



ISSN NO. 2320-5407

Journal Homepage: - www.journalijar.com

INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH (IJAR)

Article DOI: 10.21474/IJAR01/9927
DOI URL: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/9927>



RESEARCH ARTICLE

METABOLITES SECONDAIRES, ACTIVITES ANTIBACTERIENNE ET ANTIRADICALAIRE DES EXTRAITS DE L'ÉCORCE DE TRONC DE ACACIA POLYACANTHA RECOLTÉE AU BENIN.

Koudoro Yaya Alain , Bogninou G. Sophie Reine, Bossou Annick Flore Arlette Dohoué, Agbangnan Dossa Cokou Pascal, Olayé Théophile, Bothon F. T. Diane, Alitonou Guy Alain, Avlessi Félicien and Sohounhlou Dominique.

Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée (LERCA), Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou République du Bénin.

Manuscript Info

Manuscript History

Received: 16 August 2019

Final Accepted: 18 September 2019

Published: October 2019

Key words:-

Acacia polyacantha, métabolites, souches, bactéricide, activité antiradicalaire.

Abstract

Le Bénin dispose des plantes médicinales utilisées pour traiter la fièvre typhoïde et les maladies gastro-intestinales dont les métabolites chimiques et le potentiel biologique restent encore méconnus. C'est pour combler en partie ce vide scientifique que le présent travail a été initié et vise la valorisation de *Acacia polyacantha* aux plans chimique et biologique. Après un screening phytochimique, les teneurs en composés phénoliques des extraits de cette plante ont été déterminées et les activités antibactérienne et antiradicalaire ont été évaluées respectivement par la méthode de dilution en microplaques et le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

Les résultats obtenus révèlent la présence de plusieurs métabolites tels que les saponosides, les tanins, les alcaloïdes, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les coumarines, les stérols et les terpènes reconnus pour leurs activités biologiques. L'extrait hydroéthanolique a présenté le rendement d'extraction le plus élevé ($13,65 \pm 2,19\%$) avec la plus forte teneur en composés phénoliques totaux ($6,72 \pm 0,02$) mgEqAG/gMS et en flavonoïdes ($22,69 \pm 3,54$) mgEqC/gMS contrairement à l'extrait éthanolique qui a montré la plus forte teneur en tanins ($52,09 \pm 0,79$) mgEqC/gMS. Quant à l'activité antiradicalaire, l'extrait éthanolique a montré une activité intéressante comparativement aux extraits hydroéthanolique et aqueux avec une IC_{50} de $10 \mu\text{g/mL}$. De l'activité antibactérienne, il ressort que les extraits éthanolique et aqueux ont une activité bactéricide contre la souche de *Salmonella typhi* alors qu'au niveau de la souche de *Staphylococcus aureus*, seuls les extraits éthanolique et hydroéthanolique se sont révélés bactéricides. Une combinaison des trois types d'extrait serait donc efficace aussi bien contre la fièvre typhoïde que certaines gastro-entérites à staphylocoques.

Copy Right, IJAR, 2019,. All rights reserved.

Corresponding Author:- Koudoro Yaya Alain.

Address:-Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée (LERCA), Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou République du Bénin.

Introduction:-

Depuis des millénaires, l'homme utilise les plantes pour traiter et soigner toutes sortes de maladies (Sanago, 2006; Athamena, 2009). Les plantes médicinales ont prouvé leur importance pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement à travers l'utilisation directe de leurs constituants comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Meenah, 2006). Partout dans le monde, l'intérêt pour la médecine traditionnelle s'accroît constamment ces dernières années. En Afrique, la pratique de la médecine traditionnelle nécessite toujours des améliorations. Au Bénin, plusieurs plantes médicinales sont couramment utilisées pour traiter diverses affections mais les métabolites et le potentiel biologique de ces plantes restent encore peu connus. De la famille des mimosaceae, *Acacia polyacantha* fait partie de ces plantes. C'est un arbre épineux allant de 16 m à 25 m de hauteur (Mulofwa et al., 1994; Akoègninou et al., 2006) à couronne aplatie et étalée, avec une écorce grise, jaune ou noirâtre, fissurée, écailleuse et à épines non-stipulaires (Akoègninou et al., 2006). *Acacia polyacantha* utilisée pour traiter la fièvre typhoïde et les maladies gastro-intestinales des animaux d'élevage et de l'homme. Elle est aussi utilisée pour soigner les morsures de serpent, l'éjaculation précoce, la rage et l'hémorroïde (Mulofwa et al., 1994; Satti, 2004). Le présent travail vise la valorisation de *Acacia polyacantha* à travers l'identification des métabolites, la quantification de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation des activités antibactérienne et antiradicalaire des extraits de son écorce de tronc.

Matériel et methods:-

Le matériel utilisé dans cette étude est essentiellement constitué de :

Matériel végétal:

l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* récoltée à Dassa au sud du Bénin.

Matériel animal:

des souches de références de *Staphylococcus aureus* (ATCC 27844) et *Salmonella typhi* (R.0951401). Ces souches ont été fournies par le Laboratoire National de la Santé du Bénin.

Méthode**Prétraitement de l'échantillon:-**

Après la collecte du matériel végétal, l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* a été séchée à la température du laboratoire (25°C-30°C) jusqu'à la stabilisation de sa masse puis réduite en poudre.

Identification des métabolites secondaires:

Les métabolites secondaires ont été identifiés par des réactions de coloration et de précipitation spécifiques à chaque famille de métabolites (Dohou et al., 2003; Agbangnan et al., 2012; Koudoro et al., 2015).

Préparation des extraits bruts:

La technique utilisée pour préparer les extraits est celle de la macération. Après la filtration, les extraits ont été évaporés à 60°C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Heidolph puis séchés à sec à l'étuve à 60°C (Koudoro et al., 2018).

Dosage des composés phénoliques**Phénols totaux:**

Le dosage des composés phénoliques totaux a été fait par le réactif de Folin-Ciocalteu (Wong et al., 2006; Agbangnan et al., 2013).

Flavonoïdes totaux:

La méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes totaux (Koudoro et al., 2018; Wong et al., 2006).

Tanins condensés:

Le dosage des tanins condensés est réalisé par la méthode à la vanilline sulfurique (Koudoro et al., 2018; Heimler et al., 2006).

Evaluation de l'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire a été évaluée par la méthode au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres d'une solution de DPPH. Ce piégeage est visualisé par la disparition de la couleur pourpre du DPPH. Les cuves sont laissées à l'obscurité pendant une heure et les absorbances ont été mesurées à 517nm (Agbangnan et al., 2013; Brand-Williams et al., 1995; Parejo et al., 2002). Le pourcentage de piégeage du radical a été déterminé par la formule: $P = \frac{Ab - Ae}{Ab} * 100$.

Avec P: pourcentage de piégeage; Ab: absorbance du blanc, Ae: Absorbance de l'échantillon.

Activité antibactérienne des extraits de *Acacia polyacantha*

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de micro-dilution dans les microplaques et dans les boîtes de Pétri (NCCLS, 2003; Yehouenou et al., 2010; Mohammed et al., 2012).

Résultats et discussion:-

Identification des métabolites secondaires

Le tableau 1 indique les métabolites identifiés dans l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*. On y note la présence des saponosides, des tanins catéchiques, des alcaloïdes, des anthocyanes, des leuco-anthocyanes, des coumarines, stérols et terpènes. Au niveau de l'écorce de tronc de cette même plante récoltée à Zaria au Nigéria, d'autres chercheurs (Okpanachi et al., 2012) ont noté la présence des flavonoïdes et des anthraquinones qui sont absents dans l'échantillon du Bénin. Par contre dans l'échantillon du Bénin, il a été noté des leuco-anthocyanes qui sont absents dans l'échantillon du Nigéria. La variation des métabolites secondaires remarquée au niveau de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* par rapport aux travaux antérieurs pourrait être liée à la période de la récolte, à la nature du sol ou aux facteurs climatiques (Daddona et al. 1976; Manolaraki, 2011). La diversité en métabolites secondaires de cette plante pourrait expliquer son usage dans la médecine traditionnelle. La présence des tanins pourrait justifier l'utilisation de cette plante dans le traitement des affections diarrhéiques et des maladies gastro-intestinales des animaux d'élevage (Di-Carlo et al., 1999; Min et al., 2001).

Tableau 1:-Métabolites de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*

Métabolites secondaires	<i>Acacia polyacantha</i>
Alcaloïdes	+
Flavoides	+/-
Anthocyanes	-
Leucoanthocyanes	+
Anthraquinones	-
Composés reducteurs	-
Tanins	+
Stérols et terpènes	+
Mucilages	-
Saponosides	+
Coumarines	+
Quinones	+
Protéines	-
Composés volatils	-

Légende : +: Présence; -: Absence ; +/- : doute

Rendement d'extraction de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*

Le tableau 2 indique les rendements des extraits éthanolique, hydroéthanolique et aqueux de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*. Ces rendements sont respectivement de (4,5±1,56)%; (13,65±2,19)% et de (8,85±0,50) %. Le rendement d'extraction le plus élevé est obtenu au niveau de l'extrait hydroéthanolique accompagné de l'extrait aqueux alors que celui le plus faible est enregistré au niveau de l'extrait éthanolique. Le solvant d'extraction influence donc fortement le taux d'extraction des métabolites de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*. Cette même remarque a été déjà faite dans plusieurs travaux antérieurs dont ceux de Adeniyi et al. en 2010 au Nigéria sur quatre plantes (*Vernonia amygdalina*, *Sida acuta*, *Ocimum gratissimum* et *Telfaria occidentalis*).

Tableau 2:- Métabolites de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*

Rendements (%)

Ethanolique	4,50±1,57
hydroéthanolique	13,65±2,19
Aqueux	8,85±0,50

Teneur en composés phénoliques des extraits de l'écorce de tronc de acacia polyacantha

Le tableau 3 présente les teneurs en composés phénoliques des extraits de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha. La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait éthanolique de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha est de (5,547±0,115) mgEqAG/gMS alors que celles des extraits hydroéthanolique et aqueux sont respectivement de (6,769±0,018) mgEqAG/gMS et (4,730±0,908) mgEqAG/gMS.

L'analyse statistique réalisé par le test ANOVA a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits éthanolique, hydroéthanolique et aqueux de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha à $P < 0,05$.

Quant à la teneur en flavonoïdes totaux, celle de l'extrait éthanolique est de (18,659±0,023) mg EqC/g MS tandis que l'extrait hydroéthanolique a donné une teneur de (22,698±3,541) mg EqC/g MS contre (19,418±0,548) mg EqC/gMS pour l'extrait aqueux.

D'après le test ANOVA, la teneur en flavonoïdes totaux n'a pas subi de variation notable au niveau des extraits éthanolique, hydroéthanolique et aqueux à $P < 0,05$.

Cependant, les teneurs en tanins condensés des extraits éthanolique, hydroéthanolique et aqueux sont respectivement de (52,093±0,789) mg EqC/gMS, (30,047±1,973) mgEqC/gMS et (17,302±0,526) mgEqC/gMS. Après l'analyse statistique de ce résultat, on remarque que l'augmentation de la polarité du solvant d'extraction influence négativement la teneur en tanins de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha au seuil de 5%.

Tableau 3:-Teneur en composés phénoliques des extraits de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha

Teneurs en composés phénoliques des extraits			
Composés phénoliques	Ethanolique	Hydroéthanolique	Aqueux
Phénols totaux (mg EqAG/g MS)	5,547±0,115	6,769±0,018	4,730±0,908
flavonoïdes totaux (mg EqC/g MS)	18,659±0,023	22,698±3,541	19,418±0,548
Tanins condensés (mg EqC/g MS)	52,093±0,789	30,047±1,973	17,302±0,526

Activité antiradicalaire des extraits bruts de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha

Le taux de piégeage des radicaux libres en fonction des concentrations des extraits de l'écorce de tronc de Acacia polyacantha est représenté sur la figure 1.

D'après ces résultats, les IC_{50} des extraits éthanolique, hydroéthanolique et aqueux sont respectivement de 10µg/mL, 20µg/mL et de 14µg/mL. L'extrait éthanolique a montré une activité antiradicalaire plus importante que celle des extraits hydroéthanolique et aqueux. Il faut remarquer que d'après les résultats du dosage des composés phénoliques, l'extrait éthanolique s'est révélé plus riche en tanins que les extraits hydroéthanolique et aqueux. L'activité remarquée au niveau de cet extrait pourrait donc être liée à sa teneur en tanins.

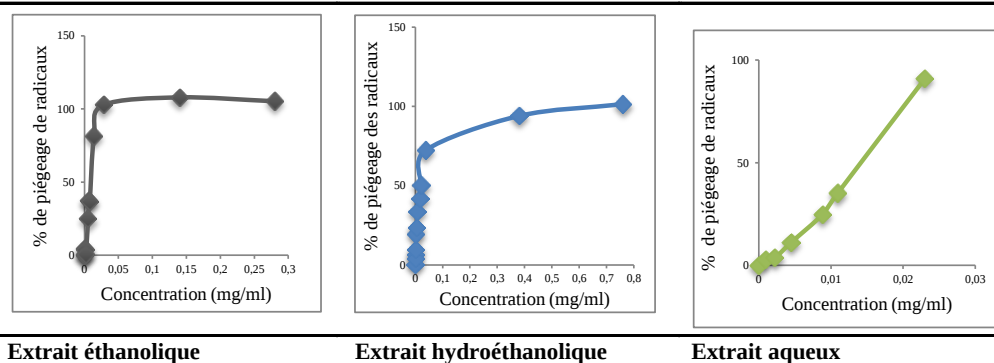


Figure1:- Activité antiradicalaire des extraits de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*

Activité antibactérienne des extraits de l'écorce de tronc de acacia polyacantha

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) et le pouvoir antibiotique (CMB/CMI) des extraits éthanolique, hydroéthanolique et aqueux de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* sont indiqués dans le tableau 4.

Les CMI varient de 1,56 mg/mL à 50 mg/mL alors que les CMB évoluent de 6,25 mg/mL à 50mg/ml avec les bactéries testées. Les extraits éthanolique et hydroéthanolique ont montré une activité bactéricide avec *Staphylococcus aureus*. Par contre, avec *Salmonella typhi*, ce sont les extraits éthanolique et aqueux de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* qui se sont révélés bactéricides. D'après les résultats du screening phytochimique, l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* contient des composés phénoliques, des coumarines, des terpènes et stérols. La présence de ces composés dans les extraits de cette plante pourrait expliquer l'activité antibactérienne intéressante observée. Dans la littérature, des travaux antérieurs ont prouvé l'activité antibactérienne de ces composés (Davidson et al., 1989). L'activité bactéricide des extraits de *Acacia polyacantha* contre les souches de *Salmonella typhi* et de *Staphylococcus aureus* pourrait justifier l'usage de cette plante dans la médecine traditionnelle pour traiter respectivement la fièvre typhoïde et les maladies gastro-intestinales.

Tableau 4 :-Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) et pouvoir antibiotique (CMB/CMI) des extraits de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha*

Souches bactériennes	Extraits	Concentrations (mg/ml)		CMB/CMI
		CMI	CMB	
<i>Salmonella typhi</i>	Ethanolique	6,25	50,00	8,00
	Hydroéthanolique	50,00	>100,00	-
	Aqueux	12,50	100,00	8,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ethanolique	1,56	6,25	4,00
	Hydroéthanolique	25,00	50,00	2,00
	Aqueux	>100,00	>100,00	-

Conclusion:-

Les plantes médicinales restent et resteront encore longtemps une source fiable de principes actifs pour leurs propriétés thérapeutiques. La flore béninoise est riche en plantes médicinales utilisées pour traiter les maladies gastro-intestinales et la fièvre typhoïde dont les métabolites et le potentiel biologique restent encore méconnus. Une étude de la composition chimique, des propriétés antibactérienne et antiradicalaire de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* est présentée dans ce travail. D'après les résultats obtenus, l'écorce de tronc de cette plante contient les métabolites secondaires tels que les saponosides, les tanins, les alcaloïdes, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les coumarines, les stérols et les terpènes. La présence par exemple des tanins au niveau de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* justifierait son utilisation dans le traitement des maladies diarrhéique et gastro-intestinales des animaux d'élevage. Il ressort de l'activité antiradicalaire intéressante de l'extrait éthanolique de l'écorce de tronc de *Acacia polyacantha* que cet extrait pourrait être utilisé pour lutter contre les attaques radicalaires subies par les animaux d'élevage d'une part et dans la conservation des denrées alimentaires périssables d'autre part. L'activité bactéricide des extraits de cette plante contre les souches de *Salmonella typhi* et de *Staphylococcus aureus* pourrait justifier son usage dans le traitement de la fièvre typhoïde et des maladies gastro-intestinales en médecine traditionnelle au Bénin.

Références:-

- Adeniyi S.A., Orjiekwe C.L., Ehiagbonare J.E. and Arimah B.D. (2010). Preliminary phytochemical analysis and insecticidal activity of ethanolic extracts of four tropical plants (*Vernonia amygdalina*, *Sida acuta*, *Ocimum gratissimum* and *Telfaria occidentalis*) against beans weevil (*Acanthscelides obtectus*). *International Journal of the Physical Sciences*, 5(6), pp. 753-762.
- Agbangnan D.C.P., Tachon C.B., Chrostowka A., E.Fouquet, D.C.K.Sohounhloue. (2012). 'Phytochemical study of a tinctorial plant of benin traditional pharmacopoeia: The red sorghum (*sorghum caudatum*) of Benin', *Scientific Study & Research*, 13(2), pp.121-135.
- Agbangnan, C.P.D., Noudogbessi, J.P., Chrostowska, A., Tachon, C.; Fouquet, E., Sohounhloue, D.C.K. (2013). Phenolic compound of benin's red sorghum and their antioxidant properties. *Asian J Pharm Clin Res*, 6 (2), pp. 277-280.
- Akoègninou A., Van der Burg W.J., Van der Maesen L.J.G. (2006). *Flore Analytique du Bénin*, Backhuys Publishers, 1034 p.

5. Athamena S. (2009). Mémoire de magister. Universités El-Hadjar Lakhdar-Batna.
6. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Beret C. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 28, pp. 25-30.
7. Daddona P.E., wright J.L., Hutchinson C.R. (1976). "Alkaloid catabolism and mobilization in *Catharanthus roseus*", *Phytochem*, 15, pp. 941-945.
8. Davidson C.J., Hlatky M., Morris K.G., Pieper K., Skelton T.N., Schwab S.J., Bashore T.M.(1989). Cardiovascular and renal toxicity of a nonionic radiographic contrast agent after cardiac catheterization. A prospective trial. *Ann Intern Med.*, 110 (2), pp.119-24.
9. Di-Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., and Capasso F. (1999). "Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs". *Life Sciences*, 65(4), pp.3347-3353.
10. Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N. (2003). Screening phytochimique d'une endémie ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin de la société pharmaceutique de Bordeaux*, 142: 61-78.
11. Heimler D., Vignolini P., Giulia M., Francesco V.F., Rmani A., (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99: pp: 464-469.
12. Koudoro Y. A., Agbangnan D.P.C., Bothon D., Bogninou S. R., Alitonou G. A., Avlessi F. and. Sohounhloue C. K. D. (2018). Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante à usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23(4), pp. 441-450.
13. Koudoro Y.A., Wotto D.V., C.Konfo T.R., Agbangnan D.C.P., Sohounhloue C.K.D. (2015). "Phytochemical screening, antibacterial and anti-radical activities of *Daniellia oliveri* trunk bark extracts used in veterinary medicine against gastrointestinal diseases in Benin", *International Journal of Advanced Research*, 3(10), 1190-1199.
14. Manolaraki F. (2011). "Propriétés anthelminthiques du sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*). Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse III, Toulouse.
15. Meenah G.F.A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow *Molecular Aspects of Medicine*, 27:1-93.
16. Min B.R., Fernandez J.M., Barry T.N., Nabb M.C. et Kemp P.D. (2001). "The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in ewes during autumn", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 92(4), pp.185-202.
17. Mohammed A. A., Mahmood A. A., Salmah I., Zahra A. A., Suhailah W., Qade A., Hadi H. and Nabil S. H. (2012). "Free Radical Scavenging, Antimicrobial and Immunomodulatory Activities of *Orthosiphon stamineus*", PP. 5385-5395.
18. Mulofwa J.S. and Tengnas B.(1994). Agroforestry: Nation Institutes of Health consensus development panel on ED JAMA, 270: 83-87,
19. NCCLS, (2003). "Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests", Approved Standard: M2-A7, National Committee for Clinical Laboratory Standards", Wayne, PA, USA.
20. Okpanachi A.O., Goji A.D.T., Ezekiel I., Musa K.Y., Tanko Y., Mohammed A. and Adelaiye A.B. (2012). Effect of Aqueous-Methanolic Stem Bark Extract of *Acacia polyacantha* on Blood Glucose Levels on Normoglycemic Wistar Rats. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol.4, n0.3, pp. 163-166.
21. Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Flerlage N., Burillo J., Codina C. (2002). "Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants", *J Agric Food Chem*, 5, pp.6882-6890.
22. Sanago R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali): 53. 2.
23. Satti A.A.H. (2004). Comparative Study of Emulsion Qualities of Sudanese Gums, Using Laser Light Scattering, M.Sc.thesis, Sudan University of Science and Technology.
24. Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W. et Chen F. A. (2006). Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay", *Food Chem*, vol.97, pp. 705-711.
25. Yehouenou B., Wotto D. V., Sessou P. H., Noudogbessi J.P., Sohounhloue D. C. K. (2010). "Chemical study and antimicrobial activities of volatile extracts from fresh leaves of *Crassocephalum rubens* (Juss and Jack) More against food borne pathogens", *Scientific Study and Research*, 11(3), PP. 341-349,.