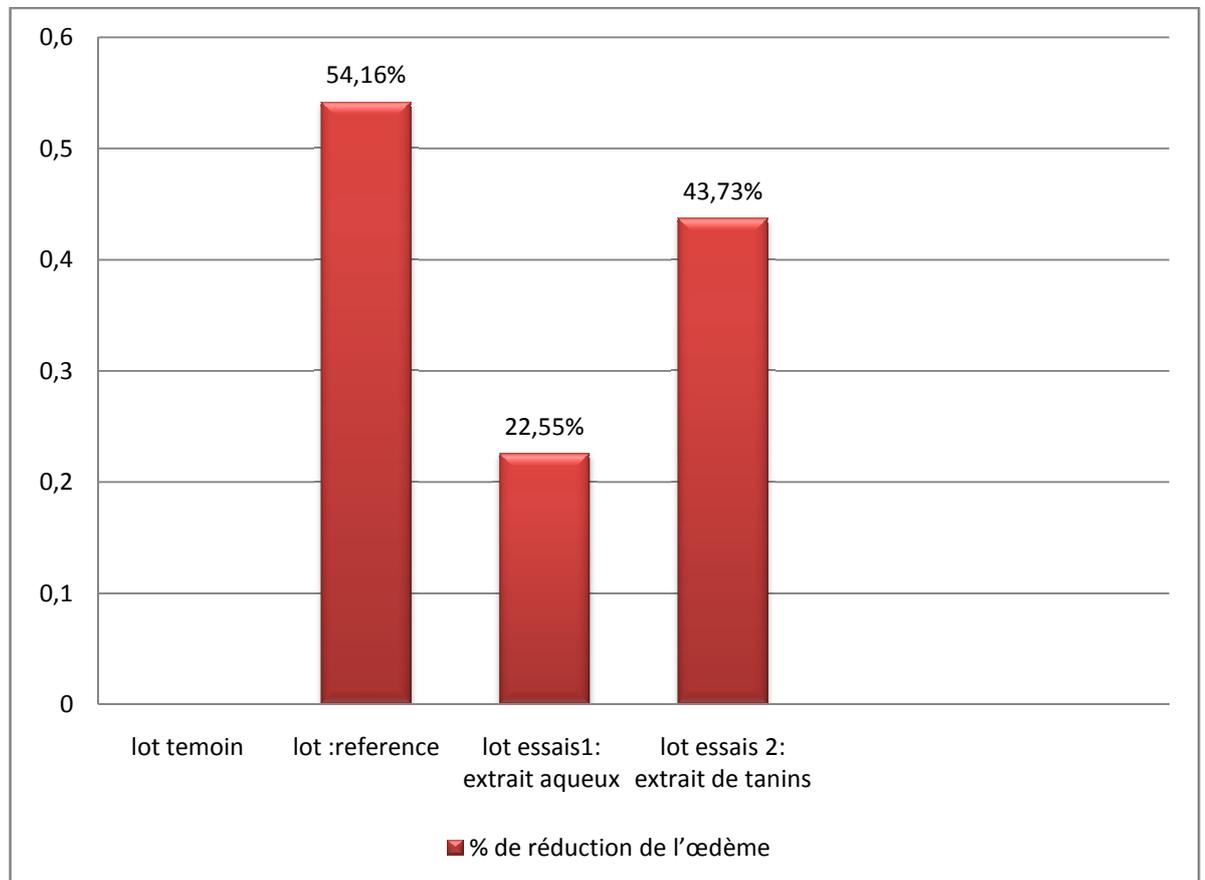


Figure12: variation de pourcentage de Réduction de l'œdème chez les souris en fonction des différents traitements : lots traités : Lot Témoin, de référence, lot E1 (extrait aqueux) et lot E2 (extrait tannique).

Après 30 min de l'injection des quatre traitements (eau distillée, le produit de référence **Diclofénac®**, l'extrait aqueux et l'extrait tannique) nous avons injecté la carraghénine à 1 %.

Le pourcentage d'augmentation de l'œdème après les quatre heures qui ont suivi le traitement est variable dans les différents lots de souris.

Le résultat du calcul de pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du lot témoin est de **41.32%**,

En revanche chez le lot de référence nous avons remarqué que le pourcentage d'augmentation de l'œdème est de **18.94 %**.

Le pourcentage d'augmentation de l'œdème constaté chez le lot essai N° 1 (Extrait aqueux à 10 %) atteint **32 %**, tandis que pour le lot essai N° 2 (Extrait tannique) il est de **23.25%**.

Par ailleurs, nous avons remarqué que le pourcentage de réduction de l'œdème des souris traitées par le produit de référence le **Diclofénac®** est de **54.16%**.

L'extrait aqueux des fruits à 10% a induit un taux de réduction d'œdèmes avec **22.55%** et **43.73%** pour l'extrait tannique.

Ce pourcentage de réduction de l'œdème est élevé dans le lot essai 2 (extrait tannique), Il est presque semblable à celui obtenu suite au traitement à base de **Diclofénac®**.

Par contre, le taux de réduction de l'œdème pour l'extrait aqueux est inférieur à celui obtenu à base de **Diclofénac®**.

Ceci démontre le grand pouvoir anti-inflammatoire des tanins de chêne vert d'où l'existence du rapport dose-effet, avec un léger effet de l'extrait aqueux qui est riche en plusieurs métabolites.

Donc notre extrait tannique à (480mg/ml) possède une activité anti-inflammatoire par rapport à l'extrait aqueux à 10 %

Schauenberger Paris (2005), rapporte que les plantes riches en tanins (ex : le noyer, la violette odorante et la menthe poivrée) sont très efficaces en cas d'inflammations ou de rougeurs.

L'activité anti-inflammatoire des coumarines est aussi établie, une étude faite sur ces derniers, a montré leur efficacité comme anti-œdémateuses (**Khan et al., 2005**).

Les travaux de **Khouzami et al., (2009)**, ont montré que l'extrait méthanolique d'écorce de *Quercus infectoria* possède une activité anti-inflammatoire qui dépend de la dose utilisée.

Selon **khenouf et al., (2003)**, La réduction de l'activité anti-inflammatoire peut être due à la composition complexe des extraits, certains composés présents dans l'extraits peuvent antagoniser l'effet de certains autres composés (par exemple, tanins).

Enfin, Il est connu que toutes les espèces de *Quercus* contiennent des tannins dans des pourcentages variables selon la partie de plante considérée : feuilles, écorce et Galles (**Khouzami et al.,2009**), ces tanins ils ont une activité anti-inflammatoire ; le mécanisme sous-jacent à l'effet anti-inflammatoire des tanins inclut le piégeage des radicaux libres (effet antioxydant) et de l'inhibition d'expression des médiateurs de la réponse inflammatoire, (**Erdelyi et coll, 2005**).

IV.4.3 Activité antioxydant :

L'activité antioxydante de notre extrait tannique de chêne vert *Quercus ilex* L. vis à vis du radical DPPH a été évaluée en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm.

Les valeurs obtenues dans les tableaux VII et VII (voir **Annexe 3**) ont permis de tracer les courbes présentées dans la figure ci-dessous

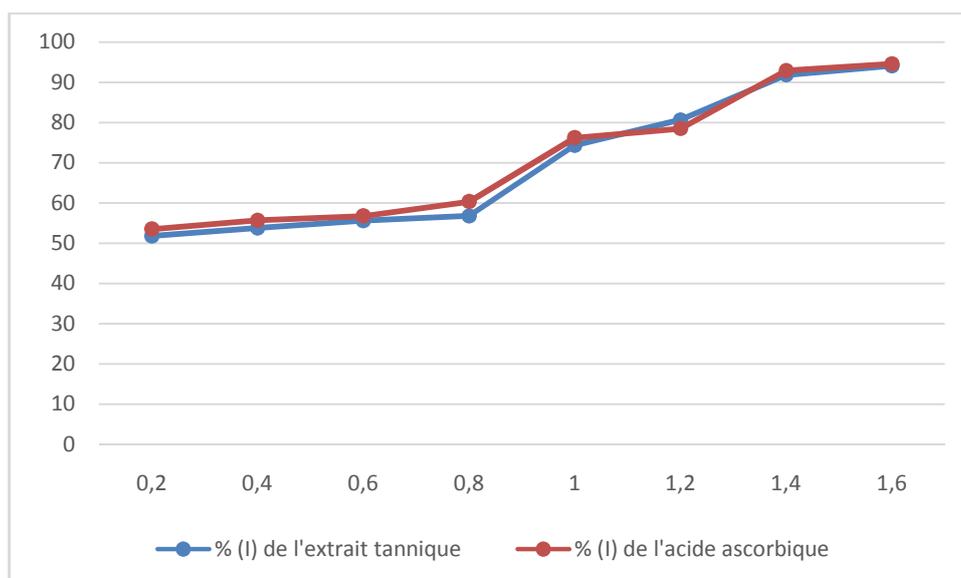


Figure13 :Pourcentage d'inhibition pour l'extrait tannique et l'acide ascorbique en fonction des différentes concentrations.

Les valeurs d'IC₅₀ de nos échantillons sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Les IC₅₀ l'acide ascorbique et extraits tannique.

Extrait	Acide ascorbique	Extrait tannique
IC ₅₀ (mg/ml)	0,5	0.5

A des fins comparatives on a utilisé l'acide ascorbique (Vit C) comme standard, il à monter une activité anti-oxydante intéressante avec une IC₅₀ de l'ordre 0,5 mg/ml et l'extrait tannique montré une IC₅₀ de l'ordre 0,5 mg/ ml pour. Donc, nous avons affirmé que l'effet antioxydant de l'acide ascorbique et l'extrait tannique sont identiques.

Les résultats de ce test ont indiqué que cette plante peut être utilisée comme une source naturelle d'antioxydant facilement accessible.

Les extraits qui contiennent essentiellement des tanins condensé (et/ou) tanins hydrolysables, possèdent un pouvoir antioxydant important, ce dernier augmente avec la teneur en phénol, et des tanins condensé sont plus antioxydant que les tanins hydrolysable (Diouf et al., 2006).

Une étude récente sur l'extrait méthanolique de *Quercus incanaRoxb* a révélé que ce dernier montre une bonne activité anti-oxydante avec une valeur IC₅₀ de 55,4 ± 0.21µg / ml (Sarwar et al., 2015).

Selon Genc et al., (2012)l'extrait méthanolique des tiges de *Quercus coccifera L.* représente une source très importante en agents antioxydants.

Plusieurs chercheurs (Latté et Kolodziej, 2004 ; Ujwalaet al., (2010)ont montré que les extraits tanniques isolés à partir des plantes ayant une capacité antioxydant équivalente à celle du DPPH.

Selon **Peronny (2005)**, le pouvoir antioxydant des tanins est dû à leurs noyaux phénols. **Okamura et al., (1993)** ont démontré également que les tanins galliques et catéchiques sont des composés antioxydants par excellence.

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine pour l'être humain, leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs, parmi ces principes les tanins, qui sont des molécules de nature phénolique très recherchées en phytothérapie.

L'objectif de notre étude était de déterminer la teneur en tanins de chêne vert *Quercus ilex* L., l'évaluation du contenu des tanins révèle la présence de quantités importantes en tanins de 8 %. De même nous avons dosé ces derniers, les résultats nous mène à conclure que cette plante contient des tanins hydrolysables de 4.61% plus que des tanins condensés avec 0.78%.

Le criblage phytochimique réalisée sur les glandes de *Quercus ilex* L. a permis de mettre en évidence la présence des tannins (notamment les tanins galliques), glucosides, leuco-anthocyanes, saponosides, coumarines et quinones libres, quant aux flavonoïdes, alcaloïdes, quinones combinés, tanins catéchiques et aux anthocyanes ils n'ont pas pu être identifiés par le test screening chimique.

L'autre objectif assigné à ce travail était l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux et l'extrait de tanins de chêne vert par la méthode de diffusion sur milieu gélosé a montré que l'extrait aqueux à 10% a une légère activité inhibitrice sur les souches bactériennes étudiés par contre il n'y a aucun pouvoir antifongique. En ce qui concerne l'extrait tannique à 480mg/ml, les résultats ont révélées que les tanins ont un grand pouvoir antimicrobien.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait aqueux et extrait tannique de *Quercus ilex* L, les résultats ont montrent que l'extrait aqueux de fruits de chêne vert à 10 % possède une faible activité anti-inflammatoire comparativement au produit de référence le **Diclofenac®**, tandis que les tanins de chêne vert à 480mg/ml possèdent un bon pouvoir anti-inflammatoire.

Le potentiel anti-radicalaire des tanins isolés a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces tanins possèdent une bonne activité, donc ces molécules sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur cette plante, à savoir :

La réalisation d'une étude phytochimique approfondie qui consiste en la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs.

L'évaluation d'autres activités pharmacologiques des tanins telles que les activités anti-diarrhéiques, diurétiques et cicatrisantes.

Il serait souhaitable de faire une étude dans le domaine toxicologique afin de mettre à la disposition des populations une plante active avec des posologies précises.

1. **Aganga A.A, Mosase, K.W., 2001.** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocaryuscapussa*, *Ziziphusmucropata*, *Sclerocaryabirrea*, *Kirkiaacuminata*and*Rhuslanced*seeds. *Animal Feed Science andTechnology*, (91), pp: 107-113.
2. **Aït Youssef, M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. Ed : Ibis presse, Paris, pp : 274-277-349.
3. **Ali-Dellile, L., 2010.** Les plantes médicinales d'Algérie, 2^{ème} Ed : Berti, pp : 11-88-239
4. **Anastasia, K., Bilia, A.R., Skaltsa, H., 2010.***Quercus ilex* a rich source of polyacylated flavonoid glucosides. *Planta Medica* 123 (1), pp: 131-142.
5. **Atsatt, P.R., Ingram, T., 1983.**Adaptation to oak and other fibrous, phenolic-rich foliage by a small mammal, *Neotomafuscipes*.*Oecologia*, (60), pp: 135-142.
6. **Baba-aissa, F., 2000.** Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales, d'Orient et d'occident), Ed : Librairie Moderne, Rouiba, p 20.
7. **Baba-aissa F., 2011.** Encyclopédie des plantes utiles (Flore Méditerranéenne Maghreb, Europe méridionale, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident), Ed : El maarifa, Alger.
8. **Backous, N., Delporte, C., Andrad C., 1997.** Phytochemical and biological study of *Radallomatiahirsuta*(*Proteaceae*). *Journal of Enthnopharmacology*, (57), pp 81.
9. **Bahmaninia, E., Ebrahimi, R., Fayazi, J., 2010.** Evaluate effects of different inclusion of oak kernel with determine food potential oak kernel substitute with corn seed on broiler chicken's ration. *Research Journal of Biological Sciences* 5, pp: 17–19.
10. **Barbonit, T., 2006.** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.
11. **Basri, DF., Tan, LS., Shafiei, Z., Zin, NM., 2012.** *In Vitro* antibacterial activity of galls of *Quercusinfectoria* Olivier against oral pathogens. PubMed, Evid Based Complement Alternat Med.

12. **Bate-Smith, E., 1973.** Tannins of herbaceous leguminosae. *Phytochemistry*, (12), pp: 1809 -1812.
13. **Bediaga, M., 2011.** Etude Ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia*mithune plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Doctorat, Université de Bamako, p 10.
14. **Belarouci, L.N., 1991.** Les reboisements en Algérie et leurs perspectives d'avenir. Office des Universitaires., Vol I, Alger, p 135.
15. **Beloued, A., 2012.** Plantes médicinales d'Algérie, 6^{ème} édition : Office des publications universitaires (OPU), Ben-Aknoun, Alger, pp : 39-46.
16. **Benaissa, O., 2011.** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. p 63.
17. **Blot, N., Gouillier, J., 2013.** Plantes médicinales, Ed : Terre, pp 26.
18. **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E., 2004.** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxycoumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, pp: 50-120-123.
19. **Bossard, R., Cuisance, P., 1984.** Arbre & arbuste d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes. Ed : INRA laboratoire de recherche, France., pp : 71-72-78.
20. **Botnieau, M., 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed : Lavoisier, pp : 705-709.
21. **Bouchet, R., 2009.** Dictionnaire thérapeutique des plantes. Ed : Trajectoire, p 38.
22. **Bouderoua, K., 1995.** Caractéristiques biochimiques et aptitudes nutritionnelles des farines de glandes du chêne vert et chêne liège en alimentation du poulet de chair. Thèse de magister, Ina El-Harrach, Alger, pp:5-53.
23. **Bouderoua, M.K., 1995.** Caractéristiques biochimiques et aptitudes nutritionnelle des farines de gland du chêne.
24. **Boudy, P., 1950.** Economie forestière Nord-Africaine des essences forestières. Monographie et traitement des essences. Ed : la maison rustique, Tome II. Paris, pp : 29-249, 505 p.
25. **Boukaz, I., 2006.** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.

26. **Brosse J., 2004.** Larousse des arbres dictionnaire des arbres et des arbustes. Ed:Larousse français, pp : 382-383.
27. **Brosse, J., 2004.** Larousse des arbres, dictionnaire des arbres et des arbustes, Éd : Mathilde M., Québec. Montréal, pp: 382-383.
28. **Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed : Tec & doc. Lavoisier, Paris, pp : 370-385-1120.
29. **Bruneton, J., 2002.** Phytothérapie - Les données de l'évaluation. Ed : Tec & Doc, Paris, pp : 81-96.
30. **Bruneton, J., 2009.** *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales. p 128.
31. **Brunie, G., Forrester, S., Greig, S., Harmony, M., Horbely, S., 2006.** BotanicaEncyclopedie de botanique et d'horticulture. Ed : Places victoire, Paris, France., pp : 730-731.
32. **Cantos, E., Espín, JC., López-Bote, C., de la Hoz, L., Ordóñez, JA., Tomás-Barberán, FA., 2003.** Phenolic compounds and fatty acids from acorns (*Quercus* spp.), the main dietary constituent of free ranged iberian pigs. *J. Agric. Food Chem*, (51), pp:6248-6255.
33. **Chen, C.N., Weng, M.S., Wu, C., Lin, J.K., 2004.** Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells. *Food Chemistry*, Vol 1(2). pp:175-185.
34. **Chung K. T et Wei C.I., 2001.** Are tannins a double edged sword in biology and health? *Trend in Food Science and Technology*, (9), pp: 168-170.
35. **Couplan, F., 2009.** Le regalvegetal : Plantes sauvages comestibles, Ed :Ellebore, p 223.
36. **Cuendet, M., 1999.** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraeablumei* » (*Loganiaceae*) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsiaalpina* » (*Scrophulariaceae*), « *Loiseleuriaprocumbens* » (*Ericaceae*) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
37. **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L., 2003.** Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, (80), pp:65-70.

38. **Diouf, P-N., Merlin, A., Perrin, D., 2006.** Antioxidant properties of wood extracts and colour stability of woods. Laboratoire d'Études et de Recherches sur le Matériau Bois, Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, France.
39. **Djerromi, A., Nacef, M., 2004.** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed: Houma-Alger., 59 p.
40. **Dodd, R. S., Rafii, Z. A., Zavarin, E., 1993.** Chemosystematic variation in acorn fatty acids of Californian live oaks (*Quercus agrifolia* and *Q. wislizenii*). *Biochem. Syst. Ecol.* 21(2), pp: 279-285.
41. **Erdélyi, K, Kiss, A, Bakondi, E., Bai, P., Szabó, C., Gergely, P., Erdödi, F., Virag, L., 2005.** Gallotannin inhibits the expression of chemokines and inflammatory cytokines in A549 cells. *Mol pharmacol, PubMed*, 68(3), pp : 895-904.
42. **Espinosa, E., Chilli, P., 2010.** Immunologie. Ed : Ellipse, p 123.
43. **Fiorucci, S., 2008.** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes, approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, p 211.
44. **Feucht, W., Treutter, D., 1999.** The role of flavan-3-ols and proanthocyanidins in plants defense. In: principal and practices in chemical ecology, Ed: Press et Boka Raton, pp: 307-338.
45. **Gazengel, J.M., Orecchoni A.M, 2001.** Le préparateur en pharmacie. Ed : Technique et Documentation. Paris, pp: 271.
46. **Genc, Y., Yuzbasioglu, M., Harput, Ü-S., Kuroozum-uz, A., 2012.** Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Quercus coccifera* L. *Fabad J. Pharm*, (37), pp:17-22.
47. **Gilman, E.F., 1997.** Trees for urban and Suburban Landscapes. Ed: Cengage Learning, p 481.
48. **Gravot, A., 2008.** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.
49. **Grunwald, J., Janicke, C., 2006.** Guide de la phytothérapie : la thérapeutique des plantes/ la santé par les plantes un répertoire des plantes /des conseils pratiques. Ed: Marabout, Italie, p 9.
50. **Guignard, J.L. 1998.** Abrégé de botanique, Ed : Masson. Paris, p 212.

51. **Guignard, J.L. 1998.** Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris, p 212.
52. **Güllüce, M., Adıgüzel, A., Ögütçü, H., Şengül, M., Karaman, I., Şahin, F., 2004.** Antimicrobial effects of *Quercus ilex* L. extract. Vol 18, No 3: pp:208-211.
53. **Hässig, A., Schwabl, H., Stampfli, K., 1999.** Flavonoids and tannins: plant- based antioxidants with vitamin character. Med, Hypotheses 52, pp : 479-481.
54. **Hassikou, R., Oulladi, H., Arahou, M., 2014.** Activité antimycosique des extraits du chêne-liège *Quercus suber* sur *Trichophyton rubrum* et *Candida albicans* Vol (12), pp : 206-212.
55. **Havsteen, B.H., 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeut. Pp: 96-67-202.
56. **Hopkins., 2003.** Physiologie végétale, 2 éme édition, Boeck, pp : 276-280.
57. **Institut National de Recherche Forestière, 2011.**
58. **Iserin, P., 2001.** Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales, Identification, Préparation, soins, 2^{ème} Ed : DorlingKinderseyilimited. Londres, pp : 259- 298.
59. **Jean-Blain, C., 1998.** Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. Rev.Med.Vét 149, pp : 911-920.
60. **Kansole, M., 2009.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiacée du Burkina Faso, Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
61. **Karioti, A., Bilia, A.R., Skaltsa, H., 2010.** *Quercus ilex* L. A rich source of polyacylatedflavonoid glucosides, Vol (123), pp: 131-142.
62. **Kekos, D., Kaukios, B., 1985.** Acid hydrolysate of acorn polysacharid as substrates of *Candida utilis* growth. Biotech. Letters 7, pp: 345-348.
63. **Khan I., Kulkari M.V., Gopal, M., Shahabuddin, M., 2005.** Synthesis and biological evaluation of novel angular fused polycyclic coumarins. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.15, pp: 3584-3587.
64. **Khennouf, S., Benabdallah, H., Gharzouli, K., Amira, S., Ito, H., Kim, TK., Yoshida, T., Gharzouli, A., 2003.** Effect of tannins from *Quercus suber* and *Quercus coccifera* leaves on ethanol-induced gastric lesions in mice. Agricult. Food. Chem, (5), pp:1469-1473.
65. **Khosravi A., Behzadi A., 2006.** Evaluation de l'activité antibactérienne de la coque de semences de *Quercus brantii* sur certaines bactéries gram négatives. Pak J Med Sci. (22): 429-32.

66. **Khouzami, L., Mroueh, M., Daher, F.C., 2009.** The role of methanolic extract of *Quercusinfectoriabark* in lipemia, glycemia, gastric ulcer and bacterial growth. *Journal of Medicinal Plants Research* 24, pp : 224-230.
67. **Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F. &Brouillard, R. (2003).** Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* (64), 923–933.
68. **Krief, S., 2003.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d’histoire naturelle, p 32.
69. **Lacoste, S., 2015.** Les plantes qui guérissent (les secrets de la phytothérapie utiliser en tisanes, ampoules, gélules). Ed: Talantikit 04, Rue Si-El-Houés-Bejaia-Algérie, pp: 118- 119.
70. **Latté, KP.,Kolodziej, H., 2004.** Antioxidant Properties of Phenolic Compounds from *Pelargoniumreniforme*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(15), pp:4899-902. PubMed.
71. **Lebhem, P., 2005.** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
72. **Lemaire, J., 2010.** Le chêne autrement. Ed : Forêt privée française, 09 p.
73. **Levy, L., 1969.** Carrageenan paws oedema in the mousse, *Life Science*, (8), pp: 601-606.
74. **Liagre, F., 2006.** Les haies rurales : rôles, création, entretien, Ed : France agricole, 319 pp.
75. **Libris, G., 2007.** Phytothérapie la santé par les plantes, Ed : sélection du Reader’s Digest., p 74.
76. **Lim, Y.Y., Lim, T.T., Tee, J.J., 2007.** Antioxidant properties of several tropical fruits: a comparative study. *Food chemistry* 103, pp : 1003-1008.
77. **Lopes, I., Bernardo-Gil, M.G., 2005.** Characterization of acorn oils extracted by hexane and by supercritical carbon dioxide. *Europ J. Lipid. Sci. Technol.* 107(1), pp: 12-19.
78. **Losange, M D., 2008.** Arbres de France. Ed: Artemis, p107.
79. **Lucienne, A., 2013.** Les plantes médicinales d’Algérie. 3^{ème} Ed: Betri, Dely-Ibrahim, Alger.
80. **Luczaj, L., Artur, A., Duda, M., 2014.** Tannin content in acorns (*Quercusspp.*), *Dendrobiologie, Poland*, (72), pp: 103–111.

81. **Lugasi, A., Hovari, J., Sagik, K.V., Biro, L., 2003.** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. BiologicaSzegedientis* 1-(4), pp: 119-125.
82. **Macheix, J;Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitairesromandes,pp: 4-5.
83. **Macheix, J., Fleurit, A., Jay-Allemand, C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux.
84. **Maire, R., 1961.** Encyclopédie biologique (Flore de l'Afrique du Nord). Ed:PauleLechevalier, Paris, p 94.
85. **Maire, R., 1961.**Encyclopedie biologique, Flore de l'Afrique du Nord. Ed: Paul Lechevalier, Paris vol VII.
86. **Malecky, M. 2005.** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. Pp:9, 13-19, 20, 27.
87. **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou, E., et Kefalas, P., 2005.**Phenolic profile and antioxidantactivity of the Algerian ripe date fruit *Phonixdactylifera*. *Food chemistry*, n°89, pp: 411-420.
88. **Marco,C.S., Guido, W.G., Papini , A., Vessella, F., Cardoni, S .,Tordoni, E .,Piredda, R ., Franc, A., Denk T., 2016.** Plastome data reveal multiple geographic origins of *Quercus ilex*. *J. Reimer*.
89. **McIntyre, A., 2011.** Le guide complet de la phytothérapie pp : 38-41.90.**Medic-Sanic, M., Jasprica, I., SmolcicBubalo, A., Mornar, A., 2004.** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *CroaticaChemicaActa*, pp: 361-366.
90. **Mole, S., Waterman, P.G., 1987.** A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. II. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia* (72), pp:148- 156.
91. **Mutai, C., Bii, C., Vagias, C.,Abatis, D., Roussis, V., 2009.**Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and *Lupane triterpenes*- *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/j.jep.02.007.

92. Ofcarcik, R., Burns, E.E., 1971. Chemical and physical properties of selected acorns. *J. Sci. Food Agric.* (36), pp: 576-578.
93. Okamura H., Mimura A., Yakou Y et al., 1993. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phyto-Chem* n°33, pp: 557-561.
94. Ozkan, g., Sagdic O., Baydar, N.G., Baydar H., 2003. Inhibition 6ème Edition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentration. *Food Science and Technology International*, Vol 9(2), pp: 85-88.
95. Peronny, S., 2005. La perception gustative et la consommation des tanins chez le MAKI *Lemur catta*. Thèse de doctorat du Muséum National d'Histoire Naturelle. Discipline Eco-Ethologie, p 151.
96. Petti, S., Scull, C., 2009. Polyphénols, santé bucco - dentaire et de la maladie : Un examen, PubMed, *J Dent* (37), pp : 413-23.
97. Pharmacopée Européenne., 2008. Conseil de l'Europe. 6^{ème} édition, Tome II Strasbourg. P3342.
98. Polse, J., 2007. Arbre et arbuste de méditerranée, Ed : La lesse, Aix-en-Provence, pp : 28-29.
99. Pour, M.B., Bahmaninia, E., Ebrahimi, R., Fayazi, J. 2010. Evaluate effects of different inclusion of oak kernel with determine food potential oak kernel substitute with corn seed on broiler chicken's ration. *Research Journal of Biological Sciences* (5), pp: 17-19.
100. Price, M.L., Vanscoyoc, S., Butler, G., 1978. Evaluation of vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *I. Agric. Food. Chem.* (26), pp: 1210 -1218.
101. Rakic, S., Petrovic, J., Kukic, M., Jadranin, V., Tesevic, D., Povrenovic, S., Siler, M., 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chem.* (104), pp: 830-834.
102. Rakić, S., Maletić, R., Perunović, M., Svrzić, G. 2004. Influence of thermal treatment on tannin content and antioxidation effect of oak acorn *Quercus cer-ris* extract. *Journal of Agricultural Science*, (49), pp: 97-107.
103. Roux, D., Catier, O., 2007. Botanique des manipulations de chimie à l'usage des biologistes. Tec et Doc, Paris, p 363.
104. Sadeghian, I., Hassanshahian, M., Sadeghian, S., Jamali, S., 2012. Antimicrobial Effects of *Quercus Brantii* Fruits on Bacterial Pathogens 1, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, IR Iran.

105. **Salle, J.-I., 1991.** Le Totium en phytothérapie. Ed;Frison- Roche Paris, pp 105.
106. **Sanchez M.C., 2002.** Method used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International, pp 121.
107. **Santos S.P.A., Pinto P.C.R.O et Silvestre A.J.D., 2009.** Composition chimique et activité antioxydant des extraits phénoliques de quercus suber L. CICECO et département de la chimie, Université d'Aveiro, Portugal.
108. **Sarwar, R., Frooq, U., Khan, A., Uddin, R., 2015.** Evaluation of Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activity of *Quercusincana*, Pharmacology.
109. **Schauenberg P et Paris F, 1997.** Guide des plantes médicinales- Analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed:Delachaux et Niestlé, Paris, 3^{ème} édition, pp: 08, 396.
110. **Schauenberg P., Paris F., 2005.** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed:Delachaux et Nestlé, Paris, 5^{ème} édition, p 396.
111. **Schauenberg, P., Ferdinand, P., 1977.** Les guides de naturaliste ou les guides des plantes médicinales. 3^{ème}Ed: Delachauxet Nestlé, Paris, pp: 144-145-156.
112. **Shrestha, S., Kaushik, V.S., Eshwarappa, R.S.B., Subaramaiha, S.R., Ramanna, L.M., Lakkappa, DB., 2014.** Pharmacognostic studies of insect gall of *Quercusinfectoria* Olivier (Fagaceae). Asian Pac JT Biomed, 4(1), pp: 35–39.
113. **Smallwood, P.D., Peters, W.D., 1986.** Grey squirrel food preferences: the effects of tannin and fat concentration. Ecology (67), pp: 168–174.
114. **Somon, E, 1987 :** Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie, institut national agronomique d'El Harrach Alger.
115. **Swain, T., Hillis, W.E., 1959.** The phenolicsconstituants of prunusdomestica -I- the quantitative analysis of phenolics constituents. Journal of the science of food and agriculture, pp: 10-13.
116. **Tassin, C., 2012.** Paysage végétaux du domaine méditerranéen ; bassin méditerranéen, Californie, chili centrale, Afrique du Sud, Australie, Ed : IRD Edition, pp : 59- 93.

- 117.Verbois, S., 2015.** La phytothérapie une synthèse de référence illustré pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes. Ed: Eyrolles. France, pp: 175-176.
- 118.Vercautern, J., Chezec, C., Triaud, J., 1998.** Les polyphénols, p 96.
- 119.Vermerris, W., 2006.** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).
- 120.Wang S.Y., Wu J.H., Shyur L.F., Kou Y.H., Shang S.T., 2002.** Antioxidant activity of abietane-type Diterpenes from Heartwood of TaiwaniaCryptomerioidesHayata. Holzforsshung, pp : 56.
- 121.White J., 2005.** Encyclopédie des arbres. Ed : Flammmation, pp : 366-367-831.
- 122.Zargari, A., 1999.** Les plantesmédicinales. Ed : Téhéran Publications universitaires, (4), 480 p.

Annexe1

1.1Apparillage



Balance de précision



Agitateur magnétique



La Hotte



Evaporateur rotatif



Bec benzène



Spectrophotomètre
UV



Balance analytique



Bain-Marie



Etuve

1.2. Verreries et autres

- Béchers
- Boîtes de pétri
- Burette
- Chauffe ballon
- Disques en papier
- Entonnoir
- Erlenmeyer
- Flacon ombré
- micropipette
- Milieux de culture.
- Papier filtre
- passoire
- Pince de laboratoire
- Pipettes Fioles jaugées
- Pipettes graduées
- Poire
- Tubes à essai stériles
- Spatule
- Seringues
- Sonde pour gavage

1.3. Réactifs et solutions

- Acétate d'éthyle
- Acétate de sodium
- Acide ascorbique
- Acide chloridrique
- Acide sulfurique
- Ammoniaque.
- Alcool éthylique
- Alcool iso amylique
- Carraghénine
- Chloroforme
- Eau distillée
- Eau de javel
- Eau physiologique
- Ether
- Éther de pétrole
- Éthanol
- Éther diéthylique
- H₂SO₄.
- KOH
- Magnésium (Mg)
- Méthanol
- NaOH
- Propanol
- Réactif de Dragendroff
- Réactif de Stisany
- Réactif Valsér-Mayer
- Solution de FeCl₃
- tween 80%
- Vanille
- Zinc métallique

*Annexe 2***Préparation des solutions pour le screening chimique :**

1- Préparation de l'ammoniaque ½ :

30 ml d'ammoniaque +60 ml d'eau distillée.

2- Préparation du HCL à 10% :

20 ml d'HCL + 200 ml d'eau distillée.

3- Préparation du KOH à 10 % :

10g KOH+100ml d'eau distillée (bien agiter dans agitateur).

4- Fer chlorure anhydrique à 5 % :

10g de $FeCl_3$ + 200 ml d'eau distillée.

5- Ether chloroforme (3/1) :

60ml d'éther+20ml chloroforme (Trichloromethane)

6- Préparation de Réactif de drangendroff :

Solution a :

0.85g de nitrate de bismuth + 40 ml d'eau distillée + 10 ml d'acide acétique.

Solution b :

8g d'iode de potassium + 2 ml d'eau distillé.

-On mélange a + b.

-prendre 15 ml du mélange + 20 ml d'acide acétique puis compléter à 100 ml de l'eau distillée.

7-préparation de réactif de Stisany :

2 volume de formol (50ml) +1 volume de HCL 1N (25ml).

Annexe3

Concentration mg/ml	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6
DO de l'extrait de tanin	0.444	0.426	0.409	0.398	0.236	0.178	0.075	0.054
% (I) de l'extrait de tanin	51.79	53.74	55.59	56.78	74.37	80.67	91.85	94.13

Tableau VII : Pourcentage d'inhibition et la densité optique de l'extrait tannique des fruits de chêne vert selon la méthode de DPPH.

Concentration mg/ml	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6
DO de l'acide ascorbique	0.424	0.408	0.398	0.365	0.219	0.198	0.065	0.050
% (I) de l'acide ascorbique	53.52	55.70	56.78	60.36	76.22	78.50	92.94	94.57

Tableau VIII: Pourcentage d'inhibition et la densité optique de l'acide ascorbique.

Annexes4

	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Moyenne des pattes
Poids des pattes droites (g)	0.122	0.134	0.121	0.111	0.125	0.114	0.121
Poids des pattes gauches (g)	0.195	0.172	0.190	0.164	0.157	0.152	0.171

TableauIX :Lot témoin : souris ayant reçu la solution physiologique.

	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Moyenne des pattes
Poids des pattes droites (g)	0.114	0.108	0.077	0.109	0.089	0.078	0.095
Poids des pattes gauches (g)	0.128	0.117	0.110	0.105	0.110	0.108	0.113

TableauX:Lot de référence :souris ayant reçu le produit de référence

	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Moyenne des pattes
Poids des pattes droites (g)	0.128	0.120	0.115	0.146	0.144	0.125	0.129
Poids des pattes gauches (g)	0.145	0.151	0.185	0.160	0.155	0.159	0.159

TableauXI: Lot essais 1 : souris ayant reçu l'extrait aqueux de fruits de chêne vert.

	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Moyenne des pattes
Poids des pattes droites (g)	0.125	0.129	0.137	0.128	0.115	0.117	0.121
Poids des pattes Gauches (g)	0.178	0.160	0.157	0.192	0.148	0.160	0.165

Tableau XIII: Lot essais 2 : souris ayant reçu l'extrait tannique de fruits de chêne vert.

Lots	Témoin (eau)	Référence Diclofénac®	Extrait aqueux	Extrait de tanin
% de l'œdème	41.32 %	18.94 %	32 %	23.25 %
% de réduction de l'œdème		54.16 %	22.55 %	43.73%

Tableau XIV: Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux et l'extrait de tanin de fruits et de chêne vert.

Annexes 5



A

Gavage de l'extrait



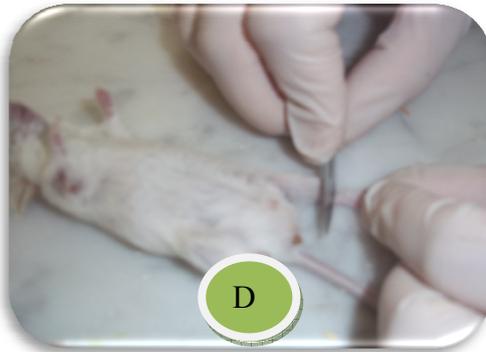
B

Injection de carraghénine.



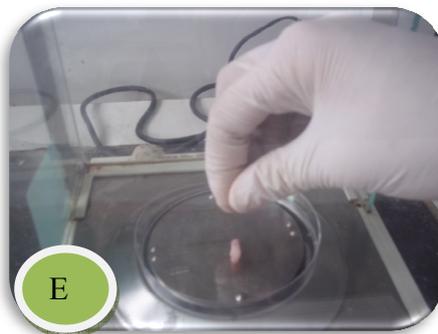
C

Sacrifice des souris



D

Coupure des pattes gauches

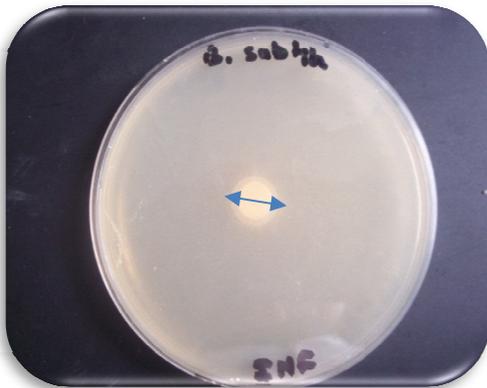


E

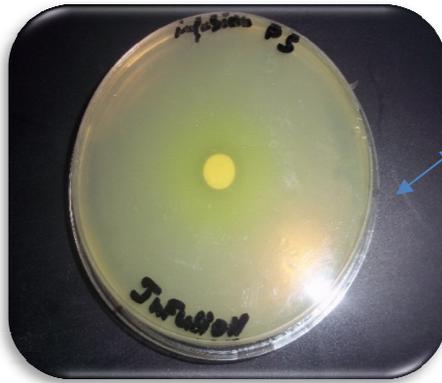
La pesée des pattes

Figure 14 : les étapes de l'activité anti-inflammatoire.

Annexe 6



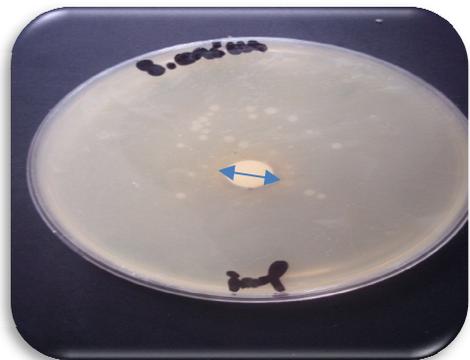
Bacillus subtilis



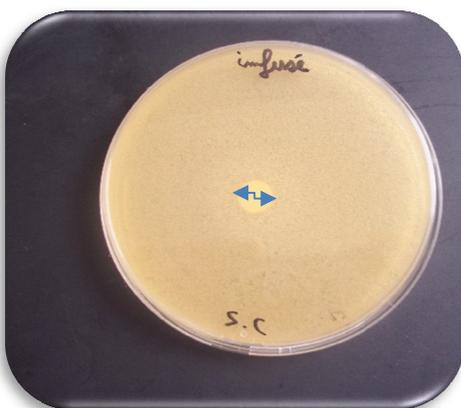
Pseudomonas aeruginosa



Escherichia coli



Staphylococcus aureus



Sacharomyces cerevisiae



Candida albicans

Figure15 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des glands de chêne vert.

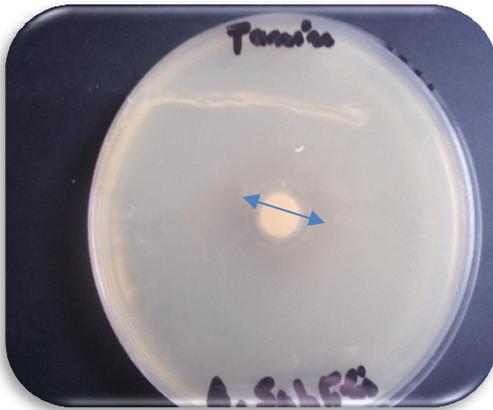
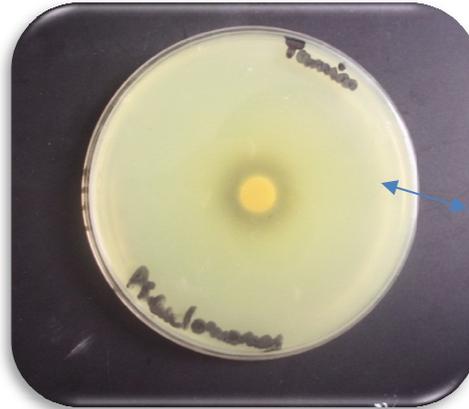
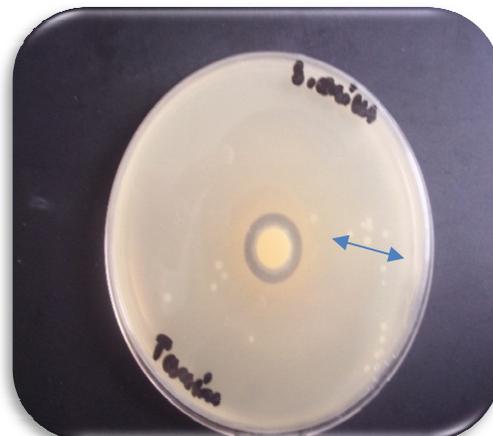
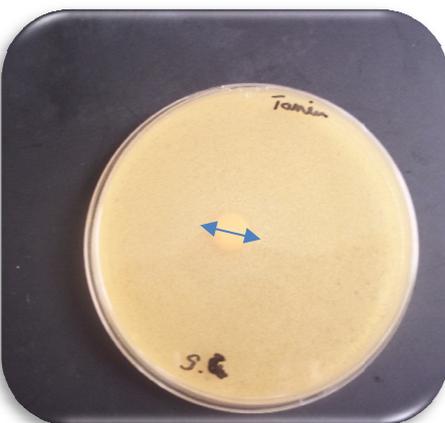
*Bacillus subtilis**Pseudomonas aeruginosa**Escherichia coli**Staphylococcus aureus**Sacharomyces cerevisiae**Candida albicans*

Figure17: Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des glands de chêne vert.

Introduction

*Rappels
bibliographiques*

*Matériels Et
Méthodes*

Résultats et discussion

Conclusion

*Références
bibliographique*

Annexes