

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Effet de l'extraction assistée par ultrasons sur les teneurs en composés phénoliques et la bio-activité des extraits de la plante *Haloxylon articulatum*

Présenté par :

DIABI Radia

le 26/06/2022

BENHADDAD Nafissa Batoul

Jury d'évaluation :

Encadreur :

M^{elle} GALI Lynda

MRB- CRBt.

Examineur 1 :

M^{elle} MOUSSAOUI Samira

MCB- Université Frères Mentouri, Constantine I.

Examineur 2 :

M^{elle} MAZOUZ Wissam

MAA-Université Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi.

Année universitaire

2021 - 2022

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail, car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur ; veuille toujours guider nos pas.

Même si le remerciement a déjà été fait de vive voix, il est des occasions où un petit mot est utile.

*C'est avec une profonde gratitude nous tenons encore à remercier notre encadrante M^{elle}. **GALI Lynda**, Maître de recherche classe B au centre de recherche en biotechnologie (CRBt), Constantine, pour l'aide si efficace qu'elle nous a apportée, sans vous il nous aurait été difficile de mener à bien nos travaux non seulement nous avons profité pleinement de votre accueil mais aussi de vos conseils éclairés, votre gentillesse et votre soutien moral.*

*Nous exprimons nos remerciements à M^{elle}. **Samira Moussaoui** Maître de conférences classe 'B' à l'université de Constantine 1 d'avoir examiné notre travail.*

*Nous remercierons également M^{elle} **Mazouz Wissam** Maître assistant classe 'A' à l'université Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi pour avoir accepté examiner le présent travail.*

*Nous remercions aussi Mr. **Yahia Khelef**, Maître de conférences 'B', université El-Oued pour nous avoir aidés à acquérir la plante.*

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué et aidé de près ou de loin à la réalisation de cet humble travail.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail

À ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais

Jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite

*Et tout mon respect, **Mon cher Papa Ahcene.***

*À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, **Ma chère Maman Wassila.***

Que vous trouvez ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

*À mes adorables sœurs, **Lina Sourour et ikram** qui ont partagé avec moi tous les*

Moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Elles m'ont

Chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À mes grands-parents, mes oncles et mes tantes, paternelles et maternelles

Que Dieu leurs donne une longue et joyeuse vie.

À tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à Maintenant.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

*Sans oublier mon binôme **Batoul** pour son soutien moral, sa patience*

Et sa compréhension tout au long de ce projet.

À ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

À tous mes camarades de ma promotion qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

À tous ceux que j'aime.

Merci !

DIABI Radia

Dédicace

Je dédie ce mémoire qui est le fruit d'un long parcours d'étude à :

Ma raison de vivre, ma source de bonheur, à qui sont toujours sacrifiés pour me voir réussir

et qui m'avez toujours soutenu durant ces années...

Que DIEU vous garde pour moi

*Mes chers parents **BOUBAKEUR** et **SAMIRA**.*

*Mes petites adorables sœurs : **Youssra**, **Rim** et **Amira**.*

*Mes grands-parents **Said** et **Salima**.*

Mes proches amis, mes cousines et toute ma famille maternelle et paternelle.

*Mon binôme **Radia**...merci pour l'encouragement, les grands efforts, d'être compréhensive et*

très gentille tout au long ce travail.

Tous ceux que j'aime, tous qui me donnent de l'amour ...

Merci pour votre amour, vos conseils et l'encouragement.

MERCI

Benhaddad Batoul

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01

1ere partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I. Haloxylon articulatum

I.1. Généralités sur la famille des chénopodiacées.....	03
I.2. Genre Haloxylon.....	03
I.3. Espèce <i>Haloxylon articulatum</i>	03
I.3.1. Description botanique.....	03
I.3.2. Distribution géographique	05
I.3.3. Systématique.....	05
I.3.4. Composition chimique de la plante	05
I.3.4.1. Composés phénoliques	06
I.3.4.2. Alcaloïdes	06
I.3.5. Utilisations traditionnelles et effets biologiques de la plante	07

Chapitre II. Polyphénols

II.1. Généralités sur les métabolites secondaires.....	09
II.2. Généralités sur les polyphénols	09
II.2.2. Classification	10
II.2.2.1. Acides phénoliques	10
II.2.2.2. Flavonoïdes	11
II.2.2.3. Tanins.....	11
II.2.2.3.1. Tanins hydrolysables	12
II.2.2.3.2. Tannins condensés	12
II.2.2.3. Stilbènes et lignines	13
II.2.3. Rôle et effets biologiques des composés phénoliques.....	14

Chapitre III : Méthodes d'extraction

III.1. Introduction	16
III.2. Techniques d'extraction	16
III.2.1. Macération	17
III.2.2. Extraction assistée par ultrasons	18

2eme partie : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal	20
I.2. Matériel, enzymes, et produits chimiques.....	20
I.2.1. Equipements	20
I.2.2. Produits chimiques et enzymes.....	20
I.3. Préparation des extraits	21
I.4. Dosage colorimétrique des polyphénols	23
I.4.1. Dosage des polyphénols totaux	23
I.4.2. Dosage des flavonoïdes	23
I.5. Etude des activités biologiques	24
I.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante	25
I.5.1.1. Piégeage du radical DPPH	25
I.5.1.2. Activité antiradicalaire de l'ABTS.....	26
I.5.1.3. Pouvoir réducteur	27
I.5.1.4. Test CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity)	28
I.5.2 Inhibition des enzymes	29
I.5.2.1. Inhibition de l' α -amylase	29
I.5.2.2. Inhibition de l'uréase.....	30
I.5.2.3. Inhibition de la butyrylcholinestérase	30
I.6. Analyse par spectroscopie a transformée de Fourier (IRTF OU FTIR)	32
I.7. Analyse statistique	32

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction.....	33
II. 2. Teneurs en composés phénoliques	35
II.3. Bio-activité des extraits	37
II.3.1. Pouvoir antioxydant	37
II.3.1.1. Effet antiradicalaire.....	38
II.3.1.2. Réduction des ions métalliques.....	41
II.3.2. Pouvoir inhibiteur des enzymes	44
II.4. Analyse FTIR	46
Conclusion	49

Référence bibliographiques

Liste des figures

Figure 1: Photographie de différentes parties de la plante <i>Haloxylon articulatum</i> (Věra Svobodová, 2008).....	04
Figure 2: Structure de l'acide hydroxy-benzoïque et de l'acide hydroxy-cinnamique.....	10
Figure 3: Structure de base des flavonoïdes.....	11
Figure 4: Structure générale des tanins hydrolysables.....	12
Figure 5: Exemple des différents types de condensations (liaisons) se produisant dans les oligomères et les polymères de tanins condensés.....	13
Figure 6: Structure du resvératrol (stilbène) et de la sésamine (un exemple de lignine).	14
Figure 7: Principe de l'extraction par macération.....	17
Figure 8: Différents systèmes ultrason utilisés au niveau du laboratoire pour divers applications : bain à ultrasons (A) et une sonde ultrasons (B).....	19
Figure 9: Perturbation de la membrane cellulaire lors de la formation et l'effondrement des cavitations sonores à la surface des membranes.....	19
Figure 10: Étapes des deux méthodes utilisées pour préparer les extraits d' <i>H. articulatum</i> . .	22
Figure 11: Courbe étalonnage de l'acide gallique et de la quercétine utilisées pour le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes, respectivement.....	24
Figure 12: Etapes de préparation des dilutions (1) et du travail sur une microplaque à 96 puits (2).	25
Figure 13: Mécanisme réactionnel intervenant lors de la réduction du radical DPPH.....	26
Figure 14: Réaction du CUPRAC (Ghorab,2017).	28
Figure 15: Principe de la méthode d'Ellman utilisant la butyrylcholinestérase comme enzyme et la butyrylthiocholine comme substrat.	31
Figure 16: Aspect des solutions obtenues avec les différents solvants des deux méthodes après filtration.	33
Figure 17: Rendements d'extraction obtenus avec l'extraction par ultrasons et macération en utilisant l'éthanol et l'acétate d'éthyle comme solvants.	34
Figure 18: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits obtenus par les deux méthodes et les deux solvants.....	35
Figure 19: Teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits d' <i>H. articulatum</i>	37
Figure 20: Activité antiradicalaire des extraits d' <i>H. articulatum</i> (A) et les standards (B) contre le radical ABTS.	39

Figure 21: Activité antiradicalaire des extraits d' <i>H. articulatum</i> (A) et les standards (B) contre le radical ABTS.	40
Figure 22: Pouvoir réducteur des extraits d' <i>H. articulatum</i> (A) et des standards BHA et acide ascorbique (B) à différentes concentrations.	42
Figure 23: Capacité des extraits d' <i>H. articulatum</i> (A) et les standards (B) à réduire les ions cuivre évaluée par le test CUPRAC.	43
Figure 24: Activité inhibitrice des extraits d' <i>H. articulatum</i> et de l'acarbose contre α -amylase à différentes concentrations.....	45
Figure 25: Spectres FTIR des extraits éthanols obtenus par macération (A) et par extraction assistée par ultrasons (B).....	47
Figure 26: Spectres FTIR des extraits acétate d'éthyle obtenus par macération (C) et par extraction assistée par ultrasons (D).....	48

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Effets biologiques d' <i>H. articulatum</i>	08
Tableau 2: Classes principales des composés phénoliques.....	10
Tableau 3: Propriétés biologiques des principaux composés phénoliques.	15
Tableau 4: Enzymes utilisées pour évaluer la capacité inhibitrice des extraits.	20
Tableau 5: Produits chimiques utilisés pour la réalisation du travail.	21
Tableau 6: Valeurs des CI ₅₀ obtenus avec les extraits d' <i>H. articulatum</i> contre les radicaux DPPH et ABTS.....	41
Tableau 7: Valeurs d'A _{0,5} obtenus avec les extraits d' <i>H. articulatum</i> et des standards.	44
Tableau 8: Capacité inhibitrice des extraits d' <i>H. articulatum</i> contre la butyrylcholinestérase, l'uréase, et l' α -amylase	46

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

BChE : Butyrylcholinestérase

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

CUPRAC : Cupric Reducing Antioxidant Capacity

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAG : Équivalent de l'acide gallique

EAU : Extraction assisté par ultrason

EQ : Équivalent de la quercétine.

FC : Folin-Ciocalteu.

HA : *Haloxylon articulatum*

HS : *Haloxylon scorpium*

IRF/FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier/Fourier Transform Infrared

m : masse

mg : milligramme

min : minute

mL : millilitre

UV : ultra-violet

µg : microgramme

µL : microlitre

Introduction générale

Introduction

Aujourd'hui, on observe un grand intérêt pour les substances naturelles afin de rechercher de nouvelles thérapies en raison de la toxicité et parfois de l'inefficacité des traitements disponibles pour certaines maladies. De plus, l'utilisation d'additifs alimentaires de synthèse pour la conservation, ou pour la qualité organoleptique des produits de l'industrie agro-alimentaire a suscité une grande inquiétude des consommateurs quant à leurs effets néfastes sur la santé à long terme (**Christaki *et al.*, 2012; Lourenço *et al.*, 2019**).

Les plantes synthétisent un grand nombre de composés bioactifs de nature variée dont les principaux groupes sont représentés par les polyphénols, les alcaloïdes et les composés terpéniques. Les polyphénols constituent une grande classe de composés naturels largement répandus dans le règne végétal et se retrouvent dans toutes les parties de la plante. Ces composés jouent plusieurs rôles dans les plantes dont la défense contre les prédateurs et les micro-organismes, la pollinisation, la protection contre les rayons UV, etc. (**Ferrazzano *et al.*, 2016**). Un grand intérêt pour les polyphénols s'est accru étant donné les nombreuses actions qu'ils exercent en tant que molécules thérapeutiques ou en tant que molécules d'intérêt dans l'industrie alimentaire grâce à leurs propriétés telles que la couleur, l'arôme et les propriétés de conservation des aliments (effets antioxydants et antimicrobiens) (**de Araújo, *et al.*, 2021**).

La qualité thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé. Ainsi, l'extraction constitue la première étape dans la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques d'origine naturelle et le choix de la méthode d'extraction adéquate sera donc essentiel garantir une meilleure extraction des constituants d'intérêt. Aujourd'hui, grâce à la technologie, un grand nombre de techniques d'extraction dites innovantes ont été développées en dépôt des techniques traditionnelles ou conventionnelles. Parmi ces méthodes, l'extraction assistée par ultrasons est largement utilisée à l'échelle industriel et de laboratoire pour extraire différentes molécules à partir de différentes matrices. Cette méthode est très sophistiquée offrant l'avantage d'utiliser de plus petites quantités de solvants et de matières végétales, réduisant ainsi l'impact sur l'environnement tout en augmentant le rendement d'extraction et en préservant la bio-activité des substances d'intérêt (**Picot *et al.*, 2021**).

Le Sahara algérien possède une flore très diversifiée, caractérisée par des plantes résistantes aux conditions arides telles que les températures élevées, la forte salinité, le rayonnement UV, etc. Cette propriété de résistance est conférée essentiellement grâce à la capacité de ces plantes à synthétiser et accumuler des métabolites secondaires en réponse à divers facteurs de stress et pourrait donc être considérée comme une source très intéressante de substances bioactives (**Chehema, 2006**). *Haloxylon articulatum* est une plante halophyte de la famille des chénopodiacées poussant dans les régions arides très connue pour sa richesse en métabolites secondaires comme les polyphénols et les alcaloïdes (**Boumaza, 2006**). La plante connue localement sous le nom de "Remth" est largement utilisée dans la médecine traditionnelle locale pour soigner les maux d'estomac, les morsures de scorpion, les plaies, l'infertilité et les douleurs osseuses. En outre, elle est utilisée en Tunisie et au Maroc pour traiter les troubles oculaires. Plusieurs effets pharmacologiques de la plante ont été décrits comme les activités anticancéreuse, antioxydante, antidiabétique, antimicrobienne, et larvicide, etc (**Allaoui et al., 2016**).

Dans le présent travail, l'effet de l'extraction associée au traitement ultrasons sur le rendement d'extraction, les teneurs en polyphénols, et les activités biologiques (antioxydante et inhibition des enzymes) de la plante ont été étudiés en comparaison avec l'extraction par macération. Le travail sera alors organisé en deux principales parties suivantes :

- La première partie est consacrée à l'étude bibliographique des différents points du travail présenté dans le mémoire dont une présentation de plante étudiée, des généralités sur les polyphénols et les techniques d'extraction.
- La deuxième partie est dédiée à la description du travail expérimental comportant un chapitre pour la description du matériel et méthodes utilisés pour la réalisation du travail et un chapitre pour présenter les principaux résultats et leur discussion.

1. Synthèse bibliographique

Chapitre I : Haloxylon articulatum

I.1. Généralités sur la famille des chénopodiacées

Les chénopodiacées apparentées aux caryolacées. Aujourd'hui dans la dernière classification phylogénique, les chénopodiacées sont inclus parmi les Amaranthacées, est une famille de plantes qui s'adaptent bien aux milieux arides et des sols à fortes concentrations en minéraux (**Kadereit et al., 2005**). La plupart des plantes sont comestibles dont les plus connues sont les diverses variétés de bettes, de betteraves, des épinards, d'autres ne sont pas alimentaires tel que le chénopode blanc, des plantes sauvages, ou cultivées qui sont assez résistantes à la salinité (**Boumaza, 2006**).

Les plantes sont à fleurs dicotylédones, annuelles, bisannuelles ou vivaces, elles sont le plus souvent herbacées et rarement arbustives (**Tolaba, 2006**). Cette famille comprend plus de 1300 espèces réparties en une centaine de genres 120 genres distribués sur tous les continents (**Lamchouri et al., 2012**) dans les zones tempérées et subtropicales essentiellement dans les terrains arides, les déserts, les sols alcalins ou les habitats côtiers et salins. De nombreuses chénopodiacées poussent en bordures de mer et les marais et elles font partie des plantes qui colonisent les zones frontières entre terre et eau (**Boumaza., 2006**).

I.2. Genre Haloxylon

Ce genre inclut environ 25 espèces qui poussent dans les zones arides et salines (**Li et al., 2010**), et distribué de l'ouest de la région méditerranéenne jusqu'à l'Arabie saoudite, l'Iran, la Mongolie, la Birmanie et le Sud-Ouest de la Chine (**Lamchouri et al., 2012**). Le genre Haloxylon est une plante qui existe sous forme d'arbustes ou de petits arbres, avec des sous-arbustes linéaires segmentaires, des feuilles croisées jointes à la base. Ce genre est similaire aux arbres à feuilles aciformes en raison de l'apparence de ses feuilles (**Jafari et al., 2008**).

I.3. Espèce *Haloxylon articulatum*

I.3.1. Description botanique

Haloxylon articulatum (famille des Chénopodiacées) est une plante médicinale locale, qui a été largement utilisée dans la partie sud-ouest de l'Algérie (**Fatehi et al., 2017**). La plante connue localement sous le nom de "Remth" (**Allaoui et al., 2016**), est l'une des espèces les plus utilisées traditionnellement en ethnomédecine. *H. articulatum* est un arbuste nain glabre, gris-brun, ligneux, devenant généralement plus foncé ou noirâtre lorsqu'il est séché (**Ghrabi, 2005**). *H. articulatum* est une plante vivace qui ne dépasse pas 1 m de hauteur à branches grêles

succulentes, charnues, articulées, dressées, et très nombreuses. Les feuilles sont opposées atrophiées en écailles et fusionnées sur le segment qui les porte. Les fleurs n'ont pas de pétales et sont denses disposées en épi terminal sont généralement solitaires à l'aisselle des feuilles long (Ghrabi, 2005). Leur style est long et bifide. Les fruits apparaissent au début de l'hiver portant des graines (3 à 5 cm de taille) (Boucherit *et al.* 2018). Les racines sont souvent approfondies souvent dans le sol (Figure 1).



Figure 1: Photographie de différentes parties de la plante *Haloxylon articulatum* (Věra Svobodová, 2008).

I.3.2. Distribution géographique

Plante est rencontrée en grandes colonies sur les hamadas, sols pierreux et aux pieds des collines, très commune dans tout le Sahara septentrional (**Chehema., 2006**). La plante pousse à l'état sauvage dans les habitats secs de la région méditerranéenne (Algérie, Tunisie, et Maroc) et de Proche-Orient (**El-Shazly and Wink, 2003**).

I.3.3. Systématique (Boucherit *et al.*, 2018)

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta,

Embranchement : Spermatophytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Caryophyllidae

Ordre : Caryophyllales

Famille : Amaranthaceae

Genre : Haloxylon

Espèce : *Haloxylon articulatum*

I.3.3.1. Autres appellations et vernaculaires

La plante possède plusieurs autres appellations comme *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin, *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin., *Salsola articulata* (Cav), *Haloxylon scoparium* Pomel. La plante est communément appelée Remth الرمث en arabe (**Boulos., 1999**) et Saligne à balai en français (**Ghrabi, 2005**).

I.3.4. Composition chimique de la plante

Les plantes de la famille des Chénopodiacées présentent une composition chimique très variée renfermant des composés phénoliques, des composés terpéniques et des alcaloïdes. En particulier, les espèces du genre Haloxylon ont été rapportées pour leur richesse en métabolites

secondaires dont beaucoup d'alcaloïdes, des flavonoïdes glycosylés, des stérols, et des pyranones (El-Shazly *et al.*, 2005 ; Li *et al.*, 2010). Une analyse préliminaire de la plante *H. articulatum* a révélé la présence de plusieurs groupes de composés dont des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des anthocyanes, des alcaloïdes, des terpènes/stéroïdes (Benkherara *et al.*, 2021). La composition phénolique ainsi que les alcaloïdes de la plante ont fait l'objectif de quelques études.

I.3.4.1. Composés phénoliques

Une étude ultérieure a rapporté la composition phénolique de la plante qui est caractérisée par la dominance de la nobilétine (flavone) avec une quantité de 125.7 µg/mL d'extrait suivi par l'acide trans-hydroxycinnamique (94.44 µg/mL) et la lutéoline 7-O glucoside (76.077 µg/mL). L'acide gallique, la catéchine, le résorcinol, l'hypéroside, et la myricétine ont été également identifiés à différentes proportions (Tamma *et al.*, 2017).

Une étude récente a conduit à l'indentification de plusieurs acides phénoliques ont été identifiés incluant l'acide gentsique, acide catéchique, acide caféique, acide isovanillique, acide syringique, acide vanillique, acide benzoïque, acide para-coumarique, acide férulique, et acide trans-cinnamique et quelques flavonoïdes comme la rutine et l'épicatéchine (Benkherara *et al.*, 2021).

I.3.4.2. Alcaloïdes

Plusieurs types d'alcaloïdes ont été identifiés dans les espèces d'*Haloxylon* qui sont classées en sept différents groupes y compris les alcaloïdes quaternaires aliphatiques, alcaloïdes de pyridine, alcaloïdes d'indole, alcaloïdes d'isoquinoléine, alcaloïdes d'isoquinolone, alcaloïdes de β-carolines et alcaloïdes de phényléthylamine (Lamchouri *et al.*, 2012).

Huit alcaloïdes essentiellement des iso-quinoléines et des dérivés de β-carboline et ont été rapportés dans les parties aériennes de la plante *H. articulatum*. En outre, La carnégine et la N-méthylisosaloline ont été rapportés en tant qu'alcaloïdes majeurs du groupe des tétrahydroisoquinoléine en plus de l'isosaloline, de la salsolidine, de la déhydrosalsolidine, de l'isosalolidine, de la N-méthylcorydaldine, de la tryptamine et de la N-méthyltryptamine comme alcaloïdes mineurs (El-Shazly and Wink, 2003).

I.3.5. Utilisations traditionnelles et effets biologiques de la plante

La présence de divers composés bioactifs dans les espèces de *Haloxylon* fait d'elles un potentiel remède de plusieurs maladies. En effet de nombreuses applications médicales de ces plantes ont été rapportées dans la littérature comme pur traiter les troubles gastriques, les ulcères, les vomissements (**Peerzada et al., 2020**).

La plante *H. articulatum* a été largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de certaines maladies. Les feuilles, les rameaux, les fleurs sous forme de décoctions, macérations, cataplasmes, ou pommade ont été employer pour traiter l'indigestion, les morsures des scorpions, des maladies de la peau, et les maux du dos (**Lakhdari et al., 2016**). Diverses d'autres utilisations ont été aussi rapportées comme un remède contre l'hypertension.

Les effets biologiques des plantes ont été déterminés par des tests *in vivo* ou *in vitro* en vue de confirmer leur traditionnelle utilisation ou pour étudier la possibilité d'une utilisation médicale ou alimentaire. Les activités anti-inflammatoire, antioxydante, antinociceptive, anticancer (**Peerzada et al., 2020 ; Haida et al., 2020**), antimicrobienne (**Mengal et al., 2019**) et beaucoup d'autres effets ont été rapportées dans les espèces d'*Haloxylon*. Ci-après un (**Tableau 1**) résumant un certain nombre d'activités biologiques des différentes parties et différents solvants de l'espèce *H. articulatum*.

Tableau 1 : Effets biologiques d'*H. articulatum*.

	Extrait	Effet biologique	Référence
Feuilles	Méthanol 80 %	1. Antioxydante DPPH Capacité antioxydante totale (méthode au phospho-molybdène) 2. Antibactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus cereus</i>	Tamma et al., 2017
Bourgeons	Ethanol 50 %	1. Antioxydante DPPH Blanchiment du β -carotène Pouvoir réducteur Piégeage de l'anion superoxyde 2. Antibactérienne <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> (ATCC 4157) <i>Salmonella enterica subsp. Arizonae</i> 3. Anti-aging activity Inhibition de la tyrosine	Jdey et al., 2017
Parties aériennes	Méthanol et Eau	1. Antidiabétique Inhibition de l'alpha-amylase	Benkherara et al., 2021
Parties aériennes	Décoction dans l'eau, extraction utilisant le Soxhlet avec différents solvants : éther de Pétrôle, chloroforme, acétate d'éthyle, et méthanol	Activité antimicrobienne Bactéries : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus xylosum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Branhamella catarrhalis</i> Champignon : <i>Candida albicans</i>	Lamchouri et al., 2012

Chapitre II : Polyphénols

II.1. Généralités sur les métabolites secondaires

Les plantes synthétisent un grand nombre de composés qui interviennent dans les processus physiologiques de la plante et son interaction avec son milieu environnemental. Il existe deux classes de métabolites : les métabolites primaires qui se répartissent en quatre grandes catégories, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Florent, 2016**), les métabolites secondaires qui n'interviennent pas directement dans le développement et la croissance des plantes mais jouent un rôle primordial dans les interactions avec le milieu externe et assurent donc des fonctions comme la défense, la pollinisation, la coloration, l'adaptation aux conditions du milieu, etc. . Le nombre de ces molécules est très important due à la diversité de leur structure (plus de 200 000 structures définies). La distribution dans les organismes végétaux est limitée et varie selon leur rôle. Cette répartition varie d'une plante à l'autre. Ces molécules constituent un grand intérêt en thérapeutique humaine pour la grande variété des effets pharmacologiques qu'elles peuvent exercer en tant que vasculo-protecteurs anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antioxydants et anti-radicaux libres (**Macheix, Fleuriet et Jay-Allemand, 2005**). Par conséquent, les métabolites secondaires dérivant des plantes ont fait l'objet de nombreuses études à cause de leurs intérêts dans l'industrie alimentaire, cosmétique, et pharmaceutique (**Muanda, 2010**). Les métabolites secondaires regroupés en trois principaux groupes dont les polyphénols, les alcaloïdes, et les terpenoïdes.

II.2. Généralités sur les polyphénols

Les composés phénoliques sont un groupe de composés phytochimiques présents dans la plupart des tissus végétaux, y compris les fruits et les légumes issus du métabolisme secondaire. Bien qu'ils ne soient pas des nutriments et n'intervenant pas à l'apport alimentaire, les polyphénols possèdent de nombreuses propriétés bioactives avec des effets protecteurs sur la santé (**De la Rosa et al., 2019**). De point de vue structure, tous les polyphénols ont au moins un groupe hydroxyle lié à un cycle aromatique dans la molécule et ils sont biosynthétisés dans les plantes principalement par les voies shikimate et acétate (**Harborne, 1989**). En général, outre leur capacité à colorer les plantes, les polyphénols ont différentes fonctions chez les plantes comme la défense contre les radiations UV, contre les insectes, les bactéries et les champignons (**Harborne, 1994; Di Ferdinando et al., 2013**). De plus, une grande partie des propriétés comme la saveur et le goût des aliments et des boissons sont associés à la présence de polyphénols (**Bravo, 1998**).

II.2.2. Classification

Généralement, les polyphénols sont divisés en deux principaux groupes, les polyphénols de bas poids moléculaire comprenant les phénols simples et les flavonoïdes, et les polyphénols de poids moléculaire plus élevé représentés par les tanins (Uthurry *et al.*, 2011). Les différentes classes de polyphénols sont présentées dans (Tableau 2) selon le nombre de carbones qui les composent.

Tableau 2: Classes principales des composés phénoliques.

Squelette carboné	Classe
C6	Phénols simples
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamique, coumarines
C6-C2-C6	Stilbènes
C6-C3-C6	Flavonoïdes
(C6-C3) ₂	Lignanes
(C6-C3) _n	Lignines
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés

II.2.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques simples largement répandus dans les végétaux contenant un groupement carboxyle dans leur structure. Si le groupe fonctionnel acide carboxylique est directement lié au cycle phénol, le composé phénolique est appelé acide hydroxy-benzoïque. Lorsque le groupe fonctionnel acide carboxylique et le cycle phénol sont séparés par deux carbones à double liaison (une liaison C = C), les composés phénoliques sont appelés acides hydroxy-cinnamiques (Figure 2) (Mamari, 2021).

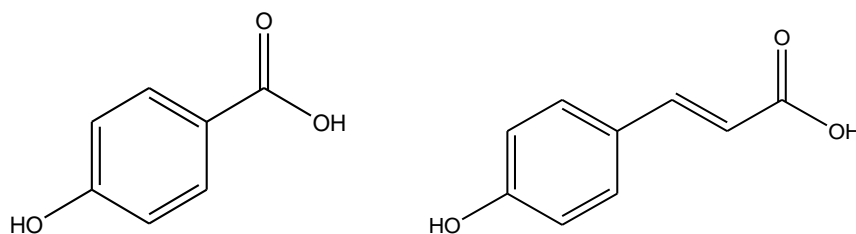


Figure 2: Structure de l'acide hydroxy-benzoïque et de l'acide hydroxy-cinnamique (Mamari, 2021).

II.2.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe très importante de métabolites secondaires des plantes (**Ghorab and Bouhedjar, 2017**), Les flavonoïdes ont la capacité de protéger les plantes des attaques environnementales comme les bactéries, les virus et les radiations UV. Les flavonoïdes sont caractérisés par la présence d'un cycle benzoïque (A) attaché un autre cycle (B) par un pont formant un pseudocycle (C) (**Figure 3**). Ils sont divisés en plusieurs classes qui incluent les flavones, les flavanones, les flavonols, les isoflavones, les anthocyanes, les chalcones et les aurones (**Heim et al., 2002**). Ils ont des propriétés biologiques différentes : antioxydante, anti-inflammatoire, antithrombotique, antibactérienne, anti-hépatotoxique, antitumorale, antihypertensive, antivirale et antiallergique (**Andersson et al., 1996**).

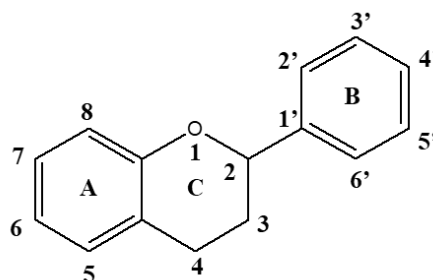


Figure 3: Structure de base des flavonoïdes (**Heim et al., 2002**).

II.2.2.3. Tanins

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles, à propriétés astringentes, que l'on retrouve dans la plupart des plantes supérieures. Le nom « tanin » provient de l'utilisation de cette classe de composés utilisés dans le processus de tannage du cuir (**Pizzi, 2019**), grâce à leur propriété de précipiter les protéines, en s'y liant. Ils forment une vaste famille de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés (**Rira, 2019**). Plusieurs classes de tanins peuvent être distinguées en se basant sur la composition chimique, les tanins hydrolysables et les tanins condensés sont les principaux.

II.2.2.3.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des polymères qui ont une molécule de glucose polyestérifié par des acides gallique et/ou ellagique conduisant ainsi à distinguer les gallo-tanins (tannins galliques) et les ellagi-tanins (tanins ellagiques). Ils contiennent parfois de longues chaînes d'esters d'acide gallique comme leur nom l'indique et ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) en pyrogallol. Ces composés sont caractéristiques des angiospermes dicotylédones et sont majoritairement présents dans les parois et les espaces intracellulaires des cellules (Vercauteren, 2011 ; Rira, 2019).

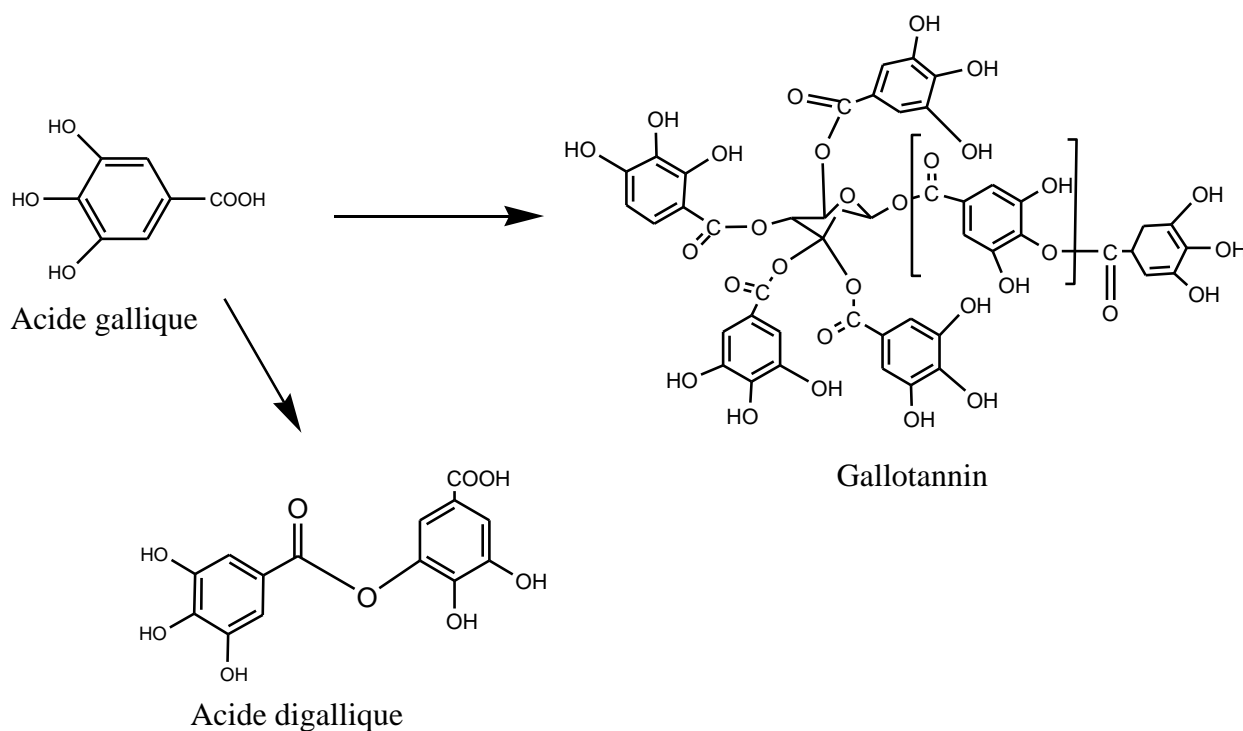


Figure 4: Structure générale des tanins hydrolysables (Grasel *et al.*, 2016).

II.2.2.3.2. Tannins condensés

Tannins condensés, également appelés catéchine ou proanthocyanidines (Smeriglio *et al.*, 2017). Ce sont des polymères flavanoliques, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent C4-C8 ou C4-C6 (Vercauteren, 2011 ; Rira, 2019).

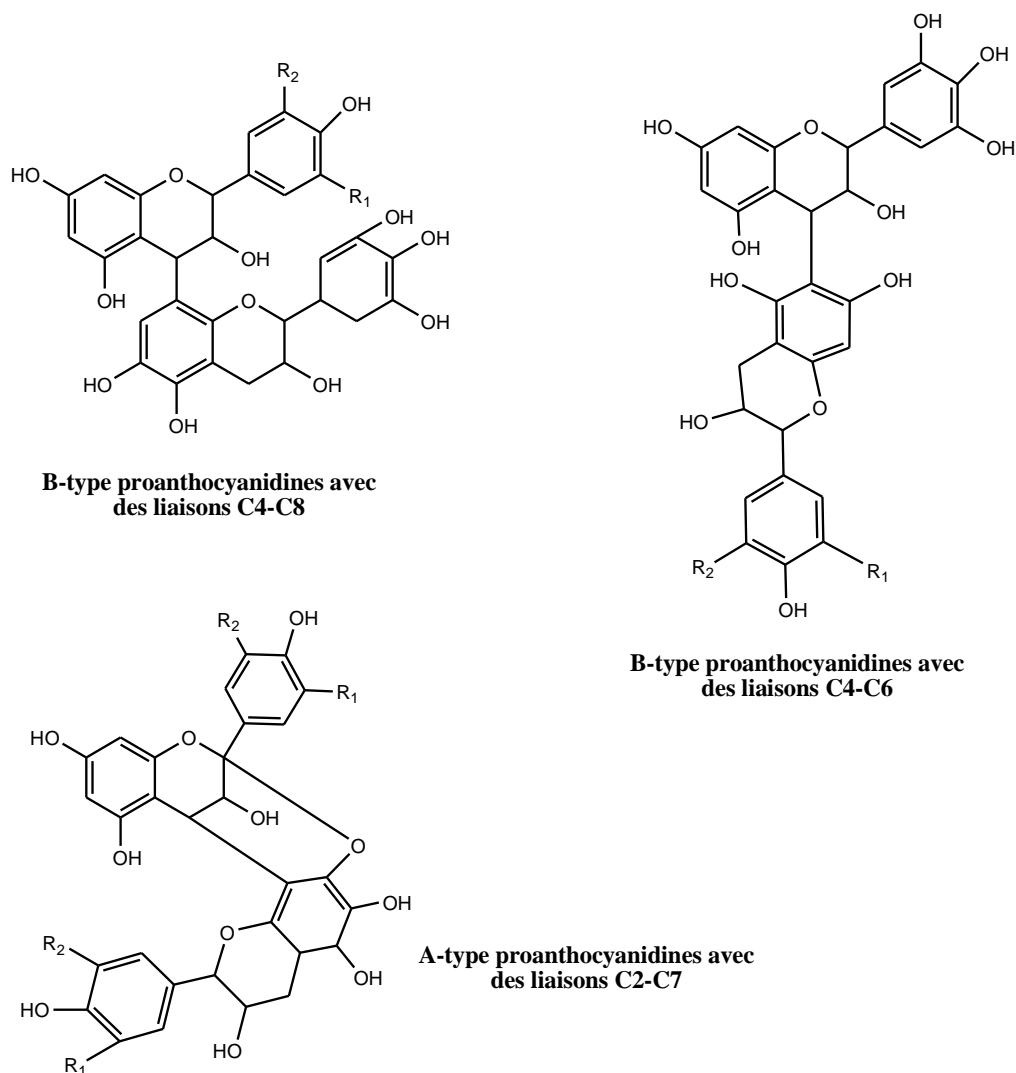


Figure 5: Exemple des différents types de condensations (liaisons) se produisant dans les oligomères et les polymères de tanins condensés (Smeriglio *et al.*, 2017).

II.2.2.3. Stilbènes et lignines

Les stilbènes sont des composés phénoliques naturels présents dans un certain nombre de familles de plantes, notamment les Vitacées, les Diptérocarpacée, les Gnétacée, les Pinacées, les Fabacées, les Poacées, les Fabacées, et les Cypéracées. Ces composés forment une classe avec un nombre de molécules très restreint dont le resvératrol (**Figure 6**) est le plus étudié à cause de ses propriétés thérapeutiques étonnantes essentiellement antiinflammatoires. Plusieurs rôles ont été assignés aux stilbènes au niveau des plantes comme agents antimicrobiens, répulsifs intervenant ainsi dans la protection contre les agressions par les bactéries, les champignons, les nématodes, et les herbivores (Jeandet *et al.*, 2010).

Les lignines sont un groupe de polyphénols synthétisés par la voie phénylalanine/tyrosine qui implique la synthèse au niveau du cytoplasme de monomères (monolignols), leur transport au niveau de l'apoplasme, où ils subissent une polymérisation pour donner des lignines. Les lignines contribuent à la constitution des parois végétales, leur conférant de la rigidité, agissant ainsi comme une barrière contre les attaques des microorganismes pathogènes et des ravageurs. Ces composés sont également impliqués dans la croissance et le développement des plantes et favorisent le transport des minéraux à travers les faisceaux vasculaires des plantes (**Liu et al., 2018**). A part leurs fonctions au niveau des plantes, les lignines exercent un grand nombre d'effets pharmacologiques incluant l'effet antioxydant, antiviral, anticancer, antibactérien, antidiabétique, etc (**Spiridon, 2018**).

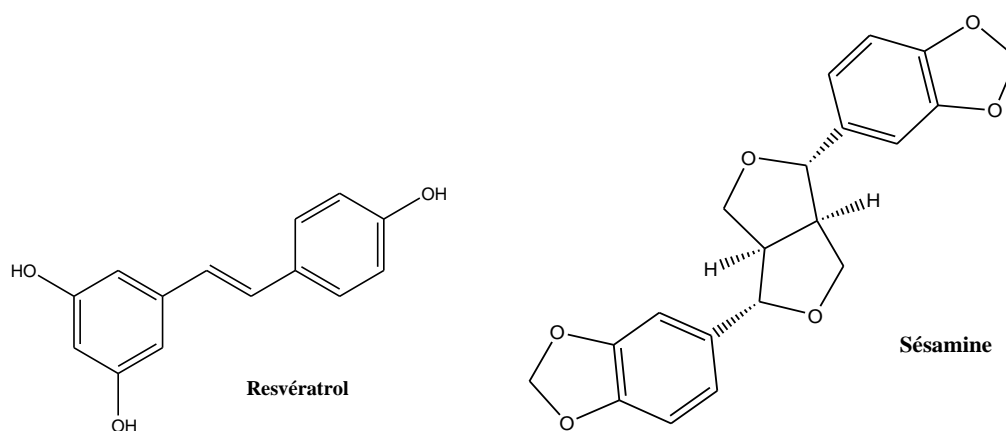


Figure 6: Structure du resvératrol (stilbène) et de la sésamine (un exemple de lignine).

II.2.3. Rôle et effets biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols assurent plusieurs fonctions au niveau des plantes qui les synthétisent en réponse à un stimulus. Dans la plupart des cas, ces composés sont responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines intervenant ainsi dans la pollinisation des plantes par l'attraction des insectes. Ces composés jouent aussi un rôle très important dans la défense contre microorganismes pathogènes et les radiations UV (**Donatien, 2009**). En tant que composés bioactifs, l'ingestion de ces composés via l'alimentation implique leur action sur des cibles précises dans l'organisme induisant un effet biologique dont les plus importants sont résumés dans le (**Tableau 3**). Ainsi ces composés sont très appréciés en tant que agents thérapeutiques, compléments alimentaires, mais aussi comme additives dans l'industrie alimentaire.

Tableau 3: Propriétés biologiques des principaux composés phénoliques.

	Actions pharmacologiques	References
Flavonols		
Quercetine Kaempferol Myricetine Rutine	Propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancer, cardioprotectrices, et photoprotective,	Wollenweber, 2017
Flavones		
Apigénine Luteoline Acacétine Diosmétine	Diminuer la pression sanguine, effets anti-obésité, antioxydants, prévenir des maladies cardiovasculaires, exercent des actions anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antivirales, et anticancer	Nichols and Katiyar, 2010 Barreca et al., 2020
Flavanols (or catechins)		
Catéchine Epicatéchine Gallocatéchine, Epigallocatéchine	Agents antihypertensifs, anticancer, antioxydants, antibactériens,	Babazadeh et al., 2016
Anthocyanidines/anthocyanines		
Pelargonidine Delphinidine Cyanidine	Effet Antioxydants, antitumoral, anti-athérosclérose, inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines	Kähkönen and Heinonen, 2003 Yousuf et al., 2016 ; Cortez et al., 2017
Acides hydroxybenzoïques		
Acide gallique Acide protocatéchuique Acide p-hydroxybenzoïque	Des propriétés antioxydantes, antiinflammatoires, et antimicrobiennes, absorption des rayons UV,	Manach et al., 2004
Acides hydroxycinnamic		
Acide caféique Acide coumarique Acide férulique,		
Tannins condensés	Inhibiteurs d'enzymes (tyrosinase, α -amylase), anticancéreux, anti-inflammatoires, cardioprotecteurs	Chai et al., 2018
Tannins hydrolysables	Anti-inflammatoires, anticancéreux et antioxydants,	Smeriglio et al., 2017,
Stilbenes		
Resvératrol Ptérostilbene Thunalbene	Antioxydants, anti-inflammatoires, antidiabétiques,	Frémont, 2000 Penalva et al., 2015 Peñalva et al., 2018
Lignanes		
Lariciresinol Secoisolariciresinol Matairesinol Sésamine	Antioxydants, antibactériens, anticancéreux, hépato-protecteurs, cytotoxiques, anti-inflammatoires	Adlercreutz, 2007 Godoy de Lima et al., 2018

Chapitre III : Méthodes d'extraction

III.1. Introduction

L'extraction est considérée comme la première étape pour séparer les composés bioactifs souhaités de la matière première et qui peut être traité par différentes méthodes et diverses techniques. L'extraction alors peut être décrite comme étant un phénomène de transfert de masse où les solides solubles, contenus dans les structures végétales, migrent dans le solvant jusqu'à l'équilibre (**Rivera, 2006 ; Loum, et al, 2021 ; Hidayat et Wulandari.,2021**).

L'extraction pourrait être de type liquide-liquide qui consiste à extraire un composé dissous dans une phase liquide par une deuxième phase liquide non miscible avec la première ou le plus souvent l'extraction est de type solide-liquide qui est la technique la plus courante et commune pour la récupération et l'isolement de composés bioactifs présents dans un solide dans un liquide (extraction par solvant) (**Grigoraş, 2012; Herzi, 2013**).

III.2. Techniques d'extraction

Il existe plusieurs techniques permettant d'extraire les produits à haute valeur présents dans les végétaux. Ces techniques peuvent être dites 'traditionnelles' (utilisées depuis longtemps) et 'nouvelles' (récemment développées) (**luque et Garcia, 1998**).

Diverses techniques telles que la macération, la décoction, la percolation, l'infusion, le Soxhlet ont été utilisées pour isoler les composés d'intérêt des plantes, mais aucune d'entre elles ne peut être considérée comme une méthode optimale (**Grigonis et al., 2005**). Les techniques traditionnelles d'extraction de substances naturelles à partir des plantes nécessitent généralement une longue durée de traitement, l'utilisation de solvants organiques inflammables, toxiques et/ou explosifs, et la forte consommation d'énergie (**Gélébart et al.,2016**) se caractérise par de faibles rendements et peut provoquer la dégradation thermique des composés thermosensibles (**Proestos et Komaitis, 2008**). Ainsi que nécessitent d'importantes adaptations afin de réduire les risques pour la santé, la sécurité et l'environnement (**Herzi, 2013**).

Récemment, plusieurs nouvelles méthodes ont été développées afin d'augmenter le rendement d'extraction et de limiter l'utilisation des solvants organiques qui ont un impact nocif sur l'environnement. Ces techniques incluant l'utilisation des microondes, des ultrasons, des enzymes, un champ électrique, une haute pression, etc. visent à provoquer la perturbation des parois cellulaires conduisant à augmenter le taux de transfert à travers la membrane cellulaire et récupérer le maximum de constituants.

III.2.1. Macération

L'extraction conventionnelle par solvant ou bien l'extraction directe est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des composés phénoliques. Parmi ce type d'extraction la macération qui consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide et on laisse reposer à la température ambiante pendant une période pour extraire les constituants solubles dans ce liquide comme montré dans la (Figure 7) (Benabdallah, 2016). Les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède dans une durée limitée de quelques heures (10 ou 12 heures) pour éviter le risque d'oxydation et de fermentation du liquide ou de contamination bactérienne (Pierre and Lys, 2007). Ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation rapide des molécules actives. En vue de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et, dans certains cas, maintenue dans un réfrigérateur (Ben Amor, 2008). Dans le cas de la macération par l'alcool, le vinaigre, huiles elle peut dépasser plusieurs jours sans aucun risque, par la suite les liquides combinés sont clarifiés par filtration ou décantation après repos. L'avantage de cette méthode est qu'elle peut être utilisée pour l'extraction de composants thermolabiles mais une température plus basse a été appliquée en macération avec des rendements d'extraction quasiment identiques, ce qui peut se traduire par des avantages économiques, Tandis que les inconvénients sont un temps d'extraction long et d'une faible efficacité d'extraction (Loum *et al*, 2021) .

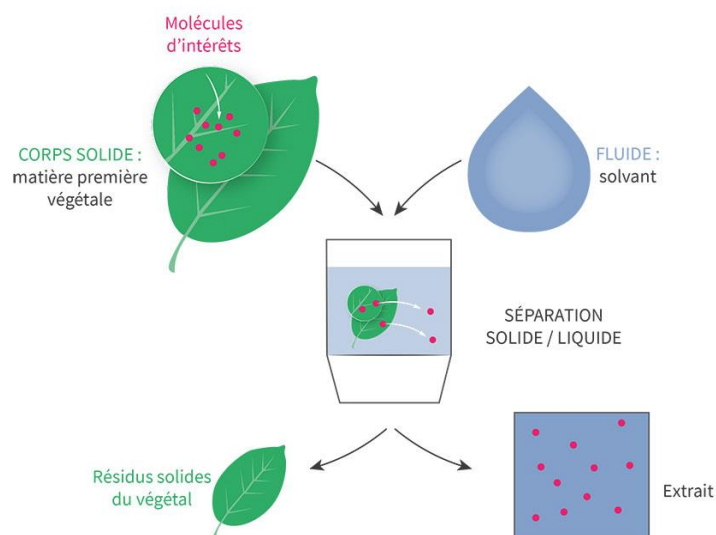


Figure 7: Principe de l'extraction par macération (Sadou, 2019).

III.2.2. Extraction assistée par ultrasons

Les ultrasons sont considérés comme une énergie polyvalente qui est utilisée avec succès dans des domaines. L'ultrason est une forme d'énergie ou des ondes mécaniques associées au son à des fréquences supérieures à celles détectées par l'oreille humaine (20 Hz to 20 kHz) (**Kumar *et al.*, 2021**). Les ultrasons ont beaucoup d'autres applications industrielles comme l'extraction de divers composés de différents intérêts, l'homogénéisation, la dispersion, etc. l'émulsification, la cristallisation, le dégazage, le démoussage, le nettoyage, etc.

L'extraction par ultrasons est une technique utilisée pour l'extraction des composés naturels. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en un court temps (quelques minutes) avec une grande reproductibilité (**Chemat *et al.*, 2011**). Les ultrasons perturbent les structures de la paroi cellulaire, induisant ainsi la lyse cellulaire et accélérant la diffusion moléculaire à travers les membranes et brisant les membranes cellulaires (**Bourgou *et al.*, 2016**).

Les ultrasons sont appliqués utilisant les plus souvent deux systèmes : un bain à ultrasons ou une probe à ultrasons (**Figure 8**). Le principe de l'extraction assistée par ultrasons implique la formation des cavitations acoustiques dont l'effondrement conduit aux différents phénomènes incluant tels que la fragmentation, l'érosion localisée, la formation de pores, la force de cisaillement, l'augmentation de l'absorption et de l'indice de gonflement dans la matrice cellulaire de la plante. La collision intermoléculaire entraîne une fragmentation des particules permettant une meilleure solubilisation des composés due à la diminution de leur taille particulaire. La sonoportation est également un autre phénomène résultant de l'effondrement des cavitations à la surface des cellules conduisant à l'augmentation du taux de transfert avec le solvant d'extraction comme montré dans la (**Figure 9**) (**Kumar *et al.*, 2021 ; Picó, 2013**).

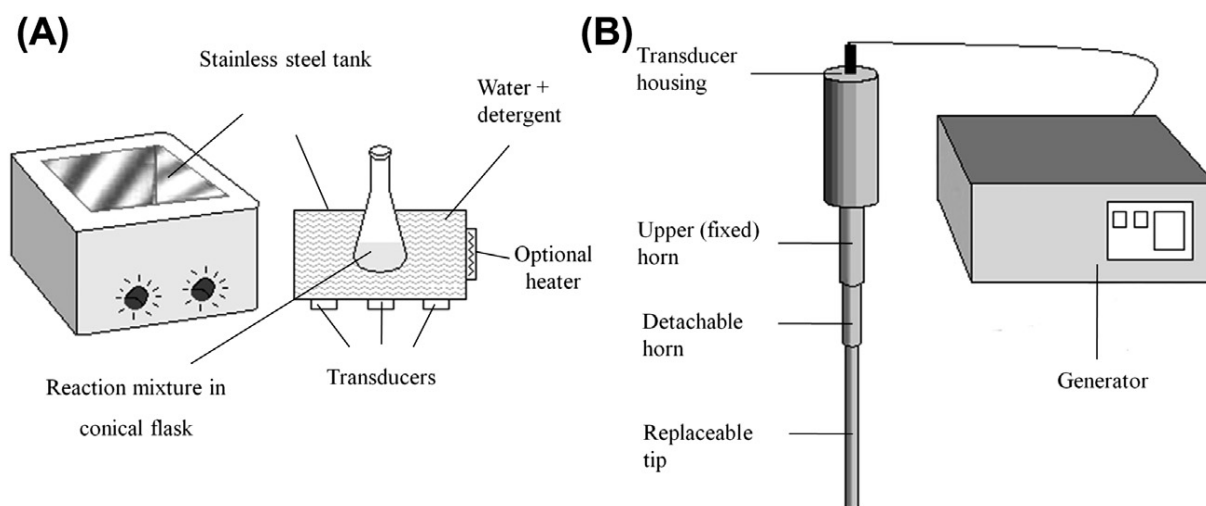


Figure 8: Différents systèmes ultrason utilisés au niveau du laboratoire pour divers applications : bain à ultrasons (A) et une sonde ultrasons (B) (Lavilla and Bendicho, 2017).

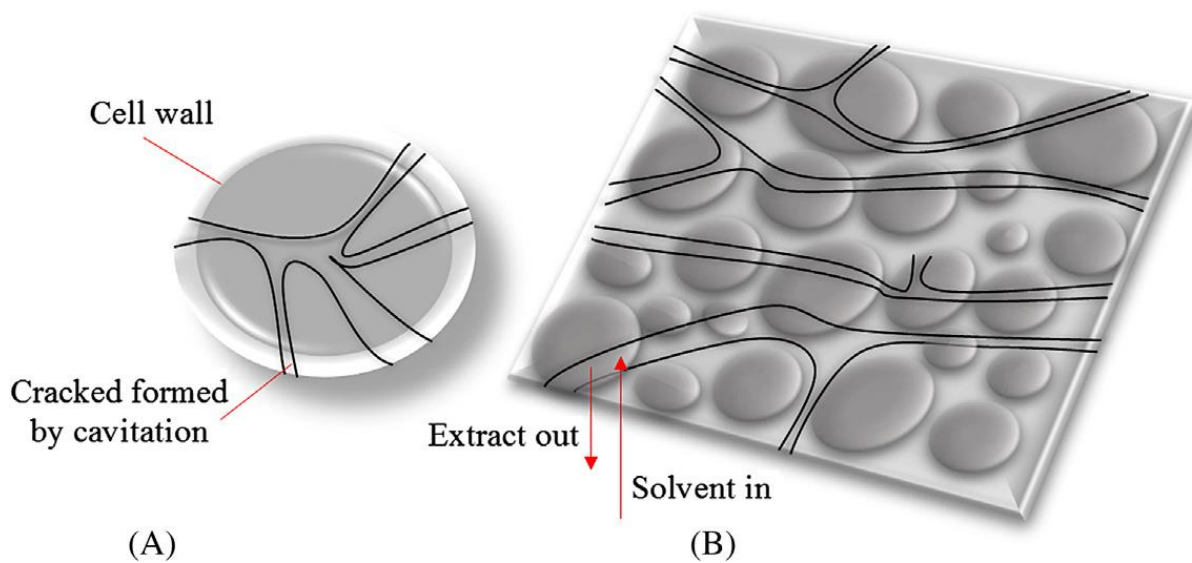


Figure 9: Perturbation de la membrane cellulaire lors de la formation et l'effondrement des cavitations sonores à la surface des membranes (Rutkowska *et al.*, 2017).

2. Partie Expérimentale

Chapitre I: Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal

La plante *Haloxylon articulatum* a été récoltée le mois de mars 2021 au niveau de la commune de Hamraïa wilaya d'El Oued (sud Algérien) caractérisée par une salinité élevée. Les échantillons sont bien nettoyés puis séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière puis broyés en fine poudre.

I.2. Matériel, enzymes, et produits chimiques

I.2.1. Equipements

- Balance analytique « OHAUS™ ».
- Ultrasonicateur « VIBRA CELL™ ».
- Plaque agitatrice multipostes « VELP SCIENTIFICA™ ».
- Centrifugeuse « 5804 R Eppendorf et MIKRP 220R HETTICH ».
- pH-metre « METTLER TOLEDO™ ».
- Vortex « ZX3 VELP SCIENTIFICA ».
- Agitateurs chauffants « FISCHER Scientific ISOTEMP™ ».
- Lecteur microplaque (Perkin Elmer)

I.2.2. Produits chimiques et enzymes

Les enzymes ainsi que les différents produits chimiques utilisés pour réaliser le présent travail sont décrits dans le (Tableau 4 et 5).

Tableau 4: Enzymes utilisées pour évaluer la capacité inhibitrice des extraits.

Enzyme	Source	Activity
<i>Alpha-amylase</i>	<i>Aspergillus Oryzae</i>	≥ 150 U/protéine
<i>Uréase</i>	<i>Canavalia ensiformis</i> (Haricot sabre)	≥ 5 U/mg solide
<i>Butyrylcholinesterase</i>	Sérum équine	100 U/mg de protéine

Tableau 5: Produits chimiques utilisés pour la réalisation du travail.

<i>Produit</i>	<i>Formule</i>	<i>Activité</i>	
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	Extraction	
Acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂		
Folin-Ciocalteu	H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ /H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	Dosages	
Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃		
Nitrate d'aluminium	Al (NO ₃) ₃ , 9H ₂ O		
Acétate de potassium	CH ₃ COOK		
1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	Activité antioxydante	
Acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)	C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄		
Ferrocyanure de Potassium	K ₃ Fe(CN) ₆		
Acétate d'ammonium	ACNH ₄		
Chlorure du cuivre	CuCl ₂		
Néocuproïne	C ₁₄ H ₁₂ N ₂		
Butylated hydroxyanisole (BHA)	C ₁₁ H ₁₆ O ₂		
Hydroxytoluène butylé (BHT)	C ₁₅ H ₂₄ O		
Urée	CH ₄ N ₂ O		Activités enzymatiques
Phénol	C ₆ H ₅ OH		
Hypochlorite de Sodium	NaOCL		
Nitroprusside de Sodium	Na ₂ [Fe (CN) ₅ NO]		
Acide 5,50 dithiobis [2-nitrobenzoïque] (DTNB)	C ₁₄ H ₈ N ₂ O ₈ S ₂		
Butyrylthiocholine iodide	(CH ₃) ₃ N(I)CH ₂ CH ₂ SCOCH ₂ CH ₂ CH ₃		
Tiourée	CH ₄ N ₂ S		
Galantamine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃		
Acarbose	C ₂₅ H ₄₃ NO ₁₈		

I.3. Préparation des extraits

La préparation des extraits a été réalisée selon deux méthodes en utilisant deux solvants différents (acétate d'éthyle et l'éthanol). Pour la première méthode 10 g de la poudre est mélangé avec 100 mL de l'éthanol ou l'acétate d'éthyle avec agitation (700 rpm) pendant 1h à température ambiante. La solution est ensuite filtrée à travers le papier wattman. Le processus a été répété trois fois pour extraire le maximum (**Figure 10**).

L'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été réalisée dans un sonicateur. Les paramètres d'extraction ont été définis comme suit : temps 20 min, amplitude 70 %, température 25 °C, temps de marche 15 s et temps d'arrêt 5 s. Dans le cas de l'acétate d'éthyle, 10 g de la poudre ont été mélangés avec 100 mL d'eau distillée puis une sonde à ultrasons a été immergée dans le récipient. La solution obtenue est ensuite mélangée avec 100 mL d'acétate d'éthyle et bien mélangée pendant 15 min. Le mélange est ensuite soumis à centrifugation pendant 20 min 6000 g. La phase acétate d'éthyle (phase supérieure) est récupérée. Cette étape est réalisée trois fois. Dans le cas de l'éthanol, 10 g de poudre sont directement mélangés à 100 mL d'éthanol puis placés dans le sonicateur. La solution obtenue est filtrée sur papier wattman et le résidu est repris dans 100 mL d'éthanol pendant 15 min puis filtré. Cette étape est effectuée deux fois. Après extraction, les solvants sont éliminés au moyen d'un évaporateur rotatif.

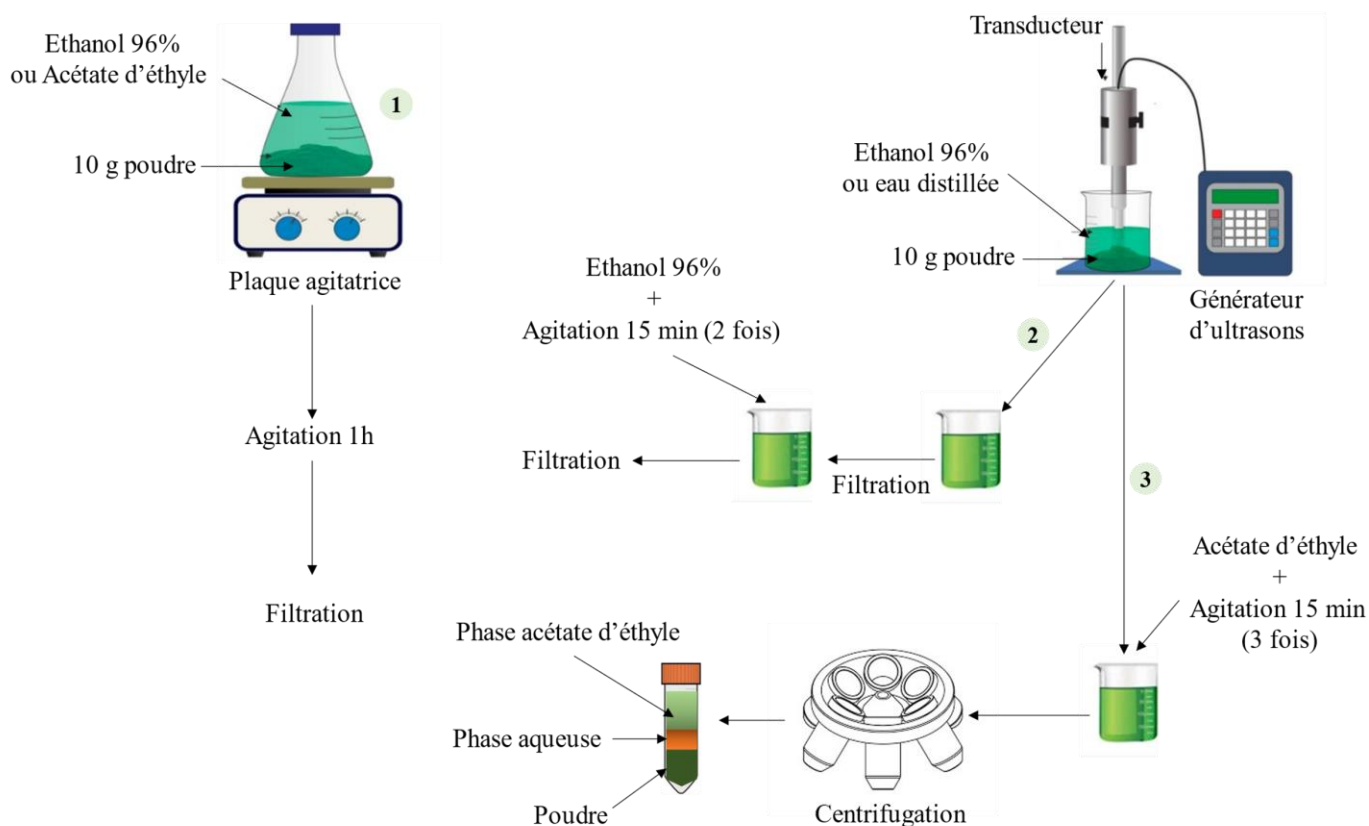


Figure 10: Étapes des deux méthodes utilisées pour préparer les extraits d'*H. articulatum*. (1) : Macération, (2) : extraction assistée par ultrasons avec éthanol 96 % comme solvant, (3) : extraction assistée par ultrasons avec acétate d'éthyle comme solvant.

I.4. Dosage colorimétrique des polyphénols

I.4.1. Dosage des polyphénols totaux

I.4.1.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3W_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). En milieu alcalin les polyphénols vont réduire le réactif de Folin-Ciocalteu donnant un complexe d'oxydes de tungstène ($W_{80}O_{23}$) et de molybdène ($M_{08}O_{23}$) de couleur bleutée proportionnelle à la teneur en polyphénols présents dont le maximum d'absorption se situe aux environs de 750-765nm (**Sango, 2006**).

I.4.1.2. Mode opératoire

La détermination de la teneur en polyphénols totaux a été conduite utilisant la méthode décrite par **Müller et al. (2010)**. Un volume de 20 μ L de chaque extrait (1mg /ml) est mélangé dans une microplaque avec 100 μ L de Folin-Ciocalteu (dilué dans l'eau distillée 1: 9, v/v) et 75 μ L de carbonate de sodium (7,5 %). La réaction est laissée pour 2h dans l'obscurité et à température ambiante puis l'absorbance de la couleur bleue est lue par le moyen d'un lecteur microplaque à 765 nm. A partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**Figure 11**), les teneurs en polyphénols sont déterminées et sont exprimées en μ g équivalent acide gallique par mg d'extrait (μ g EAG/mg).

I.4.2. Dosage des flavonoïdes

I.4.2.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'un complexe jaune stable entre l'aluminium (Al^{3+}) du nitrate d'aluminium avec les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes ce qui permet de les quantifier par spectrophotométrie (**Topçu et al., (2007)**).

I.4.2.2. Protocole

Les flavonoïdes totaux ont été quantifiés dans les extraits d'*Haloxylon articulatum* appliquant la méthode de nitrate d'aluminium (Topçu et al., (2007)). Dans une microplaque de 96 puits 50 µL des extraits sont additionnés de 130 µL de méthanol, 10 µL d'acétate de potassium, et de 10 µL de nitrate d'aluminium. Un blanc extrait a été préparé en parallèle en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 µL extrait + 150 µL méthanol). Après 40 minutes d'incubation et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 415 nm. Les teneurs en flavonoïdes sont rapportés en termes de µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg) calculés à partir de courbe étalon réalisé par la quercétine comme standard (Figure 11).

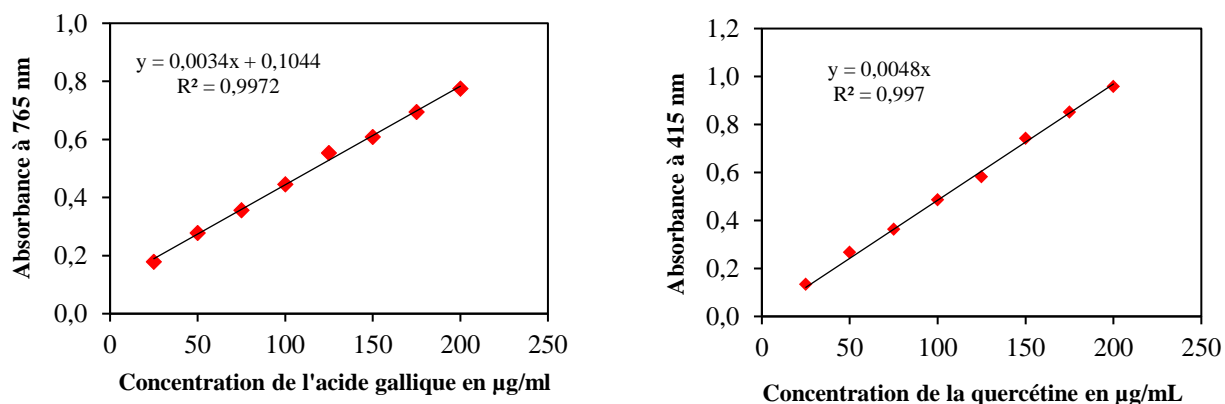


Figure 11: Courbe étalonnage de l'acide gallique et de la quercétine utilisées pour le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes, respectivement.

I.5. Etude des activités biologiques

Les activités biologiques ont été évaluées utilisant des microplaques à 96 puits avec différentes concentrations d'échantillons. A cette fin, une série de 7 dilutions a été effectuée à partir d'une concentration initiale de 4 mg/mL dans le méthanol. Des dilutions au 1/2 ont été ensuite préparées dans des eppendorfs en transférant un volume de 500 µL de chaque concentration dans des eppendorfs contenant 500 µL du méthanol (Figure 12).

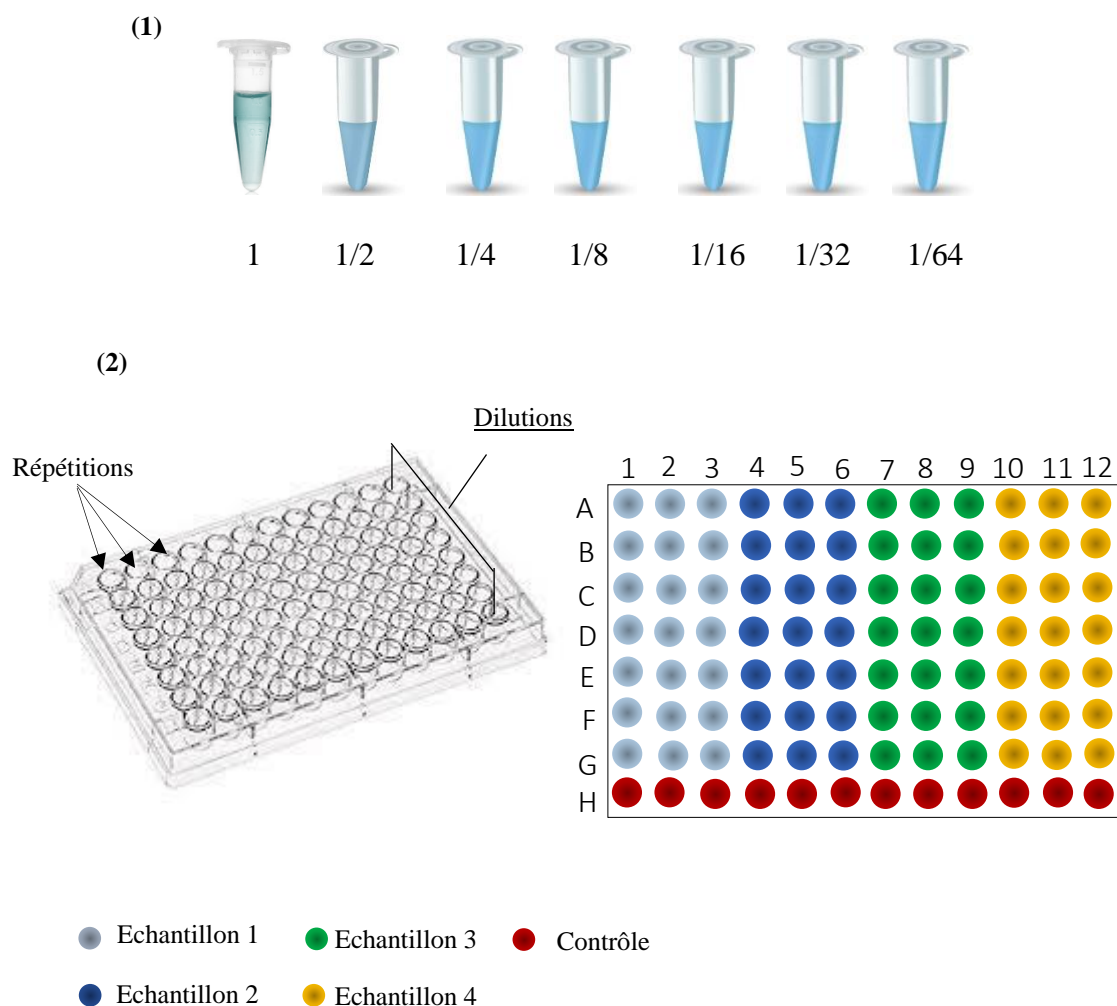


Figure 12: Etapes de préparation des dilutions (1) et du travail sur une microplaque à 96 puits (2).

I.5.1. Evaluation d'activité antioxydante

I.5.1.1. Piégeage du radical DPPH

I.5.1.1.1. Principe

En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène ou d'électrons (AH), la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH (forme radicalaire) de couleur violette et avec un maximum d'absorbance à 517 nm, aura lieu pour former la forme réduite DPPH-H (non radicalaire) entraîne une transition de couleur violette en couleur jaune (**Figure13**). L'absorbance de couleur violette résiduelle après la réduction a donc été mesuré à 517nm. La vitesse de virage de la couleur est proportionnelle à la force du donneur d'hydrogène indiquant le pouvoir antioxydant de ce dernier (**Belmokhtar et Harche, 2014**).

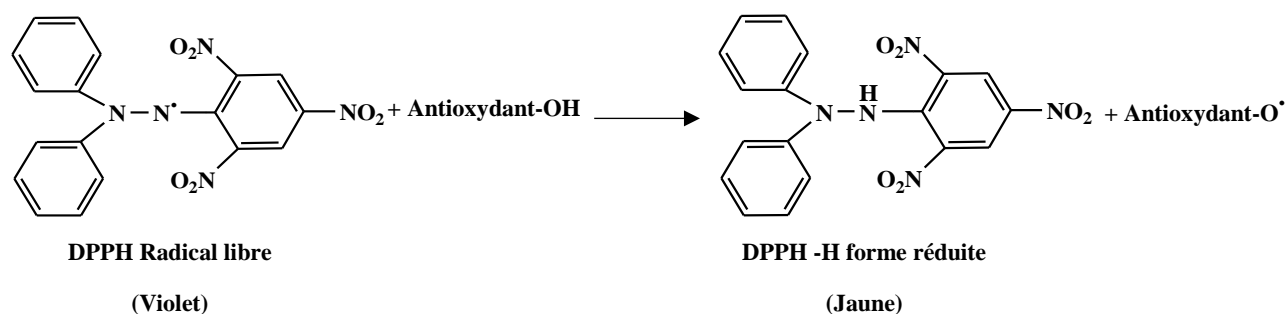


Figure 13: Mécanisme réactionnel intervenant lors de la réduction du radical DPPH
 (Djahra, 2014).

I.5.1.1. 2. Protocole

La mesure de l'activité anti-radicalaire utilisant le DPPH comme radical a été évaluée selon la méthode de **Blois (1985)**. La méthode consiste à ajouter 160 μL de solution DPPH (1mM, préparé dans le méthanol) à un volume de 40 μL de chaque concentration des échantillons préalablement distribuées dans une microplaque à 96 puits. En parallèle, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 40 μL du méthanol avec 160 μL de solution DPPH. La mesure de l'absorbance à 517 nm après une demi-heure d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante a été réalisée avec un lecteur microplaque. Le pouvoir antioxydant de nos échantillons a été exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle} \times 100 \quad (1)$$

Où :

A échantillon : Absorbance de l'échantillon.

A contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

La concentration inhibitrice à 50 % (CI_{50}) a été déterminée à partir de l'équation de la courbe de régression obtenue par les pourcentages d'inhibition à différentes concentrations.

I.5.1.2. Activité antiradicalaire de l'ABTS

I.5.1.2.1. Principe

L'activité antiradicalaire contre le radical ABTS est basée sur la réduction de la solution du cation $ABTS^{+\bullet}$ radical libre de couleur bleue en solution contenant l'ABTS non-radicalaire (réduite) sans couleur.

I.5.1.2.2. Protocol

La mesure de la capacité des extraits de *H. articulatum* à réduire l'ABTS^{•+} a été effectuée selon la méthode de **(Re et al., 1999)**. La solution de l'ABTS radicalaire (ABTS^{•+}) est préparée au préalable en faisant réagir 2mM de l'ABTS avec 2,45mM de persulfate de sodium (v : v) pendant 16 h à l'obscurité et à température ambiante. Une solution concentrée est obtenue à partir de laquelle une solution diluée avec une absorbance de 0.7 à 734 nm est préparée. Par la suite, dans une microplaque 96 puits, 40 µL de chaque extrait a diverses concentrations ont été déposés auxquels on ajoute 160 µL de la solution de ABTS^{•+}. Une incubation de 10min à l'obscurité et à la température ambiante est réalisée suivie par la lecture de l'absorbance à 734 nm. Utilisant l'équation (1) précédente, les pourcentages d'inhibition ont été calculés.

I.5.1.3. Pouvoir réducteur

I.5.1.3.1. Principe

La capacité réductrice des ions du fer consiste à réduire le fer ferrique dans le complexe ferrocyanure ($\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$) en fer ferreux ($\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$) avec le développement d'une couleur bleue-verte avec une longueur d'onde d'absorption maximale de 700 nm **(Hsu et al., 2006)**.

I.5.1.3.2. Méthode

La méthode rapportée par **Bijoy et al. (2008)** est utilisée dans le but est la détection la présence du pouvoir réducteur et sa capacité réductrice. Le protocole consiste à faire réagir 10 µL de chaque extrait a différentes concentrations avec 40 µL du tampon de phosphate (0,2 M, pH 6,6), et 50 µL d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. La plaque est ensuite incubée pour 20 min à 50 °C. Par la suite, 50 µL de l'acide trichloracétique (10%), 40 µL d'eau distillée, et 10 µL d'une solution FeCl_3 (0,1%) ont été ajoutés et la lecture de l'absorbance à 700nm est prise après une agitation rigoureuse de la plaque. La capacité réductrice des ions du fer des échantillons est exprimée en termes d'absorbances. La courbe de régression tracée par les absorbances des différentes concentrations nous a permis à déterminer la concentration donnant une absorbance 0,5 ($A_{0.5}$).

I.5.1.4. Test CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity)

I.5.1.4.1. Principe

Le test CUPRAC un complexe néocuproïne-cuivre se forme entre la néocuproïne et les ions cuivre (Cu^{2+}) provenant du chlorure de cuivre. La présence d'un antioxydant aboutit à la réduction de Cu^{2+} du complexe en Cu^+ ainsi qu'un développement d'une couleur jaune-orange, avec un maximum d'absorbance à longueur d'onde de 450 nm (**Figure 14**). Plus la couleur est intense plus l'antioxydant est considéré fort (**Apak et al., 2004**).

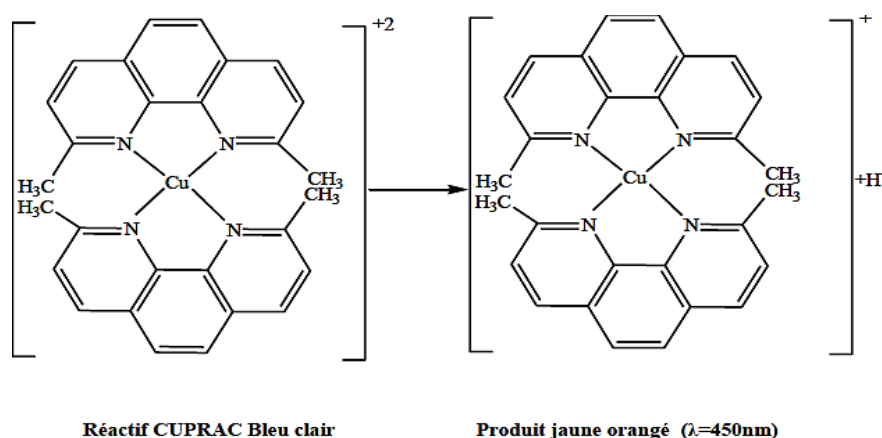


Figure 14: Réaction du CUPRAC (**Ghorab, 2017**).

I.5.1.4.2. Protocole

La méthode décrite par **El Annachi et al. (2020)** a été appliquée pour réaliser le test CUPRAC. Un volume de 40 μL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 60 μL d'acétate d'ammonium (1 M), 50 μL de néocuproïne (7,5 mM), et 50 μL de chlorure de cuivre (10 mM), l'ensemble est incubé pendant 1h du temps et l'absorbance est lue à 450nm. Les résultats sont exprimés en termes d'absorbances. La valeur $A_{0.5}$ est déterminée utilisant l'équation de la courbe de régression obtenue par les absorbances à différentes concentrations.

I.5.2 Inhibition des enzymes

I.5.2.1. Inhibition de l' α -amylase

I.5.2.1.2. Principe

L'alpha-amylase est une enzyme qui décompose l'amidon en composés moins complexes ne pouvant pas réagir avec l'iode. L'inhibition de l'alpha-amylase par un inhibiteur entraîne l'accumulation de l'amidon, qui par la suite réagit avec l'iode pour former un complexe bleu-noir dont l'absorbance a été mesurée à 630 nm (Yang *et al.*, 2012).

I.5.2.1.2. Mode opératoire

La méthode de Zengin *et al.* (2014) a été utilisée pour déterminer l'activité inhibitrice de l' α -amylase. Dans une microplaque, un mélange de 25 μ L de chaque extrait à différentes concentrations avec 50 μ L de l' α -amylase (1 U/ml dans le tampon phosphate, 100 mM, pH, 6,9, 6 mM NaCl) a été effectué. Le mélange est laissé pour 10 min à 37 °C dans une étuve puis 50 μ L d'une solution aqueuse de l'amidon (0.1%) ont été ajoutés suivie par une deuxième incubation pendant 10 min à 37 °C. Un volume de 25 μ L HCl (1M) qui a pour rôle de stopper la réaction et 100 μ L IKI utilisé comme révélateur de l'amidon ont été additionnés. La lecture à 630 nm a été effectuée contre un contrôle négatif contenant tous les réactifs sauf les extraits. Un autre blanc consistant en l'amidon, HCl, et IKI est aussi préparé. En parallèle, un blanc extrait qui ne contient pas pas la solution enzymatique est performé pour les différentes concentrations de chaque extrait. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [1 - ((A_s - A_c) / (A_b - A_e))] * 100$$

A_s=Absorbance de la réaction contenant tous les réactifs y compris l'inhibiteur

A_c=Absorbance des blancs extrait (tous les réactifs sans la solution enzymatique)

A_b=Absorbance de la réaction maximale entre l'amidon et l'iode (Amidon + IKI+ HCl)

A_e=Absorbance du contrôle positif sans inhibiteur (tous les réactifs sans extrait)

I.5.2.2. Inhibition de l'uréase

I.5.2.2.1. Principe

La méthode de la mesure de l'effet inhibiteur de l'uréase est basée sur de la dégradation d'urée en ammoniac dont la révélation et la quantification est effectuée par le phénol-hypochlorite dans un milieu alcalin (Nabati *et al.*, 2012).

I.5.2.2.2. Mode opératoire

La méthode décrite par Taha *et al.* (2018) avec quelques modifications a été appliquée pour évaluer la capacité des extraits de *Haloxylon articulatum* à inhiber l'uréase. Un volume de 10 µL des extraits à différentes concentrations (3.125- 200 µg/mL) a été mis en contact avec 25 µL de l'uréase (1 mg/mL dans le tampon phosphate 100 mM, pH 8,2) et la réaction est initiée par l'ajout de 50 µL urée (30 mM). Une incubation de 15 min à 37 °C est réalisée suivie par l'ajout de 45 µL du réactif phénol (1 g phénol et 12,5 mg nitroprusside de sodium dans 50 mL d'eau distillée) et 70 µL du réactif basique (0,356 g NaOH et 0,5875 mL d'hypochlorite dans 50 mL eau distillée). L'absorbance de la couleur bleue résultante est lue à 630 nm.

Les pourcentages d'inhibition de l'uréase sont calculés par la formule :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_c - A_E) / A_c * 100 \quad (2)$$

Où

Ac : est l'absorbance du contrôle négatif (sans extrait)

AE : est l'absorbance de la réaction en présence de l'extrait.

I.5.2.3. Inhibition de la butyrylcholinestérase

I.5.2.3.1. Principe

L'inhibition de la butyrylcholinestérase (BChE) est basée sur le clivage de la butyrylthiocholine (substrat) par l'enzyme, produisant la thiocholine, qui va à son tour réagir par son groupe thiol -SH- avec l'acide 5,5'-dithiobis [2-nitrobenzoïque] (DTNB) formant un complexe jaune dont le maximum d'absorbance est de 415 nm (Ellman *et al.*, 1961) (Figure 15).

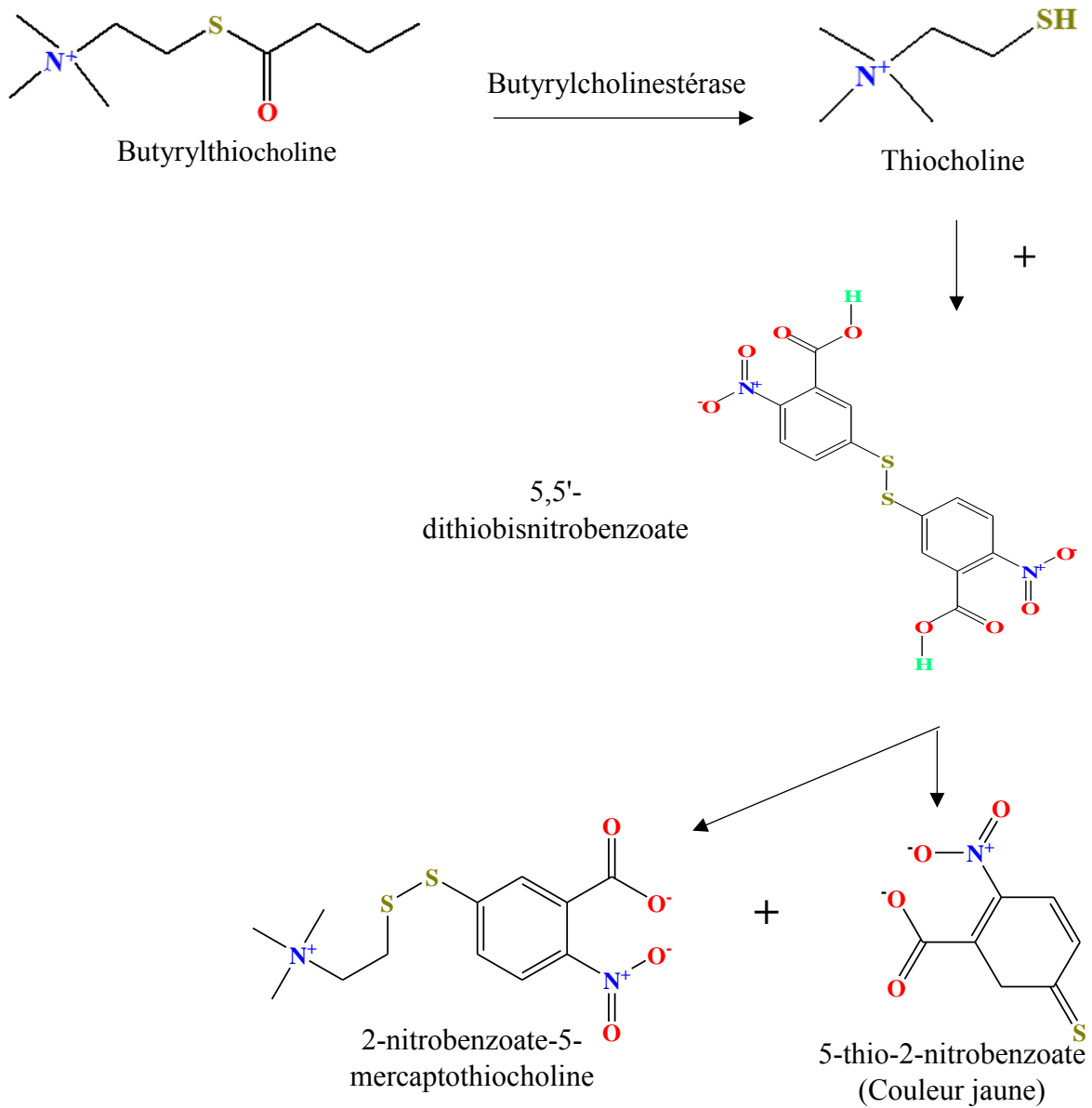


Figure 15: Principe de la méthode d'Ellman utilisant la butyrylcholinestérase comme enzyme et la butyrylthiocholine comme substrat.

I.5.2.3.2. Méthode

Dans une microplaque à 96-puits un volume de 150 μL de tampon phosphate de sodium (100 mM, pH 8.0) sont déposés auquel 10 μL d'extrait à différentes concentrations et 20 μL de la solution enzymatique (6.85×10^{-3} U) sont ajoutés. L'ensemble est ensuite incubé pendant 15 min à 25°C. La réaction est initiée par l'addition de 10 μL de DTNB (0.5 mM) et de 10 μL de la butyrylthiocholine (0.2 mM). L'intensité de couleur jaune du complexe thiocholine-DTNB est déterminée par spectrophotométrie à 415 nm à $t=0$ et $t=15$ min. En utilisant comme composé de référence la galantamine. Les résultats sont rapportés en termes de pourcentage d'inhibition calculés à l'aide de la formule (2).

I.6. Analyse par spectroscopie à transformée de Fourier (IRTF OU FTIR)

La spectroscopie à transformée de Fourier est une méthode qualitative permettant d'identifier les principaux groupes fonctionnels dans un échantillon. La transformée de Fourier est basée sur le fait que chaque fonction peut être décomposée en une somme de fonctions sinusoïdales, chaque fonction sinusoïdale étant définie par deux valeurs : sa fréquence (longueur d'ondes) et son amplitude (intensité).

L'analyse FTIR des différents échantillons a été effectuée sur un spectromètre à transformée de Fourier (INVENIO-R (329)) avec un nombre de scan 30. Le spectre a été pris dans l'intervalle entre 4000 et 200 cm^{-1} .

I.7. Analyse statistique

Toutes les mesures ont été effectuées en trois répétitions et les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm écart type. L'analyse de variance ANOVA a été conduite pour déterminer les différences entre les teneurs en polyphénols et les valeurs CI_{50} et $A_{0.5}$. De ce fait, One-way ANOVA suivie par le test de multi-comparaison Tukey a été utilisée utilisant le logiciel GraphPad version 5 dont la valeur de p est fixée à 0.05 ($p < 0.05$).

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

Afin de préparer les extraits à partir de la plante *Haloxylon articulatum*, deux méthodes d'extraction ont été effectuées qui sont la macération et l'extraction assistée par ultrasons (EAU) en utilisant deux solvants de différentes polarités ; l'acétate d'éthyle et l'éthanol. L'aspect des solutions obtenues (**figure 16**) montre que l'utilisation des ultrasons conduit à des solutions plus concentrées pour les deux solvants. Les résultats du rendement d'extraction pour les deux méthodes et pour les deux solvants d'extraction ont été représentés dans la (**figure 17**).

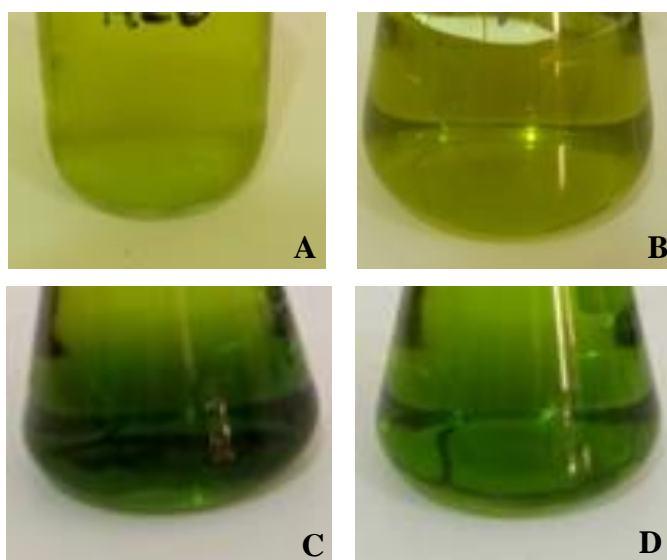


Figure 16: Aspect des solutions obtenues avec les différents solvants des deux méthodes après filtration. A et B : les solutions obtenues par EAU et macération avec l'acétate d'éthyle comme solvant, respectivement. C et D : les solutions obtenues utilisant l'éthanol comme solvant par la méthode EAU et macération, respectivement.

Comme observé, l'extraction en association avec le traitement ultrason a induit l'augmentation d'une manière significative le rendement d'extraction par rapport à l'extraction par macération. D'autre côté, le type du solvant influençait fortement le rendement d'extraction. Dans ce contexte, le meilleur rendement a été obtenu utilisant l'éthanol comme solvant en association avec la sonification avec une valeur de 6,5% contre une valeur de 3,5% obtenue avec la macération soit une augmentation de 85,71 % calculé appliquant l'équation suivante :

$$\text{Variation (V)} = ((R_{\text{ultrason}} - R_{\text{macération}}) / R_{\text{macération}}) * 100$$

Où R_{ultrason} et $R_{\text{macération}}$ sont les rendements d'extraction obtenus utilisant l'ultrasons et macération, respectivement.

De même pour l'acétate d'éthyle, un rendement de 2,1 % a été observé avec la méthode EAU contre une valeur de 1,5 % pour la macération soit une élévation de 40 %.

L'extraction des composés actifs à partir du matériel végétal constitue la première étape pour étudier les propriétés biologiques des plantes. Cette étape est primordiale et doit permettre l'extraction des différents constituant actifs et assurer un meilleur rendement. Plusieurs méthodes d'extraction ont été rapportées dans la littérature. Actuellement, l'utilisation des méthodes innovantes permettant d'augmenter le rendement d'extraction tout en minimisant l'utilisation des solvants organiques et de diminuer le temps d'extraction ont été développés en dépit des méthodes conventionnelles nécessitant beaucoup du temps, des quantités élevées du matériel végétal et de solvants. Parmi les méthodes récentes, l'extraction après à l'aide des ondes ultrasons a été largement utilisée pour récupérer divers composés à partir de différentes matrices (**Gajic et al., 2021**). Le traitement par ultrasons implique une sonoporation, une fragmentation, un cisaillement local et une détérioration qui, en réduisant les résistances de transfert de masse à travers les membranes cellulaires, favorisent la libération des constituants des cellules (**Chemat et al., 2017**).

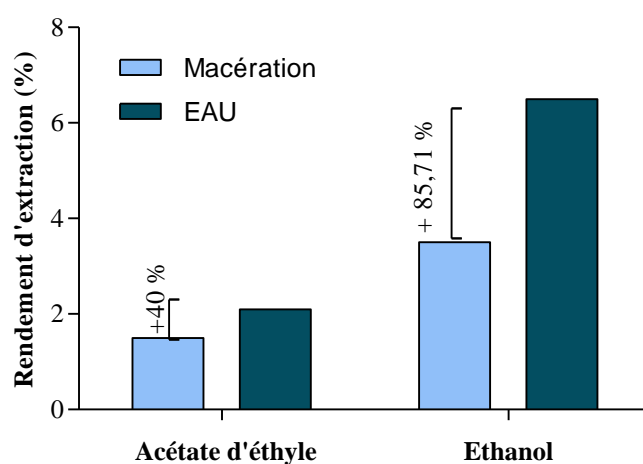


Figure 17: Rendements d'extraction obtenus avec l'extraction par ultrasons et macération en utilisant l'éthanol et l'acétate d'éthyle comme solvants.

II. 2. Teneurs en composés phénoliques

La quantification des composés phénoliques est considérée comme importante étant donné qu'ils interviennent dans l'activité des extraits et donc il est nécessaire d'effectuer une estimation de leur quantité dans les extraits. Ainsi, la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes a été déterminée et les résultats sont présentés dans les (**Figures 18, 19**).

Les teneurs en polyphénols totaux allant de $37,82 \pm 0,42$ à $70,18 \pm 2,50$ $\mu\text{g EAG/mg}$ correspondant aux extraits éthanol obtenue par macération et acétate d'éthyle obtenu par l'extraction assistée par ultrasons, respectivement. D'après ces résultats indiquent que les extraits obtenus par utilisant l'extraction assistée par ultrasons représentent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux par rapport à l'extraction par macération quel que soit le solvant utilisé (éthanol ou acétate d'éthyle). Dans le même contexte, l'acétate d'éthyle constitue le meilleur solvant pour extraire les polyphénols de la plante *H. articulatum* par rapport à l'éthanol (différence significative, $p < 0.05$). Ces observations montrent l'effet du solvant l'utilisation et la méthode d'extraction sur les teneurs en polyphénols. Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux qui ont montré l'influence des paramètres de l'extraction comme le solvant, la méthode, le temps, le rapport poudre/solvant, la température, etc sur le rendement et la teneur en polyphénols totaux (**Turkmen et al., 2007 ; Arruda et al., 2016**).

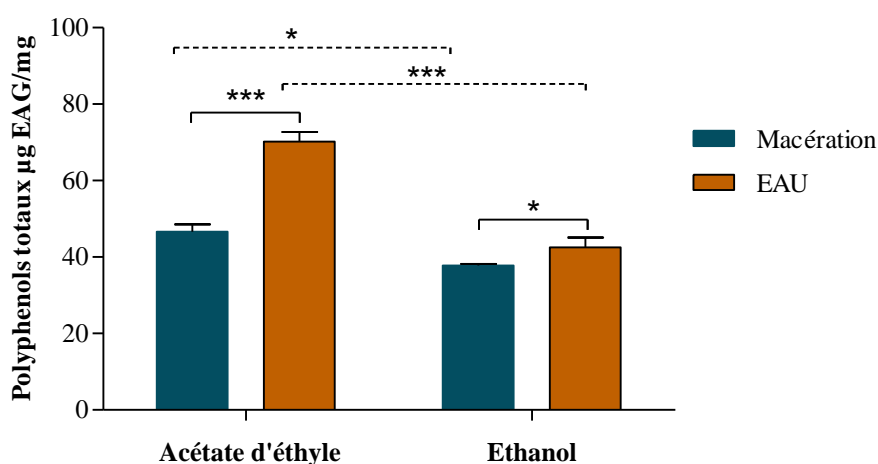


Figure 18: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits obtenus par les deux méthodes et les deux solvants. Les résultats sont exprimés en μg équivalents acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAG/m}$). *, *** indiquent une différence significative ($p < 0.05$). Les lignes continues représentent la comparaison entre les deux méthodes par contre les lignes discontinues représentent la comparaison entre les deux solvants.

L'effet de l'utilisation des ultrasons dans le but d'améliorer l'extraction des composés bioactifs en particulier les polyphénols à partir des plantes ou des déchets agroalimentaires a fait l'objet de plusieurs études. A titre d'exemple, **Esmailzadeh Kenar et al. (2014)** avait rapporté l'extraction des polyphénols à partir du marc du sésame (déchet après extraction des huiles) utilisant la macération et les ultrasons. Les teneurs en polyphénols totaux ont été plus élevées dans les extraits obtenus par extraction assistée par ultrasons que ceux obtenus par macération. D'autre part, l'extraction par ultrasons de l'écorce de *Pinus radiata* permet d'obtenir des teneurs en polyphénols totaux plus élevée que par macération mais été moins efficace que l'extraction par microonde et par soxhlet (**Aspé et al., 2011**).

Les flavonoïdes constituent une large classe de polyphénols avec une grande variété de propriétés pharmacologiques dont leur présence dans les extraits peut expliquer certaines activités. Selon la (**Figure 19**) les teneurs en ces composés sont significativement influencées par le solvant d'extraction ainsi que par la méthode d'extraction. Comparant entre les solvants, l'utilisation de l'acétate d'éthyle conduit à des teneurs plus élevées que l'éthanol. D'un autre côté, selon la méthode utilisée, les extraits issus de la macération ont eu des teneurs plus élevés que ceux obtenus par EAU. Ainsi, la teneur la plus importante qui est de $19,65 \pm 1,56 \mu\text{g QE/mg}$ est enregistrée avec l'extrait acétate d'éthyle utilisant la macération alors que la valeur la plus faible ($7,88 \pm 0,53 \mu\text{g EQ/mg}$) a été obtenue avec l'éthanol quand EAU est employée comme méthode.

Dans une étude menée par **Bakchiche et Gherib, (2014)** des teneurs en flavonoïdes faibles ont été rapportées dans les extraits *H. scoparium*. Loin de la polarité des solvants qui sont utilisés qui est un facteur important pour la solubilité des composés phénoliques d'une façon générale et des flavonoïdes d'une façon plus particulier, le choix de la méthode d'extraction joue un rôle principal dans l'extraction détermine le type des composés extraits. Dans ce contexte, même si l'utilisation des ultrasons a permis une extraction meilleure des polyphénols totaux, les flavonoïdes sont plus mieux d'extraits obtenus par macération et cela pourrait être expliqué par le fait les conditions optimales comme le rapport poudre/solvant, le temps d'extraction, la température, etc. Pour l'extraction des polyphénols totaux différent de celles de l'extraction des flavonoïdes totaux. **Espinosa-Muñoz et al. (2020)** rapporte aussi une différence des conditions d'extraction pour une extraction optimales des polyphénols totaux et des flavonoïdes à partir de Cactus Pear.

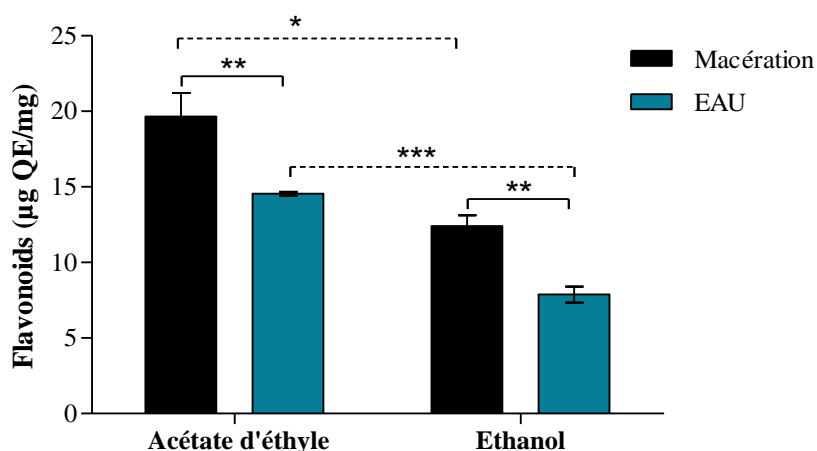


Figure 19: Teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits d'*H. articulatum*. Les colonnes représentent la moyenne \pm SD de trois répétitions. *, **, *** indiquent des valeurs statistiquement différentes ($p < 0.05$). Les lignes continues et discontinues représentent la comparaison entre les deux méthodes ou entre les deux solvants, respectivement.

II.3. Bio-activité des extraits

Les extraits issus des différentes extractions ont été testés pour leur pouvoir antioxydant et pour leur capacité à inhiber certaines enzymes constituant des cibles thérapeutiques des substances bioactives.

II.3.1. Pouvoir antioxydant

La propriété antioxydante des extraits de plantes avait fait l'objet d'une grande attention ces dernières années en vue de les exploiter dans divers domaines comme additifs dans l'industrie alimentaire, compléments à des fins thérapeutiques et nutritionnelles. Un antioxydant pourrait être défini comme une molécule qui intervient directement dans la neutralisation des espèces réactives ou interfère avec leur génération. Le stress oxydatif qui survient lors d'un déséquilibre oxydant/antioxydant est considéré comme un facteur très important dans le développement de plusieurs maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies inflammatoires et neurodégénératives, le diabète, etc. ainsi, les antioxydants s'avèrent jouer un rôle thérapeutique en empêchant l'oxydation des macromolécules biologiques et en prévenant l'apparition de maladies. De plus, les molécules antioxydantes ont un intérêt dans la conservation des produits alimentaires riches en lipides en retardant les réactions d'oxydation qui conduisent à leur détérioration et à leur péremption.

L'effet antioxydant des extraits d'*H. articulatum* a été évalué utilisant quatre méthodes différentes ayant des principes différents pour pouvoir prendre en considération les différents mécanismes intervenant dans l'effet antioxydant. Dans cette étude les méthodes utilisant le DPPH, ABTS, pouvoir réducteur et CUPRAC ont été utilisées. Les mécanismes associés avec la neutralisation des radicaux DPPH et ABTS impliquent le transfert d'un électron/atome d'hydrogène alors que dans les deux autres méthodes, le transfert d'un électron sera le mécanisme intervenant (Boussadia et al., 2020).

II.3.1.1. Effet antiradicalaire

Pour déterminer le pouvoir antiradicalaire, les radicaux synthétiques DPPH et l'ABTS ont été choisis. Les extraits ont montré un effet antiradicalaire qui augmente avec la concentration utilisée comme montré dans les **figures 20 et 21** (un effet dose-dépendant). Les valeurs CI_{50} sont aussi déterminées et sont rapportées dans le (**Tableau 6**).

L'effet des extraits sur la réduction de DPPH dépend fortement du solvant utilisé ainsi que la méthode utilisée. Premièrement, les extraits acétate d'éthyle réduisent le radical DPPH plus effacement que les extraits éthanol pour les deux méthodes. Ainsi, pour le solvant acétate d'éthyle, l'extraction par EAU donne l'effet le plus prononcé avec une valeur CI_{50} de $339,69 \pm 2,90 \mu\text{g/mL}$ contre une valeur de $494,06 \pm 8,49 \mu\text{g/mL}$ obtenue avec la macération. Cependant, en cas de l'éthanol, la méthode macération montre l'effet le plus important ($CI_{50}=494,06 \pm 8,49 \mu\text{g/mL}$).

La capacité des extraits à réduire le radical ABTS aussi dépend du solvant utilisé mais pas de la méthode d'extraction. Dans ce contexte, les extraits acétate d'éthyle montrent l'effet le plus important avec des valeurs CI_{50} de $140,20 \pm 3,59$ et $141,52 \pm 2,02 \mu\text{g/mL}$ obtenues avec l'EAU et la macération, successivement (les valeurs ne sont pas statistiquement différentes). De même, des valeurs qui ne sont pas statistiquement différentes ont été enregistrées avec les extraits éthanol utilisant EAU et la macération ($CI_{50} = 261,26 \pm 2,99$ et $258,65 \pm 6,88 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

L'activité antiradicalaire importante des extraits acétate d'éthyle par rapport aux extraits éthanol pourrait être assignée aux teneurs élevées en polyphénols totaux qui sont mieux extraits par l'acétate d'éthyle que l'éthanol. En effet, les polyphénols sont considérés comme les antioxydants d'origine naturelle les plus importants vu leur structure portant des groupements

hydroxyle permettant de neutraliser les radicaux libres par la donation des électrons ou des atomes hydrogène. Ainsi, plusieurs études ont trouvé une relation très étroite (corrélation) entre les teneurs en polyphénols des extraits et leur effet antioxydant (Alonso *et al.*, 2002 ; Kiselova *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2010).

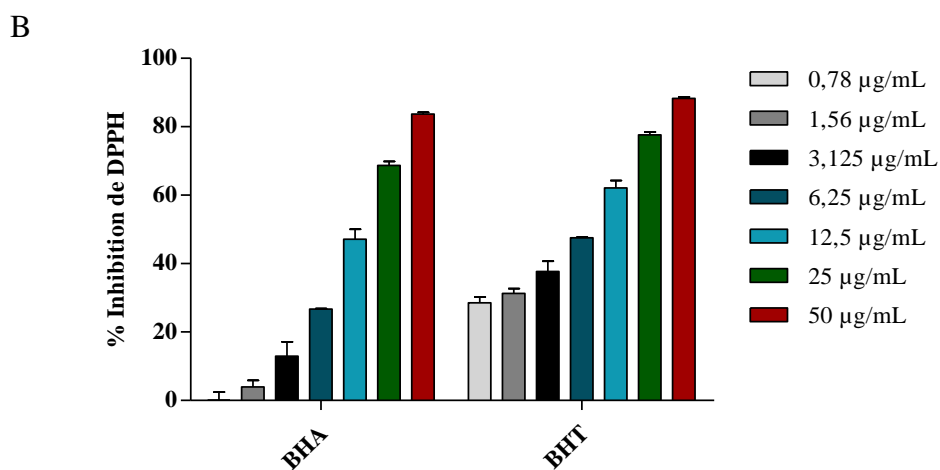
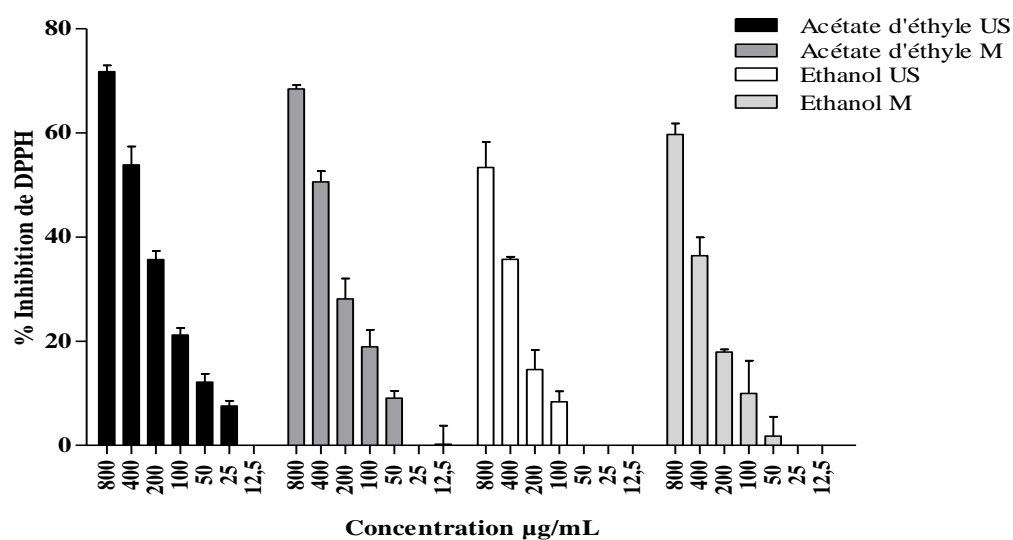


Figure 20: Activité antiradicalaire des extraits d'*H. articulatum* (A) et les standards (B) contre le radical ABTS.

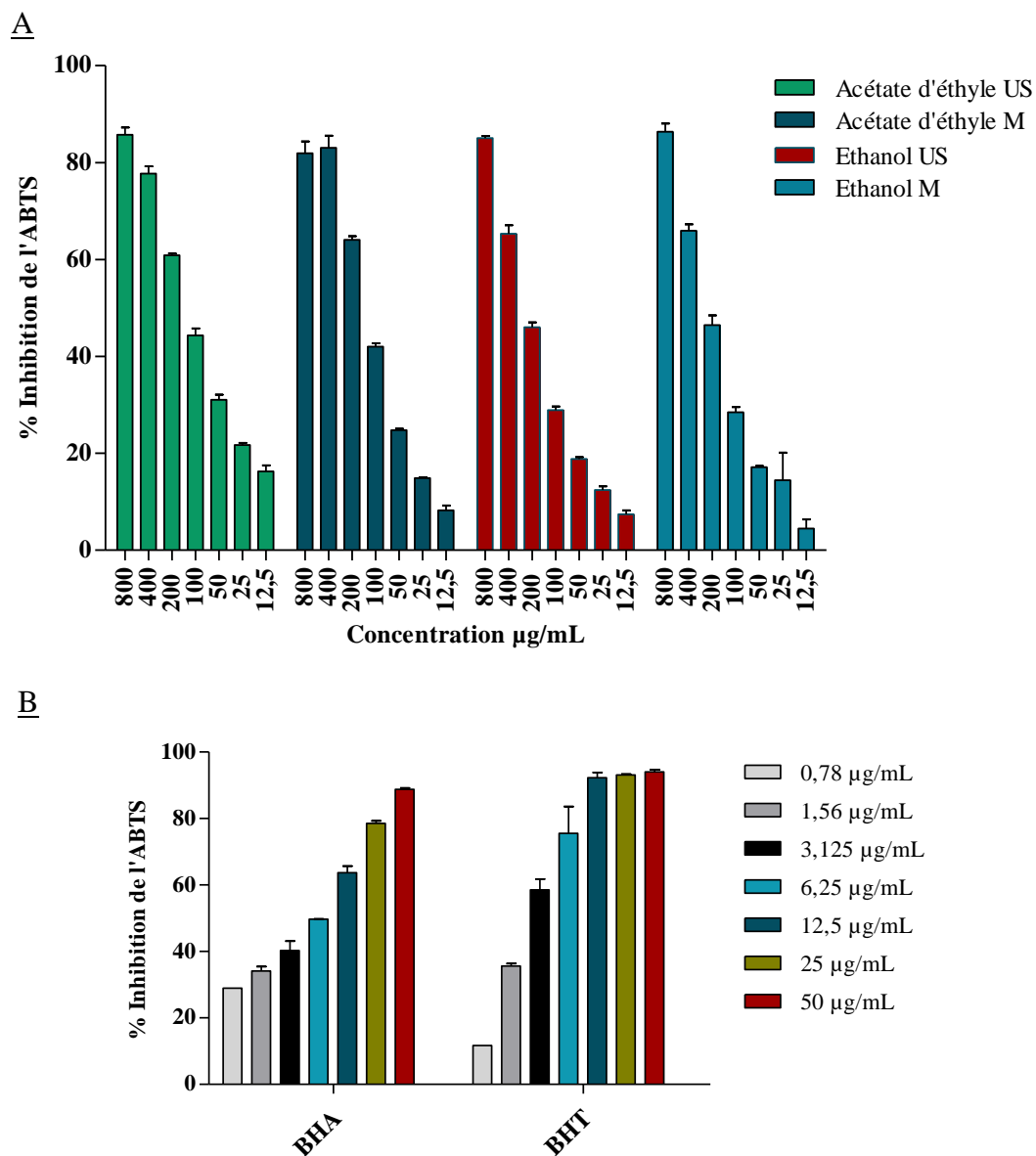


Figure 21: Activité antiradicalaire des extraits d'*H. articulatum* (A) et les standards (B) contre le radical ABTS.

Tableau 6: Valeurs des CI_{50} obtenus avec les extraits d'*H. articulatum* contre les radicaux DPPH et ABTS.

		DPPH CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Macération	Acétate d'éthyle	494,06 \pm 8,49 ^d	141,52 \pm 2,02 ^b
	Ethanol	663,39 \pm 14,72 ^e	258,65 \pm 6,88 ^c
EAU	Acétate d'éthyle	339,69 \pm 2,90 ^c	140,20 \pm 3,59 ^b
	Ethanol	725,86 \pm 1,28 ^f	261,26 \pm 2,99 ^c
Standards	BHA	5.73 \pm 0.41 ^a	1.81 \pm 0.10 ^a
	BHT	22.32 \pm 1.19 ^b	1.29 \pm 0.30 ^a

Valeurs représentent la moyenne \pm écart type de trois essais. Les valeurs portant des lettres différentes sont statistiquement différentes ($p < 0.05$). EAU : Extraction assistée par ultrasons.

II.3.1.2. Réduction des ions métalliques

La capacité réductrice des extraits a été évaluée via le test de réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) et du cuivre (Cu^{2+}). Les résultats sont rapportés sous forme d'absorbances à 700 nm ou 450 nm, respectivement. Les valeurs $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/mL}$) déterminées sont représentées dans le tableau 7. Plus la valeur $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) est faible plus l'activité réductrice est plus importante.

La **figure 22** (a, b) représente la capacité des extraits d'*H. articulatum* et des standards à réduire les ions du fer. Comme constaté, l'absorbance à 700 nm augmente en fonction de la concentration indiquant un effet dose-dépendant. Les résultats trouvés indiquent que tous les échantillons des deux méthodes ont des absorbances maximales moins de 0.5 (< 0.5), cela nécessite des concentrations plus de 200 $\mu\text{g/ml}$ (> 200) pour pouvoir déterminer la valeur $A_{0.5}$. En termes d'absorbances, les extraits obtenus par EAU montrent des absorbances plus élevées que ceux issus de la macération. Ainsi, des absorbances de 0,33 \pm 0,05 et 0,26 \pm 0,01 pour la méthode EAU ont été enregistrées avec les extraits acétate d'éthyle et éthanol à 200 $\mu\text{g/mL}$, respectivement contre des valeurs de 0,21 \pm 0,01 et 0,16 \pm 0,02 obtenues avec les extraits issus de la macération.

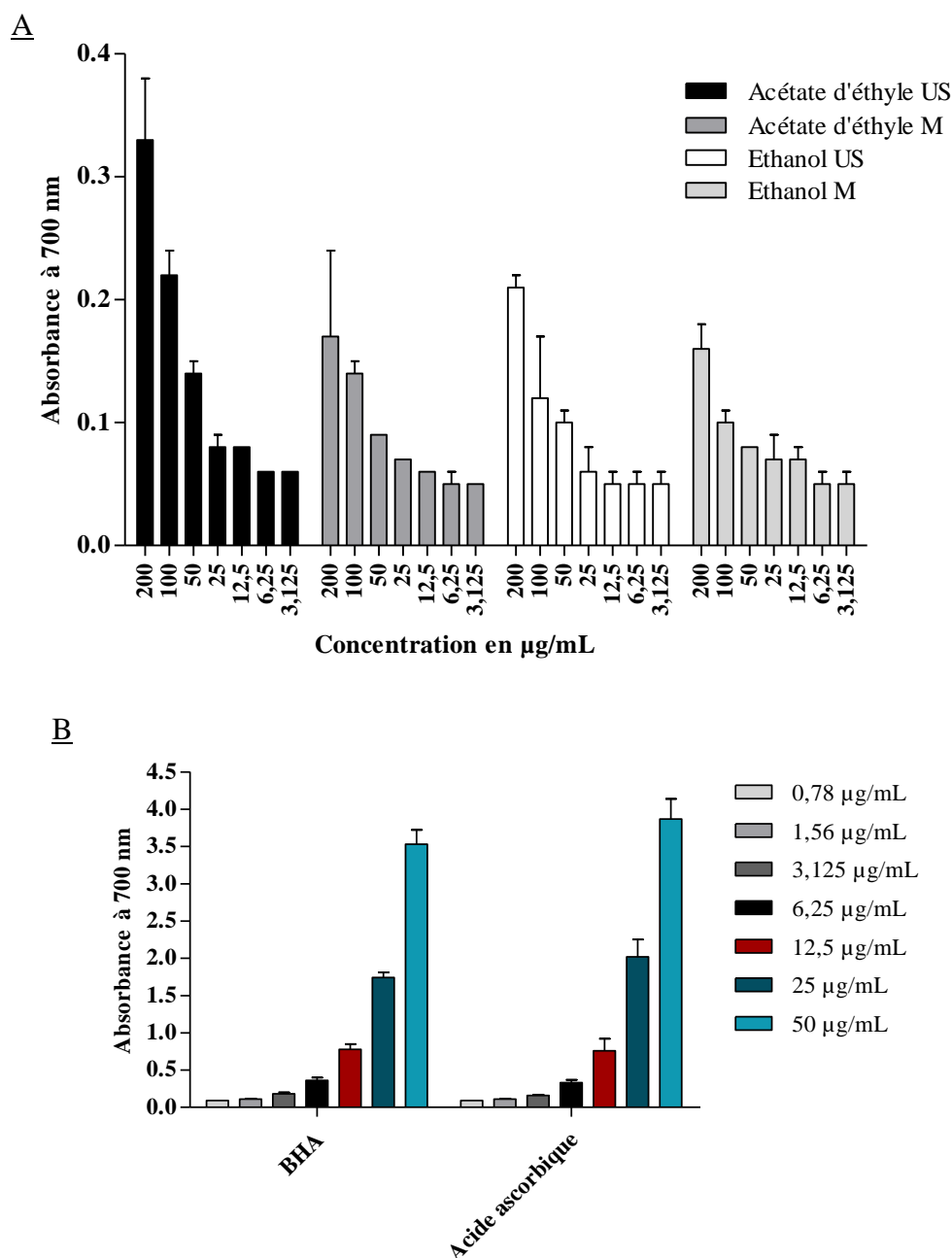


Figure 22: Pouvoir réducteur des extraits d'*H. articulatum* (A) et des standards BHA et acide ascorbique (B) à différentes concentrations.

Les extraits d'*H. articulatum* ont montré un effet important à réduire les ions du cuivre rapportés en termes d'absorbances (**Figure 23**) et des valeurs $A_{0.5}$ dans le (**Tableau 7**). Pour les deux solvants utilisés, les extraits de la méthode EAU se sont révélés plus puissants que ceux issus de la macération.

Pour la méthode EAU, l'extrait éthanol exerçait un pouvoir plus élevé que l'extrait acétate d'éthyle avec des valeurs $A_{0.5}$ de $88,60 \pm 4,96$ et $112,94 \pm 6,99$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Au contraire, dans la méthode de macération, l'acétate d'éthyle avec une concentration $A_{0.5} = 141.12 \pm 7.68$ $\mu\text{g/mL}$ a une activité réductrice des ions de cuivre plus importante que celle de l'éthanol $A_{0.5} 253.11 \pm 23.48$.

Par comparaison avec des standards BHA, BHT ($A_{0.5} = 1.34 \pm 0.11$ et 3.44 ± 0.04 , respectivement), se révélés très puissants par rapport aux extraits *H. articulatum* possédant un pouvoir réducteur des ions cuivre plus faible (moins actifs) que les standards.

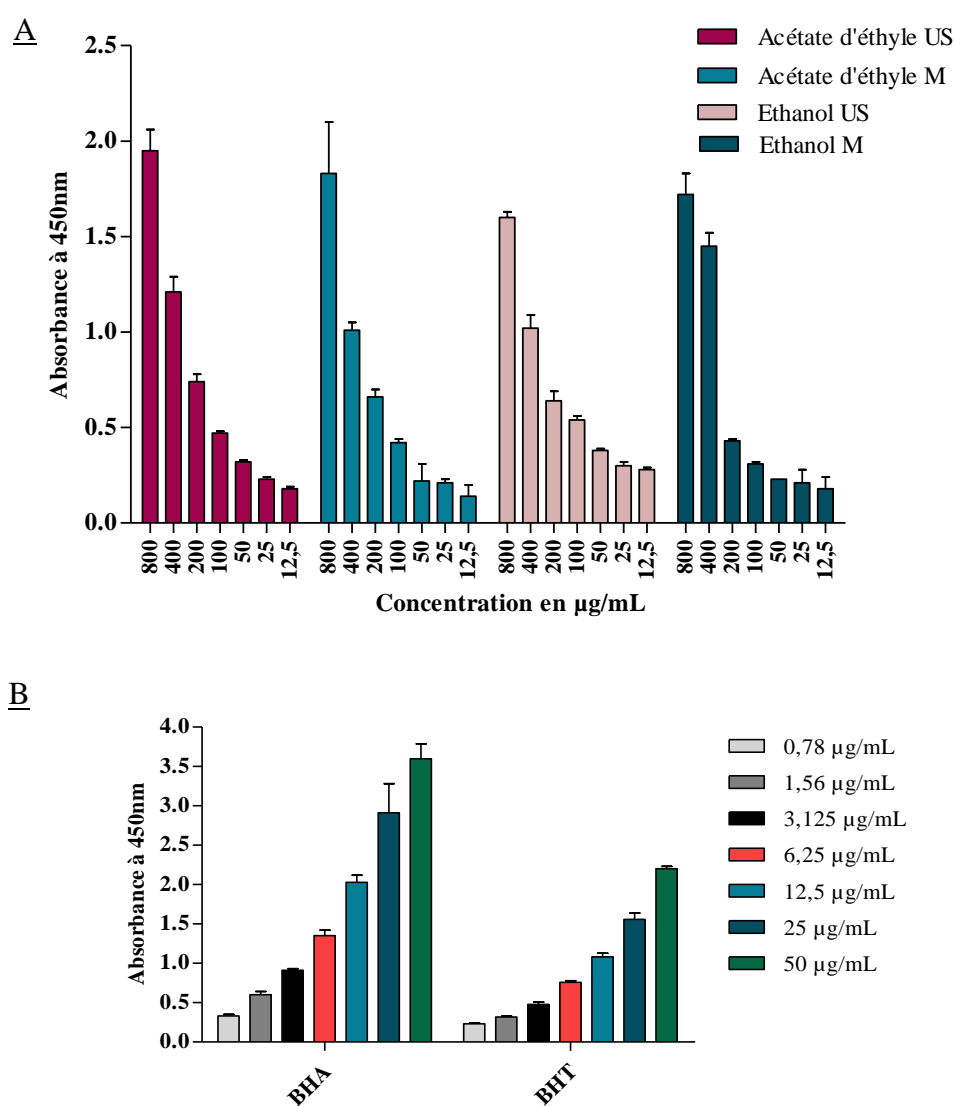


Figure 23: Capacité des extraits d'*H. articulatum* (A) et les standards (B) à réduire les ions cuivre évaluée par le test CUPRAC.

La capacité réductrice des ions métalliques dénote un mécanisme des antioxydants consistant à régénérer un antioxydant qui a subi une oxydation dont l'exemple le plus connu est le système vitamine C/ α -tocophérol (Jayaprakasha et al., 2001). Donc les extraits d'*H. delicatulum* pourraient exercer un pouvoir réducteur et prévenir la déplétion en antioxydants via leur régénération

Tableau 7: Valeurs d'A0.5 obtenus avec les extraits d'*H. articulatum* et des standards.

		Pouvoir réducteur A _{0.5} (μ g/mL)	CUPRAC A _{0.5} (μ g/mL)
Macération	Acétate d'éthyle	>200	112,94 \pm 6,99 ^c
	Ethanol	>200	88,60 \pm 4,96 ^b
EAU	Acétate d'éthyle	>200	145,84 \pm 1,10 ^d
	Ethanol	>200	175,80 \pm 1,08 ^e
Standards	BHA	8.41 \pm 0.67	1,34 \pm 0,11 ^a
	BHT	/	3,44 \pm 0,04 ^a
	Acide ascorbique	9.01 \pm 1.46	/

Les valeurs sont la moyenne \pm l'écart type (n=3). Les valeurs portant des lettres différentes sont statistiquement différentes (p< 0.05).

II.3.2. Pouvoir inhibiteur des enzymes

La capacité des extraits à entraver le fonctionnement de certaines enzymes a été évaluée contre l' α -amylase, l'uréase, et la butyrylcholinestérase. Ces enzymes constituent les principales cibles pour les médicaments dans le traitement du diabète type 2, la lutte contre le développement de l'ulcère gastrique causé par la bactérie *Helicobacter pylori*, et dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, respectivement. Aucune activité n'a été exercée par les extraits sur l'uréase et la butyrylcholinestérase ce qui pourrait être expliquée par la composition des extraits ne contenant pas ou présentant de petites quantités des inhibiteurs de ces enzymes comme les alcaloïdes.

Cependant les extraits ont montré une activité inhibitrice très importante sur l' α -amylase dont les résultats sont présentés en termes de pourcentages d'inhibition (**Figure 24**) et de valeurs CI₅₀ (tableau 8). En effet, la capacité d'*H. articulatum* à inhiber l' α -amylase a été largement démontrée par plusieurs travaux. Une étude récente menée par **Benkherara et al. (2021)** a montré que l'espèce *Haloxylon scoparium* (= *H. articulatum*) avait une forte activité inhibitrice contre l'enzyme α -amylase ce qui est en accord avec les résultats de présent travail.

L'enzyme α -amylase constitue une cible thérapeutique pour les médicaments antidiabétiques qui ont pour effet de prévenir l'hyperglycémie postprandial en inhibant la dégradation des glucides complexe (amidon) en sucres simples absorbables par l'intestin grêle. Cette approche constitue une des principales stratégies pour améliorer le mode de vie des patients atteints du diabète type 2 caractérisé par la résistance des tissus comme le foie et les muscles à l'action de l'insuline qui est à l'origine de l'hyperglycémie (taux sanguin de glucose élevé) pouvant conduire à plusieurs complications comme l'hypertension. Malgré plusieurs molécules hypoglycémiantes comme l'acarbose et le miglitol ont été utilisées comme thérapeutiques dans le diabète type 2, la recherche pour de nouvelles molécules plus efficaces avec moins d'effets indésirables a connu un grand essor (**Lorenzati et al., 2010**).

L'effet inhibiteur de l' α -amylase varie uniquement selon la méthode d'extraction. Les extraits acétate d'éthyle et éthanol de la même méthode inhibent l'enzyme α -amylase de la même manière dont la différence n'est pas significative. En revanche, les extraits obtenus par macération ont exercé un effet légèrement plus important que les extraits obtenus par EAU. Ainsi des valeurs CI_{50} égale à $3,91\pm 0,13$ et $3,72\pm 0,17$ $\mu\text{g/mL}$ ont été obtenues avec les extraits acétate d'éthyle et éthanol, respectivement utilisant la macération contre des valeurs de $5,23\pm 0,20$ et $4,80\pm 0,23$ $\mu\text{g/mL}$ pour les extraits issus de l'extraction assistée par ultrasons. Ces observations pourraient être expliquées par le fait que l'utilisation des ultrasons a entraîné une extraction plus large des constituants cellulaires pouvant interférer avec les molécules actives inhibant l'enzyme.

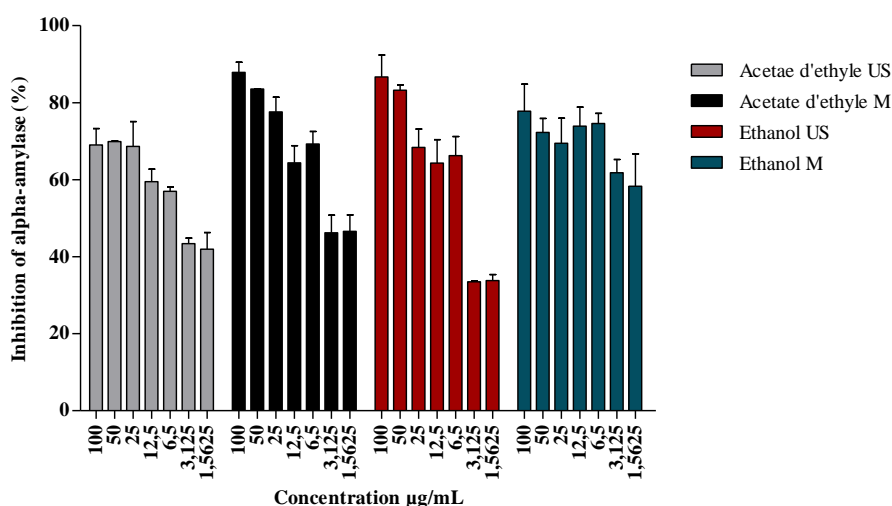


Figure 24: Activité inhibitrice des extraits d'*H. articulatum* et de l'acarbose contre α -amylase à différentes concentrations. Les barres représentent la moyenne \pm l'écart type de trois répétitions.

Tableau 8: Capacité inhibitrice des extraits d'*H. articulatum* contre la butyrylcholinestérase, l'uréase, et l' α -amylase.

		BChE CI ₅₀ (μ g/mL)	Uréase CI ₅₀ (μ g/mL)	α -amylase CI ₅₀ (μ g/mL)
Macération	Acétate d'éthyle	-	-	3,91 \pm 0,13 ^a
	Ethanol	-	-	3,72 \pm 0,17 ^a
EAU	Acétate d'éthyle	-	-	5,23 \pm 0,20 ^b
	Ethanol	-	-	4,80 \pm 0,23 ^b
Standards	Galanthamine	11.70 \pm 0.82	/	/
	Thiourée	/	11.57 \pm 0.68	/
	Acarbose	/	/	359.3 \pm 8.0

Les valeurs sont des Moyennes \pm écart type. Les valeurs avec les mêmes lettres sont statistiquement différentes ($p < 0.05$).

II.4. Analyse FTIR

L'analyse FTIR peut nous renseigner sur les principaux groupes chimiques présents dans les extraits ainsi que l'influence du traitement par ultrasons sur la composition. Comme montré dans la **figure 25 et 26** (a, b, c, et d), les extraits ont une composition similaire avec des spectres comprenant les mêmes pics indiquant une composition chimique similaire ce qui explique les résultats pour les activités biologiques avec des effets identiques. On peut ainsi distinguer trois principales régions. La première entre 3500 et 2000 cm^{-1} comprenant principalement trois pics éminents. Les pics correspondants aux nombres d'ondes 3500-3200 cm^{-1} représentent les vibrations des groupements -OH tandis que les pics de 2945 à 2925 cm^{-1} correspondent aux vibrations des groupements -CH, -CH₂, et -CH₃ des carbohydrates et des sucres. La deuxième bande entre 2000 et 1000 cm^{-1} comprenant cinq pics. Les pics 1655-1440 pourraient présenter les vibrations des liaisons C=C, C=O, ou N-H correspondant à la vibration des flavonoïdes, des lipides, de l'acide caféique et ses dérivés (**Oliveira et al., 2016**), tandis que la liaison C-O correspondant au nombre d'onde de 1113 et 1020 cm^{-1} a été identifié pouvant indiquer la présence des esters. La troisième région constituée d'un seul pic correspondant au nombre d'ondes 595, 628, et 618 cm^{-1} pourrait correspondre à la vibration de l'anneau aromatique (**Grasel et al., 2016; Oliveira et al., 2016**).

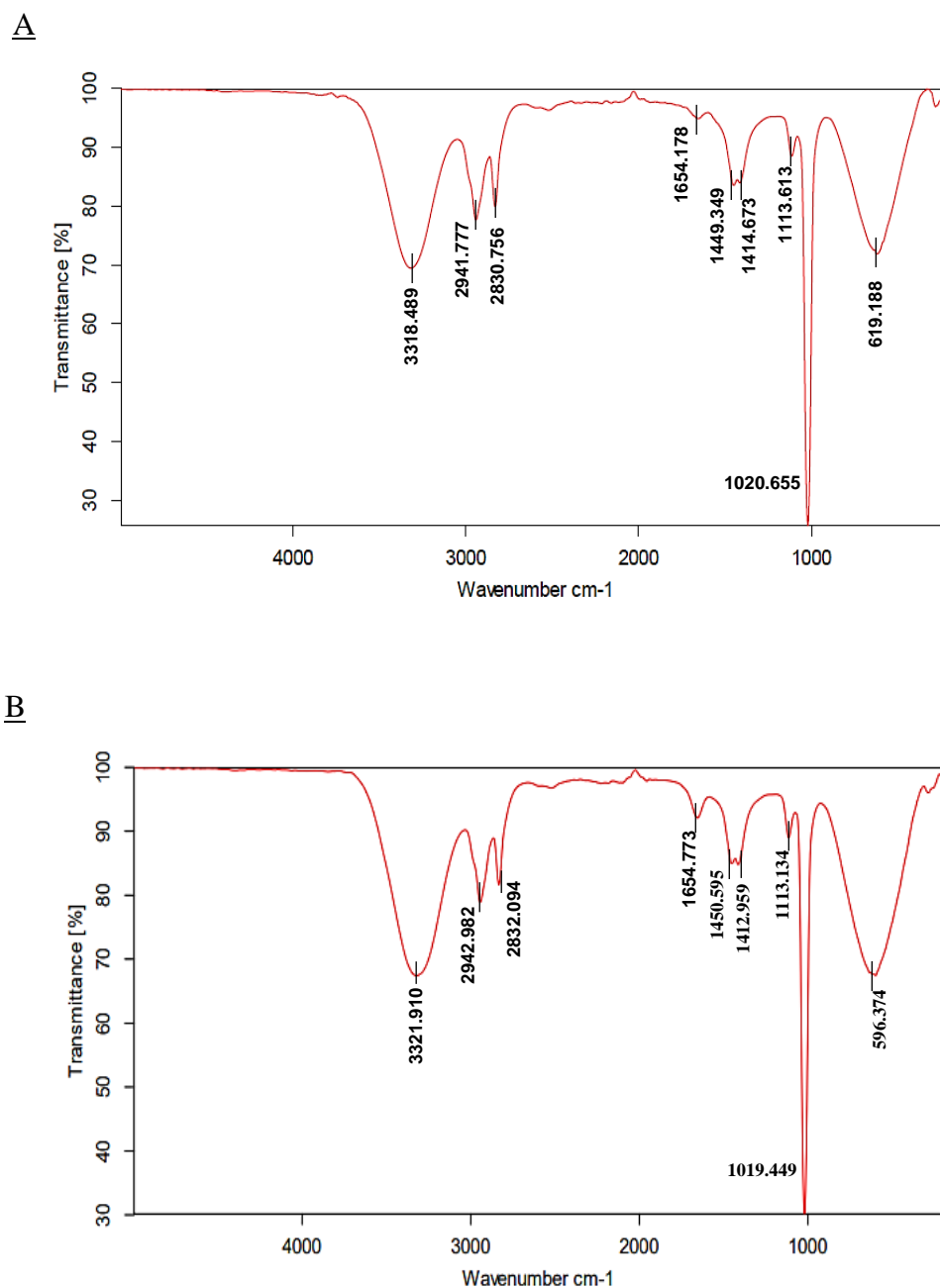


Figure 25: Spectres FTIR des extraits éthanol obtenus par macération (A) et par extraction assistée par ultrasons (B).

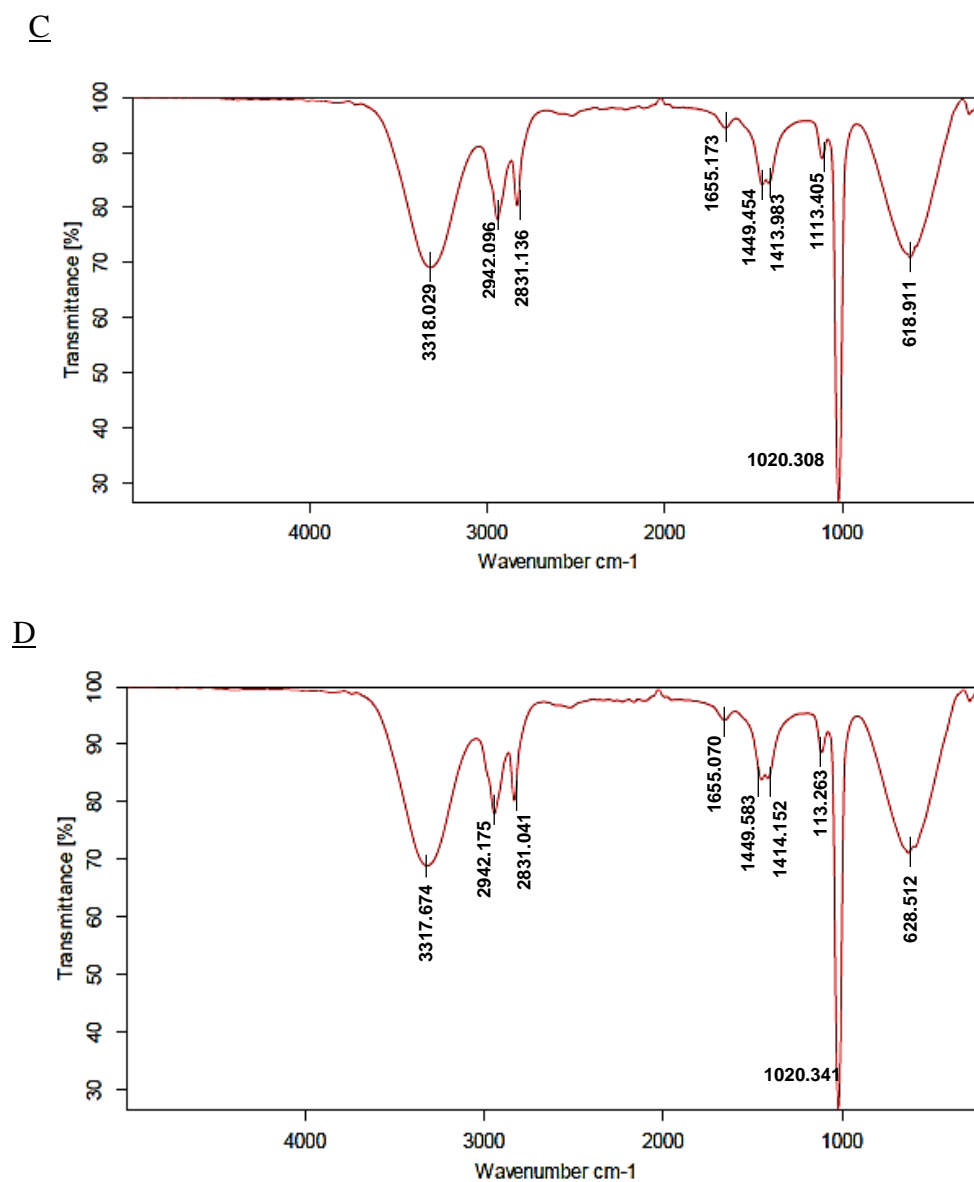


Figure 26: Spectres FTIR des extraits acétate d'éthyle obtenus par macération (C) et par extraction assistée par ultrasons (D).

Conclusion et perspectives

Conclusion

Le présent travail est consacré à l'étude de l'effet de la méthode d'extraction sur le rendement, les teneurs en polyphénols, et les effets biologiques de la plante *Haloxylon articulatum*. De ce fait, l'extraction assistée aux ultrasons a été appliquée en comparaison avec la macération comme méthode conventionnelle.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits issus de l'extraction assistée aux ultrasons avec des paramètres fixés ont eu les rendements et les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux par rapport à l'extraction par macération quel que soit le solvant utilisé. Contrairement, les extraits issus de la macération ont eu des teneurs plus élevées en flavonoïdes. De plus, l'effet de la méthode de l'extraction n'a pas eu un effet très remarquable sur l'activité antioxydante et inhibitrice de l' α -amylase dont les différences sont soit non significatifs ou soit légèrement significatifs, tandis que les extraits ont été trouvés inactifs contre la butyrylcholinestérase et l'uréase. Les résultats de l'analyse FTIR montrent des spectres identiques pour les quatre extraits ce qui indique une similarité dans leur composition chimique expliquant ainsi les effets biologiques proches exercés.

A l'issue des différents résultats, l'extraction assistée par ultrasons pourrait être choisie pour un meilleur rendement en polyphénols mais pas en flavonoïdes. En effet pour chaque groupe de composés il faut déterminer les paramètres de la méthode d'extraction comme le temps, la fréquence, la température, etc. Cette étude constitue alors une évaluation primaire de l'effet de la méthode d'extraction en utilisant l'éthanol et l'acétate d'éthyle comme solvants sur le rendement et la bio-activité des extraits d'*H. articulatum*. De ce fait, des études complémentaires seraient l'objectif d'autres travaux ultérieurs à citer :

- Optimisation des paramètres de l'extraction pour chaque méthode pour une meilleure extraction de chaque groupe de constituants.
- Tester d'autres méthodes d'extraction comme l'extraction assistée aux microondes, l'extraction assistée à la haute pression, etc.
- Etudier la composition chimique des extraits issus des différentes méthodes d'extraction.
- Evaluation d'autres activités biologiques comme l'effet antimicrobien.

Références bibliographiques

- Adlercreutz, H. (2007). Lignans and human health. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 44: 483-525.
- Allaoui, M. *et al.* (2016) 'Comparative study of the antioxidant activity and phenols and flavonoids contents of the ethyl acetate extracts from two Saharan chenopodacea', *Algerian journal of arid environment*, 6(1), p. 9.
- Alonso, Á. M., Guillén, D. A., Barroso, C. G., Puertas, B., & García, A. (2002). Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (21), 5832-5836.
- Andersson CM, Hallberg A, & Högberg T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research*, 28, 65-180.
- Apak, R., Guclü, K., Ozyurek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.
- Arruda, H. S., Pereira, G. A., & Pastore, G. M. (2017). Optimization of extraction parameters of total phenolics from *Annona crassiflora* Mart. (Araticum) fruits using response surface methodology. *Food Analytical Methods*, 10(1), 100-110.
- Aspé, E., & Fernández, K. (2011). The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. *Industrial crops and products*, 34(1), 838-844.
- Babazadeh, A., Ghanbarzadeh, B. Hamishehkar, H. (2016). Novel nanostructured lipid carriers as a promising food grade delivery system for rutin. *Journal of Functional Foods*, 26, 167–175.
- Bakchiche, B. and Gherib, A. (2014) 'Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie', 9(1), p. 6.
- Barreca, D., Mandalari, G., Calderaro, A., Smeriglio, A., Trombetta, D., Felice, M.R. & Gattuso, G. (2020). Citrus flavones: An update on sources, biological functions, and health promoting properties. *Plants*, 9.
- Belmokhtar, Z., Harche, M.K. (2014). In vitro antioxidant activity of *Retama monosperma* (L.) Boiss. *Natural Product Research*, 28 (24), 2324–2329
- Ben Amor, B. (2008) 'Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC)', *Thèse de Doctorat, Discipline : Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle* Unité de Formation et de Recherche *des Sciences*, p. 208.
- Benabdallah, H. (2016). *Techniques d'extraction, de purification et de conservation, Polycopié du cours. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas de Sétif, P.83.*
- Benkherara, S., Bordjiba, O., Harrat, S., & Djahra, A. B. (2021). Antidiabetic Potential and Chemical Constituents of Haloxylon scoparium Aerial Part, An Endemic Plant from Southeastern Algeria. *International Journal of Secondary Metabolite*, 8(4), 398-413.

- Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181) : 1119-1200
- Boucherit, H., Benabdeli, K. Benaradj, A. Boughalem, M. (2018) 'Phytoécologie de "Hammada scoparia" dans la région de Naâma (Algérie occidentale)', *Botanica Complutensis*, 42, pp. 93–99.
- Boulos, L., 1999. Flora of Egypt. Al Hadara Publishing, Cairo, Egypt, (1). p. 123.
- Boumaza, O. (2006) 'Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de *Genista tricuspidata* (Fabaceae), et *Haloxylon scoparium* (Chenopodiaceae).' Thèse de Doctorat d'Etat En Chimie Organique - Option Phytochimie Université Mentouri - Constantine. Algérie.
- Bourgou, S., SerairiBeji, R., Medni, F., and Ksouri, R. (2016) : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences.*, 28(12), 1649-1655.
- Boussadia, A., Beghidja, A., Gali, L., Beghidja, C., Elhabiri, M., Rabu, P., & Rogez, G. (2020). Coordination properties of two new Schiff-base phenoxy-carboxylates and comparative study of their antioxidant activities. *Inorganica Chimica Acta*, 508, 119656.
- Bravo, L (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56 (11): 317-333.
- Chai, W., Huang, Q., Lin, M., Ou-yang, C., Huang, W., Wang, Y., Xu, K. & Feng, H. (2018). Condensed Tannins from Longan Bark as Inhibitor of Tyrosinase: Structure, Activity, and Mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 4, 908–917.
- Chehma, A. (2006) Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien, Laboratoire de recherche : « protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides ». Faculté des sciences et sciences de l'ingénieur. Université kasdimerbah, Ouargla. p, 146.
- Chemat, F., Huma, Z., Khan, M.K., 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18, 813-835
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I. & Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture (Switzerland)*, 2, 228–243.
- Cortez, R., Luna-Vital, D.A., Margulis, D., Gonzalez, de Mejia, E. (2017). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16, 180–198.
- De Araújo, F. F., de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry*, 338, 127535.
- Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Agati, G., & Tattini, M. (2014). Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 107-116.

- Djahra, A.B. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne antioxydante anti-hépatotoxique de Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. *Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar–Annaba (Algérie)*, pp. 114.
- Donatien, K. (2009) ‘Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante’, *Thèse de Doctorat, Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz. France*, pp. 189.
- El Aanachi, S., Gali, L., Neghmouche Nacer, S., Bensouici, C., Aassila, A., Dari, K. (2020). Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 29, 101819
- Ellman, G.L., Courtney, D., Andies, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7, 88–95.
- El-Shazly, A. and Wink, M. (2003) ‘Tetrahydroisoquinoline and β -carbolinealkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae)’, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(7–8), pp. 477–480.
- El-Shazly, A.M., Dora, G. and Wink, M. (2006) ‘Alkaloids of *Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss. (Chenopodiaceae)’, *ChemInform*, 37(16).
- Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F., & Amiri, Z. R. (2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound- assisted extraction methods. *Food science & nutrition*, 2(4), 426-435.
- Espinosa- Muñoz, V., Roldán- cruz, C. A., Hernández- Fuentes, A. D., Quintero- Lira, A., Almaraz- Buendía, I., & Campos- Montiel, R. G. (2017). Ultrasonic- assisted extraction of phenols, flavonoids, and biocompounds with inhibitory effect against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* from Cactus pear. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12358.
- Fatehi, N., Allaoui, M., Berbaoui, H., Cheriti, A., Boulenouar, N., & Belboukhari, N. (2017). *Haloxylon Scoparium*: An Ethnopharmacological Survey, Phytochemical Screening and Antibacterial Activity against Human Pathogens Causing Nosocomial Infection. *Phyto Chem & Bio Sub Journal*, 11(2).
- Florent, T.S. (2016) ‘procédures d’extraction globale des composés phytochimiques pour l’évaluation analytique des médicaments à base de plantes’, *Thèse de Doctorat en pharmacie. République de Côte d’Ivoire*, p. 141.
- Frémont L. (2000) Mini review : Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*. 66, 663-673.
- Gélébart, B. (2016) ‘optimisation de l’extraction, en réacteur « batch », de biomasse énergétique à l’aide d’émulsions ultrasoniques de solvants verts’, *Mémoire de maîtrise Spécialité : génie chimique. Faculté de génie Département de génie chimique et biotechnologique. Université Sherbrooke Canada.*, p. 138.

- Ghorab, H. and Bouhedjar, E. (2017) 'Etude phytochimique et évaluation du potentiel biologique de *Salsola tetragona Del.* et *Traganum nudatum Del.* (Amaranthaceae ex. Chenopodiaceae)', p. 276.
- Ghrabi, Z. (2005) *A guide to medicinal plants in North Africa*. Malaga, Spain : IUCN, p 133.
- Godoy de Lima, R., Barros, M.T., da Silva Laurentiz, R. (2018). Medicinal Attributes of Lignans Extracted from Piper Cubeba: Current Developments. *Chemistry Open*, 7,180–191.
- Grasel, F., Ferrão, M. F., & Wolf, C. R. (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 94-101.
- Grigonis, D., Venskutonis, P.R., Sivik, B., Sandahl, M., Eskilsson, C.S. (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 33, 223–233.
- Grigoraș, C.G. (2012) 'Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs', *Thèse de Doctorat, Sciences agricoles. Université d'Orléans ; Universitatea Vasile Alecsandri din Bacău (România). France*, p. 262.
- Haida, S., Kribii, A. and Kribii, A. (2020) 'Chemical composition, phenolic content and antioxidant capacity of *Haloxylon scoparium* extracts', *South African Journal of Botany*, 131, pp. 151–160.
- Harborne, J B (1989) *Methods in Plant Biochemistry, I: plant phenolics*. Academic Press; London, UK.
- Harborne, J.B. (1994). Do Natural Plant Phenols Play a Role in Ecology, *Acta Horticulturae* 381, 36-45.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. (2002) 'Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships', *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), pp. 572–584.
- Herzi, N. (2013) 'Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles', *Thèse de Doctrat, Spécialité : Génie des procédés et de l'environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). France*, p. 193.
- Hidayat, R., & Wulandari, P. (2021). Methods of extraction: Maceration, percolation and decoction. *Eureka Herba Indonesia*, 2(1), 68-74
- Hsu, B., Coupar, I. M., & Ng, K. (2006). Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaen ethebaica*. *Food chemistry*, 98(2), 317-328.

- Jafari, M. Nasri, M. Shameli, M. H., Jafari, M. & Jafari, M. (2008). Management of saxaul-plot (haloxylon sp.) lands in desert areas using gis technique and field assessments (case study: aran and bidgol region, iran), *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 43, p. 8.
- Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., & Sakariah, K.K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 73, 285–290.
- Jdey, A., Falleh, H., Jannet, S. B., Hammi, K. M., Dauvergne, X., Magné, C., & Ksouri, R. (2017). Anti-aging activities of extracts from Tunisian medicinal halophytes and their aromatic constituents. *EXCLI journal*, 16, 755.
- Jeandet, P., Delaunois, B., Conreux, A., Donnez, D., Nuzzo, V., Cordelier, S., & Courot, E. (2010). Biosynthesis, metabolism, molecular engineering, and biological functions of stilbene phytoalexins in plants. *Biofactors*, 36(5), 331-341.
- Kadereit, G. Gotzek, D., Jacobs, S., & Freitag, H. (2005). Origin and age of Australian Chenopodiaceae. *Organisms Diversity and Evolution* (2005) 59-80.
- Kähkönen, M.P. & Heinonen, M. (2003). Antioxidant activity of anthocyanins and their glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 628–633.
- Kim, M. H., Kim, S. I., Seo, D. W., Ryu, J. C., & Choi, H. Y. (2010). Antioxidant activity of *Salvia iltiorrhiza* Bunge, a novel foodstuff. *Molecular & cellular toxicology*, 6(1), 65-72.
- Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B., & Yankova, T. (2006). Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20 (11), 961-965.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325.
- Lakhdari, W., Dehliz, A., Acheuk, F., Mlik, R., Hammi, H., Doumandji-Mitiche, B., & Chergui, S. (2016). Ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the region of Oued Righ (Algerian Sahara). *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 4(2), pp. 204–211.
- Lamchouri, F., Benali, T., Bennani, B., Toufik, H., Hassani, L. I. M., Bouachrine, B., Lyoussi, B. (2012) 'Preliminary phytochemical and antimicrobial investigations of extracts of *Haloxylon scoparium*', *Oecologia, Springer-Verlag 1981*, 48, p. 6.
- Laura A. de la Rosa *et al.* (2019) 'Phenolic Compounds', *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, pp. 253–271.
- Lavilla, I., & Bendicho, C. (2017). Fundamentals of ultrasound-assisted extraction. In *Water extraction of bioactive compound* (pp. 291-316).

- Li, Y., Plitzko, I., Zaugg, J., Hering, S., & Hamburger, M. (2010) 'HPLC-Based Activity Profiling for GABA_A Receptor Modulators : A New Dihydroisocoumarin from *Haloxylon scoparium*', *Journal of Natural Products*, 73(4), pp. 768–770.
- Liu, Q., Luo, L., & Zheng, L. (2018). Lignins: biosynthesis and biological functions in plants. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 335.
- Lorenzati, B., Zucco, C., Miglietta, S., Lamberti, F., & Bruno, G. (2010). Oral hypoglycemic drugs: pathophysiological basis of their mechanism of action oral hypoglycemic drugs: pathophysiological basis of their mechanism of action. *Pharmaceuticals*, 3(9).
- Loum, J., Byamukama, R. and Wanyama, P.A.G. (2021) 'Efficient Extraction of Natural Dyes from Selected Plant Species', *Chemistry Africa*, 4(3), pp. 677–689.
- Lourenço, S.C., Moldão-Martins, M. & Alves, V.D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24, 14–16.
- Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* (369)1-10.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A. and Jay-Allemand, C. (2005) *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques et universitaires.
- Mamari, H.H.A. (2021). Phenolic Compounds : Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis, Phenolic Compounds - Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications. ED. IntechOpen, pp.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747.
- Mengal, A. Samiullah, Khan. Rehman, N-Ur. Abdul Baqi. (2019). Antibacterial and antifungal activities of extracts of *Convolvulus leiocalycinus* and *Haloxylon griffithii* of Balochistan, Pakistan. *Pure and Applied Biology*, 8(4), pp. 2286-2294.
- Muanda, F.N. (2010) 'Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques', *Thèse de Doctorat Spécialité : Chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz. France*, p. 238.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992 -999.
- Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M., & Yousefi, B. (2012). Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 1-9.
- Nichols, J.A. & Katiyar, S.K. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, antioxidant, and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatological Research*, 302, 71–83.

- Oliveira, R. N., Mancini, M. C., Oliveira, F. C. S. D., Passos, T. M., Quilty, B., Thiré, R. M. D. S. M., & McGuinness, G. B. (2016). FTIR analysis and quantification of phenols flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 21, 767-779.
- Peerzada, S., Khan, M.T., Akhtar, M.F., Saleem, A., Hamid, I., Sharif, A., Akhtar, B., Ali, S., Ahmed, S., Raza, M. (2020). Phytochemical, anti-inflammatory, anti-nociceptive and cytotoxic basis for the use of *Haloxylon stocksii*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33, 2 (Suppl), 887-894.
- Penalva, R., Esparza, I., Larraneta, E., González-Navarro, C.J., Gamazo, C. & Irache, J.M. (2015). Zein-Based Nanoparticles Improve the Oral Bioavailability of Resveratrol and Its Anti-inflammatory Effects in a Mouse Model of Endotoxic Shock. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 5603–5611.
- Peñalva, R., Morales, J., González-Navarro, C.J., Larrañeta, E., Quincoces, G., Peñuelas, I. & Irache, J.M. (2018). Increased oral bioavailability of resveratrol by its encapsulation in casein nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (9), 2816.
- Pico, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84-99.
- Pierre, M. & Lys, M. (2007) *Secrets des plantes*. Editions Artemis, p 460.
- Pizzi, A. (2019). Valorisation industrielle des tanins, Laboratoire d'étude et de recherche sur le matériau bas (LERMAB) - Université de Lorraine, Épinal, France.
- Proestos, C., Komaitis, M. (2008). Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT - Food Science and Technology*. 41: 652–659.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free. Rad. Biol. Med.* 26, 1231–1237.
- Rira, M. (2019). 'Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical', *Thèse de Doctorat, École doctorale des sciences de la vie et de la santé – agronomie – environnement. Université Clermont Auvergne. La France*, p. 232.
- Rivera, L.L. (2006) 'Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe', *Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences des Agroressources. Institut national polytechnique de Toulouse. France*, p. 335
- Rutkowska, M., Namieśnik, J., and Konieczka, P. (2017). Ultrasound-Assisted Extraction. *The Application of Green Solvents in Separation Processes*. 2017, 301-324.
- Sadou N. (2019). Cours Techniques d'extraction des S.N. Master1 BV. (28) pp2.

- Sanago, R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle, Univ. Bamako Mali, (53).
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E. & Trombetta, D. (2017). Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British Journal of Pharmacology*, 174, 1244–1262.
- Spiridon, I., Poni, P., & Ghica, G. (2018). Biological and pharmaceutical applications of lignin and its derivatives: a mini-review. *Cellulose Chemistry Technology*, 52(7-8), 543-550.
- Taha, M., Ullah, H., Al Muqarrabun, L. M. R., Khan, M. N., Rahim, F., Ahmat, N., ... & Khan, K. M. (2018). Bisindolylmethanethiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 26(1), 152-160.
- Tamma, N. *et al.* (2017) ‘Antimicrobial and Antioxidant Properties of Phenolic Extracts from *Haloxylon articulatum* Bioss Growth in Oued Souf – Algeria’, *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(2), pp. 86–92.
- Tolaba, J.A. (2006) ‘Flora del valle de lerm, Chenopodiaceae vent’, *portes botánicas de salta-ser. flora herbariomcns. facultad de ciencias naturales .Universidad nacional de saltabuenos aires 177-4400 salta-república argentina*, 7, p. 60.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarikürkcü, C., Öztürk, M., Ulubelen, A., 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103, 816–822.
- Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484-496.
- Uthurry, C.A., Hevia, D. and Gomez-Cordoves, C. (2011). Role of honey polyphenols in health. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(4), pp. 141–159.
- Vercauteren, J. (2011) UNSPF palm formules et illustrations du cours de pharmacognosie, Université Montpellier I Laboratoire de Pharmacognosie.
- Wollenweber, E. (2017). Flavones and flavonols. *The Flavonoids*, 1st Ed. Routledge, Pp. 77.
- Yang, X.W., Huang, M.Z, Jin, Y.S, Sun, L.S., Song, Y., & Chen, H.S. (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*, 83, 1169–1175.
- Yousuf, B., Gul, K., Wani, AA. Singh, P. (2016). Health Benefits of Anthocyanins and Their Encapsulation for Potential Use in Food Systems: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56: 2223–2230.
- Zengin, G., Sarikurcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244– 251.

Résumés

Résumé

L'objectif principal de cette étude est de faire une comparaison entre deux techniques d'extraction des composés phénoliques contenus dans la plante médicinale *Haloxylon articulatum* et leur effet sur la bio-activité des extraits issus. Pour cela, une extraction conventionnelle par macération et une extraction assistée par ultrasons (EAU) ont été appliquées avec l'utilisation de deux solvants d'une polarité différente : l'acétate d'éthyle et l'éthanol.

L'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons a entraîné une augmentation significative des rendements d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Ainsi, une augmentation de 85,71% dans le cas de l'éthanol et de 40% pour l'acétate d'éthyle a été observée après l'application d'EAU. De même, l'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons a augmenté de manière significative la teneur totale en polyphénols mais pas la teneur en flavonoïdes. Les extraits ont exercé un faible effet antioxydant et une action très remarquable sur l' α -amylase. Cependant, aucun des extraits n'a exercé d'effet inhibiteur sur la butyrylcholinestérase et l'uréase. La méthode d'extraction utilisée n'a pas affecté de manière significative l'activité antioxydante des extraits et l'effet inhibiteur de l' α -amylase.

L'analyse FTIR a montré des spectres similaires indiquant une composition similaire des extraits ce qui explique leurs effets biologiques identique.

En conclusion, cette étude a montré l'importance de l'extraction assistée par ultrasons pour augmenter le rendement d'extraction mais pas la bio-activité des extraits de *H. articulatum*.

Mots clés : *Haloxylon articulatum*, Polyphénols, Macération, Extraction assistée par ultrasons, activité antioxydante, α -amylase.

Abstract

The main objective of this study is to make a comparison between two extraction techniques of phenolic compounds contained in the medicinal plant *Haloxylon articulatum* and their effect on the bioactivity of the resulting extracts. For this, a conventional extraction by maceration and an extraction assisted by ultrasound (EAU) was applied with the use of two solvents of a different polarity: ethyl acetate and ethanol.

The use of ultrasound-assisted extraction resulted in a significant increase in extraction yields regardless of the extraction solvent. Thus, an increase of 85.71% in the case of ethanol and 40% for ethyl acetate was observed after the application of EAU. Similarly, the use of ultrasound-assisted extraction significantly increased the total phenolics content but not the flavonoid content. The extracts exerted a weak antioxidant effect and a very remarkable action on α -amylase. However, none of the extracts exerted an inhibitory effect on butyrylcholinesterase and urease. The extraction method used did not significantly affect the antioxidant activity of the extracts and the α -amylase inhibitory effect.

FTIR analysis showed similar spectra indicating a similar composition of the extracts, which explains their identical biological effects.

In conclusion, this study showed the importance of ultrasound-assisted extraction to increase the extraction yield but not the bioactivity of *H. articulatum* extracts.

Keywords: *Haloxylon articulatum*, Polyphenols, Maceration, Ultrasound-assisted extraction, antioxidant activity, α -amylase.

الملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو إجراء مقارنة بين تقنيتي استخلاص للمركبات الفينولية الموجودة في نبات الرمث (*Haloxylon articulatum*) وتأثيرها على الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الناتجة. لهذا الغرض، تم تطبيق استخلاص تقليدي عن طريق النقع والاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية (EAU) باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة: أسيتات الإيثيل والإيثانول.

أدى استخدام الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية إلى زيادة معتبرة في مردود الاستخلاص بغض النظر عن مذيب الاستخلاص. كما، لوحظت زيادة قدرها بنسبة 85.71% في حالة الإيثانول وبنسبة 40% لخلات الإيثيل بعد تطبيق الموجات فوق صوتية. وبالمثل، أدى استخدام الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية إلى زيادة محتوى البوليفينول الكلي بشكل كبير على عكس محتوى الفلافونويد. مارست المستخلصات تأثيراً ضعيفاً على النشاط المضاد للأكسدة وتأثير مثبط ملحوظ على الفا-اميلاز α -amylase. ومع ذلك، لم يكن لأي من المستخلصات تأثير مثبط على بوتيريل كولينسترز واليوريز (uréase) وظهرت الدراسة ان طريقة الاستخلاص المستخدمة لم تؤثر بشكل كبير على النشاط المضاد للأكسدة في المستخلصات والتأثير المثبط ل- α -amylase.

أظهر تحليل FTIR أطيافاً مماثلة تشير إلى تركيبة مماثلة للمستخلصات مما يفسر تأثيراتها البيولوجية المتطابقة.

في الختام، أوضحت هذه الدراسة أهمية الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية لزيادة إنتاجية الاستخراج، ولكن ليس النشاط الحيوي لمستخلصات *H. articulatum*.

الكلمات المفتاحية: الرمث (*Haloxylon articulatum*) ، بوليفينول، نقع، استخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية، نشاط مضاد للأكسدة، الفا-اميلاز.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : DIABI Radia
BENHADDAD Nafissa Batoul

Effet de l'extraction assistée par ultrasons sur les teneurs en composés phénoliques et la bio-activité des extraits de la plante *Haloxylon articulatum*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

L'objectif principal de cette étude est de faire une comparaison entre deux techniques d'extraction des composés phénoliques contenus dans la plante médicinale *Haloxylon articulatum* et leur effet sur la bio-activité des extraits issus. Pour cela, une extraction conventionnelle par macération et une extraction assistée par ultrasons (EAU) ont été appliquées avec l'utilisation de deux solvants d'une polarité différente : l'acétate d'éthyle et l'éthanol.

L'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons a entraîné une augmentation significative des rendements d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Ainsi, une augmentation de 85,71% dans le cas de l'éthanol et de 40% pour l'acétate d'éthyle a été observée après l'application d'EAU. De même, l'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons a augmenté de manière significative la teneur totale en polyphénols mais pas la teneur en flavonoïdes.

Les extraits ont exercé un faible effet antioxydant et une action très remarquable sur l' α -amylase. Cependant, aucun des extraits n'a exercé d'effet inhibiteur sur la butyrylcholinestérase et l'uréase. La méthode d'extraction utilisée n'a pas affecté de manière significative l'activité antioxydante des extraits et l'effet inhibiteur de l' α -amylase.

L'analyse FTIR a montré des spectres similaires indiquant une composition similaire des extraits ce qui explique leurs effets biologiques identique.

En conclusion, cette étude a montré l'importance de l'extraction assistée par ultrasons pour augmenter le rendement d'extraction mais pas la bio-activité des extraits d'*H. articulatum*.

Mots-clefs : *Haloxylon articulatum*, Polyphénols, Macération, Extraction assistée par ultrasons, α -amylase, activité antioxydante.

Laboratoire de recherche : Centre de Recherche en Biotechnologie, Constantine.

Encadreur : M^{elle} GALI Lynda (MRB- C.R.Bt).

Examineur 1 : M^{elle} MOUSSAOUI Samira (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : M^{elle} MAZOUZ Wissam (MAA - Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi).