

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

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire كيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation de quelques activités biologiques d'*Acacia horrida*

Présenté par : Choayb Arras

Le 21/09/2023

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr OUELBANI Rayene (MCB, Université des Frères Mentouri Constantine 1).

Encadrante : Dr. KHELALFA KHAOULA (MCB, Université des Frères Mentouri Constantine 1).

Examinatrice : Dr. BENASRI Souheir (MCB, Université des Frères Mentouri Constantine 1).

Année universitaire

2022 - 2023

Remerciement

*Au bon **Dieu** le tout puissant et miséricordieux,
qui m'a éclairé le chemin tout au long de mes études, qui m'a
donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail,
Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements à ma
promotrice **KHELAFI KHAOUA** Pour avoir acceptée de
m'encadrer et qui a toujours été disponible malgré ses nombreuses
occupations, et dont les encouragements et les conseils judicieux
me furent d'une très grande utilité.*

*Mes profonds remerciements aux membres du jury la présidente
Dr Ouelebani. R et l'examinatrice **Benasri. S** pour l'intérêt
qu'elles ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon
travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Mes profonds remerciements à l'équipe de Centre National de
Recherche en Biotechnologie « CRBT » pour leur assistance durant
mon stage pratique au sein leur établissement.*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous les
professeurs qui m'ont enseignés et qui par leurs compétences
m'ont soutenus dans la poursuite de mes études.*

*Enfin, je remercie tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont
contribué à la réussite de ce travail.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chers parents qui m'ont toujours soutenu,
encouragé et aidé tout au long de mon cursus.*

*Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce
travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi
que l'expression de mes affectueuses
gratitudes.*

*Mes frères et sœurs, mes amis et mes collègues
qui m'ont apporté leur soutien moral et
intellectuel tout au long de ma démarche.*

Et à tous ceux qui sont chers.

Tables des matières

<i>Remerciement</i>	
<i>Dédicaces</i>	
Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Introduction.....	1
Chapitre I : Partie théorique	
1. Famille des Fabacées	3
1.1. Position systématique de la Famille des Fabaceae	3
1.2. Description botanique.....	3
1.3. Répartition géographique des Fabaceae :.....	4
2. Présentation du Genre <i>Acacia</i>	4
2.1. Principaux métabolites secondaires du Genre <i>Acacia</i>	5
2.2. Importance médicinale et économique	5
2.3. Principaux métabolites secondaires du Genre <i>Acacia</i>	5
2.3.1 Acides phénoliques	6
2.3.2 Flavonoïdes	6
3. les activités biologiques.....	7
3.1. L'activité antioxydante	7
3.1.1 Stress oxydant	7
3.1.2 Les antioxydants	7
3.1.2 Les antioxydants	8
3.1.3 L'activité antioxydante.....	8
3.2. Les activités anti-inflammatoires	9
3.2.1 Généralité sur l'inflammation	9
3.2.2 Activité anti-inflammatoire.....	9
3.3. Les activités antibactériennes	10

3.3.1 Généralités	10
3.3.2 Les différentes techniques de l'évaluation de l'activité antibactérienne	10
3.4. Les activités antidiabétiques	12
3.4.1 Généralité dur le diabète	12
Partie pratique	
Chapitre I : Matériels et méthodes.....	
1.Introduction.....	13
2.Matériel végétal.....	15
3. Préparation du matériel biologique végétale.....	Erreur ! Signet non défini.
3. 1. Récolte	15
3.2. Préparation de l'échantillon.....	15
3.2.1. Séchage.....	15
3.2.2. Broyage et tamisage	15
3.2.3. Matière sèche	16
4. Méthode de Macération et Extraction	16
4.1.Préparation de l'extrait d' <i>Acacia horrida</i>	Erreur ! Signet non défini.
4.1.Les méthodes d'extraction :	Erreur ! Signet non défini.
4.1.1.Extraction solide -liquide par macération	16
4.1.2. Extraction par ultrasons	17
4.1.3. Extraction par micro-onde.....	18
5.Estimation du contenu total en polyphénols et des flavonoïdes (TPC).....	18
6.Activités biologiques	18
6.1.Activité antioxydante :.....	19
6.1.1.Activité piégeage du radical libre DPPH	19
6.1.2.Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	19
6.1.3.Activité Reducing power (FRAP)	20
6.1.4.Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC)	20

6.2. Activité enzymatique.....	20
Chapitre III : Résultats et discussion.....	25
1. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux.....	25
2. Activités biologiques et antioxydantes.	27
2.1. Activité antioxydante	27
2.1.1. Le teste DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	27
2.1.2. Le test du piégeage du radical ABTS	28
3. Le test du pouvoir réducteur du fer FRAP	29
4. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	30
I.2.2. Mesure de l'activité antidiabétique	31
1.2.3. Mesure de l'activité anti-inflammatoire.....	31
I.2.5. Mesure de l'activité antimicrobienne.....	32
Conclusion et perspectives	36
Références bibliographiques
Résumé.....

Liste des figures

Figure 1: Classification taxonomique des fabaceae.....	3
Figure 2: Répartition géographique des Fabaceae.....	4
Figure 3: Structure chimique de l'acide gallique.....	6
Figure 4: Structure chimique de Proanthocyanidine B3.....	7
Figure 5: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants.....	8
Figure 6: Organigramme systématique de l'ensemble des travaux expérimentaux réalisé....	14
Figure 7: Séchage de la plante <i>Acacia horrida</i>	15
Figure 8: Broyage de la plante <i>Acacia horrida</i>	16
Figure 9: Différents erlenmeyers préparés pour chaque méthode d'extraction	Erreur ! Signet non défini.
Figure 10: Filtration sous vide pour la récupération du résidu	Erreur ! Signet non défini.
Figure 11: Evaporation du résidu sec.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 12: Bain ultrason	Erreur ! Signet non défini.
Figure 13: Extraction par sonde ultrasonique	17
Figure 14: Teneur en composés phénolique totaux.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 15: Teneurs en flavonoïdes totaux.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16: Valeurs des $A_{0.5}$ des extraits en comparaison avec le standard pour le test CUPRIC.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17: Histogramme comparatif des IC50 des six extraits d' <i>Acacia horrida</i> avec le standard Acarbose.	31
Figure 18: Histogramme comparatif des IC50 des six extraits d' <i>Acacia horrida</i> avec le standard Diclofenac.	32
Figure 19: Résultats de l'activité antibactérienne des extraits d' <i>Acacia horrida</i>	33

Liste des tableaux

Tableau 1: Teneurs en polyphénols et flavonoïde totaux des 6 extraits d'Acacia horrida.	26
Tableau 2: Comparaison des résultats de la teneur en polyphénols.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 3: Inhibition du radical DPPH par les extrais et le standard.	27
Tableau 4: Résultats de test ABTS.	28
Tableau 6: Résultats de test FRAP.	29
Tableau 8: Résultats du test CUPRIC.	30

Introduction

Les essences ligneuses et surtout les arbres captent notre intérêt par leurs tiges, leur tronc, leur houppier et leurs branches. En somme, par l'ensemble de leurs parties aériennes. Leur beauté majestueuse, leur richesse ornementale est souvent telle que l'homme doit se rendre à l'évidence. C'est donc l'aspect extérieur de l'espèce dans son ensemble qui captive en premier lieu notre attention. Les arbustes ont une essence ligneuse dont les tiges sont entièrement lignifiées et se ramifient dès la base, les différentes formes de ramifications engendrent des arbustes de différents types, à tige unique, à plusieurs tiges ou buissonnants (**Belot, 2004**).

Les plantes ligneuses qui n'atteignent pas une hauteur d'au moins 3 mètres en raison de leurs tiges multiples ou de leur petite taille, sont considérées comme des arbustes (**El Amin, 1990**). *Acacia*, un arbuste répandu dans le monde entier, comprend environ 1200 espèces de la famille des *Fabaceae* appartenant à la tribu des *Acacieae*. Les espèces d'*Acacia* sont importantes pour l'alimentation et l'ethnopharmacologie et ont des utilisations thérapeutiques potentielles. En effet, 152 constituants chimiques ont été répertoriés à partir des espèces d'*Acacia* ainsi que leurs activités biologiques. Les principaux composés isolés sont les flavonoïdes, les terpénoïdes et les acides phénoliques, accumulés principalement dans les feuilles, les gousses et les écorces des tiges. Ces composés ont de multiples activités pharmacologiques telles que : antibactériens et antifongiques, antioxydants, anticancéreux, antibactériens et antifongiques (**Amoussa et al., 2020**).

Une étude a montré que le feuillage issu des espèces d'*Acacia* est un fourrage d'une valeur nutritive très intéressante caractérisé par sa richesse en protéines. Cependant, cinq espèces d'*Acacia* (*Acacia nilotica*, *Acacia horrida*, *Acacia saligna*, *Faidherbia albida* et *Albizia julibrissin*), récoltées de zones arides et semi-arides d'Algérie, ont été déterminés. Les échantillons étudiés montrent donc des taux élevés en protéines (157-252 g/kg MS), le contenu le plus élevé était noté chez *Acacia horrida* (551 g/kg MS) (**Kadi et Zirmi-Zembri, 2016**). Ainsi, l'analyse chimique a révélé que les contenus en matières azotées totales de certaines feuilles d'arbustes sont intéressants et l'utilisation des feuilles d'arbustes fourragers dans l'alimentation des ruminants constitue une alternative alimentaire intéressante vue le déficit fourrager rencontré en Algérie et l'augmentation des prix des matières premières formulant les aliments concentrés (**Mebirouk-Boudechiche et al., 2014**). En outre, le genre *Acacia*, est connu aussi par la forte abondance en terme de métabolites secondaires, dix espèces du genre

Introduction

Acacia ont été étudiées et soixante-seize (1-76) molécules ont été rapportées appartenant à la famille des tri terpènes, saponines, flavonoïdes, polyphénols, tannins... (**Hussain, 2019**).

L'objectif de la présente étude est de valoriser l'espèce *Acacia horrida*, dont peu de données sont disponibles concernant ses vertus biologiques. En effet, le travail consiste à extraire les molécules bioactives par une nouvelle méthode d'extraction et à élaborer les tests d'activités biologiques, à savoir :

1. Les activités antioxydantes
2. Activité anti-inflammatoire
3. Activité antibactérienne
4. Activité antidiabétique

Chapitre I :
Partie
théorique

1. Famille des Fabaceae

1.1. Position systématique

La famille des *Fabaceae*, également connues sous le nom de famille des légumineuses, représentent la famille des plantes à fleurs avec plus de 730 genres et 19 400 espèces réparties dans le monde entier. En Algérie, cette famille est représentée par 53 genres et de 339 espèces. (Debbi *et al.*, 2019).

Les *Fabaceae* peuvent être réparties en 4 sous-familles selon l'Angiosperm Phylogeny Group III (2009) :

La sous-famille de Bauhinioïdes

La sous-famille des Mimosoideae

La sous-famille des Caesalpinoideae

La sous-famille des Papilionoideae ou Faboïdeae

Classification de Cronquist (1981)	
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>

Figure 1: Classification taxonomique des fabaceae (Cronquist, 1981).

1.2. Description botanique

Les plantes Fabaceae peuvent être des plantes herbacées, des arbustes ou des arbres. Ils présentent une grande variété de formes, de tailles et de structures. Elles possèdent un métabolisme azoté élevé et renferment des acides aminés non protéogéniques (Spichiger *et al.*, 2002). Ces plantes possèdent plusieurs caractères morphologiques en commun :

Feuilles : normalement composées pennées rarement bipennées, alternes, stipulées, parfois transformées en vrilles simples, folioles toujours à bord entier, parfois avec points translucides de forme très variables mais presque asymétriques.

Racines : présentent des nodosités où vivent des bactéries symbiotiques du genre rhizobium.

Inflorescences en racèmes ou en panicules rarement de cauliflorie.

Fleur : sont hermaphrodites zygomorphes.

Fruits : des gousses coriaces ou ligneuses, déhiscentes ou indéhiscentes à maturité s'ouvrant en deux valves parfois samaroides (**Gnagne et al., 2017**).

1.3. Répartition géographique des Fabaceae :

Le principal centre de diversité des Fabaceae est situé en Amérique du centre et du sud. D'autres centres de diversité sont localisés également en Afrique et en Asie (**Maroyi, 2023**). En général, les Fabaceae sont distribuées dans tous les biomes terrestres. Leur répartition est cependant variable selon la sous-famille. Les Faboideae sont cosmopolites et se retrouvent presque dans tous les milieux du globe terrestre. Les Caesalpinioideae occupent surtout les régions tropicales et subtropicales de l'Amérique, de l'Afrique et de l'Asie. Les *Mimosoideae* *dominent* les régions tropicales et subtropicales, colonisent aussi les zones arides et semi-arides de l'Afrique, de l'Amérique et de l'Australie (**El-Saber Batiha et al., 2019**).



Figure 2: Répartition géographique des Fabaceae (**Boutaghane, 2013**).

2. Présentation du Genre *Acacia*

Les *Acacia* présentent une large diversité. Il existe environ 1350 espèces d'*Acacia* dans le monde, dont environ 960 originaire d'Australie. La forme de croissance de l'*Acacia* est soit un arbre, soit un grand arbuste (Lahdachi *et al.*, 2015). Ils poussent dans divers environnements, de tropical, subtropical à chaud et les régions tempérées froides du monde (Benbrahim *et al.*, 2014). Les feuilles d'*Acacia* sont soit des vraies feuilles (bipennées) ou phyllodes (pétiole modifié se présentant comme une simple feuille) avec une grande partie de la littérature phytochimique faisant référence aux phyllodes comme feuilles.

Les fleurs d'*Acacia* sont de couleur jaune vif à crème. La période de floraison est généralement de la fin de l'hiver au printemps ou au début de l'été. Les graines sont comestibles et généralement broyées en une sorte de farine. La gomme exsude des tiges et branches en réponse à des facteurs environnementaux ou de stress (Kheloufi, 2022).

2.1. Principaux métabolites secondaires du Genre *Acacia*

Les légumineuses produisent une grande diversité de métabolites secondaires. Les techniques chromatographiques ont prouvé que les *Acacia* sont une riche source de composés bioactifs, notamment les phénols, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les stérols, les polysaccharides, les acides aminés non protéiques, les acides gras, et divers acides organiques (Belkoucem et al., 2022).

2.2. Importance médicinale et économique

Les espèces d'*Acacia*, sont des plantes économiques très importantes en tant que sources de tanins, de gommes, de bois, de combustible, de fourrage et de médicaments traditionnels (Mkaouar et al., 2014). Les espèces d'*Acacia* ont été utilisées comme plantes médicinales depuis les premiers temps de la civilisation (Gormo et Nizesete, 2013). Elles sont utilisées dans le traitement d'un large éventail de troubles tels que les maladies gastro-intestinales, respiratoires, oculaires et utérines. Dans la mythologie égyptienne, L'*Acacia* était considéré comme l'arbre de vie reflétant sa nature curative. Les fleurs, les feuilles, les gousses, les graines et les racines d'*Acacia* sont utilisées traditionnellement pour le traitement de diverses affections par de nombreuses cultures. En Australie, au début de l'époque coloniale les botanistes ont décrit comment les attributs médicinaux des espèces d'*Acacia* étaient utilisés par les indigènes australiens (Subhan et al., 2018).

2.3. Principaux métabolites secondaires du Genre *Acacia*

Les phénols végétaux sont les principaux constituants bioactifs des plantes et ils constituent le plus grand groupe de métabolites végétaux secondaires avec une présence universelle dans le règne végétal (Abbasi et al., 2023). Le terme « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de molécules divisé en une dizaine de classes chimiques, selon le nombre d'unités phénoliques présentes (Hareb, 2022). Elles présentent un point commun : la présence dans leur structure d'un ou plusieurs cycles aromatiques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Berrekbia et Medaci, 2023).

Diverses sous-classes polyphénoliques ont été identifiées chez *Acacia* comme les acides phénoliques, flavonoïdes et tanins (Subhan *et al.*, 2018).

2.3.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sous leurs formes libres et conjuguées sont parfois signalés chez *Acacia*. Les principaux acides phénoliques présents dans *Acacia* se sont avérés être les acides galliques dérivés. Subhan *et al.* (2018) confirment que la plupart des acides phénoliques ont été détectés dans les gousses et que très peu des acides phénoliques ont été trouvés dans les feuilles ou l'écorce.

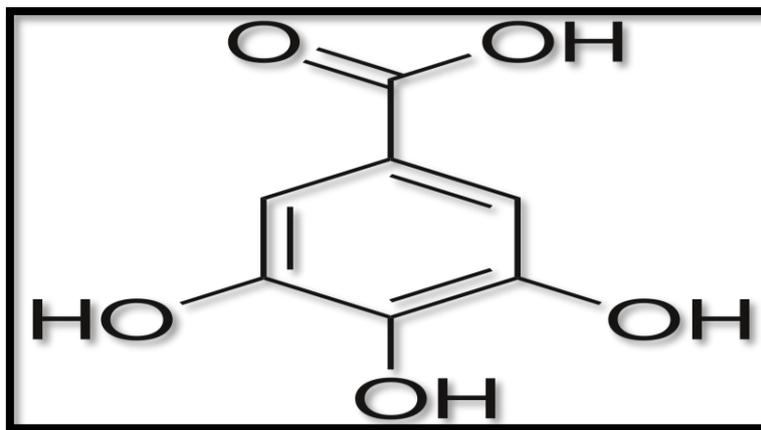


Figure 3: Structure chimique de l'acide gallique (Wikipédia A, 2023).

2.3.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement signalés chez les *fabaceae*. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Plus de 100 flavonoïdes y compris les flavanes, les flavanones, les flavonols, les flavones et leurs glycosides ont été trouvés dans différentes espèces d'*Acacia* (Saidi, 2019). Subhan *et al.* (2018) confirment que le bois de cœur et les écorces sont les parties de plantes les plus couramment examinées pour les flavonoïdes.

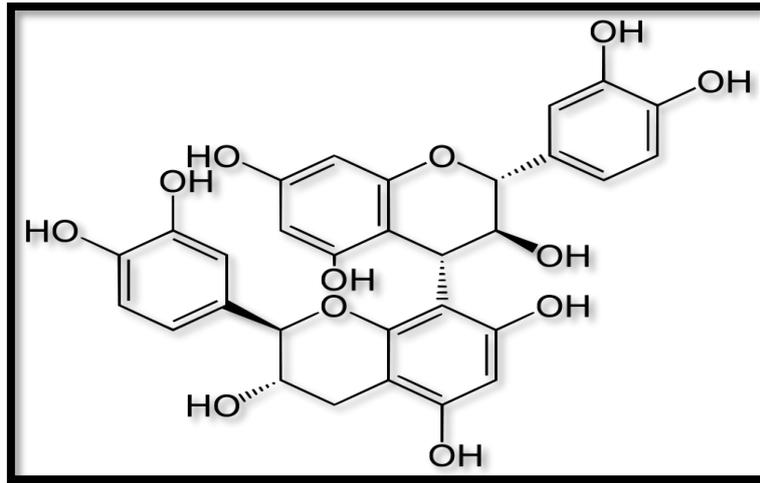


Figure 4: Structure chimique de Proanthocyanidine B3 (Wikipédia C, 2023).

3. les activités biologiques

3.1. L'activité antioxydante

3.1.1 Stress oxydant

De manière générale, le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre l'exposition à des pro-oxydants et la capacité de détoxification des systèmes de défense antioxydant (enzymatique et non-enzymatique) (figure 06) (Pincemail *et al.*, 2017).

En conséquence, des dégâts souvent irréversibles interviennent dans la cellule : modifications oxydantes au niveau des lipides (AGPI), de l'ADN et des protéines. A des degrés variables, le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, du diabète ou encore des maladies neuro-dégénératives (Afonso *et al.*, 2017).

3.1.2 Les antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat. Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Neha *et al.*, 2019). Ils font l'objet de nombreux travaux car, leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies (Habellah *et al.*, 2016).

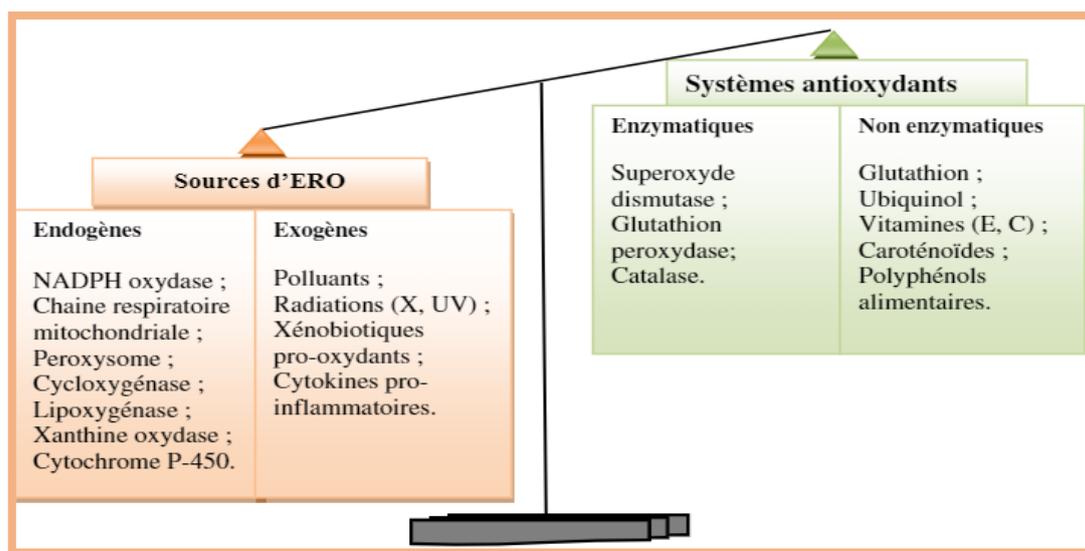


Figure 5: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Nkhili, 2009).

Les antioxydants peuvent agir en (Pisoschi et Pop, 2015) :

- Réduisant ou en dismutant les espèces réactives d'oxygènes
- Piégeant les espèces réactives d'oxygènes pour former un composé stable
- Séquestrant les métaux de transition libres
- Générant du glutathion (GSH)

3.1.3 L'activité antioxydante

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (Brainina *et al.*, 2019).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Ayoka *et al.*, 2022).

La propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leur capacité à piéger le radical libres : radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C₃OH) fortement réactif. Ils peuvent également protéger les membranes cellulaires par leur action à différents niveaux sur la peroxydation lipidique (**Ghedira, 2005**).

3.2. Les activités anti-inflammatoires

3.2.1 Généralité sur l'inflammation

L'inflammation est une réaction biologique à une homéostasie tissulaire perturbée. À son niveau de base, il s'agit d'un processus de destruction des tissus qui implique le recrutement de produits dérivés du sang, tels que les protéines plasmatiques, les fluides et les leucocytes, dans les tissus perturbés. Cette migration est facilitée par des altérations de la vascularisation locale qui entraînent une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et une augmentation du débit sanguin (**Chenivesse et Nadaï, 2020**).

Les causes de la réaction inflammatoire sont multiples :

- Agent infectieux : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons) ;
- Agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations ;
- Agents chimiques : caustiques, toxines, venins ;
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes ;
- Défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose parischémie ;
- Agression dysimmunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité) (**Ashley et al., 2012**).

3.2.2 Activité anti-inflammatoire

La réponse inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre des agressions qui entraîne une altération tissulaire ou une infection. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (**Lefevre et al., 2020**).

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la

cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (**Haioun et Hamoudi, 2015**).

De nombreuses études ont prouvé que les flavonoïdes déploient leurs activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation (**Abbad *et al.*, 2022**). En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipoxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2. Certaines kinases (PKC, la PI3kinase et tyrosine kinases) impliquées dans la réponse inflammatoire sont aussi affectées par les flavonoïdes. La présence de la double liaison C2=C3 dans le noyau des flavonoïdes semble être essentielle à leur activité anti-inflammatoire (**Debab, 2020**).

3.3. Les activités antibactériennes

3.3.1 Généralités

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux et causent des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (**Ben Abdallah *et al.*, 2019**).

L'examen de la réaction bactérienne en présence d'antibiotique traite la réponse des bactéries à l'action d'une dose d'antibiotique. Avant toute étude impliquant les antibiotiques, il est nécessaire de connaître l'attitude des micro-organismes sans facteur de stress. Notamment par le comportement de la croissance, celle-ci étant l'indicateur de l'activité d'une population bactérienne. Les antibiotiques, étant fréquemment utilisés afin d'éliminer les agents infectieux, perturbent le développement cellulaire. La croissance est donc plus ou moins fortement altérée par la présence d'antibiotiques. L'action produite par les antibiotiques est déterminée en ciblant toute avarie portée sur la croissance bactérienne (**Bertholle et Bibette, 2010**).

3.3.2 Les différentes techniques de l'évaluation de l'activité antibactérienne

Pour établir la croissance bactérienne de nombreuses méthodes existent et permettent de visualiser et mesurer la quantité des organismes (**Bertholle et Bibette, 2010**).

- **La méthode de dilution en milieu liquide**

Consiste à préparer une série de tubes à hémolyse stérile avec le même milieu de culture liquide (2 ml) puis constituer une gamme de concentrations de l'antibiotique à tester. Un tube (témoin) est également préparé. Ensuite, on ajoute la même quantité de germes dans chaque tube (inoculum). La galerie ainsi préparée sera incubée à 37°C pendant 18 heures. Puis, elle sera examinée à l'œil nu après l'incubation. Le principal inconvénient de cette méthode est la quantité de tubes à manipuler, soit 100 tubes pour une dizaine d'antibiotiques à examiner. Une variante de cette méthode consiste à utiliser des microcupules en plaque au lieu de tubes. Il s'agit d'une micro méthode en milieu liquide (Traoré *et al.*, 2012).

- **La méthode de dilution en milieu solide**

Consiste à incorporer l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose, maintenue liquide à 42°C. Une série de boîtes de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique variant selon une progression géométrique de base de 2, comme précédemment.

Puis sont préparées les suspensions des différentes bactéries à examiner qui sont alors distribuées dans les microcupules métalliques. Des tiges métalliques stériles plongent dans chaque cupule. Puis par un mouvement de translation sont déposées les différentes bactéries sous le même volume (de l'ordre du microlitre) à la surface du milieu gélosé ou solide. Après avoirensemencé la série de boîtes, celles-ci sont incubées dans une étuve jusqu'au lendemain. La lecture est alors effectuée : il est facile de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter la croissance ou l'absence de croissance. Cette méthode semi-automatique permet d'examiner des séries de 20 à 98 souches selon le type de plaque. Cette méthode de détermination de la CMI par une approche directe est peu pratique, car en effet, tester la sensibilité à 10 antibiotiques nécessite de préparer une centaine de boîtes contenant les diverses concentrations d'antibiotique (Srfi *et al.*, 2013).

- **La méthode de diffusion en milieu solide**

Consiste à ensemencer en surface d'un milieu solide par inondation de la souche à tester. Puis à déposer des disques de papier buvard comprenant un antibiotique à une certaine concentration. Après solubilisation de l'antibiotique par l'humidité du milieu gélosé, il s'établit un gradient de concentration qui varie avec le temps. La boîte ainsi préparée est mise à incuber pendant une nuit à 37°C. Il est possible de voir la croissance bactérienne (au milieu de la boîte) ainsi que des zones d'inhibition de la croissance circulaires, à proximité de chaque disque. Plus

la zone d'inhibition est grande, plus grande est la sensibilité de la souche bactérienne testée vis-à-vis de l'antibiotique étudié. Chaque zone peut être mesurée selon divers moyens : règle, compas, pied à coulisse... La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en mm, puis il sera possible de calculer la CMI de l'antibiotique pour la souche examinée en reportant ce diamètre sur une courbe de concordance, préétablie à l'avance avec une centaine de souches (échantillonnage) de sensibilités différentes. Néanmoins, la détermination par cette méthode est insatisfaisante, d'où la nécessité de recourir à la méthode directe par dilution ou encore à d'autres méthodes comme celle du E-test (**Daoudi et al., 2015**).

3.4. Les activités antidiabétiques

3.4.1 Généralité du diabète

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang. L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins (**Moumou et Braik, 2018**).

3.4.2 L'activité antidiabétique

Un antidiabétique naturelle est une substance utilisée pour traiter le diabète sucré en abaissant la glycémie. Leur utilisation dépend de la nature du diabète, du dosage de l'hémoglobine glyquée, de l'âge et de la situation de la personne, et de bien d'autres facteurs. Le but des antidiabétiques est d'équilibrer la glycémie mais aussi de diminuer le risque de survenue de maladie cardiovasculaire (**Fahouma et al., 2022**).

Partie pratique

Chapitre I :

Matériels et

méthodes

1. Introduction

L'objectif de ce chapitre est de présenter différents matériels utilisés et méthodes expérimentales suivies.

Toute la partie expérimentale a été réalisée au niveau du centre de recherche de biotechnologie à Constantine(CRBT) Donc le but de notre travail consiste à l' extraction de la plantes par différentes techniques, suivie par les tests des activités antioxydants de l'extrait végétales des feuilles *Acacia horrida* ainsi que les activités biologiques , et l'évaluation de l'efficacité des différentes méthodes.

Les étapes essentielles de ce travail sont présentées ci-dessous :

- Préparation de des extraits par plusieurs méthodes d'extraction.
- Dosage des composés phénoliques des extraits végétaux.
- Les activités antioxydantes et anti inflammatoires des extraits végétaux.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits.

On peut résumer l'ensemble du travail effectué selon l'organigramme suivant :



Figure 6: Organigramme systématique de l'ensemble des travaux expérimentaux réalisés.

2. Matériel végétal

2.1 Récolte

Nous avons utilisé la partie aérienne de la plante notamment les feuilles d'*acacia horrida*, qui ont été récoltées de la région de beb el kantara, situé à la wilaya de Constantine, entre les mois de février et mars 2023.

2.2. Préparation de l'échantillon

2.2.1. Séchage

Les feuilles d'*Acacia horrida* ont été nettoyées avec de l'eau du robinet pour éliminer les poussières et autres particules contaminants. Ensuite, ils ont été séchés dans l'étuve pendant vingt-quatre heures à une température maximale de 37° C (Aouidi *et al.*, 2013).



Figure 7: Séchage de la plante *Acacia horrida* [originale].

2.2.2. Broyage et tamisage

La fin du séchage est déterminée par l'obtention de trois pesées consécutives à poids constant, les feuilles ont été réduites en une poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique (E8130 Waring mélangeur) puis tamisées dans une tamiseuse électrique pour obtenir une poudre fines qui sera stockée dans des petits bocaux en verre. La poudre obtenue est soumise à différentes méthodes d'extractions.



Figure 8: Broyage de la plante *Acacia horrida* [originale].

2.2.3. Matière sèche

La détermination du taux d'humidité est réalisée en prenant une masse initiale des feuilles vertes de *Acacia horrida*, qui ont été séchées dans l'étuve à 105°C pendant 24h jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

3. Méthode de Macération et Extractio

3.1Extraction solide -liquide par macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide froid pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe ce liquide afin d'en obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose

- **Mode opératoire suivi**

Pour une extraction solide -liquide, la technique de Mompon et al. (1998) a été suivi:

- 50g des feuilles broyées ont été macéré dans 300 ml d'une solution hydro-éthanolique 70% sous agitation mécanique pendant 24h.
- Après filtration, nous avons ré effectué deux autres extractions sur le résidu.
 - On a procédé ensuite à l'évaporation sous vide de l'extrait éthanolique dans un évaporateur rotatif (BUCHI) à 38°C pour obtenir l'extrait brut.



Figure 9: Filtration sous vide pour la récupération du résidu [originale].

3.1.2. Extraction par ultrasons

- **Principe**

L'extraction par ultrasons est une alternative rapide, peu coûteuse simple et efficace cette méthode offre de nombreux avantages en termes de rendement, de sélectivité, de temps et d'énergie. On a utilisé cette méthode l'éthanol à 70%.

- **Mode opératoire suivi**

Pour une extraction par ultrasons, le mode opératoire choisit est le suivant :

Avec mélange hydro alcoolique (éthanol et eau) :

- Une quantité de 50g de la plante broyée a été macérée dans 200 ml de l'éthanol 70% pendant 24heures
- L'erenmeyer est placé dans un extracteur ultrasons ou il est exposé à l'extraction durant 30 minutes.
- L'extrait est évaporé sous vide à 38°C jusqu'à évaporation totale du solvant, et enfin récupéré et séché à 37 C° dans l'étuve.



Figure 10: Extraction par sonde ultrasonique [originale].

3.1.3. Extraction par micro-onde

- **Mode opératoire suivi**

- Dans cette méthode on a utilisé un four à micro-onde et nous avons opté pour le mode opératoire suivant :

- Dans un bécher un mélange hydro alcoolique de volume égal à (320 ml d'éthanol+80 ml de H₂O) a été additionné à 70g de d'échantillon.

- Le dispositif expérimental est placé ensuite dans un four micro-onde (Samsung ME73A) pendant 90 secondes sous une pression égale à 600 mbar.

- Le mélange est récupéré suivi d'une filtration sous vide.

- Enfin l'extrait subit une évaporation sous vide à 38C° jusqu'à l'évaporation totale du solvant, et enfin récupéré et séché à 37 C° dans l'étuve.

4 Estimation du contenu total en polyphénols (TPC) et des flavonoïdes (TFC)

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode décrite par **Muller *et al.*, (2010)** sur une microplaque à 96 puits, un volume de 20 µl d'extrait (1 mg d'extrait dissoute dans 1 ml de méthanol) est ajouté à 100 µl de FCR dilué (Annexe V), ensuite un volume de 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) (Annexe V) est additionné, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). L'acide gallique (Annexe IV) est utilisé comme contrôle positif, à partir de lequel une courbe d'étalonnage a été établie (**Annexe VI**).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode décrite par **Khelifi *et al.*, (2013)**, et sur une microplaque à 96 puits, un volume de 1 ml de chaque extrait a été mélangée avec un volume égal de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Annexe V) dans le méthanol (2%). (On a divisé les volumes par 10), le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15min à température ambiante. L'absorbance a été lue à 415 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). La quercétine (Annexe IV) est utilisé comme contrôle positif, à partir de lequel une courbe d'étalonnage a été établie (Annexe VI).

5. Activités biologiques

L'étude de l'activité antioxydante de l'espèce *Acacia horrida* a été réalisée par l'utilisation de plusieurs méthodes à savoir : total phénolique et total flavonoïdes, piégeage du radical libre DPPH, piégeage de l'ABTS, pouvoir réducteur (FRAP), réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline, réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC) et réduction des nanoparticules d'argent.

5.1 Activité antioxydante :

5.1.1 Activité piégeage du radical libre DPPH

Le test a été réalisé selon la méthode décrite par **Blois, (1958)**, sur une microplaque à 96 puits, une solution de 160 µl du DPPH (Annexe II) a été mélangée avec 40 µl de l'échantillon à différentes concentrations. Le mélange a été maintenu à une température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'acide ascorbique et le trolox (Annexe IV) sont utilisés comme standards

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Équation 1: Pourcentage d'inhibition du DPPH.

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.

5.1.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS•+

Cette activité est déterminé selon la méthode de **Re et al., (1999)**, un volume de 160 µl d'ABTS (Annexe II) a été ajouté à 40 µl de l'extrait dilué dans le méthanol à plusieurs concentrations, la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 734 nm après 10 min d'incubation. L'acide ascorbique et le trolox (Annexe IV) sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Équation 2: Pourcentage d'inhibition d'ABTS.

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.

5.1.3 Activité Reducing power (FRAP)

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**, en effet la méthode est basée sur la réduction des ions ferrique (Fe^{3+}) en complexe en ions ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants qui donnent une couleur bleu.

Un volume de 10 μl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 40 μl d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et 50 μl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%) L'ensemble est incubé à l'étuve à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 50 μl d'acide trichloroacétique (TCA) 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Enfin, un volume de 40 μl d'eau distillée et 10 μl d'une solution de chlorure de fer (0,1%) sont ajoutés.

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique et le trolox sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

5.1.4 Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC)

La méthode CUPRAC est basée sur la réduction du complexe Cuivre-Néocuproïne en présence d'un antioxydant et elle est déterminée selon la méthode d'**Apak et al., (2014)**.

Dans une microplaque à 96 puits, 40 μl de l'échantillon ont été ajoutés à 60 μl de tampon acétate d'ammonium, 50 μl de Néocuproïne, et 50 μl de chlorure de cuivre (CuCl_2) (Annexe V), Après une heure d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 450 nm.

L'acide ascorbique et le trolox sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats ont été calculés à titre d' $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$).

5.2 Activité enzymatique

○ Inhibition de l'alpha amylase

L'activité inhibitrice de l'alpha -amylase a été déterminée par la méthode de Zengin et al., (2014) avec quelques modifications. Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 25 µl d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 50 µl d'une solution d'α-amylase (1U/ml) puis incubé pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 50 µl d'amidon (0,1%) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 minutes à 37°C.

Après incubation, 25 µl d'acide hypochlorique (1M) et 100 µl d'iodure de potassium iode sont ajoutés. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. L'acarbose est utilisée comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l' α-amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = 1 - \left[\frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)} \right]$$

Équation 3: Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase.

Ac : Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

Ae : Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

As : Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

Ab : Absorbance [Extrait+IKI+125 µl de tampon]

5.3 Activité anti-inflammatoire in vitro

L'activité anti-inflammatoire a été déterminée in vitro par la dénaturation thermique de la BSA (Kandikattu *et al.*, 2013) avec quelques modifications. Un volume de 100 µl de chaque extrait a été mélangé avec 100 µl de Bovine Solution de sérum-albumine (0,2 %) préparée dans un tampon Tris-HCl (50 mM, pH 6,6). Le mélange a été laissé au repos pendant 15 minutes à 37° puis chauffer dans un bain mari à 72 °C pendant 5 min. L'absorbance était enregistrée à 660 nm après refroidissement à température ambiante. Le diclofénac sodique a été utilisé comme étalon. L'effet des échantillons contre la dénaturation de la BSA a été présenté comme pourcentages d'inhibition calculés à l'aide de la formule ci-dessous :

$$I (\%) = AC - AS / AC \times 100$$

Où, I : Le pourcentage d'inhibition, AS : l'absorbance de l'échantillon, et AC : absorbance du

contrôle.

5.3 Activité antibactérienne

6. Analyses statistiques

Les résultats des tests *in vitro* effectués sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI50 (Concentration d'inhibition à 50%) et de A0,50 (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)]

Pour la CI50 et [Absorbance = f (concentrations)] pour la A0,50, les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par " test DSH (différence significative honnête) de Tukey" et le test ANOVA univarié. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

Chapitre III :

Résultats et discussion

1. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux

Les valeurs des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux des 5 extraits de la plante *Acacia horrida* : **EC** : extrait classique, **ES** : extrait par sonification, **EM** : extrait par micro-ondes, **DC** : extrait dichlorométhane, **AE** : extrait acétate d'éthyle, **BU** : extrait butanolique respectivement exprimés en μg équivalent.

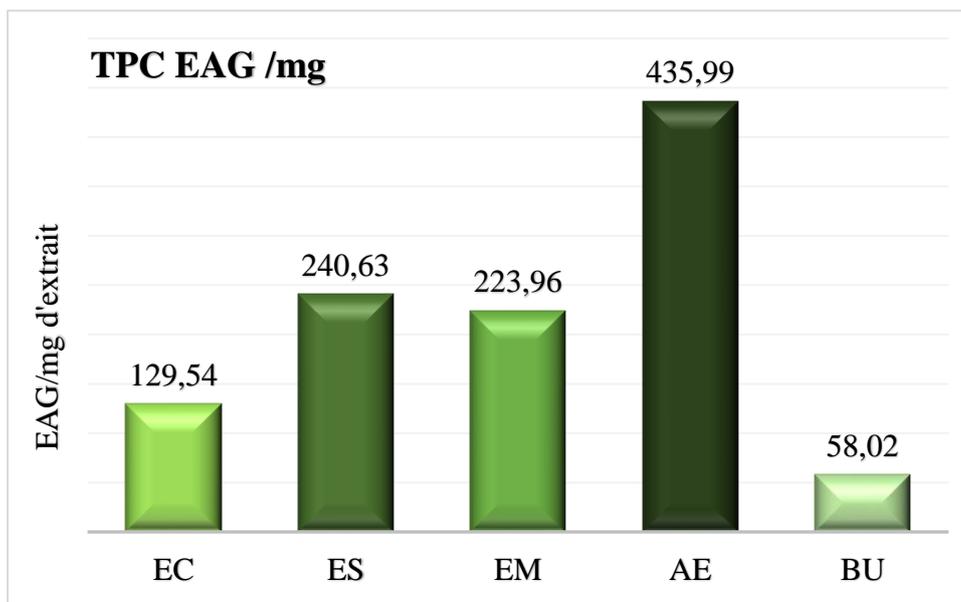


Figure 11: Teneurs en polyphénols totaux.

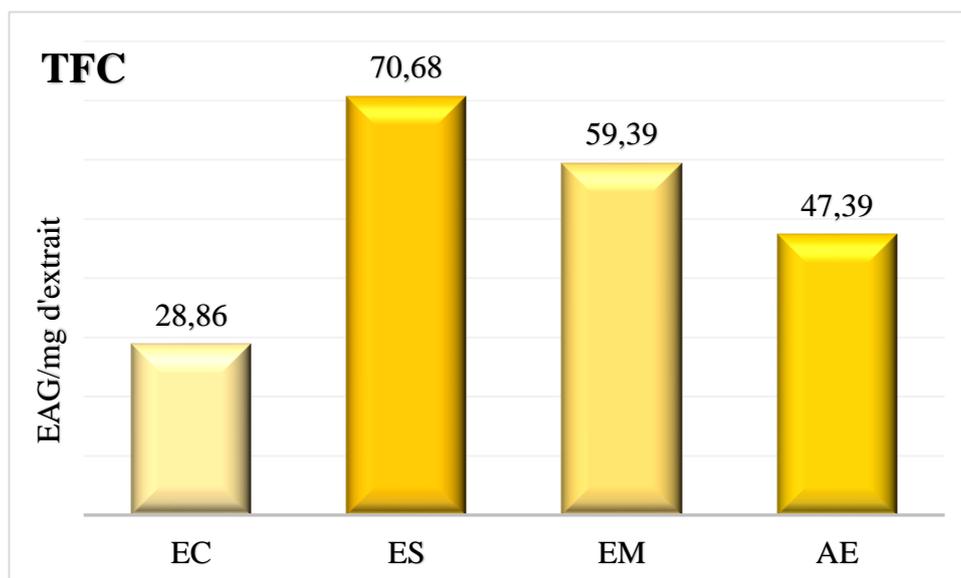


Figure 12: Teneurs en flavonoïdes totaux.

Tableau 1: Teneurs en polyphénols et flavonoïde totaux des 6 extraits d'*Acacia horrida*.

Extraits	Teneur en composés phénoliques ($\mu\text{g EAG/ mg d'extract}$)*	Teneur en composés flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/ mg d'extract}$)*
EC	129,54 \pm 3,8	28,86 \pm 2,62
ES	240,63 \pm 0,57	70,68 \pm 3,43
EM	223,96 \pm 1,07	59,39 \pm 3,41
DC	-	-
AE	435,99 \pm 0,76	47,04 \pm 3,15
BU	58,02 \pm 3,41	-

La teneur en composés phénoliques totaux illustré dans la **figure 11 et le tableau 1** a montré une concentration maximale de l'extrait **AE** : extrait acétate d'éthyle, suivi par 2 extraits de valeur moyenne : **ES** : extrait par sonification (240,63 \pm 0,57), **EM** : extrait par micro-ondes puis (223,96 \pm 1,07). L'extrait **EC** : extrait classique a montré une valeur de relativement faible de composés phénoliques (129,54 \pm 3,8), alors que l'extrait **BU** : extrait butanolique était le pauvre en composés phénoliques.

Il apparaît d'après ces résultats que la grande majorité des polyphénols sont moyennement polaires. Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est d'utiliser des solvants organiques moyennement polaires comme l'extrait **AE** : extrait acétate d'éthyle, alors que l'utilisation d'un extrait plus polaire comme l'éthanol et le butanol a donné la valeur la plus faible de polyphénols.

La teneur en polyphénols totaux de l'étude de **Khelalfa et al. (2020)** faite sur *Acacia horrida* était supérieur avec une valeur de 785.1 mg/g cependant les deux espèces ont été collectés de la même région ; Constantine. Cela est peut-être dû à l'utilisation de l'extraction par ultrasons en utilisant l'acétone comme solvant qui est plus polaire qu'**AE** et moins polaire que le méthanol, pour extraire les polyphénols d'*Acacia horrida* il est préférable d'utiliser la méthode d'ultrasons et un solvant moyennement polaire.

Une autre étude (**Bouazza et al., 2012**) sur cette plante a montré une valeur très faible (98.9g/kg) mais riches en tanins condensés qui sont solubles dans l'alcool, la valeur est proche de celle de l'extrait **EC**.

D'après la **figure 12** l'extrait le plus riche en flavonoïdes est l'extrait **ES** avec une valeur de 70.68, suivi par les deux extraits **EM** ($59,39\pm 3,41$) et **AE** ($47,04\pm 3,15$). L'extrait le plus pauvre en flavonoïdes est l'extrait **EC** ($28,86\pm 2,62$).

D'après ces résultats la sonification a donné un bon rendement de polyphénols et de flavonoïdes par rapport à l'autre méthode micro-ondes.

2. Activités biologiques et antioxydantes.

2.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de la plante *Acacia horrida* a été évaluée par les différentes méthodes suivantes : DPPH, ABTS, FRAP, CUPRIC.

3.1.1. Le teste DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Ce radical est souvent utilisé pour estimer l'activité antioxydante de nombreux composés, dont les composés phénoliques des trois extraits étudiés ici. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 2** et la **figure 13**.

Tableau 2: Inhibition du radical DPPH par les extraits et le standard.

Extraits	EC	ES	EM	DC	AE	BU	Torlox
DPPH	$25,96\pm 3,57$	$16,90\pm 0,70$	$30,57\pm 0,27$	>800	$5,44\pm 1,28$	$69,48\pm 1,82$	$5,12\pm 0,21$

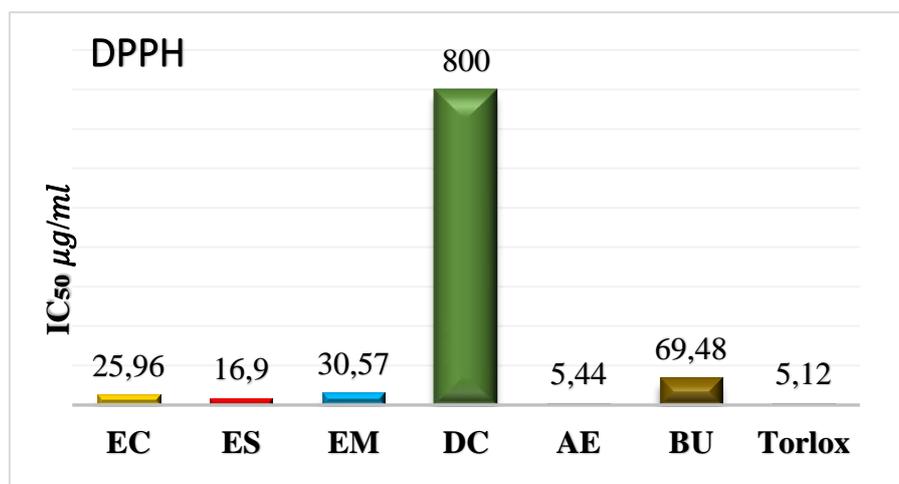


Figure 13: Valeurs des IC₅₀ des extraits en comparaison avec le standard pour le test DPPH

L'effet anti-radicalaire des extraits étudiés représentés par leurs IC₅₀ montre la valeur (5.44µg/ml) pour l'extrait **AE** (acétate d'éthyle) montre un pouvoir antioxydant fort d'une valeur proche de que celle du standard testé Torlox, suivi par les extraits dont le pouvoir antioxydant décroissant **ES** (16.9µg/ml), **EC** (25.95µg/ml), **EM** (30.57µg/ml), **BU** (69.48µg/ml). L'extrait **DC** avait le pouvoir antioxydant le plus faible (>800 µg/ml).

D'après les résultats de DPPH et des TPC, la richesse en polyphénols totaux de l'extrait **AE** est probablement responsable de cette forte activité antioxydante.

Les extraits présentant l'activité antioxydante la plus élevée par DPPH ont des piègeurs de radicaux libres et sont capables de réagir avec le radical DPPH, ce qui pourrait être attribué à leur capacité de donneur d'électrons. La réaction est caractérisée comme un radical libre stable en raison de la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule, de sorte que la molécule ne se dimérise pas, comme ce serait le cas avec la plupart des autres radicaux libres (Gharsellah et Boukaous, 2021).

3.1.2. Le test du piégeage du radical ABTS

L'IC₅₀ et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnelles. Ce test est pratique et le plus populaire, néanmoins, il est limité car ils utilisent des radicaux non physiologiques.

Tableau 2: Résultats de test ABTS.

Extrait	EC	ES	EM	DC	AE	BU	Torlox
IC ₅₀	3,28±0,44	6,68±0,90	8,62±1,32	>800	6,68±0,18	19,74±1.30	3,21±0,06

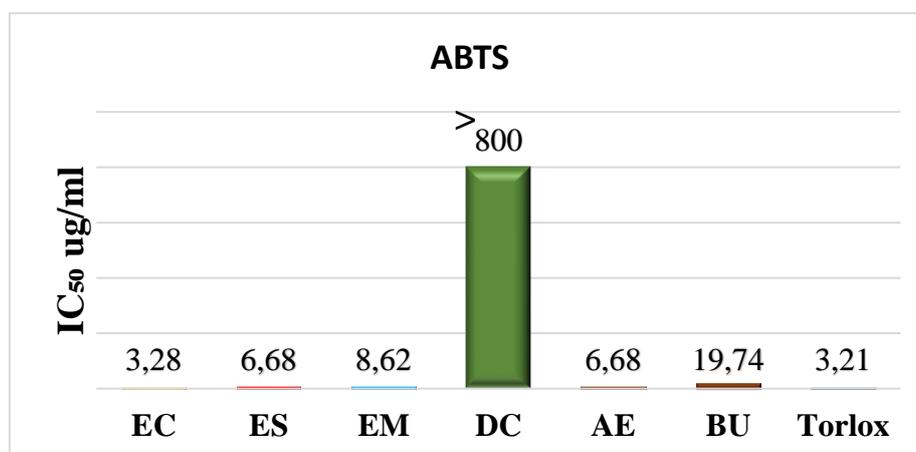
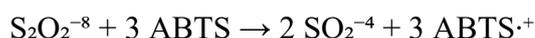
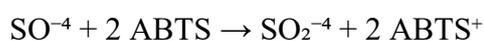


Figure 14: Valeurs des IC₅₀ des extraits en comparaison avec le standard pour le test ABTS

L'effet anti-radicalaire des extraits étudiés représentés par leurs IC_{50} (**Figure 14**), montre la valeur (3.28 $\mu\text{g/ml}$) pour l'extrait **EC** ; une valeur presque identique à celle du standard testé Torlox (3.21 $\mu\text{g/ml}$). Suivi par les extraits : **AE** et **ES** (6.68 $\mu\text{g/ml}$) qui ont un effet antioxydant proche au standard mais un peu inférieur. L'extrait **BU** est relativement faible par rapport aux autres extraits, tandis que **DC** a l'activité la plus faible ($>800\mu\text{g/ml}$).

La pauvreté des extraits BU et DC en polyphénols peut être la cause que son activité antioxydante était faible.

✚ En présence d'ABTS, le radical du sulfate va réagir selon les réactions suivantes :



✚ Le sulfate réagit avec l'ABTS pour générer des radicaux $\text{ABTS}^{\cdot+}$ qui sont plus réactive que celles des DPPH.

De plus l'ABTS est un test efficace pour déterminer l'activité antioxydante des extraits lipophiles ou hydrophiles, grâce à son pouvoir de solubilité dans les solvants aqueux ou organiques, et il n'est pas affecté par la force ionique (**Awika et al, 2003**).

4. Le test du pouvoir réducteur du fer FRAP

Le pouvoir réducteur du Fe^{3+} et Fe^{2+} d'un composé est utilisé pour déterminer la capacité des antioxydants à donner des électrons, qui est l'une des caractéristiques principales des composés phénoliques (**Yıldırım& Kara, 2001**).

Les résultats sont exprimés en termes d' $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) présente dans le **tableau 4**.

Tableau 3: Résultats de test FRAP.

Extraits	EC	ES	EM	Torlox
$A_{0.5}$	14,37±0,94	15,27±2,39	22,92±1,56	5,25 ± 0,20

Les résultats d' $A_{0.5}$ sont illustrés dans ce diagramme (**Figure 15**)

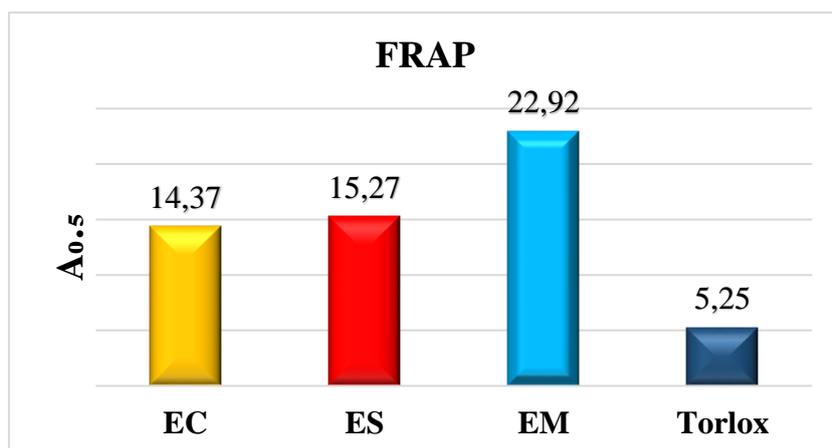


Figure 15: Valeurs des A_{0.5} des extraits en comparaison avec le standard pour le test FRAP

Les 3 extraits ont montré des valeurs proches entre eux mais un peu loin par rapport à celle du Torlox. L'extrait le plus proche au Torlox est EC.

5. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

Le test sert à évaluer la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC), les résultats sont par la suite calculés à titre d'A_{0.5} (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance. Ils sont présentés dans le **tableau 5** et la **figure 16**.

Tableau 4: Résultats du test CUPRIC.

Extraits	EC	ES	EM	Torlox
A _{0.5} (ug/ml)	17,43±0,35	18,62±0,51	29,05±0,5	98,69 ±0,14

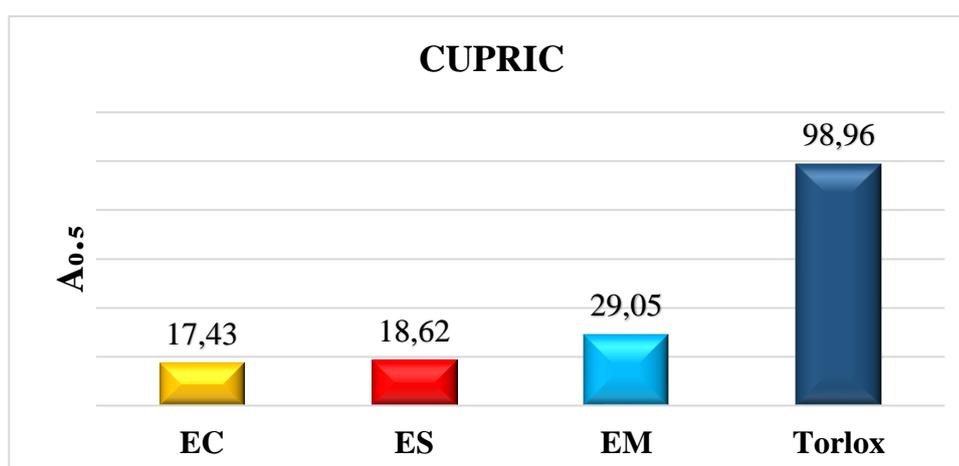


Figure 16: Valeurs des A_{0.5} des extraits en comparaison avec le standard pour le test CUPRIC.

Les trois extraits testés ont montrés des activités réductrices loin de celle obtenue par le Torlox.

1.2.2. Mesure de l'activité antidiabétique

L'alpha-amylase est une enzyme digestive glucidiques catalyse l'hydrolyse des polymères de l' α -D-glucose au niveau des liaisons $\alpha(1-4)$. Cette enzyme est présente dans le pancréas pour exercer son rôle essentiel est la digestion de l'amidon présent dans le bol alimentaire.

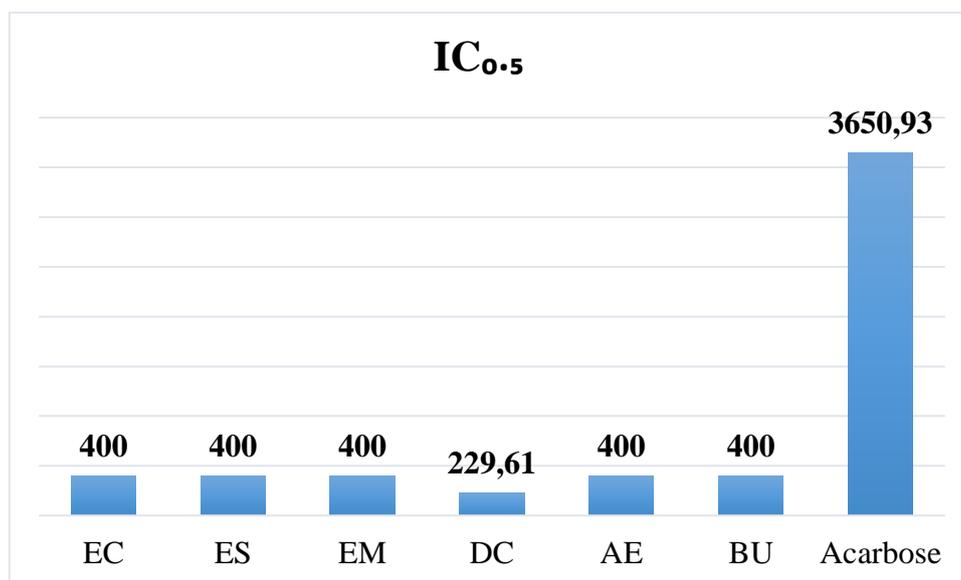


Figure 17: Histogramme comparatif des IC₅₀ des six extraits d'*Acacia horrida* avec le standard Acarbose.

D'après l'histogramme comparatif, tous les extraits testés d'*Acacia horrida* présentent aucun effet antidiabétique faible par rapport au standard acarbose (>400 par rapport à 3650.93 ug/ml) ; les valeurs entre le standard et l'extrait sont incomparables. Les biomolécules de l'extrait de cette plante ont pu inhiber l'alpha-amylase.

L'extrait DC ne présente aucune activité inhibitrice de l'alpha amylase (229.61 ug/ml) en raison de la pauvreté en biomolécules actives en raison de la polarité de ce solvant qui est inférieure à celle des molécules d'intérêts.

1.2.3. Mesure de l'activité anti-inflammatoire

L'activité antiinflammatoire a été mesurée par rapport à un standard anti-inflammatoire DICLOFENAC **figure 18**.

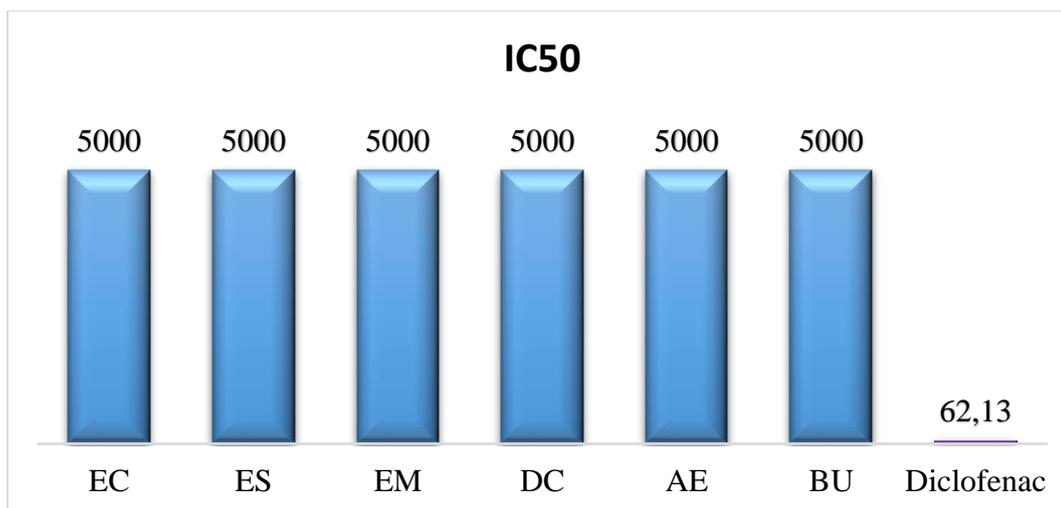


Figure 18: Histogramme comparatif des IC50 des six extraits d'*Acacia horrida* avec le standard Diclofenac.

D'après l'histogramme comparatif, tous les extraits testés d'*Acacia horrida* ne présentent aucun effet anti-inflammatoire par rapport au standard diclofenac (>5000 par rapport à 62.13.ug/ml) ; les valeurs entre le standard et l'extrait sont incomparables. Les biomolécules de l'extrait de cette plante n'ont pas pu inhiber la cyclooxygénase II soit les extraits riches en polyphénols ou celles qui sont pauvres, cette enzyme est responsable de la synthèse de prostaglandine responsable des symptômes d'inflammation.

I.2.5. Mesure de l'activité antimicrobienne

La lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition après 24 heures d'incubation, qui sont représentés par une auréole claire formée autour de chaque disque. Les résultats des cinq extraits dont l'ordre suivant EC, DC, AE, BU, ES illustrés dans la **figure 11**, seulement l'extrait DC et BU qui ont présentait une auréole claire formée autour de disque :

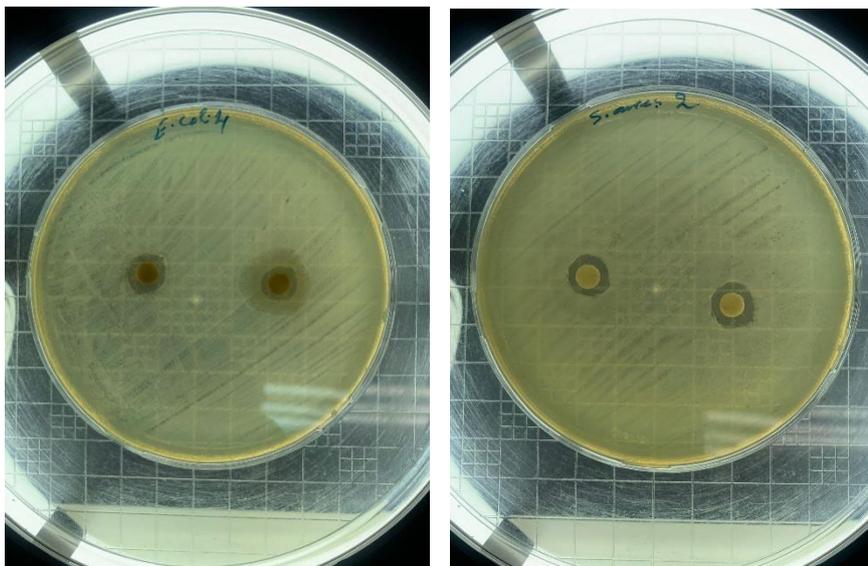


Figure 19: Résultats de l'activité antibactérienne des extraits d'*Acacia horrida*.

- L'extrait DC a une activité antimicrobienne contre la bactérie : *Escherichia coli* ATCC 25922.
- L'extrait BU a une activité antimicrobienne contre la bactérie : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Une étude faite sur un peuple Samburu à Kenya qui vivent selon leurs anciennes traditions qui utilisent les plantes médicinales pour le traitement des diarrhées communes chez eux, parmi ces plantes *Acacia horrida*. Dans cette étude l'extrait de cette plante a montré une activité inhibitrice des croissances des bactéries responsables de la diarrhée ; notamment (*STD 25922*) et *S. aureus* (ATCC 20591) avec un diamètre d'inhibition 18.66mm et 18mm respectivement (**Omwenga et al., 2009**).

L'étude citée en dessus a montré une large gamme d'activité anti-diarrhéique testée sur d'autres espèces *Salmonella typhi* *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* (**Omwenga et al., 2009**).

Acacia horrida présente une activité antibactérienne anti-diarrhéique large contre les bactéries infectieuses de gram négatif (*E. coli*) ou positif (*S. aureus*). L'extrait d'*Acacia horrida* peut être utilisé comme un antibiotique naturel alternatif aux antibiotiques anti-diarrhéiques chimiques.

L'extrait d'*Acacia horrida* est riche en molécules bioactives : Polyphénols, tannins, alcaloïdes... qui sont probablement responsable de cette activité.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

De nos jours, *Acacia horrida* a connu un grand intérêt, elle appartient à la famille des fabacées qui sont des arbustes légumineuses qui se trouvent dans les zones arides ou semi arides de l'Algérie.

Pour valoriser cette plante, six extraits ont été préparés par différentes méthodes d'extraction et de système solvant et différentes activités biologiques ont été évaluées : **EC** : extrait classique, **ES** : extrait par sonification, **EM** : extrait par micro-ondes, **DC** : extrait dichlorométhane, **AE** : extrait acétate d'éthyle, **BU** : extrait butanolique.

En premier lieu, le dosage quantitatif des polyphénols totaux, par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé l'extrait **AE** comme étant l'extrait le plus riche en polyphénols, suivi par le **ES**, **EM** et **EC** et enfin les **BU**, alors que les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes totaux par la méthode au chlorure d'aluminium montrent que l'extrait **ES** présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes totaux suivi par **EM**, **EC**, **AE**.

Il apparaît d'après ces résultats que la grande majorité des polyphénols et des flavonoïdes d'*Acacia horrida* sont moyennement polaires ; soluble dans l'éther d'éthyle. L'extraction par sonification était la meilleur par rapport aux autres méthodes.

L'activité antioxydante a été évaluée par les tests de piégeage de radicaux libre ABTS et DPPH et en mesurant le pouvoir réducteur FRAP et CUPRIC ; l'extrait **AE** avait un pouvoir antioxydant fort qui est probable due à sa richesse en polyphénols. Parmi les tests utilisés ; les deux tests de piégeage de radicaux libres ont été les plus efficaces DPPH et ABTS ; les valeurs des extraits ont étaient proches de celle de standard. Pour les activités biologiques : l'activité antidiabétique par l'inhibition de l'alpha amylase, l'activité anti-inflammatoire par rapport au Diclofénac et l'antibactérienne par inhibition de la croissance des bactéries en mesurant la zone d'inhibition contre les deux bactéries pathogènes : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 par les deux extraits respectivement : **DC**, **BU**. Pour les activités biologiques il a été remarqué une absence d'activité anti-inflammatoire et antidiabétique alors que l'activité anti-oxydante était puissante.

A la lumière de ces résultats, l'extrait de cette plante et en particulier l'extrait **DC** et **BU** peuvent être utilisé comme source naturelle d'antioxydants et antibactérienne.

- Faire des études précliniques *in vivo* afin de prouver les résultats obtenus *in vitro*.

Conclusion et perspectives

- Proposer des formulations agroalimentaires et cosmétiques à base des extraits étudiés comme antioxydants.
- Faire des études sur les autres parties de la plante notamment les fleurs et les graines.

Références bibliographiques

Abbad, R. I., Aouabdia, A., Ghimouz, C., & Zellagui, A. (2022). Caractérisations et activités biologiques de substances naturelles de l'espèce *Quercus* sp.

Abbasi, K., Becheikha, A., Labraou, A., & Oouabri Mabrouka, S. (2023). Caractérisation, activités biologiques et effet de l'*Opuntia ficus-indica* et *Rosmarinus officinalis* sur l'obésité individuelle.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2017). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutases μ rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74 : 636–643.

Amoussa, A. M. O., Sanni, A., & Lagnika, L. (2020). Chemical diversity and pharmacological properties of genus *Acacia*. *Asian J. Appl. Sci*, 13, 40-59.

Angiosperm Phylogeny Group. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 105-121.

Ashley T.N., Weil Z.M., Nelson R.J. (2012). Inflammation: mechanisms, costs and natural variation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 43, 385-406.

Ayoka, T. O., Ezema, B. O., Eze, C. N., & Nnadi, C. O. (2022). Antioxidants for the Prevention and Treatment of Non-communicable Diseases. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 7(3), 178-188.

Belkoucem, M., Boubrioua, S., & Ayad, R. E. (2022). Analyse quantitative des extraits bioactifs d'une Fabaceae : Activité antioxydante et photoprotective (Doctoral dissertation, Université de jijel).

Ben Abdallah, R. B., Frikha, D., Maalej, S., & Sassi, E. S. (2019). Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. 7.

Benbrahim, K. F., Berrada, H., El Ghachtouli, N., & Ismaili, M. (2014). Les acacias: des plantes fixatrices d'azote prometteuses pour le développement durable des zones arides et semi-arides [Acacia: Promising Nitrogen fixing trees for sustainable development in arid and semi-arid areas]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8(1), 46.

Berrekbia, M. T., & Medaci, O. (2023). Élimination du benzène, toluène et composé phénolés à partir de l'eau usée industrielle : synthèse bibliographique (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah Ouargla).

Bertholle, F., & Bibette, J. (2010). *Milli-fluidique digitale pour la microbiologie* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie UPMC Paris VI).

Bouazza, L., Bodas, R., Boufennara, S., Bousseboua, H., & López, S. (2012). Nutritive evaluation of foliage from fodder trees and shrubs characteristic of Algerian arid and semi-arid areas. *Journal of animal and feed sciences*, 21(3), 521-536.

Boutaghane N., 2013. Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (sch.Bip.) coss. & kralik ex Batt (Asteraceae). Thèse de doctorat, université de Constantine 1, pp. 16-156.

Brainina, K., Stozhko, N., & Vidrevich, M. (2019). Antioxidants: Terminology, methods, and future considerations. *Antioxidants*, 8(8), 297.

Chenivesse, C., & de Nadaï, P. (2020). Épidémiologie et physiopathologie de l'inflammation de type 2 dans l'asthme sévère : Epidemiology and pathophysiology of type 2 inflammation in severe asthma. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 12(2), 2S385-2S391.

Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia university press. Spichiger R. E., Savolainen V. V., Figeat M., Jeanmoned D. 2002. Botanique systématique des plantes à fleur. Presses polytechniques et Universitaires romandes, CH – Lausanne.

Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8094-8104.

DEBAB, M. (2020). Analyse pollinique et activités biologiques de la propolis de l'Ouest Algérien (Doctoral dissertation).

Debbi, A., & Guerrouche, I. (2019). Contribution à l'étude des statuts mycorrhiziens de quelques plantes de Fabaceae de la région de M'sila (Algérie) (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

El Amin, H. M. (1990). Trees and shrubs of the Sudan. Ithaca press.

El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., El-Mleeh, A., M. Abdel-Daim, M., & Prasad Devkota, H. (2020). Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L.(Fabaceae). *Biomolecules*, 10(3), 352.

Fouhma, M., Merabet, M. E., & Sedrati, N. (2022). Evaluation in vitro et in silico de l'activité antidiabétique des dérivés de ferrocénylméthylacétylaniline.

Gaston, E. (2016). Les polyphénols du vin rouge : des propriétés pour prévenir les cancers. Thèse Pour L'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Bordeaux. HAL Id: dumas-01267044.

Gharsellah, K & Boukaous, R.(2021).Phytochemical study and biological applications of *Opuntia ficus-indica* as an anti-aging agent (Mémoire de master, Université de Constantine 1).

Ghedira K (2005). Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

Gnagne, A. S., Camara, D., Bene, K., & Zirihi, G. N. (2017). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans le Département de Zouénoula (Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 113, 11257-11266.

Gormo, J., & Nizesete, B. D. (2013). Des végétaux et leurs usages chez les peuples du Nord-Cameroun : sélection et mode d'emploi du XIX^e au XX^e siècle. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, 20, 587-607.

Habellah, R. M., Karoune, S., Kechebar, M. S. A., & Bounab, H. (2016). Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'*Acacia ehrenbergiana* de la région de Tindouf. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA) No, 13(1)*.

Haioun, A., & Hamoudi, F. Z. Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet cardioprotectrice contre la toxicité de la doxorubicine, Mémoire Master, Université des Frères Mentouri Constantine, ALGERIE. 2015; 105.

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31(4), 261-272.

Hareb, A. (2020). Approche bibliographique concernant le dosage et l'extraction de composés phénoliques du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Hussain, M. M. (2019). A mini review on the chemical compounds of the genus *Acacia*. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 22(2), 235-242.

Khelalfa, K., Arhab, R., Martín García, A., Zaabat, N., & Belanche, A. (2020). Effect of *Acacia* purified tannins extract and polyethylene glycol treatment on in vitro ruminal fermentation pattern and methane production. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol*, 28(2), 50-62.

Kheloufi, A. (2022). Inventaire, description et germination des ressources fourragères ligneuses du genre *Acacia* en Algérie-Synthèse de données. *Livestock Research for Rural Development*, 34(3).

Lahdachi, F. Z., Nassiri, L., Ibijbijen, J., & Mokhtari, F. (2015). Aperçu sur les acacias spontanés et introduits au Maroc. *European Scientific Journal*, 11(23).

Lefevre, M., Godeski, F., Bernier, J. S., Hacard, F., Jaulent, C., Nicolas, J. F., & Nosbaum, A. (2020, December). Bloquer l'inflammation de type 2 par le dupilumab améliore la dermatite de contact aux protéines. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 147, No. 12, p. A169). Elsevier Masson.

Mariita, R., Ogol, C. K. P. O., Oguge, N., & Okemo, P. (2010). Antitubercular and phytochemical investigation of methanol extracts of medicinal plants used by the Samburu community in Kenya. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(4).

Maroyi, A. (2023). Medicinal uses of the Fabaceae family in Zimbabwe: A review. *Plants*, 12(6), 1255.

Mebirouk-Boudechiche, L., Cherif, M., Boudechiche, L., & Sammar, F. (2014). Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie. *Revue Méd. Vét*, 165(11), 344-352.

Mkaouar, R., Saadaoui, E., & Ben Jamaa, M. L. (2014). Premières observations sur le papillon du grenadier *Virachola livia* sur les brise-vents d'*Acacia* au sud tunisien. SESSION 5: Aridoculture biologique et production des cultures 1749.

Moumou, F., & Braik, N. (2018). Mise au point et validation d'une méthode de dosage simultané de deux antidiabétiques oraux : Metformine et Sitagliptine par HPLC. Application du protocole SFSTP 2006 (Doctoral dissertation, UMMTO).

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 178, 687-704.

Nkhili Zohra (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interaction avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant ; thèse Doctorat.

Omwenga, E., Okemo, P., Mbugua, P., & Ogol, C. K. P. (2009). Ethnobotanical survey and antimicrobial evaluation of medicinal plants used by the Samburu community (Kenya) for treatment of diarrhoea. *Pharmacognosy magazine*, 5(18), 165.

Pincemail, J., Degruene, J., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., Defraigne, J.O. (2017). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolique*. 21: 66-75.

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 (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne [2017-2020]).

SAIDI, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).

Srifi, A., Rahmouni, B., Boudida, E. H., Alaoui, K., Cherrah, Y., Idrissi, A. I., ... & Lmimouni, B. (2013). Étude phytochimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de quatre espèces du genre *Nepeta* du Maroc. *Phytothérapie*, 11(3), 161-171.

Subhan, N., Burrows, G. E., Kerr, P. G., & Obied, H. K. (2018). Phytochemistry, ethnomedicine, and pharmacology of *Acacia*. *Studies in Natural Products Chemistry*, 57, 247-326.

Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., & Coulibaly, A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied biosciences*, 58, 4234-4242.

Wikipedia A: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide-ph%C3%A9nol>

Wikipédia B: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Flavone>

Wikipédia C: https://fr.wikipedia.org/wiki/Tanin_condens%C3%A9

Yıldırım, A., Mavi, A., & Kara, A. A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 4083-4089.

Zirmi-Zembri, N., & Kadi, S. A. (2016). Valeur nutritive des principales ressources fourragères utilisées en Algérie. 1-Les fourrages naturels herbacés. *Livestock Research for Rural Development*, 28(8).

Résumé

Résumé

La présente étude contribue à la valorisation d'une plante médicinale "*Acacia horrida*" par l'évaluation de ses propriétés chimiques et biologiques à savoir : l'activité antioxydante et enzymatique des extraits.

Trois méthodes d'extraction ont été effectuées, par : ultrasons, macération et micro-ondes, cette étude prouve l'efficacité et le bon rendement de l'extraction par ultrasons par rapport aux : macération et micro-ondes. Aussi différents systèmes solvant ont été utilisés à fin d'extraire les molécules bioactives déterminer la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux et pour mesurer l'activité antioxydante et les activités biologiques à savoir, l'activité anti-inflammatoire, l'antidiabétique et l'antimicrobienne.

D'une part l'activité antioxydante a été mesurée par différents tests : de piégeage des radicaux libres : DPPH et ABTS ou par le pouvoir réducteur CUPRAC et FRAP. Les tests de piégeage ont été les plus efficaces. Le criblage phytochimique de ces extraits a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires : les polyphénols et flavonoïdes totaux en abondance dans l'extrait **AE (acétate d'éthyle)**, qui sont probablement les responsables de la forte activité antioxydante observée dans le même extrait.

D'autre part les extraits de cette plante n'ont démontrés aucune activité antidiabétique, ni anti-inflammatoire par contre l'activité antibactérienne était présente dans les deux extraits **DC (dichlorométhane)** et **BU (extrait butanolique)**.

Mots clés : *Acacia horrida*, activité antioxydante, activités biologiques, extraction.

Abstract

This study aims to value a medicinal plant "*Acacia horrida*" for the evaluation of chemical and biological properties of this plant : antioxidant and enzymatic activities.

Three methods of extraction has been effected with : ultrasonification, maceration and microwave. Also different solvent systems was used to extract bioactives molecules and define total phenolic and total flavonoïdes contents, antioxidant and biological activities : antidiabetic, anti-inflammatory and antibacterien activities was measured.

On one hand antioxidant activity was measured by different tests : free radical scavenging essays (DPPH and ABTS) and reducing power essays (FRAP and CUPRAC), results showed that scavenging tests were more efficient. Phytochemical screening of *Acacia* extracts allowed to highlight the presence of secondary metabolites : polyphenols and flavonoïdes, in abundance in the extract **AE (Ethyl acetate)**, which are probably the responsible of the high antioxidant activity observed in the same extract.

On the other hand extracts of *Acacia* didn't showed any antidiabetic neither anti-inflammatory activities, on the contrary the two extracts **DC** (Dichloromethane extract) and **BU** (Butanolic extract) showed antibacterien activity against *E.coli* and *S.aureus* in respectively.

Key words : *Acacia horrida*, antioxidant activity, biological activities, extraction.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تثمين النبات الطبي *Acacia horrida* وذلك بتقييم الخصائص البيولوجية، المضادة للأكسدة والإنزيمية.

ثلاث طرق للإستخلاص استعملت: الموجات فوق الصوتية، طريقة النقع وطريقة الموجات الصغرى micro. كذلك عدة أنظمة مذيبيات لاستخراج نواتج الأيض الثانوي وقياس محتوى البوليفينولات و الفلافونويدات. كذلك تم قياس الخاصية المضادة للأكسدة والخصائص البيولوجية.

من جهة تم قياس النشاط المضاد للأكسدة عن طريق: محاصرة الجذور الحرة (DPPH , ABTS) وقياس القدرة الإرجاعية (FRAP, CUPRAC), النتائج بينت أن طرق المحاصرة كانت أفضل لقياس هذا النشاط. الغرلة الكيميائية للمستخلصات بينت وجود نواتج الأيض الثانوي بكثرة في مستخلص اسيتات ايثيل والتي من المحتمل أنها المسؤولة عن قوة النشاط المضاد للأكسدة في هذا المستخلص.

من جهة أخرى مستخلصات *Acacia* ليس لها خاصية ضد السكري ولا ضد الالتهاب على عكس الخاصية المضادة للبكتريا التي اظهرتها نتائج المستخلصين ديكلوروميثان وبوتانوليك ضد *E.coli* و *S.aureus* بالترتيب.

الكلمات المفتاحية: *Acacia horrida*، النشاط المضاد للأكسدة، النشاطات البيولوجية، الإستخلاص.