



**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**N série:.....**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de biologie**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques

Spécialité : Biologie et Valorisation des Plantes

## **THEME**

Contribution à l'étude phytochimique et biologique  
de la plante *Albizia lebeck* (L) Benth (labakh) cultivée  
dans une zone saharienne à la région d'El-Oued

**Présentés Par :**

**M<sup>elle</sup> Litiem Ouacila**

**M<sup>elle</sup> Zelaci Imene**

**Soutenue le : 29 Mai 2016 devant la jury composé de :**

**Président : Mr. Laiche. Khaled**

**M.A.A, Université d'El Oued.**

**Examineur : Mr. Acila smail**

**M.A.A, Université d'El Oued.**

**Promoteur : Mr. Allali Ahmed**

**M.A.A, Université d'El Oued.**

**Année universitaire 2015/2016.**

## *Dédicace*

*On a le plaisir de dédier le fruit de notre étude à :  
Nos parents, qui ont œuvré pour nos réussites, de par  
leurs amours, leurs soutiens, leurs les sacrifices  
consentis et leurs précieuse conseils, pour toute leurs  
assistances et leurs présences dans notre vie, reçoivent  
à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de  
nos sentiments et de gratitude*

*Nos frères et sœurs qui n'ont cessé d'être pour nous des  
exemples de persévérance, de courage et de générosité.  
Ainsi que tous les amis (es) de la promotion Biologie et  
valorisation de plante.*

*Et à toute la famille de **Litiem** et **Zelaci**.*

# **Remerciements**

*Notre premier remerciement va à notre grand dieu qui nous a aidé et donné la patience et le courage pour faire ce modeste travail.*

*On tient à remercier notre encadreur de mémoire, Monsieur **ALLALI AHMED**.*

*Recevez ici nos sincères remerciements pour avoir accepté de nos encadreur et pour la confiance, les conseils que vous n'avez accordés tout le long de ce travail. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse. Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de jury : Monsieur **LAICHE KHALED**, Monsieur **ACILA SMAIL**, Recevez nos plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail..*

*Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui travaillent dans le laboratoire de chimie au département des sciences et technologies et surtout à **TLIBA ALI** ingénieur de laboratoire de recherche (BTRS) et Monsieur **CHUIKH ATEF** et mademoiselle **KADRI MOUNIRA**.*

*Nous remercions tous les membres des laboratoires de biologie pour leur aide précieuse.*

*A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.*

## Résumé

Le but de ce travail est de contribuer à la valorisation de la plante *Albizia lebbbeck* (L) Benth dans notre région saharienne. Cette plante appartenant à la famille des fabacées qui poussent dans les régions tropicales et semi-tropicales. Ce travail est fait sur plusieurs paramètres tels que les dosages colorimétriques, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de cinq parties (feuilles, tiges, gousses, graines et racines) de la plante aux différents âges (21 ans et 4 ans).

Nos résultats ont montré qu'il n'y a pas des différences significatives entre la plante âgée de 21 ans et de 4 ans d'*Albizia lebbbeck* vis-à-vis la plupart des dosages colorimétriques qu'on a fait, les polyphénols, les flavonoïdes et les protéines, tandis que des différences très hautement significative ont été montrée pour les glucides entre les différents âges de la plante d'*Albizia lebbbeck* (21 ans et de 4 ans), ceci revient à l'irrigation de la plante de 4 ans plus que celle de 21 ans.

**Mot clé:** *Albizia lebbbeck* (L) Benth, Polyphénols Totaux, Les Flavonoïdes, Les Glucides, Les Protéines, L'Activité Antioxydante, L'Activité Antibactérienne.

## Abstract

The purpose of this work is to contribute in the valorization of the plant *Albizia lebbbeck* (L) Benth in our Saharan region. This plant belonging to the Fabaceae family that grows in tropical and semi-tropical regions. Our work is done on different parameters which are colorimetric assays, antioxidant activity and antibacterial activity of five parts (leaves, stems, pods, seeds and roots) of the plant at different ages (21 years and 4 years).

Our results showed that there are no significant differences between the plant aged 21 years and 4 years of *A. lebbbeck* against the most colorimetric assays that we have done, polyphenols, flavonoids and protein, while very highly significant differences were shown for carbohydrates between the different ages (21 years and 4 years) of the plant *Albizia lebbbeck*, this amounts to the irrigation of the plant aged 4 years more than that of 21 years old.

**Key word:** *Albizia lebbbeck* (L) Benth, Total Polyphenols, Flavonoids, Carbohydrates, Proteins, The Antioxidant Activity, The Antibacterial Activity.

## المخلص

يهدف هذا العمل إلى المساهمة في تميم أهمية نبات *Albizia lebbbeck* (L) Benth في منطقتنا الصحراوية. هذه النبتة تنتمي إلى العائلة البقولية التي تنمو في المناطق الاستوائية و الشبه استوائية. في هذا العمل قمنا بالتقدير الكمي للعديد من المركبات بالإضافة إلى تقدير النشاط المضاد للأوكسدة و النشاطية المضاد للبكتيريا، على 5 أجزاء (الأوراق، السيقان، قرون، البذور و الجذور) لهذا النبات في أعمار مختلفة وهي 21 سنة و 4 سنوات.

أظهرت النتائج التي حصلنا عنها انه لا يوجد اختلاف معنوي بين النبات في عمر 21 سنة وفي عمر 4 سنوات بالنسبة لمعظم التقديرات الكمية التي قمنا بها، و هي البوليفينول، الفلافونويد والبروتين، بينما أظهرت اختلافات جد معنوية بالنسبة للكربوهيدرات بين العمرين المختلفين للنبات وهذا يمكن تفسيره على أن النبتة ذات 4 سنوات كانت تسقى بالماء أكثر من النبتة ذات 21 سنة.

**الكلمات المفتاحية:** *Albizia lebbbeck* (L) Benth، عديد الفينول، الفلافونويدات، الكربوهيدرات، البروتينات، النشاطية المضادة للأوكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا.

## SOMMAIRE

Introduction générale .....	13
1 Caractéristiques photochimiques : .....	16
1.1 Les antioxydants .....	16
1.1.1 Les radicaux libres et le stress oxydant : .....	16
1.1.2 Les radicaux libres : .....	16
1.1.2.1 Origine et destinée des ERO : .....	16
1.1.2.2 Les Différents Radicaux Libres Oxygénés : .....	17
1.1.2.2.1 Le Radical Anion Superoxyde $O_2^{\bullet -}$ : .....	17
1.1.2.2.2 Le peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$ : .....	18
1.1.2.2.3 Le radical hydroxyle $\bullet OH$ : .....	18
1.1.2.2.4 Oxyde nitrique $NO\bullet$ : .....	18
1.1.2.2.5 Nitrique dioxyde $NO_2$ : .....	19
1.1.3 Marqueurs du stress oxydatif : .....	19
1.1.3.1 Oxydation des protéines : .....	19
1.1.3.2 Peroxydation lipidique : .....	19
1.1.3.3 Dommages de l'ADN : .....	20
1.1.3.4 Systèmes De Défense Antioxydants : .....	20
1.1.3.5 Système Antioxydants Enzymatiques : .....	20
1.1.3.5.1 Superoxide dismutase : .....	20
1.1.3.5.2 Catalase : .....	20
1.1.3.5.3 Glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GR) : .....	21
1.1.3.6 Systèmes antioxydants non enzymatiques : .....	21
1.1.3.6.1 Vitamine E : .....	21
1.1.3.6.2 Vitamine C (acide ascorbique) : .....	21
1.1.3.6.3 Vitamine E (tocophérols) : .....	22
1.1.3.6.4 Glutathion : .....	22
1.1.3.6.5 Le bêta-carotène (provitamine A) : .....	22
1.1.3.6.6 Oligoéléments : .....	23
1.2 Métabolites secondaire .....	23
1.2.1 Définition des plantes médicinales .....	23
1.2.2 Définition des principes actifs .....	23
1.2.3 Différents groupes des principes actifs .....	24
1.2.3.1 Polyphénols .....	24

1.2.3.2	Acides phénoliques :	24
1.2.3.3	Flavonoïdes :	25
1.2.3.4	Tanins.....	26
1.2.3.5	Lignines.....	27
1.2.3.6	Les anthocyanines.....	27
1.2.3.7	Les saponines :	27
1.2.3.8	Alcaloïdes.....	27
1.2.3.9	Terpènes et stéroïdes.....	28
1.2.3.10	Les Polysaccharides :	29
1.2.3.11	Les vitamines :	29
1.2.3.12	Huiles essentielles :	29
2	Présentation de la plante étudiée <i>Albizzia lebeck</i> (L.) Benth.....	31
2.1	L’histoire de l’arrivée de cette plante a notre région :	31
2.2	Les caractéristiques de la région d’El-Oued :	31
2.3	Notion sur la famille des Fabacée (Légumineuses) :	31
2.4	Notion sur la plante étudiée <i>Albizzia lebeck</i> (L.) Benth.....	32
2.4.1	Habitat :	32
2.4.2	Noms vernaculaires :	33
2.4.3	La morphologie de la plante :	34
2.4.3.1	Les feuilles :	34
2.4.3.2	Le bois :	34
2.4.3.3	L’écorce :	34
2.4.3.4	Les racines :	35
2.4.3.5	Les fleurs :	35
2.4.3.6	Les gousses :	35
2.4.3.7	Les graines :	36
2.4.4	La germination :	36
2.5	Composition chimique de la plante :	37
2.6	L’utilisation traditionnelle de l’ <i>A. lebeck</i> :	37
	Conclusion du chapitre 2:.....	39
3	Matériels et Méthodes.....	41
3.1	Matériels vivant.....	41
3.2	Matériels non vivants :.....	41
3.3	Réactifs chimiques et solvants :.....	42

3.4	Extraction :	42
3.4.1	Préparation des extraits éthanoliques :	42
3.4.2	Détermination du rendement	45
3.5	Dosages des composés phynoliques, des glucides et des protéines :	45
3.5.1	Polyphénols totaux :	45
3.5.2	Dosage des flavonoïdes :	46
3.5.3	Dosage des protéines :	46
3.5.4	Dosage des glucides :	47
3.5.5	Activité biologique :	47
3.5.5.1	Test du DPPH :	47
3.5.5.2	Activité antibactérienne	48
3.5.5.2.1	Souches bactériennes :	48
3.5.5.2.2	Antibiotiques :	49
3.5.5.2.3	Milieux de culture :	49
3.5.5.2.4	Préparation des solutions :	49
3.5.5.2.5	Préparation des disques	49
3.5.5.2.6	Préparation de l'inoculum bactérien :	49
3.5.5.2.7	Ensemencement :	49
3.5.5.2.8	Incubation :	50
3.6	Etude statistique :	50
4	Résultats et Discussions	52
4.1	Les extraits :	52
4.2	Teneurs en polyphénols totaux :	53
4.3	La teneur en flavonoïdes	55
4.4	Teneur en protéine :	56
4.5	Teneur en glucides :	59
4.6	Activité antioxydants :	60
4.6.1	Test de piégeage du radical libre DPPH :	60
4.6.2	L'activité antimicrobienne :	62
	Conclusion du Chapitre 4:	65
	Conclusion générale et perspective	67
	REFERENCES	69
	ANNEXE	76

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> :Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie [9].	17
<b>Figure 2</b> :structure d'acide ascorbique	22
<b>Figure 3</b> :Structure de base des acides benzoïque et cinnamique	24
<b>Figure 4</b> : Exemple d'alcaloïde la morphine.	28
<b>Figure 5</b> :Unité isoprénique.	28
<b>Figure 6</b> :Structure de noyau stéroïde.	29
<b>Figure 7</b> : la distribution géographique de la plante dans le monde [64].	33
<b>Figure 8</b> : la plante <i>Albizia lebbbeck(L.)Benth</i> (photo originale).	34
<b>Figure 9</b> : les feuilles d' <i>Albizia lebbbeck(L) Benth</i> (photo originale).	34
<b>Figure 10</b> : les fleurs d' <i>Albizia lebbbeck (L) Benth</i> (photo originale).	35
<b>Figure 11</b> : les gousses d' <i>Albizia lebbbeck(L) Benth</i> (photo originale).	36
<b>Figure 12</b> : les graines d' <i>Albizia lebbbeck(L) Benth</i> (photo originale).	36
<b>Figure 13</b> : rota vapeur	43
<b>Figure 14</b> : Protocole de préparation d'extrait éthanolique par macération.	43
<b>Figure 16</b> : UV-VIS Spectrophotomètre.	46
<b>Figure 17</b> : Réaction du radical DPPH avec un phénol.	48
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	54
<b>Figure 19</b> : courbe d'étalonnage de la Quercetine.	55
<b>Figure 20</b> : courbe d'étalonnage de Bovine Serum Albumin.	58
<b>Figure 21</b> : courbe d'étalonnage du glucose.	59
<b>Figure 22</b> : Activité antioxydante (AAO) des dix extraits d' <i>A. lebbbeck (L) Benth</i>	61
<b>Figure 23</b> : la courbe de la corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydant des dix extraits.	61



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Représente la structure de base des principaux flavonoïdes. ....	26
<b>Tableau 2</b> : Classification d' <i>Albizia Lebbeck</i> (L.) Benth [69]. ....	33
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques des bactéries utilisées. ....	49
<b>Tableau 4</b> : Rendement, couleurs et aspects des dix extraits obtenues par Macération. ....	52
<b>Tableau 5</b> : la teneur des extraits éthanolique en polyphénols et flavonoïdes . ....	53
<b>Tableau 6</b> : la teneur des extraits éthanolique en protéines et glucides. ....	57
<b>Tableau 7</b> : Pourcentage d'inhibitions (I%) contre le radical libre DPPH des ....	60
<b>Tableau 8</b> : Zones d'inhibition des 4 souches bactérienne testées en fonction des 4 concentrations de 6 extraits (EtOH) déférente. ....	62
<b>Tableau 9</b> : Diamètres d'inhibition en (mm) des 4 souches bactérienne testées en fonction des 3 antibiotiques. ....	63

## LISTE DES ABREVIATIONS

**%** : Pourcentage

**µg E AG/mg de MS** : µg Equivalent Acide Gallique Par mg De Matière Sèche

**µg E BSA/mg de MS** : µg Equivalent BSA par mg de matière sèche

**µg E G/mg de MS** : µg Equivalent Glucose par mg de matière sèche

**µg E Q/mg de MS** : µg Equivalent Quercitine par mg de matière sèche

**µl** : Micro Litre

**AAO** : Activité Anti-Oxydante

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AGPI** : Acides Gras Polyinsaturés

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'Aluminium

**ATB** : Antibiotique

**ATCC**: American Type Culture Collection

**BSA**: bovine serum albumin

**C°**: Degré Celsius

**DMSO**: Diméthyl Sulfoxyde

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

**ERO** : D'espèces Réactives Oxygénées

**EtOH**: Éthanol

**GPx** : La Glutathion Peroxydase

**GR** : La Glutathion Réductase

**GSH** : Glutathion Réduit

**GSSG** : Glutathion Oxydé

**mg** : Milligramme

**mm** : Millimètre

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Carbonate De Sodium

**NCCLS**: National committee for clinical laboratory standards

**PL** : Phospholipides

**PPT**: Poly Phénol Totaux

**PTP** : Port De Transition De Perméabilité

**ROS**: Reactive Oxygen Species

**SOD**: Superoxyde Dismutase

## GLOSSAIRE

**Alexipharmaque** : remède prévenant l'effet de poisons ingérés.

**Analgésique** : est un médicament qui prévient ou diminue la sensation de douleur.

**Anaphylaxie** : Sensibilisation à une substance, telle que l'introduction d'une nouvelle dose.

**Anticonvulsivant** : médicament utilisé pour traiter les convulsions (épilepsie), qui sont des contractions involontaires dû à l'activation subite et intense de neurones cérébraux induisant des mouvements localisés ou généralisés à tout le corps.

**Antidysentérique** : remède employé contre la dysenterie.

**Antipyrétique** : sont des médicaments dont le but est de lutter contre un symptôme, la fièvre.

**Antiseptique** : c'est une substance qui tue ou prévient la croissance des bactéries, champignons et des virus (micro-organismes) sur les surfaces externes ou internes du corps.

**Antituberculeux** : Qui est propre à combattre la tuberculose.

**Anxiétés** : état de trouble psychique, plus ou moins intense et morbide.

**Helminthiases** : est un terme désignant les maladies parasitaires, causées par des vers parasites intestinaux.

**L'arthrite** : désigne l'inflammation d'une articulation.

**L'asthme** : est une maladie chronique caractérisée par une inflammation (ou irritation) des bronches.

**La syphilis** : est une infection sexuellement transmissible due à une bactérie appelée tréponème pâle (*Treponema pallidum*).

**Nootropique** : plantes et substances diverses qui améliorent la cognition.

**Ostrogénique** : assurant la formation, le maintien et le fonctionnement des organes génitaux.

**Vermifuge** : Se dit d'un médicament qui provoque l'expulsion des vers parasites.



**INTRODUCTION  
GENERALE**

## Introduction générale

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations, l'homme depuis les plus anciennes civilisations, s'est intéressé aux plantes médicinales et a essayé de les utiliser pour répondre à ses interrogations et à sa curiosité.

A travers les siècles, il a pu grâce à ses expériences et son intelligence accumuler un savoir important et diversifié sur les vertus médicinales des plantes.

De nos jours, nul ne peut ignorer que le traitement traditionnel à base de plantes, trouve un accueil favorable auprès des populations non seulement du fait qu'il est hérité des ancêtres mais parce qu'il a prouvé son efficacité au fil des temps [1].

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices, comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant, cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie, Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes [2].

Parmi les plantes médicinales qui ont une réputation remarquable en raison de sa nourriture, aliments pour animaux, et la valeur médicinale, on mentionne la plante *Albizia lebbek*, qui est considérée comme un alexipharmaque puissant, et chaque partie de celui-ci est prescrit pour le traitement des morsures et piqûres d'animaux venimeux. Ses feuilles sont signalés à être bon pour les maladies ophtalmiques, la cécité nocturne, la syphilis et l'ulcère, le froid, la toux et des troubles respiratoires [2]

Les feuilles sont également utilisées comme fourrage pour le bétail, le paillis et du fumier en raison de teneurs élevées en azote. L'écorce est amère, vermifuge, et guérit les maladies du sang, démangeaisons, maladies de la peau, la transpiration excessive, l'inflammation, la bronchite et les maux de dents et renforce les gencives et les dents; il est utilisé pour la lèpre, la surdité, les furoncles, la gale, la paralysie, et la faiblesse. Après séchage et broyage, il est utilisé comme substitut du savon. Ses racines soulagent les spasmes et stimulent le système cardio-vasculaire, en plus des propriétés anticancéreuses et spermicides [3].

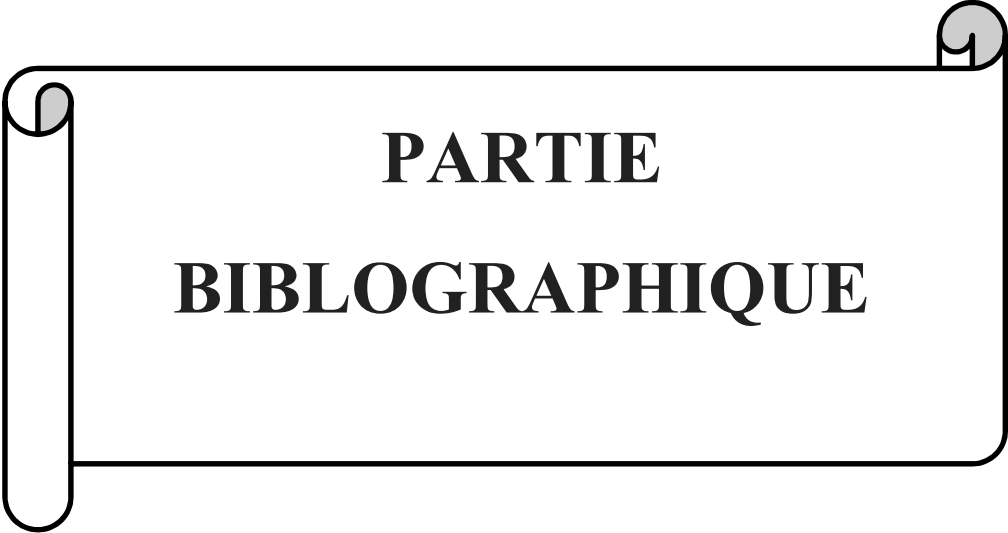
Il est important de signaler que la production agricole dans les zones arides est souvent limitée par la faible fertilité des sols, généralement pauvres aussi bien en macroéléments (N, P) qu'en oligoéléments (Cu, Zn...), bien que l'eau soit considérée comme étant le facteur le plus limitant. L'utilisation d'espèces adaptées et améliorantes, comme *Albizia lebbeck* (L). *Benth*, peut donc être intéressante grâce à leurs capacités de puiser dans les ressources du sol par leur système racinaire développé d'une part, et d'améliorer la fertilité du sol, en assurant le recyclage et la redistribution de l'azote et des autres éléments minéraux à partir des couches profondes vers la surface du sol, lors de la décomposition de leur litière, d'autre part [4].

Notre problématique est de savoir si cette plante possède une activité antioxydante et antibactérienne, en outre si elle contient les polyphénols, les flavonoïdes, les glucides et les protéines on prend en considération les conditions de notre région ?

Dans notre étude on va mettre l'accent sur la différence entre deux différents âges de la plante d'*Albizia lebbeck* (L). *Benth*, dans différents paramètres, telle que la teneur en glucide, en protéine, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne pour voir la quelle entre elle est plus intéressante sur le plan médicinal et nutritionnel.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur la plante *Albizia lebbeck* (L). *Benth*, les métabolites secondaires, ainsi que sur les antioxydants

Dans la partie expérimentale, nous développerons les matériels et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols, des flavonoïdes, des glucides et des protéines, et pour l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne. Ainsi les résultats obtenus dans notre étude et leurs discussions.



**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Introduction du chapitre 1**

Dans ce chapitre on a développé tous ce qui concerne les radicaux libres, leurs effets sur l'organisme vivant et les différents antioxydants qui provoquent le piégeage des ROS, aussi les divers métabolites secondaires de la plante.

La question est si les métabolites secondaires interviennent dans la protection de la plante contre les effets du stress oxydatif causée par les ROS.

## **1 Caractéristiques photochimiques :**

### **1.1 Les antioxydants**

#### **1.1.1 Les radicaux libres et le stress oxydant :**

Dans des conditions physiologiques « normales », il existe un équilibre entre la génération et l'élimination de ROS. Comme nous l'avons vu, les ROS en quantité faible et contrôlée sont nécessaires au bon fonctionnement des cellules et interviennent dans des processus de signalisation cellulaire. En quantité trop importante, ils sont nocifs pour la cellule et participent au processus de vieillissement cellulaire et à certaines pathologies[5].

Le stress oxydant est généralement défini comme une situation de déséquilibre dans laquelle les pro-oxydants sont en large majorité par rapport aux antioxydants [5]. Cela peut être dû à une surproduction de ROS et/ou une diminution des capacités antioxydants. De ce fait l'analyse d'un stress oxydant se fait par la mesure des espèces participant aux deux côtés de la balance [5].

Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur de nombreuses cibles: protéines, lipides et acide nucléiques[6]. Les radicaux libres sont constitués par tout atome, groupe d'atomes ou molécules où au moins un électron non apparié occupe une orbitale externe. Le radical s'en trouve doté d'une réactivité particulière et peut ainsi réagir avec d'autres atomes ou molécules et se comporter, selon le cas, comme un oxydant ou comme un réducteur, afin d'apparier son électron célibataire. Il aura donc tendance soit à donner son électron, soit à créer une liaison pour combler son orbitale [7].

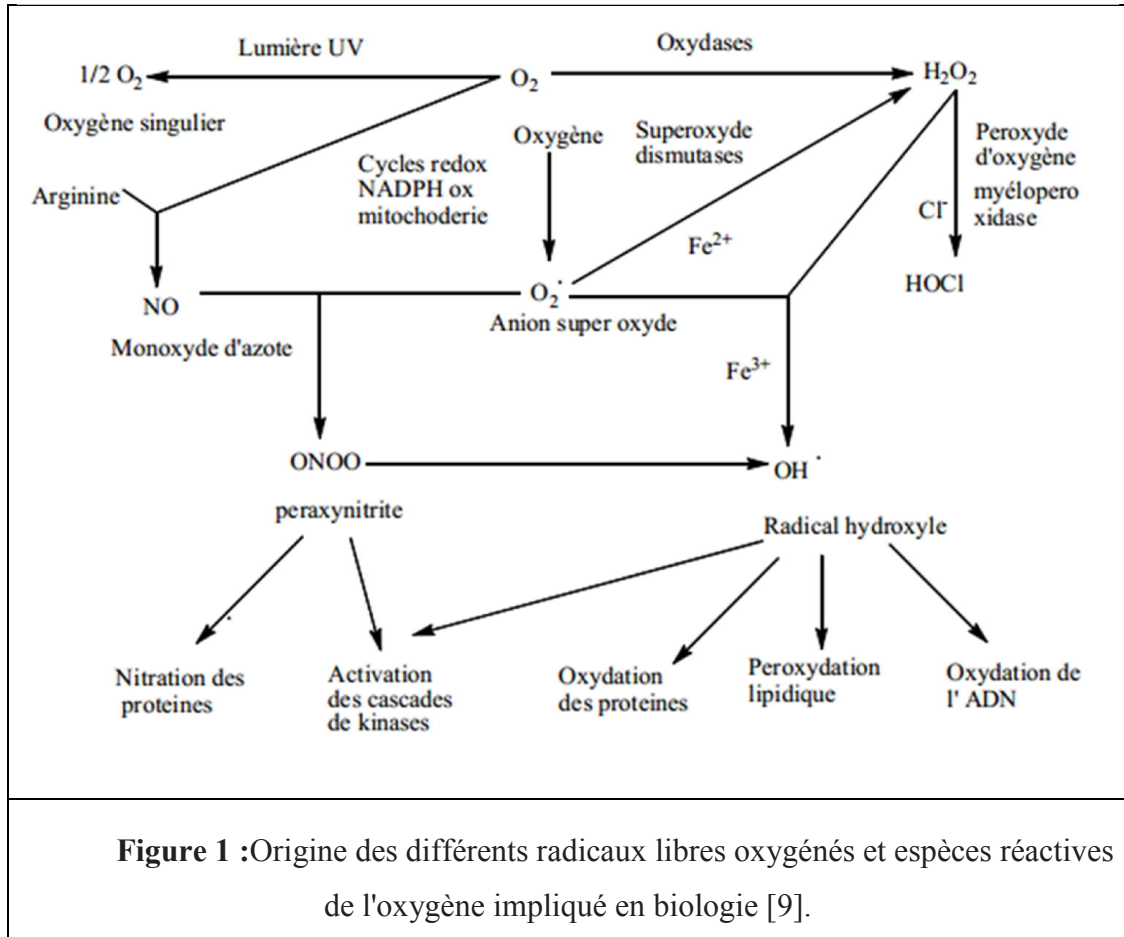
#### **1.1.2 Les radicaux libres :**

##### **1.1.2.1 Origine et destinée des ERO :**

La production de ROS peut être endogène par le métabolisme oxydatif dans la chaîne respiratoire mitochondriale ou par les peroxysomes ou bien déclenchée par des sources exogènes comme les stress biotiques ou abiotiques [6]. En effet, toute réaction impliquant de l'O<sub>2</sub> et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO [8] (Figure 1).



Les défenses antioxydants permettent de réguler la concentration des ROS afin de maintenir l'homéostasie des fonctions physiologiques. Une dérégulation de ce système altère les fonctions physiologiques et mène soit à des défauts de signalisation cellulaire ou de défense contre les pathogènes soit à des dommages cellulaires pouvant entraîner l'apoptose [5].

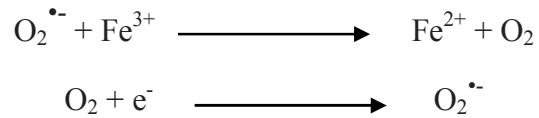


### 1.1.2.2 Les Différents Radicaux Libres Oxygénés :

#### 1.1.2.2.1 Le Radical Anion Superoxyde $O_2^{\cdot-}$ :

Le radical superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  est la première espèce réactive de l'oxygène formée. Il provient du fait que l'oxygène dans son état fondamental possède 2 électrons non appariés et doit recevoir un électron à la fois, ce qui est le cas lors de la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire. Le radical superoxyde peut agir comme un oxydant ou un réducteur. Cependant son taux de réaction avec les lipides, l'ADN ou les protéines est assez lent. Le radical superoxyde est capable de réagir avec l'ion ferrique  $Fe^{3+}$  pour donner l'ion ferreux  $Fe^{2+}$  et de l'oxygène (voir réaction 1).

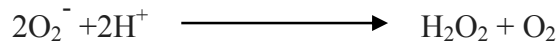
D'autre part, il peut se dismuter soit spontanément soit de manière enzymatique, et mener à la formation du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , une espèce non radicalaire[5].



L'anion superoxyde  $\text{O}_2^{\bullet -}$  joue un rôle très important dans la génération d'autres radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  et le radical hydroxyle  $\text{OH}^\bullet$  [10].

#### 1.1.2.2.2 Le peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2$ :

Il n'a pas d'électrons non appariés et n'est donc pas un radical. A pH physiologique, tout ion peroxyde formé va se protoner pour donner immédiatement du peroxyde d'hydrogène. Au bilan, le peroxyde d'hydrogène est produit à partir du radical superoxyde en solution aqueuse. Cet ion provoque la dismutation de l'eau pour former du peroxyde d'hydrogène et du dioxygène [11]. Cette réaction est catalysée par le superoxyde dismutase :



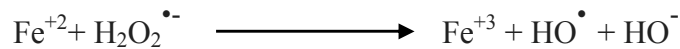
Le peroxyde d'hydrogène est un produit plus stable que les produits qui lui donnent naissance, ainsi sa réactivité est moins importante. La nature non ionique de cette molécule lui permet de traverser facilement les membranes cellulaires et ainsi de diffuser très facilement d'où une possibilité d'action à distance [12].

#### 1.1.2.2.3 Le radical hydroxyle $\text{OH}^\bullet$ :

Est le radical le plus dangereux dans l'organisme, il est formé de la réaction de l'anion superoxyde avec l'hydrogène peroxydé [13].



La fission homolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène peut être causée par la chaleur ou par des radiations ionisantes. Cependant, une solution de peroxyde d'hydrogène avec des ions ferreux suffit à fournir des radicaux hydroxyles [11, 14].



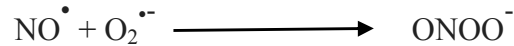
Le radical Hydroxyle réagit avec les lipides, polypeptides, protéines, et ADN, spécifiquement la thiamine et la guanosine [15].

#### 1.1.2.2.4 Oxyde nitrique $\text{NO}^\bullet$ :

Est un radical avec un électron non apparié, il est formé par l'action du NO synthétase sur L-arginine [16]. Les cellules du système immunitaire produisent à la fois l'anion superoxyde et l'oxyde nitrique au cours des processus inflammatoires.

En dessous de ces conditions, l'oxyde nitrique et l'anion superoxyde peuvent réagir ensemble pour produire des quantités importantes d'une manière beaucoup plus oxydante

molécule active l'anion peroxydite (ONOO) [17], qui est un agent oxydant puissant qui peut provoquer la fragmentation de l'ADN et l'oxydation des lipides[13].



#### 1.1.2.2.5 Nitrique dioxyde NO<sub>2</sub>:

Formé à partir de la réaction du radical peroxyde (ROO<sup>•</sup>) avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur de la peroxydation lipidique par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés [12],il provoque aussi l'oxydation de l'acide ascorbique [13].

### 1.1.3 Marqueurs du stress oxydatif :

Le stress oxydatif, dû aux radicaux libres, entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides[18].

#### 1.1.3.1 Oxydation des protéines :

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine [19].

Lors d'un stress oxydatif important, les cellules sont incapables d'éliminer par protéolyse les protéines oxydées accumulées, ce qui conduit aux dégâts protéiques observés dans le diabète. Les deux principaux marqueurs biologiques de l'oxydation des protéines sont la formation de carbonyles protéinés et de groupes nitrotyrosines [19].

#### 1.1.3.2 Peroxydation lipidique :

Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation.

L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs [20]. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes. Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN [21].

Cette attaque des lipides peut concerner aussi bien les phospholipides (PL) membranaires que les lipoprotéines circulantes, avec des conséquences différentes. En effet, l'atteinte des PL entraîne une modification de la fluidité membranaire, altère les systèmes de transfert d'ions, ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affecte les voies de transduction des signaux [22].

### 1.1.3.3 Dommages de l'ADN :

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles des ROS. En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire [23].

Les mécanismes explicatifs proposés sont: 1-l'absence d'histones protectrices autour de l'ADN mitochondrial, 2- sa localisation proche de la membrane interne, 3- des mécanismes de réparations frustrés, et 4 une structure circulaire sans introns augmentant statistiquement le risque de mutations pathogènes ([23] ;[20]). Les fonctions de la mitochondrie sont donc particulièrement exposées aux dommages oxydatifs provoquant principalement une diminution de la synthèse d'ATP mais aussi. engageant la cellule dans un programme de mort cellulaire par apoptose avec l'induction du port de transition de perméabilité (PTP) [20].

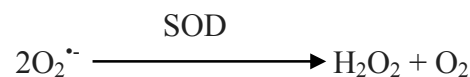
### 1.1.3.4 Systèmes De Défense Antioxydants :

Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant, appelés antioxydants. Un antioxydant peut être défini comme étant une substance qui est présentée à de faibles concentrations par rapport à un substrat, et peut significativement retarder ou inhiber l'oxydation de ce substrat[24].

### 1.1.3.5 Système Antioxydants Enzymatiques :

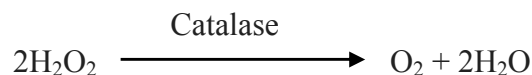
#### 1.1.3.5.1 Superoxyde dismutase :

Cette enzyme, qui représente une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet -}$  par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène [25].



#### 1.1.3.5.2 Catalase :

La catalase est également responsable de l'élimination d' $H_2O_2$  par une transformation en  $H_2O$  et  $O_2$ . Contrairement à la GPx, l'affinité de la catalase pour l' $H_2O_2$  est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues :



Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges. Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol[20].

#### **1.1.3.5.3 Glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GR) :**

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du  $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$ . Lors de cette réaction, deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure.

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électron. Ces deux enzymes sont présentes dans le cytosol et dans les mitochondries [20].

#### **1.1.3.6 Systèmes antioxydants non enzymatiques :**

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), le bêta-carotène et les vitamines E et C [20].

Il s'agit de composés facilement oxydables présents dans le cytoplasme (glutathion, acide ascorbique) ou dans les membranes cellulaires (alpha-tocophérol, caroténoïdes).

##### **1.1.3.6.1 Vitamine E :**

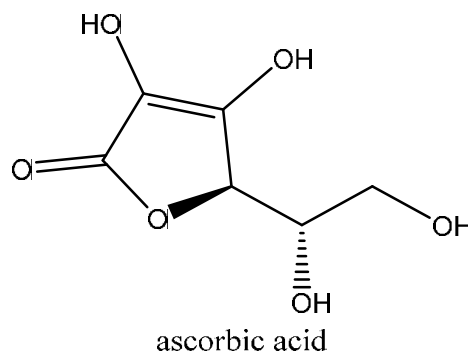
Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. Seuls  $\alpha$  et  $\delta$  tocophérols possèdent les propriétés antioxydants les plus intéressantes [26].

##### **1.1.3.6.2 Vitamine C (acide ascorbique) :**

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins.

Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA ( $HO\cdot$  ou  $O_2^{\cdot-}$ ) [25].

Il a été montré que l'ascorbate peut recycler l'alpha-tocophérol, ce qui contribue à prévenir l'oxydation des lipides. Sans ascorbate, le radical alpha-tocophérol peut jouer un rôle pro oxydant et continuer ou même améliorer la chaîne des réactions de la peroxydation lipidique[26].



**Figure 2 :** structure d'acide ascorbique

#### 1.1.3.6.3 Vitamine E (tocophérols) :

Sous le terme de la vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (alpha, beta, gamma, delta). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des aides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant[25].

#### 1.1.3.6.4 Glutathion :

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamine E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique .Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' $H_2O_2$  est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté [20].

Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vit C, la vit E et les super oxydes dismutases [27].

#### 1.1.3.6.5 Le bêta-carotène (provitamine A) :

Est un élément liposoluble des caroténoïdes qui est considéré comme un provitamine, car ils peuvent être transformés à l'état actif de la vitamine A [28], est d'excellent capteur d'oxygène singlet et d'autres espèces réactives de l'oxygène [29].

L'efficacité des caroténoïdes comme des antioxydants dépend également de leur interaction avec d'autres antioxydants, les vitamines E et C, en particulier [30].

Les caroténoïdes, peuvent perdre leur activité antioxydant à des concentrations élevées ou à des pressions partielles élevées d'oxygène et ce comportement a été lié à la faible probabilité d'effets pro-oxydants in vivo [30].

#### **1.1.3.6.6 Oligoéléments :**

Les métaux de transition peuvent aussi jouer un rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant comme composés essentiels des enzymes antioxydants. Ainsi, le cuivre, le zinc et le manganèse entrent dans la composition du site actif des différents zincs super oxyde dismutase (Cu/Zn SOD) et super oxyde dismutase manganèse (Mn SOD). Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la glutathion peroxydase [25]. Certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydant (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss) [20].

### **1.2 Métabolites secondaire**

#### **1.2.1 Définition des plantes médicinales**

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie (feuille, tige, racine etc.) possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne [31].

#### **1.2.2 Définition des principes actifs**

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pourcents à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel.

Des principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés. Exemple type, l'oranger; ses fleurs sont sédatives; et son écorce est apéritive [32]. Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

### 1.2.3 Différents groupes des principes actifs

#### 1.2.3.1 Polyphénols

Les polyphénols constituent un groupes largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante, ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de shikimate et d'acétate [33, 34]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, glucides...) [35].

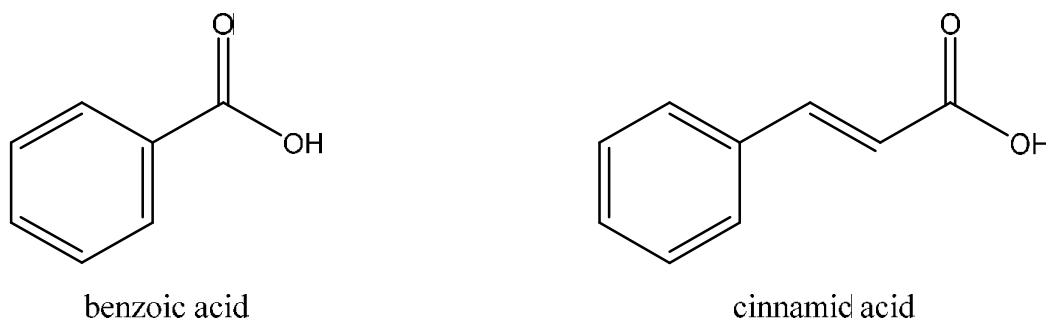
Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...), certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence [36].

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant [37].

#### 1.2.3.2 Acides phénoliques :

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [38]. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques [39-41].

Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide ferulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer œsophagien chez les rats [36].



**Figure 3** :Structure de base des acides benzoïque et cinnamique.



### 1.2.3.3 Flavonoïdes :

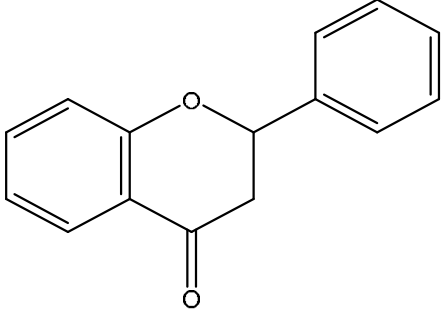
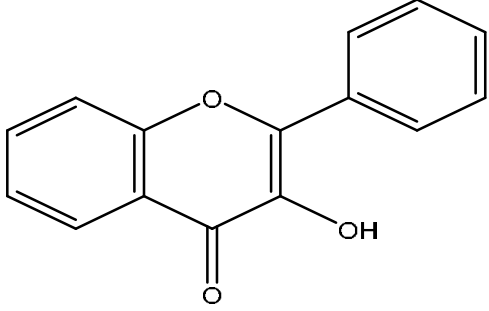
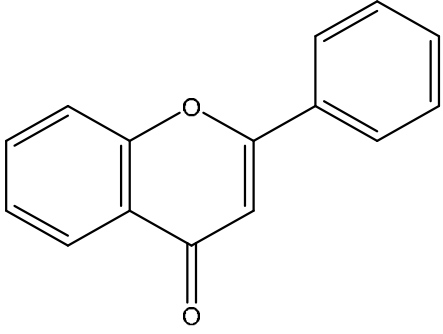
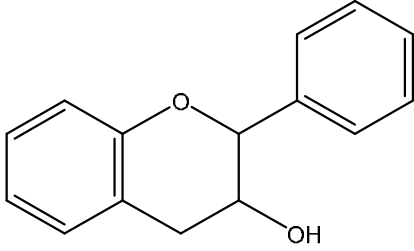
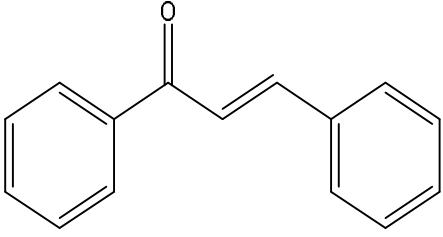
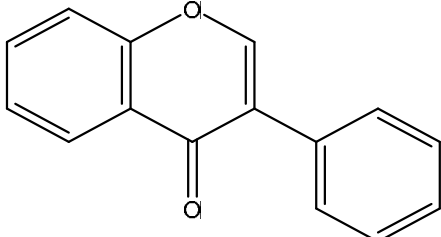
Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6500 structures ont été identifiées [39, 42].

Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atome de carbone (C6-C3-C6) constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux), que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C[42].

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux [35].

Les propriétés antimicrobiennes des flavonoïdes vis-à-vis de différents micro-organismes pathogènes ont été mises en évidence[43]. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées [44].

**Tableau 1 :** Représente la structure de base des principaux flavonoïdes.

 <p style="text-align: center;">flavanone</p>	 <p style="text-align: center;">flavonol</p>
 <p style="text-align: center;">flavone</p>	 <p style="text-align: center;">flavn-3-ol</p>
 <p style="text-align: center;">chalcone</p>	 <p style="text-align: center;">isoflavone</p>

#### 1.2.3.4 Tanins

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux. On distingue deux catégories :

Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines [34].

Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique [34].

De nombreuses activités physiologiques humaines, comme la stimulation des cellules phagocytaires, activité anti tumorale à médiation par l'hôte, et un large éventail d'actions anti-infectieux, ont été attribués à des tanins [40].

### **1.2.3.5 Lignines**

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des parois cellulaires [45].

Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure [46].

### **1.2.3.6 Les anthocyanines**

Les anthocyanines sont des pigments qui confèrent leurs couleurs aux fruits et aux légumes. Ces pigments sont connus pour être responsables dans les pétales et les feuilles des plantes supérieures des couleurs allant du rose au bleu en passant par le rouge, le mauve et le violet. Les anthocyanes font partie d'une famille de composés appelés les flavonoïdes. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits. Les anthocyanes jouent un rôle prépondérant dans la coloration des raisins rouges [47].

Ces puissants antioxydants diminuent les maladies cardiaques et sont utilisées dans des préparations antidiabétiques [48].

### **1.2.3.7 Les saponines :**

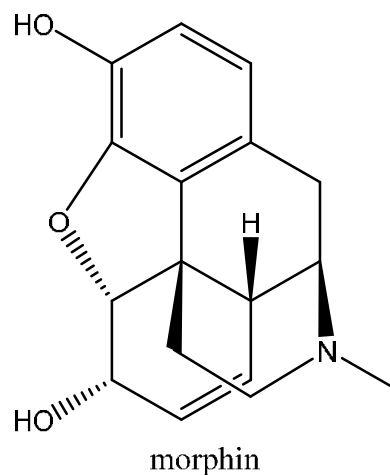
Les saponines sont des terpènes glycosylés contenus dans les plantes lorsqu'ils sont agités avec l'eau produisent une mousse savonneuse [34]. Elles sont des constituants de nombreuses plantes médicinales ; elles existent sous deux formes : les stéroïdes et les triterpénoïdes. La combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confère aux saponosides des propriétés tensioactives [34]. Les saponines possèdent une grande variété d'activités biologiques telles que : antipyrétique, antalgique, immun-modulatrice, anti-inflammatoire, anticoagulante. Ils ont des propriétés biologiques importantes et sont utilisés dans des domaines variés tels que l'industrie, la pharmacie et la cosmétologie [49].

### **1.2.3.8 Alcaloïdes**

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique) [50], on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques [38].

Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en générale de puissante action pharmacologique [51].

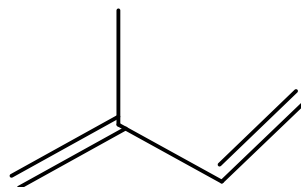
Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) [34]. Les alcaloïdes sont utilisées dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques ,il ont aussi d'autres effets pharmacologiques telles que l'effet analgésique (cocaïne), anticholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti hypertensive[50].



**Figure 4:** Exemple d'alcaloïde la morphine.

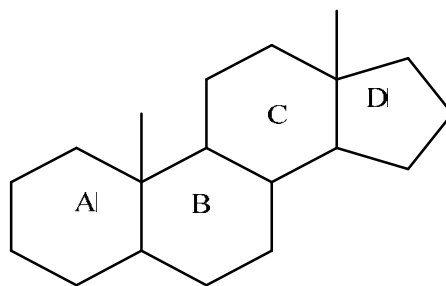
### 1.2.3.9 Terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule  $(C_5H_8)_n$  selon la variation de nombre n, ainsi que les divers modes d'assemblages [34].



**Figure 5 :**Unité isoprénique.

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique [34].



**Figure 6 :**Structure de noyau stéroïde.

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liés avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols[34].

#### **1.2.3.10 Les Polysaccharides :**

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages « visqueux » et les gommés, présents dans les racines, les feuilles et les graines. Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant ainsi une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés (par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins est enflammée et douloureuse).

La meilleure façon de préparer les plantes mucilagineuses comme l'orme rouge (*Ulmus rubra*) et le lin (*Linum sítatissmum*) est de les gorger d'eau froide et les faire macérer). Certains polysaccharides, comme les pectines, sont utilisés en cosmétologie [52].

#### **1.2.3.11 Les vitamines :**

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte (*Daucus carota*) est riche en bêta-carotène (provitamine A). Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*) par exemple, contient des doses élevées de vitamines B1, B2, C et E et de bêta-carotène peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral en tant que tel [52].

#### **1.2.3.12 Huiles essentielles :**

Pour la 8eme édition de la pharmacopée française 1965, les huiles essentielles (=essence ou huile volatile) était : des produits de composition généralement assez complexe enferment les principes volatils contenus dans les végétaux, des extraits odorants obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, la synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structure histologiques

spécialisées. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois et/ou les graines [53].

Les huiles essentielles de plusieurs espèces de thym ont déjà prouvé leurs propriétés antibactériennes et antifongiques [54], ils jouent un rôle de protection contre les prédateurs et attirer les insectes pollinisateurs [39]. Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments.

## **Conclusion du chapitre 1**

Au cours de l'évolution, l'adaptation des espèces vivantes à l'oxygène s'est traduite par l'apparition d'enzymes facilitant non seulement sa consommation, mais également la détoxification de ses métabolites réduits que sont le radical superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ , le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$  et d'autre. Ces molécules sont appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) car elles sont beaucoup plus toxiques. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine des phénomènes de stress oxydant. D'une manière directe ou indirecte, de nombreux dommages oxydatifs au niveau moléculaire (acides nucléiques, protéines, lipides...), pouvant affecter considérablement les mécanismes cellulaires.

Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase...) et non enzymatiques (vitamine E, vitamine A...) qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant, appelés antioxydants

Récemment, l'attention s'est portée sur les plantes comme source d'antioxydants, la majorité de ces antioxydants sont des métabolites secondaires, parmi ces métabolites, on cite les composés phénoliques comme les polyphénols, les flavonoïdes ...etc., qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant. Parmi ces plantes on mentionne la plante *Albizia lebeck* qui contient plusieurs composants et ces composants lui confèrent des propriétés médicinales. Dans le chapitre suivant on va donner plus d'informations sur cette plante.

## **Introduction du chapitre 2**

Nous avons abordé dans ce chapitre les caractéristiques de la zone d'El-Oued située en Algérie, des notions sur la plante *Albizia lebeck* qui est une espèce tropicale appartenant à la famille des Fabacées et qui est cultivé dans notre région, ainsi, l'utilisation de cette plante dans le système indien traditionnel et dans la médecine folklorique contre plusieurs pathologies.

La question qui se pose est ce que cette plante peut se développer et s'adapter dans les zones arides et comment elle a été utilisée pour traiter les maladies ?

## **2 Présentation de la plante étudiée *Albizia lebeck* (L.) Benth.**

### **2.1 L'histoire de l'arrivée de cette plante a notre région :**

L'histoire de l'arrivée de cet arbre dans notre région El-Oued et exactement à la ville Rabah par *Alhaji Mujahid Ben Moussa Lamine* est de Médine Arabie saoudite en 1995 après un voyage pénible, à travers plusieurs pays européens et asiatiques, il a ramené une tige de cette plante et il la planté dans sa maison, et cette dernière a grandi, mais ses enfants après sa mort, ils l'ont replanté au quartier général des travaux de l'institution publique et elle est devenu un grand arbre. Cette grand arbre est venu d'une région tropicale et a été planté dans notre région saharienne connu par la sécheresse.

### **2.2 Les caractéristiques de la région d'El-Oued :**

Ce modeste travail a eu lieu dans la région d'Oued Souf, qui fait partie du Sahara, la formation et l'évolution des sols dans cette région sont essentiellement conditionnées par le climat et la salinité. Le climat très aride influe sur la pédogenèse par la très forte évapotranspiration, ce qui a engendré dans certaines zones de fortes accumulations salines surtout après la mise en irrigation [55].

Le climat du Souf est un climat saharien caractérisé par un faible taux des précipitations et des températures élevées, d'une évaporation importante et d'un rayonnement solaire excessif. Le vent détériore les parties aériennes des végétaux et agit en accentuant l'évaporation, les vents sont fréquents et les plus violents se manifeste au mois du printemps [56].

### **2.3 Notion sur la famille des Fabacée (Légumineuses) :**

Cette famille l'une de plus importantes du règne végétal ( 10.000 espèces environ) est caractérisée par un ovaire formé d'un seul carpelle qui se transforme en un fruits d'un type particulier appelée autrefois légume et que l'on désigne plutôt actuellement sans le nom de gousse [57], d'où l'autre dénomination de Légumineuses sous laquelle cette famille est plus

connue. Les Fabacées constituent une des plus grandes familles des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical [58]. Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées [59].

Néanmoins, la prédilection des plantes de cette famille pour les habitats arides ou semi arides est reliée à leur métabolisme dépendant de l'azote, qui est considérée comme une adaptation aux variations climatiques et imprévisibles de l'habitat. En effet, la fixation de l'azote via la symbiose légumineuses rhizobium permet aux plantes de cette famille d'obtenir des taux élevés en azote ammoniacal au niveau de leurs racines en fonction de la demande de leur métabolisme [58].

Cette famille est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin), pour leur huile (arachide, soja), leurs fibres, comme combustible, pour leur bois, leur utilisation en médecine (spartéine extraite du genêt à balais, réglisse) ou en chimie [58].

Les caractères floraux permettant de distinguer trois sous-familles assez différentes entre elles, mais dont chacune est relativement homogène : Mimosées, Césalpiniées et Papilionacée [57].

## **2.4 Notion sur la plante étudiée *Albizia lebeck* (L.) Benth**

### **2.4.1 Habitat :**

L'espèce se développe bien à partir du niveau de la mer à 1500 m sur sites recevant entre 500 et 2500 mm de précipitations annuelles et adaptée à la sécheresse [60, 61]. Alors qu'il se développe mal sur des sols argileux lourds, mais il tolère une solution saline, sodique, et les sites latéritiques et aussi les sols pauvres L'arbre pousse mieux sur les sols humides et bien drainés [60, 62]. Il se retrouve dans l' Indes; Asie tropicale; Nord de l'Australie ; Birmanie; îles Andaman.

A Madagascar : Le Bonara est répandu sur la côte Ouest sur les sols latéritiques et pauvres [63].





**Figure 7 :** la distribution géographique de la plante dans le monde [64].

### 2.4.2 Noms vernaculaires :

Le mot albizzia est venu de Albizia un naturaliste italien du 18<sup>e</sup> siècle. AL est une espèce exotique dont l'invasion est de l'Australie à l'Inde. Son nom vernaculaire est Shirish [65]. Il y a quelques noms communs de *A. lebbek* donnés ci-dessous selon [66, 67] :

- ✓ En Français : langue de belle-mère. Ebénier d'Orient, bois noir des bas.
- ✓ En Anglais : Lebbek Tree, Frywood, Koko and Woman's tongues Tree
- ✓ En Malgache : Bonara, Fany.
- ✓ En Arab:lebbek ,labakh ,daqn el-Basha [64].

<b>Tableau 2 :</b> Classification d' <i>Albizia Lebbek</i> (L.) Benth [68].	
Règne	Plante
Sous Règne	Tracheobionta
Sous Division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Sous Class	Rosidae
Order	Fabales
Famille	Fabaceae , Leguminosae
Genre	Albizia
Espèce	<i>Albizia Lebbek</i> (L.) Benth



**Figure 8 :** la plante *Albizia lebeck*(L.)Benth (photo originale).

### **2.4.3 La morphologie de la plante :**

#### **2.4.3.1 Les feuilles :**

*A. lebeck* est un arbre à feuilles caduques de taille moyenne à croissance rapide avec une couronne en forme de parapluie propagé de feuillage mince et lisse, finement fissurée, écorce brun grisâtre. Dépendre des conditions du site, la croissance annuelle de la hauteur varie de 0,5 à 2,0 m; sur de bons sites, arbres individuels atteignent une hauteur maximale moyenne de 18 à 25 m et de 50 à 80 cm de diamètre [60, 69].



**Figure 9 :** les feuilles d'*Albizia lebeck*(L) Benth (photo originale).

#### **2.4.3.2 Le bois :**

*A. lebeck* est une espèce de bois précieux au sein de sa gamme Asie natale, a déjà été exporté vers l'Europe sous le nom commercial East Indian noyer [60, 70]. Son couleur brun jaunâtre au bois de cœur brun clair à une densité d'environ 0,55 à 0,90 et est à grain grossier, fort et relativement durable. Il est utilisé pour les meubles, les planchers, placage, boiseries, et une variété d'outils agricoles [71].

#### **2.4.3.3 L'écorce :**

L'écorce de coupe produit une gomme brun rougeâtre qui est utilisé comme un substitut de la gomme arabique extraite d'*Acacia Sénégal* Willd. Ses feuilles, graines, l'écorce

et les racines sont tous utilisés en médecine traditionnelle indienne [72, 73]. Dans son aire d'origine, les espèces est parfois planté comme arbre d'ombrage dans les plantations de café, de thé, de cardamome et cacao. Il est également utiliser en tant qu'hôte pour l'insecte du lac [61, 74].

#### **2.4.3.4 Les racines :**

Le système racinaire comprend en général un pivot moyennement développé pour une essence de zone sèche, et des racines latérales très longues qui colonisent les horizons supérieurs du sol jusqu'à une quinzaine de mètres du tronc [71]. Dans les sols qui contiennent des bactéries fixatrices d'azote bénéfiques, les juvénile plants vigoureux produisent une longue racine pivotante robuste, et les racines latérales forment rapidement des nodules de *Rhizobium* [67].

#### **2.4.3.5 Les fleurs :**

La floraison peut se produire sur les arbres aussi jeunes que 10 mois, les fleurs parfumées, de couleur crème se développent sur les tiges latérales en grappes arrondis de 5 à 7,5 cm, étalement blanchâtres à jaunes, étamines pointées vert clair, portés aux extrémités des tiges latérales 4 à 10 cm de long [69].



**Figure 10 :** les fleurs d'*Albizia lebbek* (L) Benth (photo originale).

#### **2.4.3.6 Les gousses :**

Sont des fruits secs et aplaties 10 à 20 cm de long et de 2,5 à 3,8 cm de large, sont produites en grand nombre et contiennent chacun plusieurs graines. Les gousses immatures sont de couleur verte, tourner en couleur paille à l'échéance, généralement de 6 à 8 mois après la floraison. Les gousses sèches restent sur l'arbre dans la saison de floraison suivante [69].

Chez de nombreux genres la gousse est ovoïde par fois plus courte que le calice et peut ne contenir qu'une seule graine, les graines sont facilement extraites des gousses par la main ou en écrasant et tamisant les gousses [57].



**Figure 11** : les gousses d'*Albizia lebeck*(L) Benth (photo originale).

#### **2.4.3.7 Les graines :**

Les graines dures, brunes et aplaties, de 1 cm de long sont libérés à partir des gousses déhiscentes matures qui sont attaché à l'arbre ou à partir de gousses emportées par le vent qui se décomposer plus tard.

En plus, les graines d'*Acacia senegal* qui est une plante mimosacée produisent une huile qui a des caractéristiques physicochimiques lui permettant d'être appliquée en industrie de revêtement et dans les processus de friture. En effet, sa composition en acides gras, acide oléique (43,62%) suivie par l'acide linoléique (30,66%) et l'acide palmitique (11,04%), montre sa fonctionnalité nutritionnelle désirable et lui permet d'être un substituant acceptable pour les huiles conventionnelles notamment celle du Maïs dans le régime alimentaire [4].



**Figure 12** : les graines d'*Albizia lebeck*(L) Benth (photo originale).

#### **2.4.4 La germination :**

La germination est épigée, et survient généralement entre 4 à 20 jours après le semis, avec la germination de pic de 12 à 18 jours [69]. La germination et le développement précoce des plantules sont favorisés en semant des graines juste en dessous de la surface du sol, dans un milieu humide sous l'ombre de la lumière ou en plein soleil [60, 61].

## 2.5 Composition chimique de la plante :

- **Fleurs:** acide benzoïque [66], stéroïls variés (Taxérol, cycloartémol, lupéol, campestérol, sitostérol) [75].
- **Ecorces:** albiziasaponines A, B et C [76], saponosides, sapogénol triterpénoïque (albigénine), acide acacique, acide albigénique [77], alcaloïdes III et IV [78, 79].
- **Graines :** saponosides, albigénine, leucoanthocyanidines. Huile formée de glycérides de : acide palmitique (7 %), acide stéarique (9%), acide linoléique (32 %) [66].
- **Tégument de graines, racines:** saponines, acide oléanique, hétéroside de l'acide acacique [66].
- **Feuilles:** saponine hexaglycosylée isolée des feuilles en quantité importante albiziahexoside [80], deux nouveau tri-O-glycoside flavonoïdes kaempférol et la quercitrine 3-O-à-rhamnopyranosyl ont été identifiés à partir des feuilles d'*Albizia lebeck (L) Benth* [81], acide pipécolique (dérivés) [65].
- **Racine :** Acide échinocystique (saponine) [65, 82]

Les alcaloïdes des graines d'*Albizia lebeck (L) Benth* sont fongicide et cytotoxique pour les lignes sélectionnées de cellules cancéreuses en croissance in vitro [65].

## 2.6 L'utilisation traditionnelle de l'*A. lebeck* :

*A. lebeck* est utilisé dans le système indien traditionnel et dans la médecine folklorique pour traiter plusieurs pathologies inflammatoires, telles que l'asthme, l'arthrite et les brûlures [83]. *A. lebeck* inhibe la dégranulation passive de l'anaphylaxie cutanée chez le rat [84]. Récemment, il a été constaté que l'extrait alcoolique de *A. lebeck* a une propriété anti-inflammatoire remarquable [85].

Il est également signalé dans la médecine traditionnelle indienne que *A. lebeck* à des propriétés antiseptiques, activités antidysentérique et antituberculeux [83].

En outre, selon [86] l'extrait aqueux des feuilles d'*Albizia adianthifolia* exerce des effets qui améliorent la mémoire par l'intermédiaire de ses antioxydants et atténuer l'anxiété, la dépression et le stress oxydatif induite chez le rat [87] L'extrait d'écorce d'*Albizia* a montré une activité antimicrobienne. L'actif constituant de l'extrait d'écorce sont des glycosides d'anthraquinone qui provoquent la perte des constituants cytoplasmiques [88]. En outre, il est utilisé pour la bronchite, la lèpre, la paralysie et les helminthiases [83].

L'administration orale d'une saponine isolé à partir d'écorce de *A. lebeck* au niveau de 50 dose mg/kg par jour à des rats albinos mâles ont montré une diminution significative du poids des testicules, des vésicules séminales épидидymes et prostate ventrale [89].

Les feuilles ont été réclâmés pour avoir une activité anticonvulsivant [90]et l'effet notropique [91], qui peut être due à la présence de certains composés importants comme des alcaloïdes et des flavonoïdes.

En outre, l'extrait aqueux de feuilles a montré une activité antioxydant de *l'A. lebbeck* chez les rats diabétiques

[92]. L'extrait éthanolique des gousses d'*Albizia* (50,100 et 200 mg/kg) a montré une diminution significative de la fertilité et une arrestation de la spermatogenèse chez les rats après 60 jours [93]et l'extrait aqueux de l'éthanol des graines d'*Albizia lebbeck (L) Benth* a révélé une activité anti-diarrhéique qui a été étudiés sur des modèles classiques de rongeurs [94]. En outre, ont démontré que les fleurs ont une raisonnable activités antipyrétique, analgésique, ostrogéniques et anti-inflammatoires [95].

Traitement de la conjonctivite allergique en application orale et locale d'*A. lebbeck* été étudié. Cette étude clinique a été réalisée sur 60 cas de différents types de conjonctivite allergique pour évaluer le rôle d'*A. lebbeck* sous la forme de gouttes pour les yeux et des capsules pour une période de 60 jours pour le traitement et 90 jours supplémentaires pour le suivi. Des résultats significatifs ont été observés [96, 97].

### **Conclusion du chapitre 2:**

Pour conclure l'*A. lebbek* est un arbre à feuilles caduques une couronne en forme de parapluie propagé, écorce brun grisâtre. La croissance annuelle de la hauteur varie de 0,5 à 2,0 m; sur de bons sites, arbres individuels atteignent une hauteur maximale moyenne de 18 à 25 m et de 50 à 80 cm de diamètre. Le système racinaire comprend en général un pivot moyennement développé pour une essence de zone sèche, et des racines latérales très longues qui colonisent les horizons supérieurs du sol jusqu'à une quinzaine de mètres du tronc.

Les gousses sont des fruits secs et aplaties sont produites en grand nombre et contiennent chacun plusieurs graines. Les graines dures, brunes et aplaties, sont libérés à partir des gousses déhiscents matures qui sont attaché à l'arbre ou à partir de gousses emportées par le vent .

Les études récentes sur cette plante ont démontré qu'elle contient différentes composés chimiques (métabolites secondaires), selon la partie de la plante, par exemple les graines : saponosides, feuilles : flavonoïdes kaempférol. Ces derniers composés jouent un rôle d'antioxydant dans la plante. Ce qui a permis de considérer la plante comme médicinale.

Donc la réponse de la question est oui, il a été constaté que cette plante peut se développer et s'adapter aux conditions de la zone aride, comme c'est le cas dans notre zone.

Les extraits d'*A. lebbek* est utilisé dans le système indien traditionnel pour traiter plusieurs pathologies L'extrait d'écorce d'*Albizia* par exemple a montré une activité antimicrobienne.



**PARTIE PRATIQUE**



## Introduction du chapitre 3

Dans ce chapitre, on va citer les matériels et les méthodes utilisées pour l'extraction de la matière végétale sèche, pour les tests biologiques, tels que le dosage colorimétrique des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des protéines et des glucides, ainsi, pour l'activité antioxydante par le teste du DPPH et l'activité antibactérienne testé vis-à-vis 4 souches de bactérie.

De plus, on a calculé le rendement en extrait éthanolique de chaque partie de la plante. Enfin on a accédé à une étude statistique par le teste *ANOVA* pour les comparaisons multiples, et pour la détermination des taux de signification de chaque paramètre.

Cette plante contient-elle des protéines et des glucides pour des raisons nutritionnelles ? Ainsi des polyphénols et des flavonoïdes pour des activités antioxydantes et antibactériennes ?

## 3 Matériels et Méthodes

### 3.1 Matériels vivant

Le matériel végétal sèche est constitué des feuilles, des graines, des racines, des gousses, et des tiges obtenues à partir d'un arbre d'*Albizia lebbek* (L) Benth une âgée de 21ans et l'autre de 4 ans situés à la région de Rabah (google earth )wilaya d'El oued en novembre 2015.

### 3.2 Matériels non vivants :

- Spectrophotométrie UV.
- Les cuves.
- Bain ultrasonique.
- Etuve.
- Rota vapeur.
- Balance de précision.
- Agitateur.
- Mortier.
- Autoclave.
- Plaque chauffante.
- Micropipette.
- Papier Filtre.
- Bec Benzène.
- Ans de platine.

- Ecouvillon stérile.
- Tube à essai.
- tubes à hémolyse.
- Disques vide stériles.
- Réfrigérateur.
- Boites de pétrie.
- Entonnoir.

### **3.3 Réactifs chimiques et solvants :**

Dans cette étude nous avons utilisé: éthanol comme solvant et les réactifs chimiques:  $\text{AlCl}_3$ ; Folin ciocolteu;  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; DPPH; DMSO;  $\text{H}_2\text{O}$  distillé ; Acide Sulfurique ; Acide gallique ; Quercétine.

### **3.4 Extraction :**

L'extraction a été réalisée au niveau des laboratoires de biologie de l'université Echahid Hamma Lakhdar « El-Oued ».

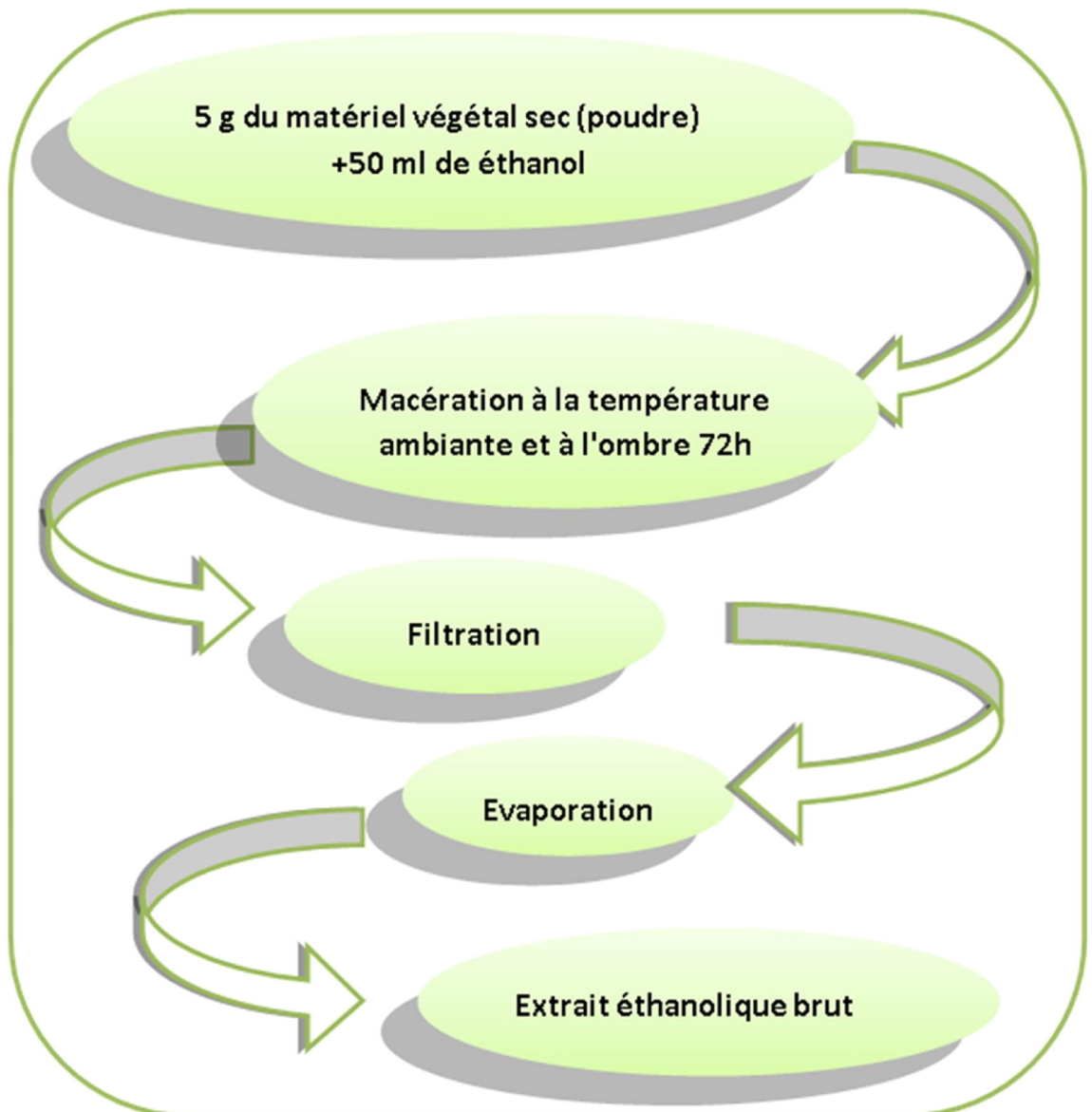
#### **3.4.1 Préparation des extraits éthanoliques :**

Les parties de l'arbres ( 21ans et 4 ans) étaient séché dans l'étuve pendant 72h et broyé sous forme de poudre en utilisant un broyeur électrique, ont été utilisé 5 g de poudre de chaque partie dans 50ml d'éthanol avec agitation dans des tubes à hémolyse pour une macération pendant 48 h, et laissé dans l'ombre dans une température ambiante, après on a procédé à une filtration sous vide pour obtenir l'extrait éthanolique de chaque partie.

Ensuite, on a procédé à l'évaporation du solvant à travers le rota vapeur avec une température de  $70^\circ\text{C}$ . Enfin la petite quantité des extraits qu'on a laissé sont sous mis à un séchage sur une plaque en verre dans l'étuve pendant 24h, puis on a gratté les extraits par un gratteur et les mettre dans des tubes dans un réfrigérant.



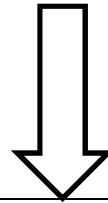
**Figure 13:** rota vapeur



**Figure 14 :** Protocole de préparation d'extrait éthanologique par macération.

**Schéma:** Présente les différents méthodes des dosages colorimétriques utilisées dans cette étude

Dosages des protéine	Dosages des glucide	Dosages des flavonoïde	Dosages des PPT	Test du DPPH
50 µl de l'extrait protéique + 2500µl du bleu de comassie incubé pendant 5 min $\lambda = 595\text{nm}$	50µl d'échantillon + 3ml d'acide sulfurique + 1ml de phénol $\lambda = 490\text{ nm}$	750µl d'échantillon + 750µl de $\text{AlCl}_3$ incubés pendant 10 min $\lambda = 430\text{ nm}$	100µl d'échantillon + 500µl du Fol-Cio+2ml de $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (7,5%)	940µl de la solution de DPPH 4% + 240µl d'échantillon incubés pendant 30 min $\lambda = 517$



Age	4 ans					21 ans				
Extraits	Feu	Ti	Go	Gr	Ra	Feu	Ti	Go	Gr	Ra
Répétitions	T 1	T 1	T 1	T 1	T 1	T 1	T 1	T 1	T 1	T 1
	T 2	T 2	T 2	T 2	T 2	T 2	T 2	T 2	T 2	T 2
	T 3	T 3	T 3	T 3	T 3	T 3	T 3	T 3	T 3	T 3

Feu : Feuille    Ti : Tige    Go :Gousse    Gr :Graine    Ra :Racine    T :Tube

### 3.4.2 Détermination du rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{éch.}}$$

R: est le rendement en %.

$M_{\text{ext}}$ : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

$M_{\text{éch}}$ : est la masse sèche la plante en g.

### 3.5 Dosages des composés phénoliques, des glucides et des protéines :

#### 3.5.1 Polyphénols totaux :

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Scalbert et al [98] avec modification.

##### ➤ Principe :

La concentration des polyphénols totaux dans les 10 échantillons a été déterminé par le *Folin-Ciocalteu*, qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique et phosphomolybdique du réactif de Folin par les groupements réducteurs des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à  $\lambda = 760$  nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présentes dans l'échantillon [5].

Chaque échantillon est prélevé deux fois pour faire deux répétitions pour le dosage des polyphénols totaux. Scalbert et al [98], le protocole est le suivant avec tous les extraits:

On a mis 100 $\mu$ l d'échantillon dans un tube à hémolyse et on lui a ajouté 500 $\mu$ l du Fol-Cio 10 fois dilué et 2ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%. Après agitation et une incubation de 30 min à température ambiante, l'absorbance a été déterminé à une longueur d'onde  $\lambda = 760$  nm avec UV-VIS Spectrophotomètre [12, 99].



Figure 15 : UV-VIS Spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon d'acide gallique (0,05-0,5 $\mu$ g/ml)(annexe1) et exprimée en  $\mu$ g E AG/mg de MS.

### 3.5.2 Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes totaux a été mesuré par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium de Bahorun et al [100] avec modification. Ce produit forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols.

#### ➤ Principe :

On a mélangé 750 $\mu$ l d'échantillon avec 750 $\mu$ l de  $AlCl_3$  dans des tubes à hémolyse, après les mélanges sont agités et incubés pendant 10 minutes à l'obscurité. La lecture a été faite à une longueur d'onde  $\lambda = 430$  nm. Les résultats sont exprimés en  $\mu$ g E Q/mg de MS. Toutes les analyses ont été répétée deux fois.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ), réalisé par un standard étalon "*la Quercétine*" (annexe1) à différentes concentrations (0-0,08 $\mu$ g/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en ( $\mu$ g EQ/mg de MS).

### 3.5.3 Dosage des protéines :

La teneur en protéine a été déterminé par la méthode de Bradford [101].

L'extrait protéique a été préparé par le mélange de 20mg de poudre de chaque partie de la plante au différent âge avec 5ml de NaOH (2%) dans des tubes à hémolyse. Pour la séparation des protéines, les tubes sont mis dans la centrifugeuse pendant 10 min.

➤ **Principe :**

On a mélangé 50 µl de l'extrait protéique de chaque partie avec 2500µl de la solution du *bleu de comassie*, on les a incubé pendant 5 min dans l'obscurité et dans une température ambiante. La lecture a été faite à une longueur d'onde  $\lambda = 595\text{nm}$ . Toutes les analyses ont été répétées deux fois.

La quantification des protéines a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "*l'albumine*" (annexe1) à différentes concentrations (1-0,2mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en ( $\mu\text{g E BSA/mg de MS}$ ).

### 3.5.4 Dosage des glucides :

La préparation des extraits est réalisée par le mélange de 30mg de chaque extrait brut des 5 parties aux différents âges avec 5 ml d'eau distillé dans des tubes.

➤ **Principe :**

Le dosage des glucides totaux solubles est réalisé par la méthode Dubois [102]. Les glucides simples, oligosaccharides, polysaccharides et leurs dérivés réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré et donnent une coloration jaune-orange.

On a pris de chaque extrait 50µl et on les a mis dans des tubes en verre et on les a mélangé avec 3ml d'acide sulfurique et 1ml de phénol, la lecture a été faite à une longueur d'onde  $\lambda = 490\text{ nm}$ . Cette analyse est répétée deux fois.

La quantification des glucides a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "*le glucose*" (annexe1) à différentes concentrations (1,3-0,2mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g EG/mg de MS}$ .

### 3.5.5 Activité biologique :

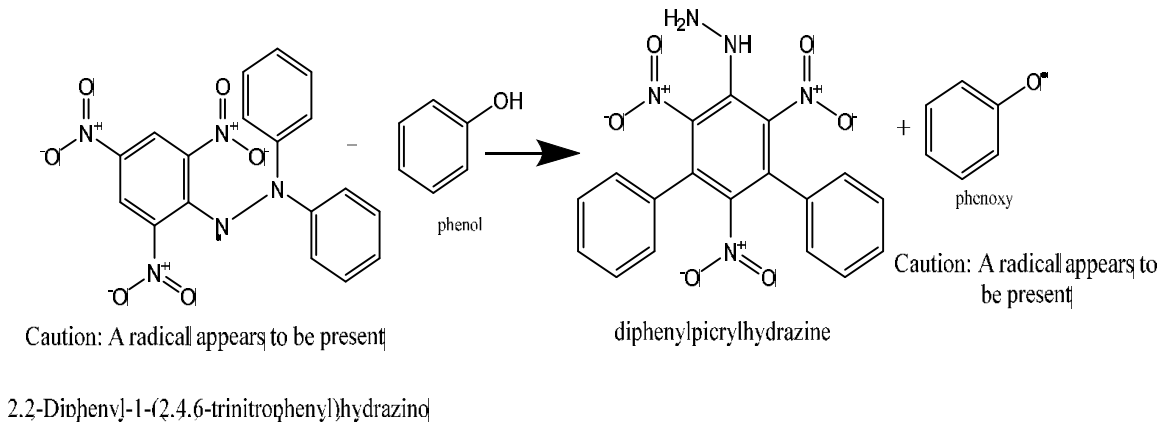
#### 3.5.5.1 Test du DPPH :

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au Blois [103]. L'activité du balayage des radicaux libres a été mesuré en employant le radical libre stable DPPH ( $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ ) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits de plante comme antioxydants [104]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote.

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleu-violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH<sup>\*</sup>, mesurable par spectrophotométrie [105].

➤ **Le principe :**

940µl de la solution de DPPH 4% est ajouté à 240µl de la solution éthanolique de chaque extrait dans des tubes à hémolyse, après les mélanges sont agités et incubés dans l'obscurité et à une température ambiante pendant 30 minutes. L'analyse est répétée trois fois avec chaque extrait. Le blanc est constitué de 2ml d'éthanol et la lecture a été faite à  $\lambda=517$  nm par le spectrophotomètre UV. Les analyses ont été répétées trois fois, et les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).



**Figure 16 :** Réaction du radical DPPH avec un phénol.

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I\% = \left[ \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Où :

% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Control négatif : Absorbance du control négatif.

**3.5.5.2 Activité antibactérienne**

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de biologie « El oued ». L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par (NCLLS) cité par [106].

**3.5.5.2.1 Souches bactériennes :**

Quatre souches bactériennes ont été testées de références : *Escherichia Coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Staphylocoque aureus* (ATCC25923) et *Salmonella typhi*. Le tableau (3) résume les caractéristiques les plus importantes des bactéries utilisées et leur profil de sensibilité [107].



**Tableau 3** : Caractéristiques des bactéries utilisées.

Les bactéries utilisées	Caractéristiques des bactéries		
	Selon l'exigence	Selon Gram	Selon le profil de sensibilité vis -à-vis les antibiotiques
Escherichia Coli (ATCC 25922)	Bactéries non exigeantes	Gram -	Souches de références
Salmonella typhi		Gram -	
Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)		Gram -	
Staphylocoque aureus (ATCC25923)		Gram +	

**3.5.5.2.2 Antibiotiques :**

Pour valoriser l'activité antibactérienne on utilise les antibiotiques : Oxacilin (1µg/disque), Nitroxolin (30µg/disque) et Gentamicin (120µg/disque) pour faire le contrôle positive.

**3.5.5.2.3 Milieux de culture :**

Selon les souches, nous avons utilisé comme milieux de culture les milieux suivants : Gélose Nutritive et Gélose Mueller Hinton pour les bactéries non exigeantes.

**3.5.5.2.4 Préparation des solutions :**

Les extraits ont été repris avec le DMSO, les concentrations (1mg/ml, 0,75mg/ml, 0,5mg/ml et 0,25mg/ml) des extraits éthanoliques a analysé ont été ensuite réalisées.

**3.5.5.2.5 Préparation des disques**

Les disques sont préparés à partir de papier wattman, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite sont stockés dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conserver jusqu'à l'utilisation.

**3.5.5.2.6 Préparation de l'inoculum bactérien :**

Chaque souche a été ensemencé en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C, on a choisi 1 à 2 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube de solution d'eau distillée stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité.

**3.5.5.2.7 Ensemencement :**

Le milieu de Mueller Hinton est préparé en versant 10-15 ml du milieu dans chaque boîte de pétri stérilisé et sont autorisés à être fixé à la température ambiante.

Dans les 15 minutes suivantes l'ajustement de la turbidité de la suspension est prêt pour l'utilisation, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière

de la gélose (*Gélose Mueller Hinton*) à deux reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but est d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

#### **3.5.5.2.8 Incubation :**

Les disques stériles imprégnés des concentrations croissantes d'extraits à raison de 10µl par disque [108], ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose. Des témoins imbibés seulement par le DMSO ont été réalisés.

Les boîtes ont été incubé 24 h à 37 °C dans l'étuve pour le développement du germe en question.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits autour des disques.

#### **3.6 Etude statistique :**

Les expériences ont été réalisées deux ou trois répétitions selon les paramètres, Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD. Les résultats sont analysés par le test *ANOVA* deux variée

Pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de  $p \leq 0,05$  sont considérées statistiquement significatives [109].

### **Conclusion du chapitre 3**

On a choisi dans ce chapitre d'utiliser les réactifs et les appareils déjà mentionnés puisque, les protocoles ont été économiques et notre laboratoire a des potentiels limités, n'empêche que nos résultats ont été satisfaisants, car les dosages colorimétriques des extraits de la plante ont démontré la présence des protéines, glucides, polyphénols et flavonoïdes.

## Introduction du chapitre 4

Après les analyses qu'on a faites plusieurs résultats ont été obtenus, et on doit les discuter scientifiquement, et aussi les soutenir par les résultats des études précédentes sur cette plante. Dans ce chapitre on va montrer tous les résultats et les discussions des tests qu'on a utilisé pour valoriser cette plante.

La question qui se pose est si nos résultats sont conformes avec ceux obtenu par les autres études ?

## 4 Résultats et Discussions

### 4.1 Les extraits :

Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur, aspect et son rendement par rapport à la matière sèche. Ces éléments sont présentés dans le Tableau (4):

**Tableau 4 :** Rendement, couleurs et aspects des dix extraits obtenues par Macération.

Age	Partie	Rendements (%)	Couleurs	Aspects
21 ans	feuilles	5,2	Vert Foncé	Pâteux
	Tiges	2	Verte	Pâteux
	gousses	5,6	Verte	Pâteux
	graines	5,4	Jaune	Poudre
	racines	5,4	Jaune	Poudre
4 ans	feuilles	8	Vert Foncé	Pâteux
	Tiges	4,6	Verte	Pâteux
	gousses	4,4	Verte	Pâteux
	graines	8,6	Jaune	Poudre
	racines	2,2	Jaune	Poudre

Les résultats obtenus (Tableau 4) montrent que le rendement en extrait (EtOH) des feuilles et des graines de la plante âgée de 4 ans (8 % ; 8,6%) est supérieur à celui des feuilles et des graines de la plante âgée de 21 ans (5,2% ; 5,4%) ainsi avec tous les autres parties, tandis que le rendement en extrait (EtOH) des racines de la plante 4 ans est supérieur à celui des racines de la plante 21 ans.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction: la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant [110].

Il a été démontré que pour l'extraction par les solvants à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante [110].

#### 4.2 Teneurs en polyphénols totaux :

La détermination de la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes à partir d'extraits à base de plantes est nécessaire pour étudier le potentiel des plantes pour la prévention contre les maladies et est la première étape dans la détermination de l'activité antioxydante des extraits de plantes [111].

**Tableau 5 :** la teneur des extraits éthanolique en polyphénols et flavonoïdes .

Age	Partie	Flavonoïde ( $\mu\text{g EQ/mg de MS}$ )	PPT ( $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ )
21ans	feuilles	171,84 $\pm$ 0,000	160,58 $\pm$ 14,30
	Tiges	48,395 $\pm$ 0,381	108,16 $\pm$ 8,25
	gousses	52,99 $\pm$ 5,74	74,68 $\pm$ 7,86
	graines	61,37 $\pm$ 2,05	42,75 $\pm$ 10,01
	racines	18,799 $\pm$ 1,334	82,92 $\pm$ 3,89
4 ans	feuilles	147,78 $\pm$ 1,12	244,59 $\pm$ 20,39
	tiges	44,35 $\pm$ 1,86	84,84 $\pm$ 16,50
	gousses	55,61 $\pm$ 5,34	53,67 $\pm$ 4,01
	graines	83,575 $\pm$ 0,847	20,67 $\pm$ 1,18
	racines	17,497 $\pm$ 0,466	59,04 $\pm$ 3,89
Source de variation	Valeur de P et degré de signification		
Age	0,466	0,809	
Partie	0,0001***	0,0001***	
Age x Partie	0,0001***	0,0001***	
(P < 0,05) significative (*).		(p < 0,0001) très hautement significative(***)	
(P > 0,05) non significative.		(p < 0,001) hautement significative (**).	

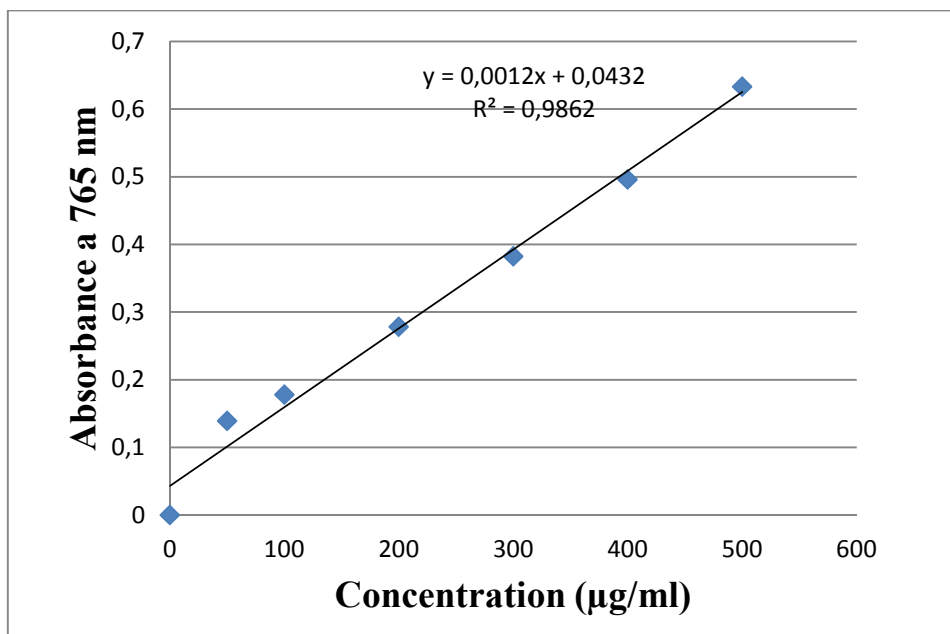
Les valeurs sont la moyenne de deux répétitions  $\pm$ SD.

La détermination des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits (EtOH) des parties de cette plante d'*A. lebbek* ont été faite en utilisant la méthode colorimétrique (*Folin-Ciocalteu*). La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Scalbert et al [98] pour chaque extrait a été rapportée en  $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ .

Les résultats (tableau 5) montrent que les extraits (EtOH) des feuilles, des tiges et des racines de la plantes (21 ans et 4 ans) ont une teneur considérable en polyphénols totaux (160,59 $\pm$ 14,30 et 244,59 $\pm$ 20,39  $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ ), (108,17 $\pm$ 8,251 et 84,835  $\pm$ 16,49  $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ ), ( 82,92 $\pm$ 3,89 et 59,04 $\pm$ 11,96  $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ ) successivement. Par contre, l'extrait des graines et des gousses (21 ans et 4 ans) est moins élevé (42,75 $\pm$ 10,01 et 20,67 $\pm$ 1,18  $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ ), (74,68 $\pm$ 7,86 et 53,66 $\pm$ 4,01  $\mu\text{g EAG/mg de MS}$ )

successivement. En parallèle, ZIA et al [2] ont aussi trouvé que l'extrait méthanolique des tiges, des racines et des gousses ont une valeur très élevée en polyphénols ( $209,08 \pm 1.03$  ;  $102.01 \pm 1.41$  ;  $51.21 \pm 0.25$  mg EAG/g de MS respectivement) en comparaison avec nos résultats.

L'acide gallique est le standard (Figure.15) le plus souvent employé dans la méthode de Scalbert et al [2].



**Figure 17** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les plantes Mimosacées ont été bien caractérisées par une diversité phytochimique impressionnante. Les polyphénols en particulier les flavonoïdes et les tanins sont les plus communs [108].

Les polyphénols ont été connus pour leur polarité élevée, une haute solubilité dans les solvants polaires et ainsi une forte activité antioxydant [108].

Selon Farag [82] l'écorce de tige d'*A. julibrissin* contient deux composés phénoliques Albibrissinosides A and B qui ont une activité anti radicalaire sur le radical DPPH.

Les résultats de l'analyse *ANOVA* pour le paramètre des polyphénols (tableau 4) montrent qu'il n'y a pas de différence significative sur le facteur de l'âge ( $P > 0,05$ ), tandis que cette analyse a démontré une différence très hautement significative ( $P < 0,001$ ) sur le facteur de partie et partie X âge.

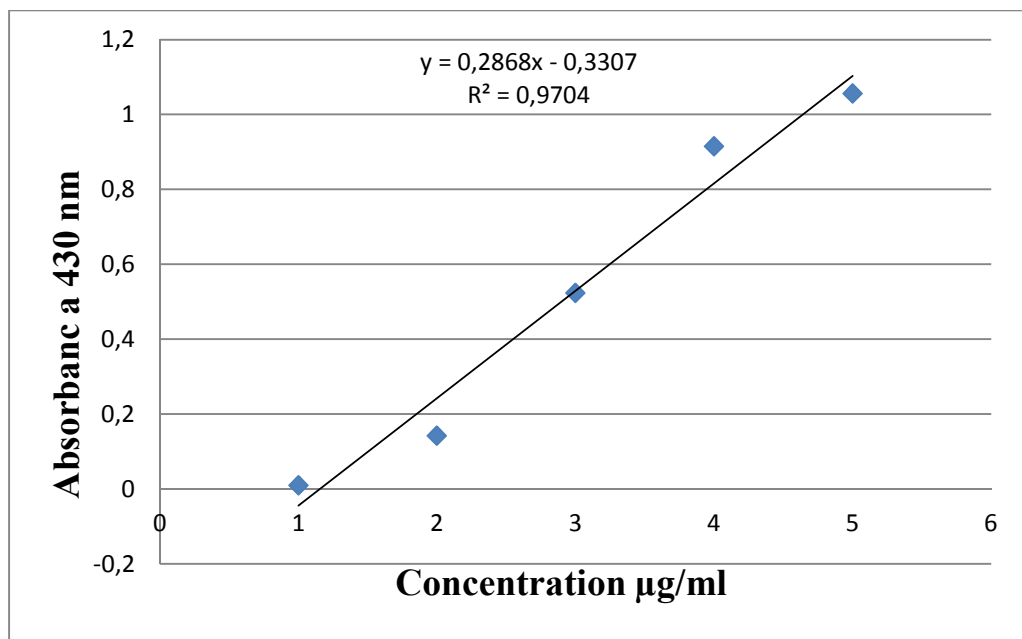
### 4.3 La teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes déterminée par la méthode Bahorun et al [100] pour chaque extrait a été rapportée en  $\mu\text{g EQ/mg}$  de MS.

Les résultats révèlent que l'extrait (EtOH) des feuilles et des graines de la plante au différent âge 21 ans et 4 ans à une teneur relativement élevé en flavonoïdes totaux ( $171,84 \pm 0,00$  et  $147,78 \pm 1,12 \mu\text{g EQ/mg}$  de MS) et ( $61,37 \pm 2,05$  et  $83,58 \pm 0,847 \mu\text{g EQ/mg}$  de MS) par rapport aux racines, tiges et gousses, ( $18,80 \pm 1,33$  et  $17,50 \pm 0,47 \mu\text{g EQ/mg}$  de MS), ( $48,40 \pm 0,38$  et  $44,35 \pm 1,86 \mu\text{g EQ/mg}$  de MS), ( $52,99 \pm 5,74 \mu\text{g EQ/mg}$  de MS) et ( $55,61 \pm 5,34 \mu\text{g EQ/mg}$  de MS) successivement.

Par contre, ZIA et al [2] ont révélé à une teneur très élevé de l'extrait méthanolique des tiges en flavonoïdes ( $371,27 \pm 2,12 \text{ mg EC/g}$  de MS) par rapport aux racines ( $89,08 \pm 0,102 \text{ mg EC/g}$  de MS) et les gousses ( $39,07 \pm 0,63 \text{ mg EC/g}$  de MS) en comparaison à nos résultats.

La différence des résultats entre celle de ZIA et al [2] et qu'on a obtenu, peut être expliquer que cette plante est stressé (pédoclimatique).



**Figure 18** : courbe d'étalonnage de la Quercetine.

D'après les résultats d'el-Mousallamy et al [81] et de [112] l'extrait éthanolique des feuilles d'*Albizia* est riche en flavonoïdes et en polyphénols .

Deux nouveau tri-O-glycoside flavonoïdes kaempférol et la quercitrine 3-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl ont été identifiés par [77] à partir des feuilles d'*Albizia lebbek (L) Benth.*

Selon les résultats d'el-Mousallamy et al [81] et de [112] l'extrait éthanolique des feuilles d'*Albizia* est riche en flavonoïdes et en polyphénols .

Deux nouveau tri-O-glycoside flavonoïdes kaempférol et la quercitrine 3-O-á-rhamnopyranosyl ont été identifiés par [77] à partir des feuilles d'*Albizia lebbbeck* (L) Benth .

Maisuthisakul et al [113] ont constaté que la teneur totale des flavonoïdes des extraits éthanoliques de 28 plantes, est liée à la teneur des composés phénoliques totaux.

Nous aussi on a trouvé qu'il y a une corrélation moyenne entre les flavonoïdes et les polyphénol totaux ( $R^2= 0,533$ ) dans les extraits étudiés d'*Albizia lebbbeck* (L) Benth.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse et salinité) Qui influence sur la biosynthèse des métabolites secondaires, tels que les polyphénols [114]. Ceci explique les teneurs qu'on a obtenu des extraits éthanoliques en polyphénols.

Les résultats de l'analyse teste *ANOVA* pour le paramètre des flavonoïdes (tableau 5) montrent qu'il n'y a pas de différence significative en concernant l'âge ( $P>0,05$ ), tandis que cette analyse a démontré une différence très hautement significative ( $P<0,001$ ) pour le facteur de partie et partie X âge.

#### **4.4 Teneur en protéine :**

La teneur en protéine déterminée par la méthode de Bradford [101] pour chaque échantillons été rapportée en  $\mu\text{g E BSA}/\text{mg de MS}$ .



**Tableau 6** : la teneur des extraits éthanolique en protéines et glucides.

Les valeurs sont la moyenne de deux répétitions± SD.

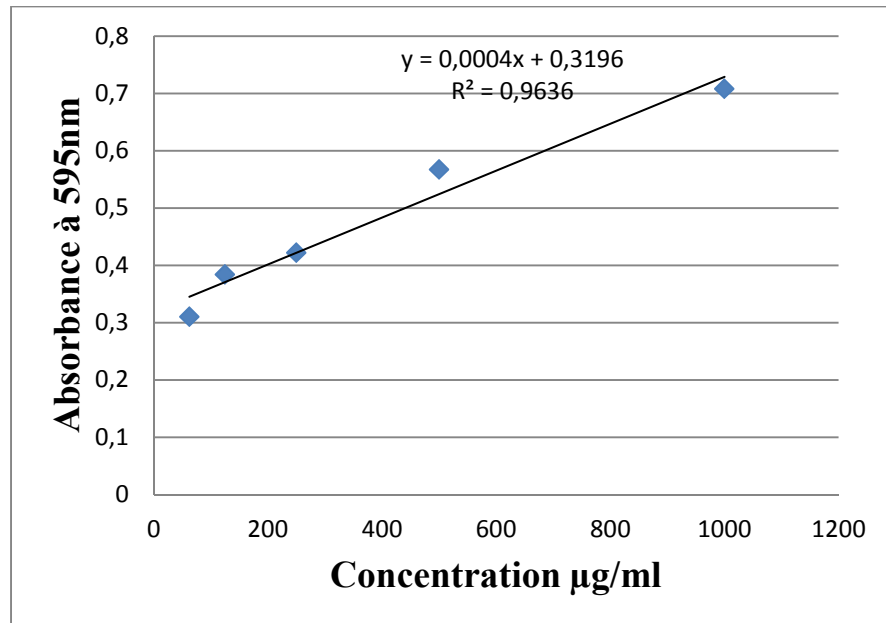
Age	Partie	Glucides ( $\mu\text{g EG /mg de MS}$ )	Protéines ( $\mu\text{g E BSA/mg de MS}$ )
21 ans	Feuilles	900,4±49,5	575,5±48,79
	Tiges	387,67±7,86	704,8±30,1
	Gousses	250,4±33,8	708,50±3,54
	Graines	590,4±19,6	867,3±40,7
	Racines	1448,72±51,93	683,5±21,2
4 ans	Feuilles	819,88±42,42	596,0±17,7
	Tiges	983,89±47,77	574,8±40,7
	Gousses	370,49±28,02	547,25±22,98
	Graines	1000,53±56,60	672,2±19,4
	Racines	1434,3±33,0	711±24,75
Source de variation		Valeur de P	
Age		0,0001***	0,071
Partie		0,0001***	0,041*
Age x Partie		0,0001***	0,079
(P < 0,05) significative (*). (P < 0,0001) très hautement significative (***). (P > 0,05) non significative. (P < 0,001) hautement significative(**).			

Nos résultats (tableau 6) ont montré la présence élevée des protéines dans tous les extraits (EtOH) des parties étudié mais la concentration la plus élevé est marque chez les graines, racines et gousses de la plante âgée de 21 ans et âgée de 4 ans (867,3±40,7 et 672,2±19,4  $\mu\text{g E BSA/mg de MS}$ ), (683,5±21,2 et 711±24,75  $\mu\text{g E BSA/mg de MS}$ ), (708,50±3,54 et 547,25±22,98  $\mu\text{g E BSA/mg de MS}$ ) respectivement par rapport aux feuilles et tiges.

La teneur des racines en protéines peut être expliquée par le fait que les racines dépendent de l'azote, qui est considérée comme une adaptation aux variations climatiques et imprévisibles de l'habitat. En effet, la fixation de l'azote via la symbiose légumineuse rhizobium permet aux plantes de cette famille d'obtenir des taux élevés en azote ammoniacal au niveau de leurs racines en fonction de la demande de leur métabolisme [58].

Muhammad et al [115] et Hassan et al [116] ont démontré la présence très élevé des protéines dans les graines et les gousses d'*A. lebeck*, ce qui est conforme avec nos résultats, mais des différences ont été observer peut être dû au conditions climatiques qui affectent la composition des graines.

Ces résultats montrent que cette plante est une source alimentaire autant humaine qu'animale. Les plantes légumineuses alimentaires de grande consommation comprennent entre autres *Arachis hypogaea* L. (l'arachide ou cacahuète), *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (Le pois d'Angole), *Cicer arietinum* L (le pois chiche), Lens (les lentilles), Phaseolus (les haricots). Ces espèces sont cultivées dans le monde entier et elles sont recherchées pour leur haute teneur en protéines et en minéraux [117].



**Figure 19** : courbe d'étalonnage de Bovine Serum Albumin.

Benbrahim et al [4] ont rapporté que les graines d'acacia contiennent ( $22,8 \pm 5,3\%$ ) de protéine, Ceci les rend très nutritives. En effet, leur farine est incorporée dans plusieurs recettes locales et peut apporter une nourriture supplémentaire à plus de 25% dans les zones semi-arides. Par contre Rahul et al [118] ont démontré l'absence des protéines d'après un criblage phytochimique dans l'extrait éthanolique des feuilles d'*A.lebbeck*.

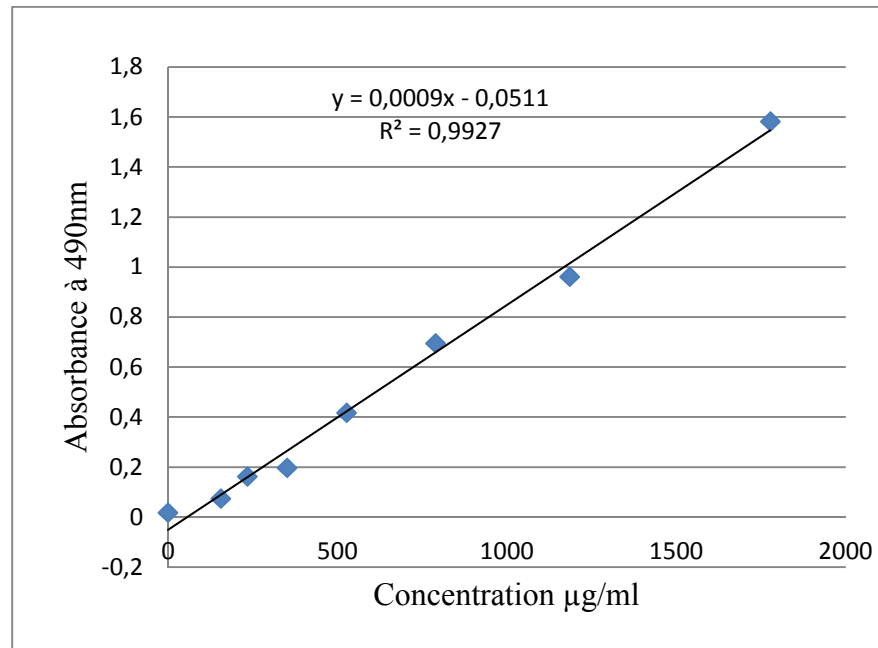
La teneur en protéines est le composant le plus important qui doit être pris en considération lors du choix des matériaux destinés à la formulation des aliments. Dans cette étude une quantité relativement plus élevée de protéine a été trouvée dans les graines par rapport aux autres parties [116].

Les résultats de l'analyse *ANOVA* pour le paramètre des protéines (tableau 6) montrent qu'il n'y a pas de différence significative sur le facteur âge et partie X âge ( $P > 0,05$ ), tandis que cette analyse pour le facteur de partie a démontré une différence significative ( $P < 0,04$ ).

#### 4.5 Teneur en glucides :

La teneur en glucide déterminée par la méthode Dubois et al [102] pour chaque extrait a été rapportée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de glucose /mg de matière sèche.

Nos résultats ont montré la présence des glucides dans tous les extraits (EtOH) des parties étudié (tableau 6), mais la teneur la plus élevés est marquée que dans les feuilles (900,4 $\pm$ 49,50 et 819,88 $\pm$ 42,42  $\mu\text{g}$  EG/mg de MS), les racines (1434,3  $\pm$ 33,0 et 1448,72 $\pm$ 51,93 $\mu\text{g}$  EG/mg de MS) et les graines (590,4 $\pm$ 19,6 et 1000,53 $\pm$ 56,60  $\mu\text{g}$  EG/mg de MS) de la plantes d'*A. lebbbeck* (21 ans et 4 ans) respectivement.



**Figure 20** : courbe d'étalonnage du glucose.

Les résultats obtenus par Muhammad et al [2] montrent la présence des carbohydrates dans les graines et les gousses d'*A.lebbbeck* .ce qui indique que les parties de cette plante peuvent être utiliser comme des compléments alimentaire pour les animaux .

Les feuilles sont signalés à être bon fourrage, 100kg de feuilles produisent 37kg de glucides digestibles [65].

Les résultats de l'analyse teste *ANOVA* pour le facteurs d'âge, partie et âge X partie sur le paramètre des glucides (tableau 6) montrent qu'il y'a une différence très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

## 4.6 Activité antioxydants :

### 4.6.1 Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydants des extraits éthanoliques d'*Albizia lebbbeck (L) Benth* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH<sup>•</sup>) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires [119].

**Tableau 7 :** Pourcentage d'inhibitions (I%) contre le radical libre DPPH des Différente extraits éthanoliques d'*A. lebbbeck (L) Benth*.

Age	Partie	AAO (%)
21 ans	feuilles	67,33
	Tiges	57,55
	gousses	30,87
	graines	8,60
	racines	37,84
4 ans	feuilles	79,78
	tiges	48,9
	gousses	26,83
	graines	7,12
	racines	27,75

Les résultats peuvent être exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC<sub>50</sub>, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH [120].

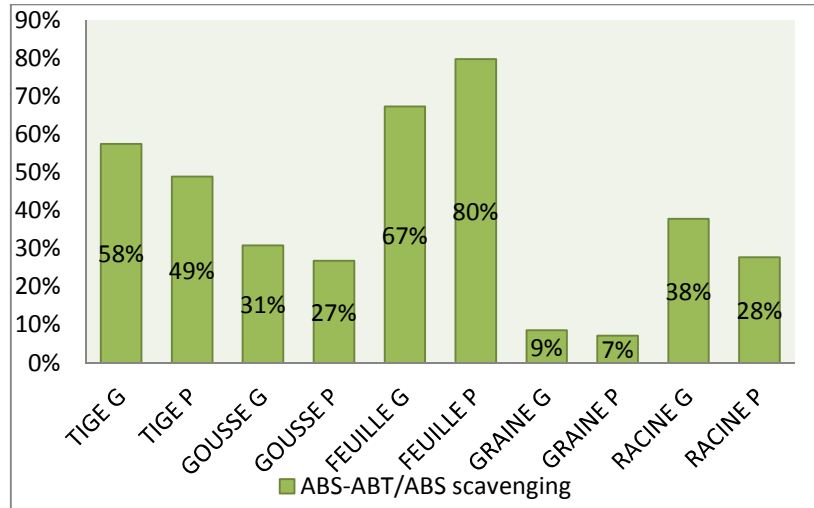
Nos résultats sont exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire (tableau 7), révèlent que l'extrait éthanolique des feuilles d'*Albizia lebbbeck (L) Benth* de 21 ans et de 4 ans sont les plus riche en composés antioxydant (67,33 et 79,78 % respectivement) avec une concentration de 1mg/ml par rapport aux autres parties testés.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Tansaringkarn [112, 121] qui ont trouvé une forte activité antioxydant dans l'extrait éthanolique des feuilles d'*Albizia* .

Les composés polyphénoliques et flavonoïdiques contiennent des structures cycliques conjuguée et des groupes hydroxyle; ils fonctionnent comme des antioxydants dans les systèmes cellulaires libre en piégeant l'oxygène singulet, anion superoxyde, la peroxydation

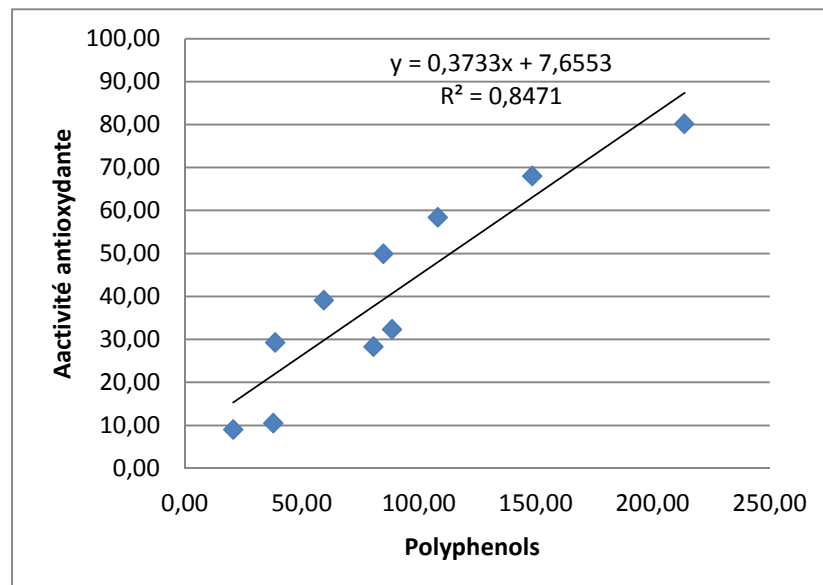
lipidique, des ions hydroxyles, des ions d'oxyde nitrique, et stabiliser les radicaux libres impliqués dans les processus d'oxydation [122].

On peut en conclure qu'*Albizia lebeck* (L) Benth semble être une plante prometteuse en ce qui concerne son pouvoir antioxydant pour soulager le diabète, et elle nécessite des études ultérieures [92].



**Figure 21 :** Activité antioxydante (AAO) des dix extraits d'*A. lebeck* (L) Benth (P : 4 ans et G : 21 ans)

Le coefficient de corrélation entre la teneur des extraits des deux plante d'*Albizia lebeck* (L) Benth en polyphénols et l'activité antioxydante était fortement significatif ( $R^2=0,847$ ), indiquant que 84% de la capacité antioxydante d'extraits, dû à la contribution des composés phénoliques qu'ils sont les antioxydants dominants dans ces extraits.



**Figure 22 :** la courbe de la corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des dix extraits.

La plupart des extraits des plantes Mimosacées exposent une activité de piégeage des radicaux libres [121].

#### 4.6.2 L'activité antimicrobienne :

**Tableau 8 :** Zones d'inhibition des 4 souches bactérienne testées en fonction des 4 concentrations de 6 extraits (EtOH) déférente.

Age	Partie	C	Les souches Bactériennes et les zones d'inhibition (mm)			
			Escherichia Coli	Pseudo A	Staph A	Salmonella T
21 ans	Feuille	C <sub>1</sub>	10,33±0,57	-	8,66±0,57	-
		C <sub>2</sub>	10,00±1,00	-	7,66±0,57	-
		C <sub>3</sub>	-	-	7,66±0,57	-
		C <sub>4</sub>	-	-	-	-
	Graine	C <sub>1</sub>	10,00±1,00	-	10,00±1,00	-
		C <sub>2</sub>	8,33±0,57	-	7,00±0	-
		C <sub>3</sub>	9,66±0,57	-	9,66±0,57	9,00±0
		C <sub>4</sub>	12,00±1,00	-	9,00±1,00	8,00±0
	Tige	C <sub>1</sub>	-	-	7,66±0,57	-
		C <sub>2</sub>	-	-	8,66±0,57	-
		C <sub>3</sub>	-	-	6,33±0,57	-
		C <sub>4</sub>	-	-	7,66±1,52	-
4 ans	Feuille	C <sub>1</sub>	-	-	-	8,00±1,00
		C <sub>2</sub>	-	-	-	-
		C <sub>3</sub>	-	-	-	-
		C <sub>4</sub>	-	-	-	-
	Graine	C <sub>1</sub>	-	-	10,00±1,000	10,33±0,57
		C <sub>2</sub>	-	-	8,00±0	8,00±0
		C <sub>3</sub>	-	-	7,66±0,57	8,00±0
		C <sub>4</sub>	-	-	7,33±0,57	7,00±1,00
	Tige	C <sub>1</sub>	-	-	9,67±2,08	8,66±0,57
		C <sub>2</sub>	-	-	11,33±0,57	8,00±0
		C <sub>3</sub>	-	-	10,00±1,00	8,00±1,00
		C <sub>4</sub>	-	-	8,00±0	6,33±0,57

C : Concentration. ; C<sub>1</sub> : 1mg/ml ; C<sub>2</sub> : 0,75mg/ml ; C<sub>3</sub> : 0,5mg/ml ; C<sub>4</sub> : 0,25mg/ml  
 (-) résistante

Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions± SD

Les résultats présentés dans le tableau (7) montrent que :

Les quatre concentrations de l'extrait des feuilles de la plante (21 ans 4 ans) sont avérés inactif contre l'ensemble des souches testées, avec des zones d'inhibitions modérées avec *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi* mais parmi ces zones celle de la C<sub>1</sub>=10,33±0,58 des feuilles et de la C<sub>4</sub>= 12,00±1,00 des graines de la plante 21ans est la plus élevée contre *E. coli*, cette dernière résultat ressemble à celle obtenu par Mohammedi et al [9] qui ont trouvé que l'extrait des feuilles de *Leucaena leucocephala* montre une activité antimicrobienne contre *E. coli* (10,33±0,38) [123].

Les souches *E. coli* et *Pseudomonas* possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des différentes concentrations de l'extraits des tiges de deux plantes avec des zones d'inhibitions très faible avec *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi* mais parmi ces zones celle de la C2=11,33±0,57 des tiges d'*A. lebbeck* qui a 4 ans est la plus élevée contre *Staphylococcus aureus*.

**Tableau 9:** Diamètres d'inhibition en (mm) des 4 souches bactérienne testées en fonction des 3 antibiotiques.

Bactéries \ Antibiotiques	<i>Escherichia Coli</i> DI(mm)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DI(mm)	<i>Staphylocoque aureus</i> DI(mm)	<i>Salmonella typhi</i> DI(mm)
Gentamicin(120µg/disque)	24	40	32	21
Nitroxolin (30µg/disque)	25	22	15	32
Oxacilin (1µg/disque)	0	0	0	0
Contrôle négative (disques vide et disques DMSO)	0	0	0	0

L'effet antibactérien des extraits de la plante au différent âge est très faible par rapport aux deux antibiotiques utilisés (Gentamicin et Nitroxoline), tandis que l'antibiotique Oxacilin n'a aucun effet sur les souches testées par rapport aux extraits utilisée.

Cette grande différence peut être expliquée pour de nombreuses plantes, en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et de l'activité [116].

En contrepartie, nos résultats sont conformes à ceux obtenu par Shahid et al [124], qui ont montré que l'extrait éthanolique des graines d'*Albizia lebbeck (L)* Benth a une activité antibactérienne élevé contre six souches bactériennes par rapport aux autres parties, ceci peut être explique par la présence des flavonoïdes qui possèdent des propriétés antimicrobiennes vis-à-vis de différents micro-organismes pathogènes [43].

L'écorce d'*A. lebbeck* a été précédemment démontré qu'ils possèdent une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Shigella boydii*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *C. albicans* [118].

L'étude de Uma et al [119] a révélé que l'extrait d'éthanol d'*Albizia lebbek* (L) Benth était efficace contre les souches de *E. coli* et *Salmonella typhi* associés à la diarrhée infectieuse. En outre l'isolement du composé actif responsable de l'activité pourrait être les sources potentielles de nouveaux agents antimicrobiens.

L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaire [125], de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles [114]. Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative. Les différences trouvées peuvent être attribuées aux plusieurs facteurs tels que les méthodes d'extraction, préparation de l'extrait, solvant utilisé, la sensibilité des bactéries, et finalement l'organe de la plante utilisé [120].

Aussi la méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi les résultats [126, 127] ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques de l'*Euphorbia fusiformis* et Hydro-ethanoliques de *Rhus coriaria* et *Zataria multiflora*, que la méthode de diffusion en milieu gélosé.

En conclusion, la différence de l'activité anti-oxydante et antimicrobienne des extraits des deux plantes semble être directement lié la diversité quantitative et/ou qualitative des composés qui présents dans ces extraits.



#### **Conclusion du Chapitre 4:**

Le bilan du rendement des extraits a donnée des teneurs relativement élevés pour les feuilles, et les graines de la plante qui a 4ans, par contre la plante âgée 21ans a donnée des teneurs moins élevées par rapport aux autres extraits.

Les résultats trouvés à partir des tests utilisés indiquent, que toutes les parties de cette espèce contiennent des polyphénols, et des flavonoïdes, mais la teneur la plus élevée est marquée chez les feuilles, ce qui indique qu'elles possèdent des propriétés antioxydantes.

Par contre, nos résultats démontrent la richesse des graines et des racines en protéines et en glucides, ce qui confirme l'utilisation nutritionnelle de cette plante.

En outre, le test de l'activité antioxydante par le radicale DPPH a révélé que les feuilles et les tiges ont une activité anti-radicalaire puissante par rapport aux autres parties. En contrepartie, l'effet antibactérien des extraits des parties de la plante est très faible par rapport aux deux antibiotiques utilisés (Gentamicin et Nitroxoline), tandis que l'antibiotique Oxacilin n'a aucun effet sur les souches testées par rapport aux extraits testés, mais l'extrait des feuilles et des graines ont présenté des zones d'inhibitions plus élevés par rapports aux autres extraits.

La réponse de la question posée dans l'introduction du chapitre 5 est oui, nos résultats sont conformes avec des études faites récemment sur cette espèce, mais cela n'empêche pas qu'il ya eu des différences en faveur des premiers a cause des conditions climatiques de notre région saharienne.



**CONCLUSION GENERALE ET  
PERSPECTIVE**

## Conclusion générale et perspective

L'étude phytochimique réalisée sur l'espèce *Albizia lebbeck* (L) Benth, plante endémique à l'Inde appartenant à la famille de fabacée, aux deux différents âges 21ans et 4ans, et la plus utilisées par les thérapeutes traditionnels en Asie. Elle a permis de mettre en évidence à travers des dosages colorimétriques, la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des protéines et des glucides dans ses cinq parties.

-Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes respectivement a révélé que les feuilles et les tiges de l'espèce sont les plus riches en polyphénols ( $244.59 \pm 20.39$  et  $160.58 \pm 14.30$   $\mu\text{g}$  EAG/mg de MS), ( $84.84 \pm 16.50$  et  $108.17 \pm 8.25$   $\mu\text{g}$  EAG/mg de MS) respectivement, tandis que les feuilles et les graines sont les plus riches en flavonoïdes ( $147.78 \pm 1.12$  et  $171.84 \pm 0.00$   $\mu\text{g}$  EQ/mg de MS), ( $83.575 \pm 0.847$  et  $61.37 \pm 2.05$   $\mu\text{g}$  EQ/mg de MS) respectivement.

D'autre part, le coefficient de corrélation ( $R^2=0.533$ ) indique qu'il y a une corrélation moyenne entre la teneur en flavonoïdes et en polyphénols des extraits d'*Albizia lebbeck*. Par contre le coefficient de corrélation ( $R^2 = 0.816$ ) entre la teneur en polyphénols des différents extraits d'*Albizia lebbeck* et l'activité anti-oxydante a indiqué que les composés phénoliques interviennent dans l'activité anti-oxydante de ces extraits.

- ✓ Le dosage des glucides à montrer que l'extrait des racines de la plante âgé de 4ans et de 21 ans est le plus riche en glucides ( $1434.3 \pm 33.0$  et  $1448,72 \pm 51,93$   $\mu\text{g}$  EG/mg de MS) par rapport aux autres parties.
- ✓ Le dosage des protéines a démontré que l'extrait des graines, racines et gousses de cette espèce (21ans et 4ans) a une valeur très élevé ( $867.3 \pm 40.7$  et  $672.2 \pm 19.4$   $\mu\text{g}$  E BSA/mg de MS), ( $683.5 \pm 21.2$  et  $711 \pm 24,75$   $\mu\text{g}$  E BSA/mg de MS), ( $708.50 \pm 3.54$  et  $547,25 \pm 22,98$   $\mu\text{g}$  E BSA/mg de MS) en comparaison avec les autres parties.
- ✓ Les résultats du test au DPPH ont montré que l'extrait des feuilles et des tiges de l'espèce (21ans et 4ans) a présenté des activités anti-radicalaires égales à 67.33% 79.77%, 57.55%, 48.90 respectivement par rapports aux autres extraits. On peut conclure que la plupart des extraits éthanoliques d'*Albizia lebbeck* présentent une bonne activité de piégeage des radicaux libres.
- ✓ Par ailleurs, l'étude du pouvoir antibactérien montrent que l'extrait éthanolique des trois parties (feuilles, tiges, graines) d'*Albizia lebbeck* (L) Benth a un effet inhibiteur faible sur la croissance de quatre souches bactériennes, testées par rapport aux antibiotiques qui semble avoir une action inhibitrice forte sur la croissance de toutes les souches, avec un

maximum d'inhibition de l'extrait des graines de la plante qui a 21ans sur *Escherichia Coli* (Zone d'inhibition de  $12.00 \pm 1.00$  mm à C4=0.25mg/ml)

Ces activités observées sont par ailleurs, expliquées par les résultats de l'analyse chimique des plantes qui révèle la présence des composés, tels que les flavonoïdes dont les propriétés antimicrobiennes ont déjà été démontrées, tels que les différentes classes de polyphénols essentiellement les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est en fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, l'activité antimicrobienne est donc stoppée par des flavonoïdes ce qui a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes.

- ✓ À la suite des recherches et des activités que nous avons faites, nous pouvons dire que cette plante tolère les conditions difficiles dans les milieux désertiques et est une plante médicinale et nutritionnelle.
- ✓ Les résultats de l'analyse *ANOVA* ont prouvé qu'il n'y a pas des différences significative entre la plante âgée de 21 ans et de 4 ans, en ce qui concerne la teneur on polyphénols, en flavonoïdes et en protéines. Par contre, cette analyse a indiqué qu'il y a une différence entre les parties de la même plante, donc il faut choisir les parties qui sont riche en ces composés. En revanche, il y a une différence quantitative en glucides entre la plante âgée de 21 ans et de 4 ans, ainsi des différences entre les parties de la même plante.
- ✓ Il est important de signaler qu'on a confronté des difficultés pour réunir les informations sur cette plante, notamment sur leurs parties, puisque c'est une plante récente en Algérie qui n'a pas été exploité.
- ✓ Il serait également intéressant de réaliser d'autres études comme l'identification et l'isolement des molécules actives par des méthodes d'identification et d'extractions, pour évaluer le potentiel de la plante in vivo sur des modèles d'animaux
  - ✓ Elle peut être utilisée comme ombrage pour les plantes cultivées, et aussi comme BRF(bois raméale fragmenté) pour le sol.

## REFERENCES

1. Djeddi, S., *Les huiles essentielles "Des mystérieux métabolites secondaires": Manuel de formation destiné aux étudiants de Master*. 2012: Presses Academiques Francophones.
2. Zia-Ul-Haq, M., et al., *Compositional studies and antioxidant potential of Albizia lebbek (L.) Benth. pods and seeds*. Turkish Journal of Biology, 2013. **37**(1): p. 25-32.
3. Sharma, O.P. and T.K. Bhat, *DPPH antioxidant assay revisited*. Food chemistry, 2009. **113**(4): p. 1202-1205.
4. Benbrahim, K.F., et al., *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, 2014. **8**(1): p. 46.
5. Béguel, J.-P., *Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse Crassostrea gigas*. 2013, Citeseer.
6. Comhair, S.A. and S.C. Erzurum, *Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases*. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2002. **283**(2): p. L246-L255.
7. Puy, H., *Introduction Aux Radicaux Libres Et Espèces Réactives De L'oxygène*, in *Biochimie Moléculaire*. 2012, Cours N°7 p. 12.
8. Barouki, R. and Y. Morel, *Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications*. Biochemical pharmacology, 2001. **61**(5): p. 511-516.
9. Mohammedi, Z., *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen*. Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 2006: p. 105.
10. Stief, T.W., *The physiology and pharmacology of singlet oxygen*. Medical hypotheses, 2003. **60**(4): p. 567-572.
11. Halliwell, B. and J. Gutteridge, *Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease*. Biochemical journal, 1984. **219**(1): p. 1.
12. Halliwell, B., *Antioxidants and human disease: a general introduction*. Nutrition reviews, 1997. **55**(1): p. 44-48.
13. Sisein, E.A., *Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants*, *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB) ISSN 2321-6883 (Online) Sch. Acad. J. Biosci*, 2014. **2**(2): p. 110-118.
14. Fenton, H., *LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron*. Journal of the Chemical Society, Transactions, 1894. **65**: p. 899-910.
15. Ashok, B.T. and R. Ali, *The aging paradox: free radical theory of aging*. Experimental gerontology, 1999. **34**(3): p. 293-303.
16. Ghafourifar, P. and E. Cadenas, *Mitochondrial nitric oxide synthase*. Trends in Pharmacological Sciences, 2005. **26**(4): p. 190-195.
17. Carr, A.C., M.R. McCall, and B. Frei, *Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species reaction pathways and antioxidant protection*. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2000. **20**(7): p. 1716-1723.
18. Laight, D., M. Carrier, and E. Ånggård, *Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction*. Cardiovascular research, 2000. **47**(3): p. 457-464.
19. Mccord, J.M., *The evolution of free radicals and oxidative stress*. The American journal of medicine, 2000. **108**(8): p. 652-659.
20. Garait, B., *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GlisODin®*. 2006, Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
21. Marnett, L.J., *Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde*. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 1999. **424**(1): p. 83-95.
22. Favier, A., *Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique*. L'actualité chimique, ed. V. 5. 2003. 108-115.

23. Richter, C., J.-W. Park, and B.N. Ames, *Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1988. **85**(17): p. 6465-6467.
24. Pincemail, J., et al., *Superoxide anion scavenging effect and superoxide dismutase activity of Ginkgo biloba extract*. Experientia, 1989. **45**(8): p. 708-712.
25. Haleng, J., et al., *Le stress oxydant*. Revue médicale de Liège, 2007. **62**(10): p. 628-38.
26. Vertuani, S., A. Angusti, and S. Manfredini, *The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview*. Current pharmaceutical design, 2004. **10**(14): p. 1677-1694.
27. Gerard-Monnier, D. and J. Chaudiere, *[Metabolism and antioxidant function of glutathione]*. Pathologie-biologie, 1996. **44**(1): p. 77-85.
28. Pham-Huy, L.A., H. He, and C. Pham-Huy, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. Int J Biomed Sci, 2008. **4**(2): p. 89-96.
29. Handelman, G.J., *The evolving role of carotenoids in human biochemistry*. Nutrition, 2001. **17**(10): p. 818-822.
30. Young, A.J. and G.M. Lowe, *Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids*. Archives of Biochemistry and biophysics, 2001. **385**(1): p. 20-27.
31. Zeghad, N., *Évaluation de l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales: Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis*. 2012: Editions universitaires europeennes.
32. Benghanou, M., *La Phytothérapie Entre La Confiance Et Mefiance*, in *Institut De Formation Paramédical Chettia*. 2012, Algeria: Memoire Professionnel Infirmier De La Sante Publique. p. 56.
33. Lugasi, A., et al., *The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases*. Acta Biologica Szegediensis, 2003. **47**(1-4): p. 119-25.
34. Hopkins, W.G., *Physiologie végétale*. 2003, Université des Sciences et Technologie de Lille. Paris.: Edition de boeck Supérieur.
35. Bruneton, J., *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales*. 1993.
36. Kanoun, K., *Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L.(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine)*. 2011.
37. Lebham, *These Au Laboratoire D'ecophysiologie Et De Biotechnologie Des Halophytes Et Des Algues Au Sein De L'institut Universitaire Europeen De La Mer (Ivem)*. . 2005, Universite De Bretagne Occidentale (Ubo). .
38. Wichtl, M. and R. Anton, *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2 e édition*. EMInter/Tec & Doc éditions, Paris, 2003: p. 587-589.
39. Bruneton, J., *Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc, Paris*. 1999.
40. Cowan, M.M., *Plant products as antimicrobial agents*. Clinical microbiology reviews, 1999. **12**(4): p. 564-582.
41. Barboni, T., *Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie*. 2006, Université Pascal Paoli. p. 287.
42. Harborne, J.B. and C.A. Williams, *Advances in flavonoid research since 1992*. Phytochemistry, 2000. **55**(6): p. 481-504.
43. Jassim, S. and M.A. Naji, *Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective*. Journal of Applied Microbiology, 2003. **95**(3): p. 412-427.
44. Fuhrman, B., A. Lavy, and M. Aviram, *Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation*. The American journal of clinical nutrition, 1995. **61**(3): p. 549-554.
45. Cruz, J.M., et al., *Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials*. Journal of agricultural and food chemistry, 2001. **49**(5): p. 2459-2464.
46. Murray, R.D.H., J. Méndez, and S.A. Brown, *The natura, coumarins: Occurrence, Chemistry and Biochemistry*. 1982: John Wiley & Sons.

47. Attia, F., *Effet du stress hydrique sur le comportement écophysologique et la maturité phénologique de la vigne Vitis vinifera L.: étude de cinq cépages autochtones de midi-Pyrenees*. 2007, Université Paul Sabatier.
48. Jayaprakasam, B., et al., *Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**(1): p. 28-31.
49. Lautrette, S., *Utilisation des fibres de carbone activé comme catalyseurs de O-et N-glycosylation: Application à la synthèse d'analogues de saponines et de nucléosides*. 2004, Limoges.
50. Badiaga, M., *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali*. 2011, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
51. Kansole, M., *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiacées du Burkina Faso*. Diplôme d'études approfondies en sciences biologiques appliquées, Université de Ouagadougou. P, 2009. **3**.
52. Makhloufi, A., *Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (Matricaria pubescens (Desf.) et Rosmarinus officinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru*. 2013, L'UNIVERSITE ABOUBAKER BELKAID. p. 136.
53. Bruneton, J., *Autres stéroïdes, autres triterpènes*. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Éd. Tec & Doc, Paris, 2009: p. 898-920.
54. Amarti, F., et al., *Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensis Boiss. & Reut. et Thymus ciliatus (Desf.) Benth. du Maroc*. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 2010. **14**(1): p. 141.
55. KHADRAOUI, A., *Eau et impact environnemental dans le Sahara Algérien*. ONM Ouargla, 2007. **299**.
56. OZENDA , P., *Flore du Sahara*. 1983, Paris, France, Cnrs.
57. Ozenda , P., *Flora of the Sahara*, ed. 2. 1977.
58. Wojciechowski, M.F., M. Lavin, and M.J. Sanderson, *A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family*. American Journal of Botany, 2004. **91**(11): p. 1846-1862.
59. Dupont, F. and J.L. Guignard *Abrégé de Botanique* 2007: p. 285.
60. Troup, R.S., *The silviculture of Indian trees*. Vol. 1. 1921: Clarendon Press.
61. Venkataramany, P., *Silviculture of genus Albizia and species*. Silviculture of Indian trees, 1968. **22**.
62. Bangash, S.H., *Salt tolerance of forest tree species as determined by germination of seeds at different salinity*. Pakistan Journal of Forestry, 1977. **27**(2): p. 93-97.
63. Lisan, B., *Fiche présentation arbre: Albizia lebbeck (Malgache, En Bonara, Fany)*. Numéros 12 et 13 Département des Eaux et Forête, 1844.
64. Orwa, C., et al., *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*. World Agroforestry Centre, Kenya 2009. 2009.
65. Mishra, S., V. Gothecha, and A. Sharma, *Albizia lebbeck: A short review*. Journal of Herbal Medicine and Toxicology, 2010. **4**(2): p. 9-15.
66. Nicolas, J.-P., *Plantes médicinales du Nord de Madagascar: ethnobotanique antakarana et informations scientifiques*. 2012: Jardins du monde.
67. Moller , K., *Fiches Techniques De Quelques Espèces D'arbres Et Arbustes A Usages Multiples A Recommander Pour Le Menabe Central*, in *Conseiller Technique à l'Opération SAF-CO Br 83.619 Morondava*, . 1998: Madagascar. p. 101.
68. USDA, N., L., *The PLANTS database*. National Plant Data Center, Baton Rouge, LA, 2011.
69. Parrotta, J.A., *Albizia Lebbeck (L.) Benth: Siris, Leguminosae (Mimosaceae), Legume Family*. 1988: USDA Forest Service, Southern Forest Experiment Station, Institute of Tropical Forestry.

70. Allen, O.N. and E.K. Allen, *The Leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation*. The Leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation., 1981.
71. Berte, C., M. Mohamed, and M. Saleck, *Lutte contre l'ensablement. L'exemple de la Mauritanie*. Etude FAO: Forêts (FAO), 2010.
72. Nayar, S., I. Chopra, and I. Chopra, *Glossary of Indian medicinal plants*. New Delhi, 1956.
73. Kirtikar, K., *Basu, BD*. Indian medicinal plants, 1935. **1**: p. 633-642.
74. Macmillan, H., *Tropical plants and gardening*. 1962, London: Macmillan and Co.
75. Assif, D. and S. Bleicher, *Retention of serrated endodontic posts with a composite luting agent: effect of cement thickness*. The Journal of prosthetic dentistry, 1986. **56**(6): p. 689-691.
76. Pal, B.C., et al., *Saponins from Albizia lebbeck*. Phytochemistry, 1995. **38**(5): p. 1287-1291.
77. Barua, A. and S.P. Raman, *The constitution of albigenic acid—a new triterpenoid sapogenin from albizzia lebbeck benth*. Tetrahedron, 1959. **7**(1): p. 19-23.
78. Mishra, S., *Chronology of the Indian Stone Age: The impact of recent absolute and relative dating attempts*. Man and Environment, 1995. **20**(2): p. 11-16.
79. Dixit, A.K. and L.N. Misra, *Macrocyclic budmunchiamine alkaloids from Albizia lebbeck*. Journal of Natural Products, 1997. **60**(10): p. 1036-1037.
80. Ueda, M., et al., *Albiziahexoside: a potential source of bioactive saponin from the leaves of Albizzia lebbeck*. Natural product research, 2003. **17**(5): p. 329-335.
81. El-Mousallamy, A.M., *Leaf flavonoids of Albizia lebbeck*. Phytochemistry, 1998. **48**(4): p. 759-761.
82. Sotelo, A., et al., *Chemical composition of seeds of Gliricidia sepium*. Nutrition reports international, 1986. **34**(3): p. 315-322.
83. Ayurvedic, *Pharmacopoeia Of India*. 2001: p. Part I;3: 201-02.
84. Farag, M., et al., *Evaluation of some biological activities of Albizia lebbeck flowers*. Pharmacology & Pharmacy, 2013. **4**(06): p. 473.
85. Babu, N.P., P. Pandikumar, and S. Ignacimuthu, *Anti-inflammatory activity of Albizia lebbeck Benth., an ethnomedicinal plant, in acute and chronic animal models of inflammation*. Journal of ethnopharmacology, 2009. **125**(2): p. 356-360.
86. Beppe, G.J., et al., *Memory-enhancing activities of the aqueous extract of Albizia adianthifolia leaves in the 6-hydroxydopamine-lesion rodent model of Parkinson's disease*. BMC complementary and alternative medicine, 2014. **14**(1): p. 1.
87. Beppe, G.J., et al., *The aqueous extract of Albizia adianthifolia leaves attenuates 6-hydroxydopamine-induced anxiety, depression and oxidative stress in rat amygdala*. BMC complementary and alternative medicine, 2015. **15**(1): p. 374.
88. Ganguli, N. and R. Bhatt, *Mode of action of active principles from stem bark of Albizzia lebbeck Benth*. Indian journal of experimental biology, 1993. **31**(2): p. 125-129.
89. Gupta, R., et al., *Effect of Saponins of Albizzia lebbeck (L.) Benth bark on the reproductive system of male albino rats*. Journal of ethnopharmacology, 2005. **96**(1): p. 31-36.
90. Kasture, V., S. Kasture, and S. Pal, *Anticonvulsant activity of Albizzia lebbeck leaves*. Indian journal of experimental biology, 1996. **34**(1): p. 78-80.
91. Chintawar, S., et al., *Nootropic activity of Albizzia lebbeck in mice*. Journal of ethnopharmacology, 2002. **81**(3): p. 299-305.
92. Resmi, C., M. Venukumar, and M. Latha, *Antioxidant activity of Albizzia lebbeck (Linn.) Benth. in alloxan diabetic rats*. Indian journal of physiology and pharmacology, 2006. **50**(3): p. 297.
93. Gupta, R., J. Kachhawa, and R. Chaudhary, *Antifertility effects of methanolic pod extract of Albizzia lebbeck (L.) Benth in male rats*. Group, 2004. **375**(3.60): p. 243.80-6.89.
94. Besra, S., et al., *Antidiarrhoeal activity of seed extract of Albizzia lebbeck Benth*. Phytotherapy Research, 2002. **16**(6): p. 529-533.
95. Kang, J., et al., *New ceramides from the flower of Albizzia julibrissin*. Chinese Chemical Letters, 2007. **18**(2): p. 181-184.



96. Mukhopadhyay, B., K. Nagaraju, and K. Sharma, *Albizzia lebbeck: A remedy for allergic conjunctivitis*. J Res Edu Indian Med, 1992. **11**.
97. Shah NB, M.D., Shau D And Desai RV, *Phyto-Pharmacological Profile Of Albizzia Lebbeck*. Pharmacologyonline 2010.
98. Scalbert, A., B. Monties, and G. Janin, *Tannins in wood: comparison of different estimation methods*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1989. **37**(5): p. 1324-1329.
99. Boizot, N. and J.-P. Charpentier, *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier*. Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, 2006: p. 79-82.
100. Bahorun, T., et al., *Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations*. Arzneimittel-forschung, 1996. **46**(11): p. 1086-1089.
101. Bradford, M.M., *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. Analytical biochemistry, 1976. **72**(1-2): p. 248-254.
102. Dubois, M., et al., *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical chemistry, 1956. **28**(3): p. 350-356.
103. Blois, M.S., *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*. 1958.
104. Bastos, D.H.M., et al., *Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology*. Med Aromat Plant Sci Biotechnol, 2007. **1**(1): p. 37-46.
105. Ryma, K., *Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margarines d'olives de la variété Chamal: Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation.*, in de *Biologie-Microbiologie*. 2014, Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. p. 171.
106. Amina, S.T., R. Merghem, and L. Dehimat, *ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE D'UNE LABIEE: Thymus hirtus*. Sciences & Technologie C, 2009(29): p. 25-29.
107. Rahal, K., *standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale*. 2005: p. 116.
108. Ngameni, B., et al., *Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from Dorstenia turbinata (Moraceae)*. South African Journal of Botany, 2009. **75**(2): p. 256-261.
109. *Minitab 17 Statistical Software (2010)*. [Computer software]. State College, PA: Minitab, Inc. ([www.minitab.com](http://www.minitab.com)).
110. Bougandoura, N., *Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales Saturejacalaminthasspnepta (nabta) et Ajugaiva L.(chendgoura) de l'ouest d'Algérie*. 2011.
111. Tosun, M., et al., *Antioxidant properties and total phenolic content of eight Salvia species from Turkey*. Biological Research, 2009. **42**(2): p. 175-181.
112. Malla S, S.C.K.A.J.R., *Antimicrobial, Phytochemical And Antioxidant Screening Of Leaves And Stem Bark From Albizia Lebbeck (L.)*. 2014: International Journal Of Pharma And Bio Sciences. Int J Pharm Bio Sci 2014 April ; 5 (2) 259 – 270.
113. Maisuthisakul, P., S. Pasuk, and P. Ritthiruangdej, *Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants*. Journal of Food Composition and Analysis, 2008. **21**(3): p. 229-240.
114. Falleh, H., et al., *Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities*. Comptes Rendus Biologies, 2008. **331**(5): p. 372-379.
115. Atiq-ur-Rehman, S., M.Z. Iqbal, and M. Athar, *Growth of Albizia lebbeck (L.) Benth.(Mimosaceae) in polluted soils of Landhi and Korangi industrial areas of Karachi, Pakistan*. Agric. Conspec. Sci, 2011. **76**(2): p. 1-6.
116. Hassan, L., K. Umar, and I. Atiku, *Nutritional evaluation of Albizia lebbeck pods as source of feeds for livestock*. Am. J. Food Technol, 2007. **2**(5): p. 435-439.

117. Boutaghane and Naima, *Etude Phytochimique et Pharmacologique de plantes médicinales algériennes Genista ulicina Spach (Fabaceae) et Chrysanthemum macrocarpum (Sch. Bip.) Coss. & Kralik Ex Batt (Asteraceae)*. 2013, de Constantine. p. 271.
118. Rahul, C., et al., *Phytochemical screening and antimicrobial activity of Albizzia lebbeck*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2010. **2**(5): p. 476-484.
119. Majhenič, L., M. Škerget, and Ž. Knez, *Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts*. Food Chemistry, 2007. **104**(3): p. 1258-1268.
120. Athamena, S., *Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique*. 2013.
121. Tansaringkarn, S.R.S.B.T. and N. Ruangrunsi, *Screening for free radical scavenging activity from ethanolic extract of mimosaceous plants endemic to Thailand*. J Health Res, 2008. **22**(2): p. 55-59.
122. Klahorst, S., *Exploring antioxidants*. Wd Food Ingred.(April/May), 2002: p. 54-59.
123. Mohammed, R.S., et al., *Antioxidant, antimicrobial activities of flavonoids glycoside from Leucaena leucocephala leaves*. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol, 2015. **5**(06): p. 138-147.
124. Shahid, S.A. and N. Firdous, *Antimicrobial screening of Albizzia lebbeck (L.) Benth. and Acacia leucophloea (Roxb.)*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2012. **6**(46): p. 3180-3183.
125. Kil, H.Y., et al., *Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract*. Food Chemistry, 2009. **115**(4): p. 1234-1239.
126. Fazeli, M.R., et al., *Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (Zataria multiflora) against some food-borne bacteria*. Food control, 2007. **18**(6): p. 646-649.
127. Natarajan, D., et al., *Anti-bacterial activity of Euphorbia fusiformis—A rare medicinal herb*. Journal of ethnopharmacology, 2005. **102**(1): p. 123-126.
128. El Nacer, H.A., *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L*. 2012, Université Ferhat Abbas de Sétif 1. p. 67.
129. Akroum , S., *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels*. 2010, Université Mentouri de Constantine . p. 112.



**ANNEXE**

**ANNEXE**

- La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux :

La solution de l'acide gallique est préparée par le mélange de 2mg d'acide gallique dans 2ml de méthanol. Cette solution fait allusion S1

La première étape est la préparation de la gamme d'étalon :

les tubes sont numérotés de A1 jusqu'à A8

- 0.5ml de S1+0.5ml de méthanol dans le tube A1.
- 0.4ml de S1+0.6ml de méthanol dans le tube A3.
- 0.3ml de S1+0.7ml de méthanol dans le tube A3.
- 0.2ml de S1+0.8ml de méthanol dans le tube A4.
- 0.1ml de S1+0.9ml de méthanol dans le tube A5.
- 0.05ml de S1+0.95ml de méthanol dans le tube A6.

Dans la deuxième étape on a mélangé 100µl d'A1+500µl de Folin dilué +2ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7.5%, cette étape est ainsi suivi avec les autres gammes jusqu'à A8 et répéter deux fois avec chaque gamme. Après agitation les 16 tubes sont mis dans l'obscurité pendant 30minutes dans une température ambiante, le blanc est l'H<sub>2</sub>O distillé et la lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda = 760\text{nm}$ .

- La courbe d'étalonnage des flavonoïdes :

La solution de Quercetine est préparée par le mélange de 2mg de Quercetine avec 2ml de méthanol.

- 80µl de la solution de Quercetine ont été ajouté dans un tube avec 920µl de méthanol et 1000µl d'AlCl<sub>3</sub>.
- 60 µl de la solution de Quercetine ont été ajouté dans un tube avec 940µl de méthanol et 1000µl d'AlCl<sub>3</sub>.
- 40 µl de la solution de Quercetine ont été ajouté dans un tube avec 960µl de méthanol et 1000µl d'AlCl<sub>3</sub>.
- 20 µl de la solution de Quercetine ont été ajouté dans un tube avec 980µl de méthanol et 1000µl d'AlCl<sub>3</sub>.
- 1000µl de méthanol et 1000µl d'AlCl<sub>3</sub> ont été ajouté sans un tube.

Le blanc est constitué de 1ml d'éthanol avec 1ml d'eau distillée,

➤ La courbe d'étalonnage des glucides :

La préparation de l'étalonne se fait par le glucose. La solution mère du glucose est préparé par le mélange de 20mg du glucose avec 5ml d'eau distillé .on réalise 6 dilution par tiers de 4mg/ml à 0.2mg/ml.

Dans un tube on a mis 1ml de la solution mère et on l'ajoute 500µl d'eau distillée c'est la première dilution d'une concentration de 1.3mg/ml.

Dans un autre tube on a mis 1ml de la première solution et on l'ajoute 500µl d'eau distille c'est la deuxième dilution et ainsi de suite jusqu' on arrive à la sixième dilution d'une concentration de 0.2mg/ml.

➤ La courbe d'étalonnage des protéines :

La solution de BSA est préparée par l'ajoute de 3mg de cette dernière avec 3ml d'eau distillé, donc la concentration est de 1mg/ml. On prépare une série de tube chaque tube correspond aune concentration (1mg/ml,0.5mg/ml,0.25 mg/ml ,0.125mg/ml,0.0625mg/ml) de la solution BSA, les dilutions ont été faite par l'eau distillé et, après on ajoute dans les cinq tubes 2.5ml du réactif bleu de comassie. Après agitation et une période de repos pendant 5 mn, la densité optique est lue à 595 nm. Le blanc est l'H<sub>2</sub>O

Le réactif du bleu de comassie est préparé par le mélange de 50mg de la poudre de cette dernière avec 25 ml d " éthanol en suite sont procédé à une agitation pendant 2h, après on ajoute 50ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 85%, on complète le volume jusqu'à 500ml, le mélange est filtré puis conservé à 4°C.