

République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Microbiologie

Sous le thème :

Étude de l'activité antifongique et antibactérienne des extraits bruts des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui* (l'Hérit) .

Par :

SEHBOUB Mohamed Hacen

NACER Ahlem

Devant le jury composé de :

Dr. ALLAOUI A.	Maitre-Assistant B USDB1	PRESIDENT
Dr. AITSAADI N.	Maitre de Conférences A USDB1	EXAMINATRICE
Dr. LOUNACI L.	Maitre de Conférences B USDB1	PROMOTRICE
Dr. NEKKAB S.	Docteur en Biologie USDB1.	INVITÉ

2020/2021

Dédicaces

In the memory of my dear father who left us too soon.

To my precious mother to whom I owe my success throughout my student journey, no expression can reveal my gratitude to you and the incomparable sacrifices I owe you. May God the almighty grant you long life and good health.

To my dear little family, my lovely brother and sister,

To my loveliest friends,

*Thank you for your sincere **patience, wisdom, efforts and support.***

Ahlem

Dédicaces

In the memory of my grandparents

To my lovely parents, my father and my mother who have been an inexhaustible source of encouragement the ones who made me who I am today.

To my dear sisters.

Hacen

Remerciements

Merci infiniment à Dieu " tout puissant " de nous avoir accordé le courage, la force, la patience et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

*On adresse tout d'abord nos sincères remerciements et nos vive reconnaissance à notre Promotrice **Dr LOUNACI L.** Maître de conférence à la faculté SNV, Université Saad Dahled Blida 1, d'avoir accepté d'encadrer et de diriger ce travail avec une rigueur scientifique, et de nous avoir accordé sa confiance et ses précieux conseils pendant la réalisation de ce mémoire.*

*On a l'honneur d'exprimer nos profonde reconnaissance à **Dr. ALLAOUI A.**, Maître de conférence à la faculté SNV université de Blida-1, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*

*On tient à remercier respectueusement **Dr. AITSAADI N.** Maître de conférence a la faculté SNV de l'université de Blida-1, qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté joyeusement d'évaluer ce travail. Et d'être toujours sympathique ainsi que pour son accueil chaleureux durant toutes nos années à l'université.*

*Nos plus vifs remerciements et notre reconnaissance sont exprimés à **Pr. BOUTOUMI Y.** du département de Chimie Industrielle à l'université de Blida-1, pour sa gentillesse et son aide précieuse.*

*Nous tenant également à remercier vivement **Mme. BENMOUNI K.** et **Mr. Abdelkrim** du jardin d'essai el hamma, pour leurs aides.*

*Nos remerciements vont aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida en particulier à **Dr. NEKKAB S.** et **Mr. TEFFAHI D.** et les laboratoires des facultés de biologie, d'agronomie et de vétérinaire de l'université de Blida-1 et l'institut pasteur.*

A toutes les personnes qui, de près comme de loin, nous ont encouragée aux moments opportuns.

ABRÉVIATIONS

ATCC : American Type Culture Collection

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EC-FL : Extrait Chloroformique des fleurs

EM-FL : Extrait Metanolique des fleurs

EM-F : Extrait Metanolique des feuilles

EC-F : Extrait Chloroformique des feuilles

DO : Densité optique

EAG : Équivalent acide Gallique

Résumé

Cestrum parqui est une plante médicinale de la famille des *Solanaceae*; une des familles les plus importantes dans la flore algérienne largement utilisée dans les médecines traditionnelles contre diverses maladies.

La présente étude a été réalisée pour évaluer les effets antibactériens et antifongiques d'extraits des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui* obtenus par l'extraction de Soxhlet avec deux solvants de polarités différentes.

Les produits phytochimiques ont été criblés qualitativement et quantitativement, ces derniers ont révélé la présence de substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques (flavonoïdes, tanins, coumarines, des saponosides, des anthocyanes et des quinones libres). L'analyse quantitative a montré une présence importante des polyphénols dans l'extrait méthanolique des fleurs.

L'évaluation, *in vitro*, de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits des feuilles et des fleurs a été réalisée par la méthode de diffusion de disques, les extraits méthanoliques ont révélé une activité antifongique contre *Candida albicans* plus prononcée par l'extrait méthanolique des feuilles et des activités antimicrobiennes variables avec les quatre extraits contre les dix bactéries testées. Une très bonne sensibilité observée chez *Bacillus subtilis* avec les deux extraits chloroformiques.

Mots clés : Activité antibactérienne et antifongique, Extraits de feuilles, *Cestrum parqui*, Composition phytochimique, Extraits de fleurs.

Abstract

Cestrum parqui is a medicinal plant of the *Solanaceae* family; one of the most important families in the Algerian flora widely used in traditional medicines against various diseases.

The present study was carried out to evaluate the antimicrobial and antifungal effects of extracts from the leaves and the flowers of *Cestrum parqui* obtained by soxhlet extraction with two solvents of different polarity.

The phytochemicals were screened qualitatively and quantitatively, which revealed the presence of substances with great therapeutic values (flavonoids, tannins, coumarins, saponosides, anthocyanins and free quinones). Quantitative analysis shows a significant presence of polyphenols in the methanolic extracts of the flowers.

The *in vitro* evaluation of the antibacterial and antifungal activity of the extracts of the leaves and the flowers was carried out by disc diffusion assay, the methanolic extracts revealed an antifungal activity against *Candida albicans* more pronounced by the methanolic extract of leaves and variable antimicrobial activities with the four extracts against the ten bacteria. A good sensitivity observed in *Bacillus subtilis* with the two chloroformic extracts.

Keywords: Antibacterial and antifungal activity, *Cestrum parqui*, Flower extracts, Leaf extracts, Phytochemical composition,

ملخص

Cestrum parqui سستروم باركي هو نبات طبي من عائلة الباذنجانيات ، واحدة من اهم العائلات الباذنجانية في النباتات الجزائرية المستخدمة على نطاق واسع في الأدوية التقليدية ضد مختلف الأمراض.

وقد اجريت هذه الدراسة لتقييم الآثار المضادة للميكروبات والفطريات لمستخلصات الأوراق و الزهور التي تم استخراجها عن طريق جهاز سوكلت باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة.

تم فحص المواد الكيميائية النباتية نوعيا و كيميا، وكشف هذا الأخير عن وجود مواد ذات قيم علاجية عالية (الفلافونويد و العفص ، الكومارين ، الصابونوسيدات ، الأنتوسيانين و الكينونات الحرة).

حيث اظهر التحليل الكمي وجود كبير لمتعدد الفينولات في المستخلص الميثانولي للزهور.

تم إجراء التقييم، في المختبر، النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لمستخلصات الأوراق والزهور من خلال طريقة النشر بالقرص، وكشفت المستخلصات الميثانولية عن نشاط معتبر ضد الكانديدا أليكنس أكثر وضوحا من قبل المستخلص الميثانولي للأوراق.

كما أن الأنشطة المضادة للميكروبات الملاحظة، متغيرة ومختلفة باختلاف المستخلصات الأربعة ضد البكتيريا العشرة المختبرة. لوحظ حساسية جيدة جدا *Bacillus subtilis* مع مستخلصي الكلوروفورم.

الكلمات الأساسية: التركيب الكيميائي النباتي، النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات، مستخلصات الأوراق، مستخلصات الزهور
. *Cestrum parqui*

Liste des tableaux

Tableau 1 Moments de récolte des différentes parties des plantes (Nakkab, 2019).	5
Tableau 2 principaux agents antifongiques (Jha et Kumar 2019).....	13
Tableau 3 Souches microbiennes testées.....	29
Tableau 4 Résultats du screening phytochimique	33
Tableau 5 Teneur en composés phénoliques dans les différents extraits de la plante (<i>C. parqui</i>)	36
Tableau 6 Teneur en flavonoïdes	38
Tableau 7 Résultats des temoins contres les souches fongiques	43

Liste des figures

Figure 1 Structure des flavonoides (Santhakumar <i>et al.</i> 2018).	6
Figure 2 Structure des coumarines (Macheix, Fleuriet, et Jay-Allemand 2005).	7
Figure 3 Structure des lignines (Desmier 2016).	8
Figure 4 Structure d'un anthocyanoside (Khireddine 2013).	8
Figure 5 Structure des tanins (Desmier 2016).	8
Figure 6 Structure des quinones (Desmier 2016).	9
Figure 7 Structure d'un isoprene (Hopkins <i>et al.</i> 2003).	9
Figure 8 Structure d'un alcaloïde (Hartmann 2007).	10
Figure 9 Structure des saponines (Lehbili 2018).	10
Figure 10 Vue générale de <i>Cestrum parqui</i> (original).	15
Figure 11 Différentes parties de <i>Cestrum parqui</i> (Original).	16
Figure 12 Carte géographique d'Alger, zone de récolte (en rouge) (Original).	19
Figure 13 : Extraction solide–liquide par la méthode de Soxhlet, B : cartouche fabriquée à partir d'un papier filtre solide (Original).	21
Figure 14 concentration à l'aide d'évaporateur rotatif (Original).	22
Figure 15 Extrait aqueux à 5%	23
Figure 16 A : Imprégnation des disques, B: Extraits (Original).	30
Figure 17 Extraits méthanoliques et chloroformiques des feuilles et des fleurs	32

Figure 18 Rendement de l'extraction solide-liquide.....	32
Figure 19 Photos de quelques résultats de screening chimique.....	34
Figure 20 Courbe d'etalonage de l'acide gallique	35
Figure 21 Dosage des polyphenols (Original).....	36
Figure 22 Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	37
Figure 23 Dosage des Flavonoides (Original).....	38
Figure 24 Photos de l'effet quelques extraits sur quelques souches bacteriennes et fongiques (Original).....	40
Figure 25 Moyennes des zones d'inhibitions de la ciprofloxacine et de la gentamicine vis a vis des bactéries étudiées.	41
Figure 26 Photos de quelques resultats des temoins positif (gentamicine et ciprofloxacine). ...	42
Figure 27 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait chloroformique des fleurs.....	44
Figure 28 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait chloroformique des feuilles ...	45
Figure 29 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait méthanolique des fleurs.....	46
Figure 30 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait méthanolique des feuilles	47

TABLE DES MATIERES

Dédicaces.....	I
Dédicaces.....	II
Remerciements.....	III
Résumé.....	V
Abstract.....	VI
ملخص	VII
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures	IX
1 Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur la phytothérapie et les plantes médicinales.....	4
1.1 Définition	4
1.2 Phytothérapie en Algérie.....	4
1.3 Définition des plantes médicinales	4
1.4 Production des plantes médicinales.....	5
1.5 Principaux éléments actifs des plantes médicinales	6
1.5.1 Flavonoïdes	6
1.5.2 Coumarines	7
1.5.3 Lignanes, néolignanes et composés apparentés.....	7
1.5.4 Anthocyanosides	8
1.5.5 Tanins	8
1.5.6 Quinones.....	9

1.5.7	Terpénoïdes et stéroïdes	9
1.5.8	Alcaloïdes	10
1.5.9	Les saponines	10
2	Généralités sur les infections bactériennes et fongiques et les agents antimicrobiens	11
2.1	Infections bactériennes	11
2.2	Antibiotiques	11
2.2.1	Modes d'action des antibiotiques	12
2.3	Infections fongiques	12
2.4	Antifongiques	13
3	Généralités sur la plante étudiée : <i>Cestrum parqui</i>	14
3.1	Généralités sur le genre <i>Cestrum</i>	14
3.2	Appellations	14
3.3	Systematique de <i>Cestrum parqui</i>	15
3.4	Description botanique	15
3.5	Répartition	17
3.6	Composition chimique des métabolites secondaires	17

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

1	Récolte et séchage du matériel végétal	19
2	Identification botanique de <i>Cestrum parqui</i>	20

3	Traitement et préparation de la poudre végétale.....	20
4	Extraction des composés actifs des feuilles de <i>Cestrum parqui</i>	20
4.1	Extraction des composés polaires et apolaires par la méthode de Soxhlet.....	20
4.1.1	Principe.....	20
4.1.2	Mode opératoire.....	21
4.2	Extraction à chaud de l'extrait aqueux ou l'infuse a 5% (EA-F et EA-FL)	23
4.3	Screening phytochimique des feuilles et des fleurs de <i>Cestrum parqui</i>	24
4.3.1	Recherche des saponines.....	24
4.3.2	Recherche des tanins par FeCl ₃	24
4.3.3	Recherche des coumarines.....	24
4.3.4	Recherche des flavonoïdes.....	25
4.3.5	Recherche des quinones libres.....	25
4.3.6	Dosage spectrophotométrique.....	25
4.4	Activité antimicrobienne in vitro de L'EC-FL, L'EC-F, EM-FL et l'EM-F de <i>Cestrum parqui</i>	28
4.4.1	Milieus de culture.....	28
4.4.2	Souches microbiennes.....	28
4.4.3	Enrichissement, préparation des cultures jeunes.....	29
4.4.4	Test antimicrobien par la méthode de diffusion de disque sur gélose.....	29
4.4.5	Dosages et application des disques d'antibiotiques.....	30

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1	Résultats de l'extraction des composés actifs des feuilles et des fleurs de <i>Cestrum parqui</i> .	32
---	---	----

2	Résultat du screening phytochimique des feuilles et des fleurs de <i>Cestrum parqui</i>	33
2.1	Dosage des composés phénoliques totaux :.....	35
2.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	37
3	Résultat de l'activité antibactérienne et antifongique de l'EM-F, EM-FL, EC-F et EC-FL des feuilles de <i>Cestrum parqui</i>	39
3.1	Effet antibactérien des témoins positifs : La Ciprofloxacine et la Gentamicine.....	41
3.2	Effet antifongique des témoins : Le nitrate d'éconazole	43
3.3	Effet antibactérien et antifongique de l'extrait chloroformique des fleurs.....	44
3.4	Effet antibactérien et antifongique de l'extrait chloroformique des feuilles	45
3.5	Effet antibactérien et antifongique de l'extrait méthanolique des fleurs	46
3.6	Effet antibactérien et antifongique de l'extrait methanolique des feuilles	47
4	Discussion.....	48
5	Conclusion et perspectives	52

A decorative graphic consisting of two blue L-shaped brackets. One bracket is on the left, with its vertical bar on the left and horizontal bar on the bottom. The other is on the right, with its horizontal bar on the top and vertical bar on the right. They are positioned to frame the central text.

INTRODUCTION

1 Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes pour se soigner, de ce fait, l'utilisation de produits naturels et / ou des dérivés variés de synthèse en utilisant leurs nouvelles structures, afin de découvrir et de développer des médicaments, est encore présente jusqu'aujourd'hui (**Newman et Cragg, 2020**).

Moins de 10% de ces espèces auraient été étudiées scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques (**Jean-Paul et al., 2005**), ce qui fait des plantes un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré. Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent une grande source de chimiodiversité, avec souvent des structures très originales dont une synthèse totale et rentable (complexité structurée, stéréospécificité...) est souvent à réaliser.

Actuellement, la résistance aux antibiotiques atteint des niveaux dangereusement élevés. De nouveaux mécanismes de résistance émergent et se propagent à l'échelle mondiale, menaçant notre capacité à traiter les maladies infectieuses courantes. Une liste croissante d'infections telles que la pneumonie, la tuberculose, la gonorrhée, les maladies d'origine alimentaire etc. Devient de plus en plus difficile, voire impossible à traiter car les antibiotiques deviennent moins efficaces. L'utilisation non contrôlée et systématique des antibiotiques est l'un des facteurs essentiels dans l'évolution de la résistance microbienne (**World Health Organization, 2021**).

Ces constats expliquent l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes d'origines biologiques.

Dans la présente étude, on s'est intéressé aux espèces de la famille des *Solanaceae*, La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce de *Cestrum* "*Cestrum parqui* " provenant d'el HAMMA alger.

Notre choix pour cette espèce est justifié par, le fait qu'il y a très peu d'études sur celle-ci en Algérie et que la totalité des études concernant l'effet antibactérien et antifongique de cette plante sont faites sur les feuilles seulement, les recherches de (**Sivaraj et al., 2015**) montrent que

l'extrait de fleurs possède une activité antimicrobienne tandis que la feuille, la tige et la racine d'une autre plante du genre *cestrum* ne présentent aucune activité antimicrobienne.

Le but de notre travail est de réaliser :

- Un extrait brut à partir des feuilles et des fleurs.
- Un screening phytochimique.
- Enfin, l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait de *Cestrum parqui*.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur la phytothérapie et les plantes médicinales

1.1 Définition

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes et de leurs extraits à titre thérapeutique. Pour sa compréhension, une différence est d'emblée à saisir avec la médecine traditionnelle appelée populaire, La médecine traditionnelle correspond à l'utilisation de substances diverses, dont les plantes, selon des règles issues de la tradition, En revanche, la phytothérapie respecte des règles de galénique (méthode de préparation des plantes) et de dosage (**Boukhobza et Goetz ,2014**).

1.2 Phytothérapie en Algérie

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales est vieille d'un millier d'années. Les premières écritures sur les plantes médicinales en Algérie remontent au 9^{ème} siècle (**Nakkab ,2019**).

Les communautés nomades algériennes possèdent des connaissances spécifiques sur les plantes issues de leur environnement steppique, mais partagent également un pool de connaissances avec les populations algériennes sédentaires et les populations méditerranéennes dans leur ensemble. il existe un héritage ethnobotanique commun nord-africain et méditerranéen (**Miara *et al.*, 2018**).

1.3 Définition des plantes médicinales

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles, Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique héli-synthèse". Cette définition permet de distinguer entre les plantes médicinales déjà connues dont les propriétés thérapeutiques ou comme un précurseur de certaines molécules ont été scientifiquement établis, et d'autres plantes utilisées en médecine traditionnelle (**Neffati et Sghaier, 2014**).

1.4 Production des plantes médicinales

Les conditions de production des plantes médicinales sont déterminantes pour leur qualité, leur efficacité et leur sécurité d'emploi (**Thévenin ,2017**).

Les plantes médicinales doivent être récoltées à la saison ou à l'époque optimales pour assurer la production de matières végétales médicinales et de produits finis de la meilleure qualité possible. Le moment de la récolte dépend de la partie de la plante qui sera utilisée. Il est cependant bien connu que la teneur en constituants biologiquement actifs varie selon le stade de développement de la plante. Cela vaut également pour les constituants indésirables, toxiques ou vénéneux, de la plante indigène. Pendant la récolte, il faut s'assurer qu'aucune matière étrangère, mauvaise herbe ou plante toxique n'est mélangée avec les matières végétales médicinales récoltées (**World Health Organization ,2019**).

Tableau 1 Moments de récolte des différentes parties des plantes (**Nakkab ,2019**).

Parties de plantes	Moment de récolte
Racines et organes souterrains	Automne et hiver, pendant le repos végétatif.
Feuilles	En général juste avant la floraison
Ecorces	A la montée de la sève, avant la floraison
Partie aérienne	En général au moment de la floraison.
Fleurs	Au moment de leur plein épanouissement, ou parfois en bouton.
Graines	A maturité.

1.5 Principaux éléments actifs des plantes médicinales

Les métabolites secondaires remplissent des fonctions non vitales et sont moins répandus dans les plantes que les métabolites primaires. Ce sont généralement les sous-produits du métabolisme (Mayo et Singh, 2001).

La grande majorité des produits naturels aromatiques d'origine végétale sont des phénols. Les phénols constituent une grande classe de composés dans lesquels un groupe hydroxyle (groupe –OH) est lié à un cycle aromatique. De nombreuses catégories de ces composés existent, y compris les phénols simples, les phénylpropanoïdes, flavonoïdes, tanins et quinones (Barker, 2019).

L'effet antimicrobien des composés phénoliques est principalement lié aux altérations membranaires et à l'inhibition de la synthèse d'ARN et d'ADN ou à celle de l'activité ou de la synthèse d'hydrolases (Clérivet *et al.*, 1996).

1.5.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes (Figure 1) sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques, possèdent deux cycles benzéniques, Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux responsables de la coloration des fleurs et des fruits ils ont souvent une coloration jaune. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Bruneton, 2009).

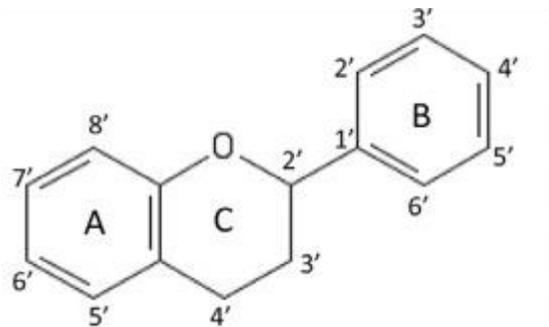


Figure 1 Structure des flavonoïdes (Santhakumar *et al.*, 2018).

1.5.2 Coumarines

Ce sont des phytoalexines à spectre relativement large, Les plantes réagissent à l'attaque d'un parasite en biosynthétisant ces molécules; les solanacées produisent des composés terpéniques, elles protègent la plante contre les herbivores et les micro-organismes pathogènes. Elles sont principalement localisées à la surface et dans les organes les plus exposés à la prédation (jeunes feuilles, fruits, graines) dans un souci " d'économie métabolique" (**Builders ,2019; Hoffmann, 2003**).

En outre, les coumarines (Figure 2) présentent des activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulante, shypotensives ; elles sont aussi bénéfiques en cas des infections cutanées (**González-Gallego et al., 2007**).

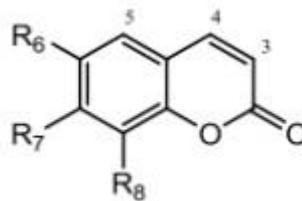


Figure 2 Structure des coumarines (Macheix,*et al.*, 2005).

1.5.3 Lignanes, néolignanes et composés apparentés

Les lignanes (Figure 3) sont des composés dimères formés essentiellement par l'union de deux molécules d'un dérivé de phénylpropène ; Quatre sous-types principaux existent : dérivés du dibenzylbutane, dibenzylbutyrolactones (lignanolides ou dérivés du butanolide), monoépoxy lignanes ou dérivés du tétrahydrofurane et bisépoxyliignanes ou dérivés de 3,7-dioxabicyclo(3.3.0)-octane.

Beaucoup de ces composés ont montré des activités antimicrobiennes et antifongiques, tandis que d'autres ont montré des activités cytotoxiques (**Hoffmann, 2003**).

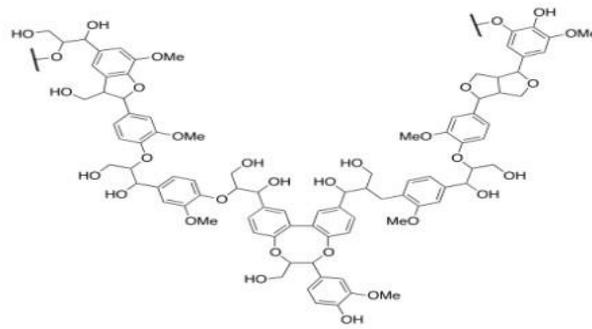


Figure 3 Structure des lignines (Desmier ,2016).

1.5.4 Anthocyanosides

Les Anthocyanes (Figure 4) sont de la sous-classe des flavonoïdes ; Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres et maintiennent une bonne circulation du sang (Bruneton, 2009).

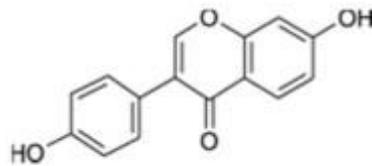


Figure 4 Structure d'un anthocyanoside (Khireddine, 2013).

1.5.5 Tanins

Les tanins ou tannins (Figure 5) sont des substances de la famille des polyphénols, leurs propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques sont clairement démontrées dans le traitement des diarrhées infectieuses et de dermatites. Les tanins possèdent une forte activité antioxydante, ce sont des très bons pièges à radicaux libres et ils inhibent la formation de radicaux superoxydes (Badaiga, 2011).

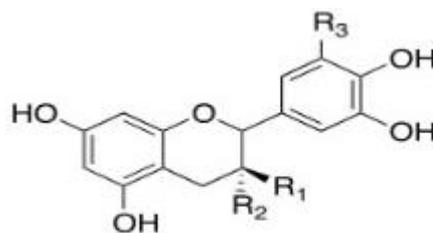


Figure 5 Structure des tanins (Desmier, 2016).

1.5.6 Quinones

Les quinones (Figure 6) sont considérés comme des laxatifs stimulants ; D'autres activités antidépressives, anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable (**Bruneton, 2009; Hennebelle *et al.*, 2004**).

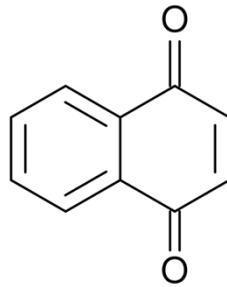


Figure 6 Structure des quinones (Desmier ,,2016).

1.5.7 Terpénoïdes et stéroïdes

Les stérols et triterpènes eux même forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. Ils sont tous dérivés chimiquement d'unités d'isoprène (Figure 7) à 5 carbones assemblées de différentes manières (**Hoffmann ,2003**).

Ils sont connus par leurs activités cytostatiques, insecticides, anti-inflammatoires et analgésiques (**Bruneton, 2009**).

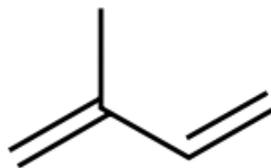


Figure 7 Structure d'un isoprene (Hopkins *et al.*, 2003).

1.5.8 Alcaloïdes

Les alcaloïdes occupent une place très importante parmi les métabolites secondaires. Ces composés possèdent un large panel de propriétés médicinales. Certains alcaloïdes ont une activité antimicrobienne (**Omulokoli et al., 1997**).

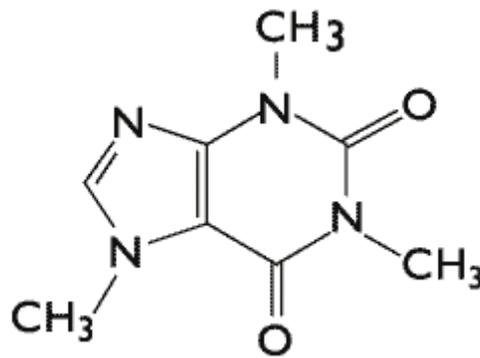


Figure 8 Structure d'un alcaloïde (Hartmann 2007).

1.5.9 Les saponines

Sont des composés qui possèdent une fraction aglycone polycyclique avec soit un stéroïde (saponines stéroïdiennes) soit un triterpénoïde (saponines triterpénoïdes) attaché à une unité glucidique (chaîne amonosaccharidique ou oligosaccharidique) (**Builders, 2019**).

Les travaux de **Haroon K. et ses collaborateurs (2015)** ont mis en évidence l'activité antibactérienne de saponosides totaux extraits du Joshanda.

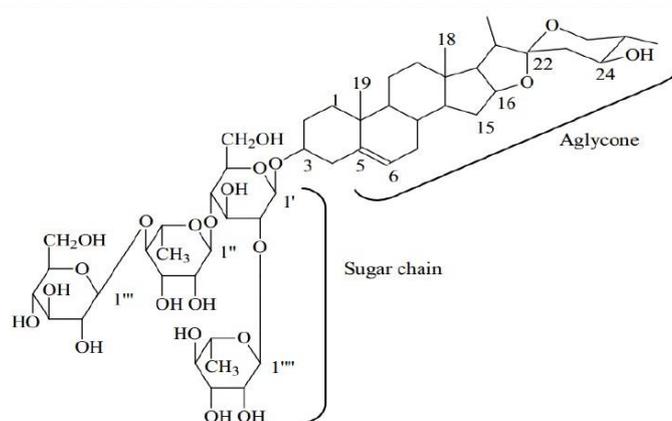


Figure 9 Structure des saponines (Lehbili, 2018).

2 Généralités sur les infections bactériennes et fongiques et les agents antimicrobiens

2.1 Infections bactériennes

Les infections bactériennes sont responsables de maladies allant de l'angine bénigne aux épidémies de choléra et de peste. Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables, à l'origine de maladies graves ou de simple colonisation de la peau ; Elles sont capables de survivre et de se multiplier dans l'environnement et certaines forment des spores qui survivent pendant des décennies.

Un grand nombre parasite les animaux, et n'infecte l'homme que par hasard. D'autres ne peuvent survivre qu'au contact intime de leur hôte humain. Alors que la plupart des bactéries se répliquent en quelques heures ou jours, d'autres ont une croissance beaucoup plus lente, entraînant des infections chroniques difficiles à traiter. En plus d'une grande diversité d'habitat, les bactéries ont un important potentiel d'adaptation génétique. Elles contiennent souvent de l'ADN plasmidique, capable de transférer du matériel génétique au sein de l'espèce ou vers des espèces différentes. Cette adaptabilité génétique peut accroître à la fois leur pouvoir pathogène et leur résistance aux antibiotiques (**Hart et Shears ,1997**).

2.2 Antibiotiques

Le mot «antibiotique» dérive de deux mots grecs classiques, anti «contre» et bios «vie». Ainsi, les antibiotiques sont en principe des substances «contre la vie». En fait, ce sont des molécules de faible poids moléculaire (généralement <1000 daltons) qui sont sélectivement contre la vie bactérienne; Sont généralement produites par des microbes, des bactéries et des champignons pour lutter contre d'autres microbes dans leur microenvironnement immédiat (**Walsh et Wencewicz, 2015**).

En microbiologie médicale, on considère souvent le contrôle des bactéries infectant les humains avec des antibiotiques comme la norme de référence dans le traitement des infections (**Carroll et al., 2015**).

2.2.1 Modes d'action des antibiotiques

Lorsqu'une molécule a été identifiée dans des tests d'inhibition de la croissance bactérienne comme ayant une activité antibiotique, des études sur le mécanisme d'action peuvent fournir un aperçu de la cible de destruction (**Dougherty et Pucci, 2012**).

Ainsi, les antibiotiques ont été classés selon leur mode d'action en (**Carroll *et al.*, 2015; Walsh et Wencewicz, 2015**).

- Antibiotiques inhibiteurs des synthèses du peptidoglycane.
- Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires.
- Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques.
- Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques.

2.3 Infections fongiques

Certaines maladies fongiques sont des infections profondes ressemblant à la tuberculose ou aux pyémies bactériennes, tandis que d'autres sont des infections superficielles de la peau et sont simplement considérées comme des nuisances.

Le développement d'une pathologie fongique chez l'humain dépend souvent des facteurs de risques comme l'immunosuppression (sida, transplantation, pathologies cancéreuses et hématologiques), l'utilisation de cathéters vasculaires et l'administration d'antibiothérapies à large spectre (**Hulin *et al.*, 2005**).

2.4 Antifongiques

Il existe 4 classes principales d'agents antifongiques (Tableau 2) qui agissent soit au niveau de la paroi fongique, soit sur la membrane fongique ou au niveau de l'acide nucléique (Jha et Kumar, 2019).

Tableau 2 principaux agents antifongiques (Jha et Kumar, 2019).

Antifongiques	Principaux exemples	Mécanisme
Azolés	Fluconazole	Inhibition de la 14 α déméthylase (Ergostérol membranaire).
Polyènes	Amphotericin B	Augmente la perméabilité de la membrane cellulaire
Échinocandines	Caspofungin	Blocage de la biosynthèse de la paroi cellulaire par inhibition de la synthèse du (1,3)-glucane donc lyse de la cellule
Analogues de pyrimidine	5-fluorocytosine	Interfère avec la synthèse d'ARN et d'ADN par mauvaise incorporation de la phosphoribosyl transférase 5-fluorouracile ou de la cytosine

3 Généralités sur la plante étudiée : *Cestrum parqui*

3.1 Généralités sur le genre *Cestrum*

Ce genre fusionne avec la deuxième partie de la famille des Solanacées d'autres genres tels que *Solanaceae*, *Belladonna*, *Alkekenges*, *Moles* et *Lycium*, et ils ont également des fruits charnus. Quelques *Cestrum* s'élèvent en arbre, mais la plupart sont des arbrisseaux (Hallé *et al.*, 2007).

150 espèces du genre *Cestrum* sont distribuées dans les régions tropicales et subtropicales à travers le monde, dont les principales espèces sont : *C. aurantiacum* Lindl., *C. diurnum* L., *C. elegans* (Brongn.) Schltl., *C. fasciculatum* (Schltl.) Miers, *C. nocturnum* L., et *C. parqui* L 'Hérit. Il existe plusieurs applications des plantes *Cestrum* en médecine traditionnelle (Nakkab ,2019).

3.2 Appellations

Cestrum parqui possède plusieurs autres appellations données par différents auteurs à travers le monde (Nakkab, 2019; Slanis *et al.*, 2009; Witt et Luke, 2017).

- Mesk el lil (Algérie)
- Chilean cestrum, Chilean jessamine, green cestrum, Willow leaf jessamine (Anglais)
- *Cestrum* vert, Jasmin de nuit (En Français)
- Duraznillo Negro, Hediondilla (Espagnol, Argentine, Portugal),
- Palqui (Chili)
- Yerba santa (Catalogne), Hierba santa (Peru)
- Chilenischer Hammerstrauch (Allemand)
- Paipalquen (Inde)
- Bode (Éthiopie)
- Jasmini (Tanzanie)

3.3 Systématique de *Cestrum parqui*

La classification qu'occupe *Cestrum parqui* est la suivante (Witt et Luke, 2017).

Règne :	Plantae
Branche :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Ordre :	Solanales
Famille :	Solanaceae
Genre :	<i>Cestrum</i>
Espèce :	<i>C. Parqui</i>

3.4 Description botanique

C'est un Arbuste érigé caducifolié de 1 à 3 m de long; très ramifié, souvent drageonnant; jeunes pousses verdâtres et finement poilues, tiges plus récentes blanchâtres et glabres, tiges plus âgées ligneuses; dégageant une odeur désagréable (Carapeto ,2016; Hallé *et al.*, 2007; Witt et Luke, 2017) (Figure 10).



Figure 10 Vue générale de *Cestrum parqui* (Original).

Les Feuilles : Vert foncé, finement poilues quand elles sont jeunes et devenant glabres et brillantes ensuite, étroites et lancéolées (8 à 11 cm de long et 2 à 4 cm de large), bases cunéiformes, extrémités pointues, marges entières, maintenues alternativement sur tiges des feuilles de 5 à 9 mm de long. (Figure 11-A).

Les Fleurs : Jaunes ou jaune verdâtre, tubulaires (12 à 25 mm de long et 3 à 5 mm de large), en grappes denses aux extrémités des branches. (Figure 11-B).

Les Fruits : Baies (fruits charnus qui ne s'ouvrent pas à maturité), vert devenant violet foncé brillant à noirâtre à mesure qu'elles mûrissent, ovales (10 à 15 mm de long et 6 à 10 mm de large), graines brun foncé, en forme d'œuf (3,5 à 4 mm de long). (Figure 3-C).



Figure 11 Différentes parties de *Cestrum parqui* (Original).

A : Feuilles, B : Fleurs, C : Graines.

3.5 Répartition

Le *Cestrum parqui* est une plante ubiquitaire ; on la retrouve aussi bien en Australie qu'en Afrique, au sud européen et en Amérique latine, (GBIF Secretariat ,2021); En Algérie cet arbrisseau orne les parcs, jardins et espaces verts (Victoria, et al., 2013). Il est originaire d'Amérique du Sud (Carapeto, 2016).

3.6 Composition chimique des métabolites secondaires

D'un point de vue chimique, les métabolites secondaires de la plupart des plantes du genre *Cestrum* ont été étudiés (Barbouche et al., 2001).

De nombreux chercheurs ont démontré que les feuilles de *C.parqui* sont riches en métabolites secondaires ; tel que alcaloïdes aglycones, les flavonoïdes, les polyphénols, Mucilage, les Saponines, les Terpènes, Tanins cathéchiques et galiques (Nakkab et al., 2018).



PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

1 Récolte et séchage du matériel végétal

Le matériel végétal a été récolté au mois d'Avril 2021 au Jardin d'essai EL-HAMMA (Belouizdad) (Figure 12).

Le prélèvement a été effectué très soigneusement sur des spécimens cultivés au stade de floraison, les feuilles et les fleurs récoltées sont directement séchées dans des conditions ambiantes d'humidité, de température et à l'abri de la lumière.

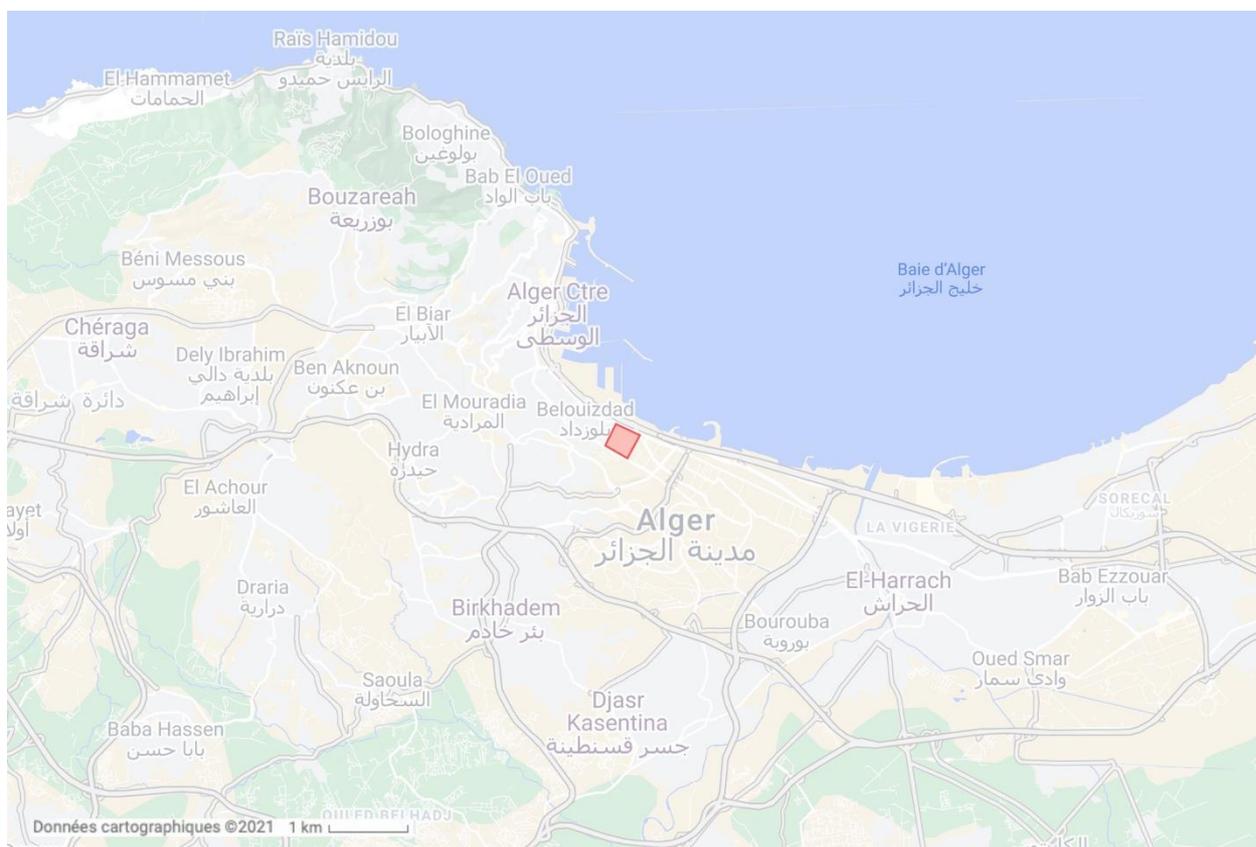


Figure 12 Carte géographique d'Alger, zone de récolte (en rouge) (Original).

Disponible sur le lien :

https://www.google.com/maps/d/viewer?mid=1kY5V5yiksMbHHrXHkY9w_FJOWvJyxkNs&hl=fr&usp=sharing

2 Identification botanique de *Cestrum parqui*

L'identification botanique a été faite par un spécialiste au jardin d'essai d'ELL HAMMA.

3 Traitement et préparation de la poudre végétale

La matière végétale (feuilles et fleurs) a été séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière puis broyée séparément à l'aide d'un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre de granulométrie compatible avec une extraction optimale.

Le broyat est ensuite conservé dans un bocal en verre hermétiquement fermé à température ambiante en vue de procéder aux différentes manipulations.

4 Extraction des composés actifs des feuilles de *Cestrum parqui*

4.1 Extraction des composés polaires et apolaires par la méthode de Soxhlet

4.1.1 Principe

Dans cette méthode, l'échantillon broyé est placé dans une cartouche fabriquée à partir d'un papier filtre solide ou de la cellulose (Figure 13-B), qui est placée dans la chambre de cartouche de l'appareil Soxhlet. Les solvants d'extraction sont chauffés dans le ballon inférieur (Figure 13-A), se vaporisent dans la cartouche d'échantillon, se condensent dans le condenseur et s'égouttent. Lorsque le contenu liquide atteint le bras de siphon, il se vide à nouveau dans le ballon inférieur et le processus se répète (Azwanida ,2015; Luthria, 2004).

Le cycle peut se répéter indéfiniment, jusqu'à épuisement complet du solide, d'où l'efficacité remarquable de cette technique par rapport à la simple macération. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté

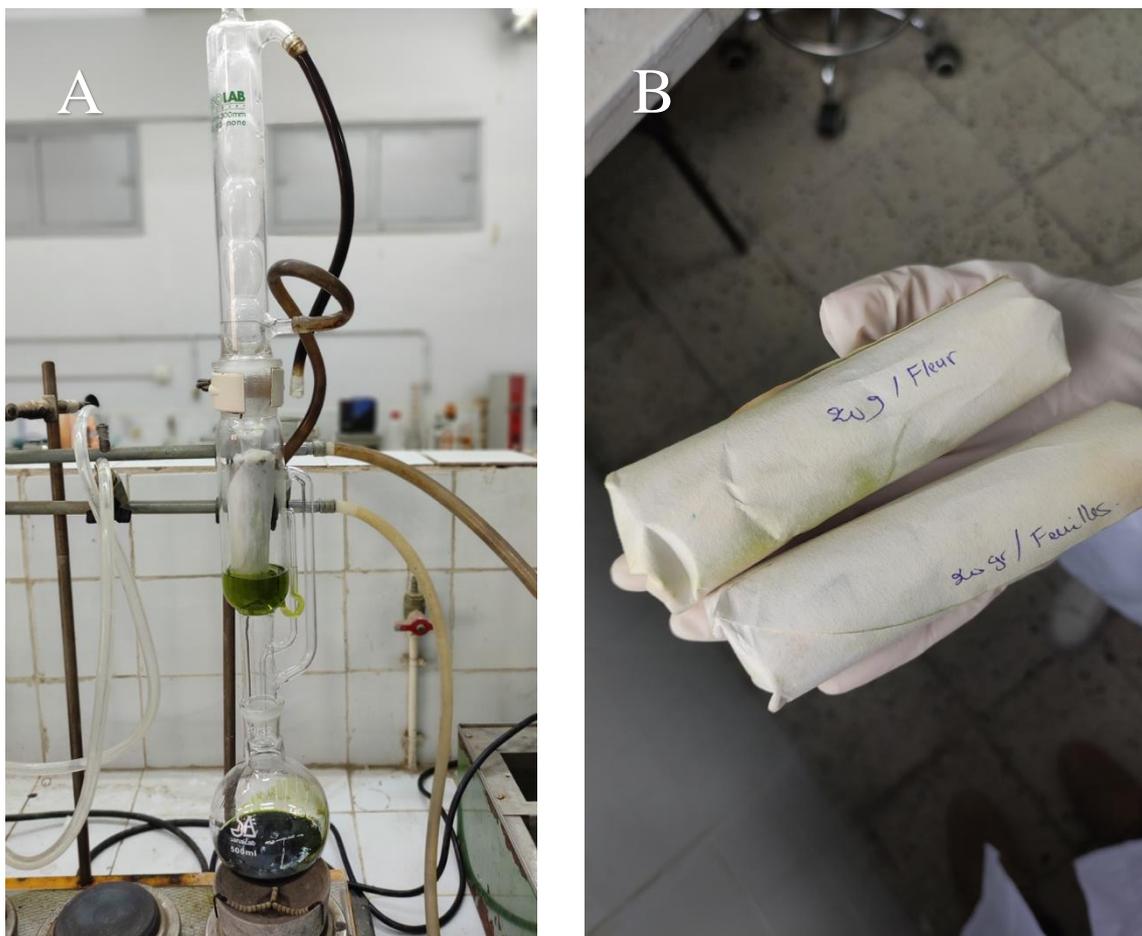


Figure 13 : Extraction solide–liquide par la méthode de Soxhlet, B : cartouche fabriquée à partir d'un papier filtre solide (Original).

4.1.2 Mode opératoire

Vingt grammes (20g) de la poudre végétale sèche, est enveloppée dans une cartouche en papier filtre, la cartouche sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant.

200 ml de Chloroforme sont introduits dans un ballon. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec la cartouche.

La solution collecté dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction.

Après une dizaine de cycles nous récupérons dans le ballon le solvant enrichi en substances solubles. Après concentration à l'aide d'un évaporateur rotatif (Figure 5) on obtien l'extrait apolaire ou lipidique de fleurs et de feuilles (extrait chloroformique de fleurs EC-FL ; extrait chloroformique de feuilles EC-F).

Le marc dégraissé par le chloroforme est repris par 200 ml de méthanol selon le même protocole pour récupérer la fraction polaire (extrait méthanolique de fleurs EM-FL ; extrait méthanolique de feuilles EM-F).

L'extraction a été faite au laboratoire de Zootechnie de l'université de Blida 1.

Les ballons contenant les résidus secs sont pesés avant et après extraction afin de déterminer la teneur respective de chacune des fractions selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{P'}{P''} \times 100$$

R : rendement de l'extraction, *P''* : poids de poudre, *P'* : Poids de l'extrait sec.



Figure 14 concentration à l'aide d'évaporateur rotatif (Original).

Les résidus obtenus sont conservés à $4^{\circ}\text{C} \pm 2$

4.2 Extraction à chaud de l'extrait aqueux ou l'infuse a 5% ; (EA-F et EA-FL)

10 g de poudre de feuilles et de fleurs sèche sont dissous dans 200 ml de l'eau distillée stérile chaude portée au bain marie (80°C), le mélange est laissé sous agitation pendant 15 mn, et il est filtré et stérilisé par la suite à travers un micro-filtre de 0,20 µm, et conservé à $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Des dilutions de 5 et 10% sont préparées à partir de l'infusé à 5% au fur à mesure des tests phytochimiques.



Figure 15 Extrait aqueux á 5%

A : Préchauffage de l'eau distillée, B : filtration de l'infusé

4.3 Screening phytochimique des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui*

Les tests phytochimiques consistent à identifier les différentes familles des métabolites secondaires existants dans les parties aériennes de *Cestrum parqui* et ceci par une caractérisation qualitative.

Les résultats sont exprimés selon le type de réaction:

- Très positive : +++
- Moyennement positive : ++
- Positive : +
- Négative : –

4.3.1 Recherche des saponines

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes. La présence des saponosides est évaluée comme suit :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Daira et al., 2016**).

4.3.2 Recherche des tanins par FeCl₃

La présence des tanins est mise en évidence par l'addition à 1 ml de l'extrait aqueux (5%) de la plante de 2 ml d'eau et de 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire ou bleue-verte (**Daira et al., 2016**).

4.3.3 Recherche des coumarines

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml de l'infusé à 5% placé dans un tube dans lequel sont ajoutés 3 ml de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (**Daira et al., 2016**).

4.3.4 Recherche des flavonoïdes

Les anthocyanes :

À 5 ml d'extrait aqueux on ajoute 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH). Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (**Daira et al., 2016**).

4.3.5 Recherche des quinones libres

1 g de matériel végétal sec est broyé et placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapeur. La présence des quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH à 10%, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Daira et al., 2016**).

4.3.6 Dosage spectrophotométrique

4.3.6.1 Polyphénols totaux

Principe :

Le Folin-Ciocalteu est un réactif de couleur jaune ; ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés, après déterminé par spectrophotométrie (**Elberry et al., 2015**).

Méthode :

Le mode opératoire consiste à prendre un volume de 200 µl de l'extrait (solution préparé en raison de 1mg d'extrait dans 1ml de méthanol), un volume de 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué dix fois) est ajouté. Après 4 mn, un volume de 800µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (7,5% dans l'eau distillée) a été versé sur la solution. Les tubes ont été placés à l'obscurité.

Après deux heures, les résultats sont lus à 765 nm Au spectrophotomètre (UV-1601) en utilisant des cuves en quartz (Annexe 04) ; La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de la régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard (étalon) l'acide gallique (0 à 80 mg/L) est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS) (**Larbi ,2017**).

Les teneurs sont calculées selon l'Équation :

$$C = \frac{C_1 \times V}{m}$$

C : la teneur en polyphénols totaux exprimée en mg équivalent acide gallique / g de matière sèche,

*C*₁ : La concentration d'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage en mg / L,

V : le volume d'extrait en L

m : le poids de l'extrait de plante en g.

4.3.6.2 Flavonoïdes totaux

Principe :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode du Trichlorure d'aluminium (AlCl₃) qui est utilisé pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium dont l'absorbance maximale est à λ égale 430 nm.

Méthode :

Une quantité de 1ml de chaque extrait est ajouté à 1ml d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10mn de réaction, l'absorbance est lue à 430nm. Au spectrophotomètre (UV-1601) en utilisant des cuves en quartz (Annexe 04) La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (5 à 30mg/L).

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g MS) (**Bourgou et al., 2008**).

Les teneurs sont calculées selon l'Équation

$$C = \frac{C_1 \times V}{m}$$

C : la teneur en flavonoïdes totaux exprimée en mg équivalent quercétine / g de matière sèche,

*C*₁ : la concentration de la quercétine établie à partir de la courbe d'étalonnage en mg / L,

V : Le volume d'extrait en L.

m : Le poids de l'extrait de plante en g.

4.4 Activité antimicrobienne *in vitro* de L'EC-FL, L'EC-F, EM-FL et l'EM-F de *Cestrum parqui*

4.4.1 Milieux de culture

Les géloses utilisées sont : la gélose nutritive, le saboureaud et la gélose Muller Hinton, La préparation des milieux a été faite selon les instructions dans la boîte renfermant la poudre ; La quantité de la poudre requise de chaque milieu a été pesé et déposé dans des flacons préalablement stérilisés, une quantité précise d'eau distillée bouillante est rajoutée à chaque flacon ; enfin ces derniers sont autoclavés après avoir été bien agités (Annexe 05).

4.4.2 Souches microbiennes

Le support bactérien est constitué de quatre souches bactériennes de référence sous forme de lots "American Type Culture Collection" ATCC : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 et sept types de Souches hospitalière : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Acinitobacter* et identifiés au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida.

Le support fongique est constitué de deux souches fongiques de référence sous forme de lots "American Type Culture Collection" ATCC : *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Tableau 3 Souches microbiennes testées

Souche	Forme	Gram	Code / Provenance
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	-	ATCC 8739
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	+	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacille	+	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille	-	ATCC 9027
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille	-	Souche hospitalière
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	-	Souche hospitalière
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	+	Souche hospitalière
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille	-	Souche hospitalière
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacille	-	Souche hospitalière
<i>Acinitobacter baumannii</i>	Coccobacille	-	Souche hospitalière
<i>Candida albicans</i>	Ovoïdes	/	ATCC 10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Mycélium	/	ATCC 16404

4.4.3 Enrichissement, préparation des cultures jeunes

Les souches conservées sont enrichies dans des milieux liquides d'enrichissement, incubés à l'étuve. Après l'incubation les tubes sont retirés, repiqués sur gélose et ré-incubée encore une fois à l'étuve, les cultures obtenues dites cultures jeunes seront utilisées pour les préparations d'inoculum microbien. Les conditions de l'incubation et les milieux utilisés sont optimales pour chaque souche microbienne

4.4.4 Test antimicrobien par la méthode de diffusion de disque sur gélose

L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'extraits de feuilles de *C.parqui* par l'aromatogramme, a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé selon **Hudzicki (2012)**; en suivant les recommandations de **Dolinsky (2020)**. Les tests ont été effectués au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida et le laboratoire de microbiologie de l'université Saad Dahlab Blida-1.

4.4.5 Dosages et application des disques d'antibiotiques

La technique repose principalement sur le dépôt à l'aide de micropipette de 10 μ l de trois concentrations (50, 100 et 150 mg/ml) de EC-F, EC-FL, EM-F, EM-FL dissoutes dans 1ml de DMSO sur les disques de 06mm de diamètre (Annexe 07). Ces disques ainsi préparés sont déposés sur les géloses appropriées (MH). Les essais sont répétés trois fois, avec des témoins positifs (antibiotiques et antifongiques de référence) et négatifs (DMSO : Diméthylsulfoxyde sans extrait de plante).

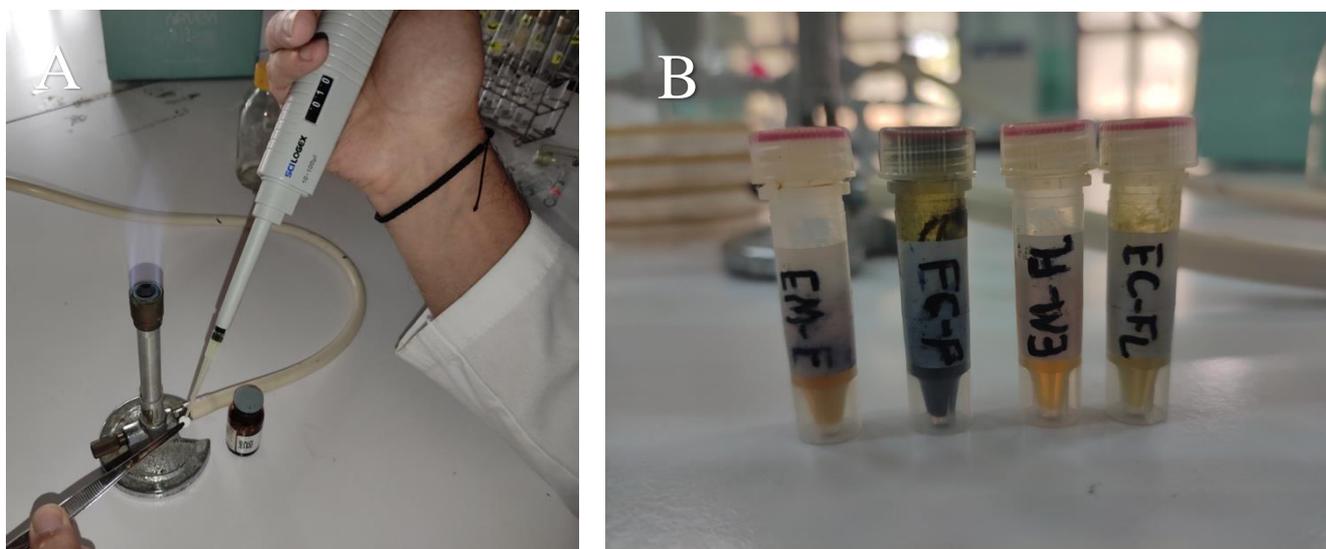


Figure 16 A : Imprégnation des disques, B: Extraits (Original).



PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1 Résultats de l'extraction des composés actifs des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui*

Les résultats de l'extraction (figure 17) des composés actifs des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui* par la méthode de Soxhlet en utilisant des solvants polaires (méthanol) et apolaires (chloroforme) ont montré que pour les fleurs, la teneur en composés apolaires est de 4.6 %. Alors que la teneur en composés polaires est de 16.1 % de la matière sèche (Figure 18).

Concernant les feuilles, la teneur en composés apolaire obtenu est de 3.7% tandis que celle des principes actifs polaires est de 18.05% (figure 18).



Figure 17 Extraits méthanoliques et chloroformiques des feuilles et des fleurs

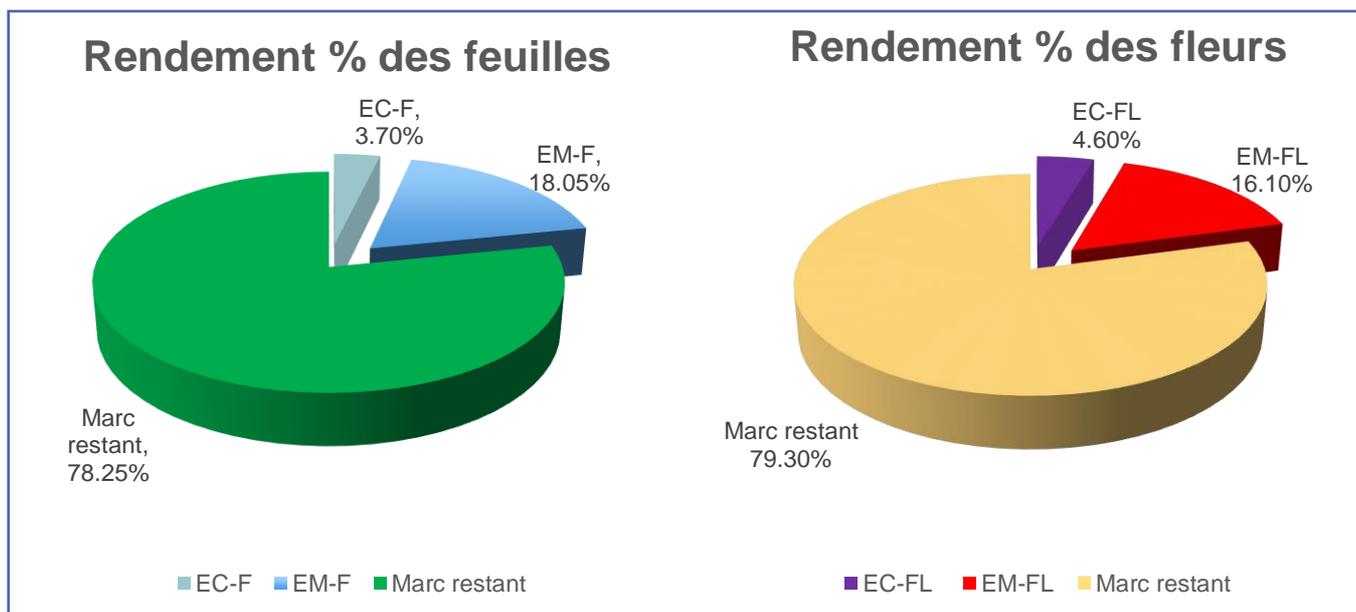


Figure 18 Rendement de l'extraction solide-liquide.

2 Résultat du screening phytochimique des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui*

Les tests d'évaluation préliminaire de la composition chimique de l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs de *C.parqui* ont permis de mettre en évidence une présence importante de quelques groupes chimiques représentés dans le tableau ci-dessous :

Les résultats sont exprimés selon le type de réaction:

Très positive : +++

Moyennement positive : ++

Positive : +

Négative : –

Tableau 4 Résultats du screening phytochimique

Composés phytochimiques	Fleurs	Feuilles
Les saponines	+	++
Les tanins	+++	+++
Les coumarines	++	+
Les anthocyanes	+++	+
Les quinones libres	++	+

Le screening phytochimique permet la La mise en évidence de différents métabolites secondaires produits par la plante ce qui nous renseigne sur ses activités pharmacologiques.

D'après le tableau, on peut constater que :

- L'indice de mousse indique que la présence des saponosides est plus importante dans les feuilles qu'au niveau des fleurs.
- Une réaction chimique très positive détectant les tanins est observée dans les deux parties de la plante.
- Les Coumarine, sont moyennement présents dans les fleurs et faiblement observé, dans les feuilles.
- Les anthocyanes sont très fortement présents dans les fleurs par rapport aux feuilles où ils sont à faible concentrations.
- Les quinones libres sont peu présentes au niveau des feuilles qu'au niveau des fleurs.

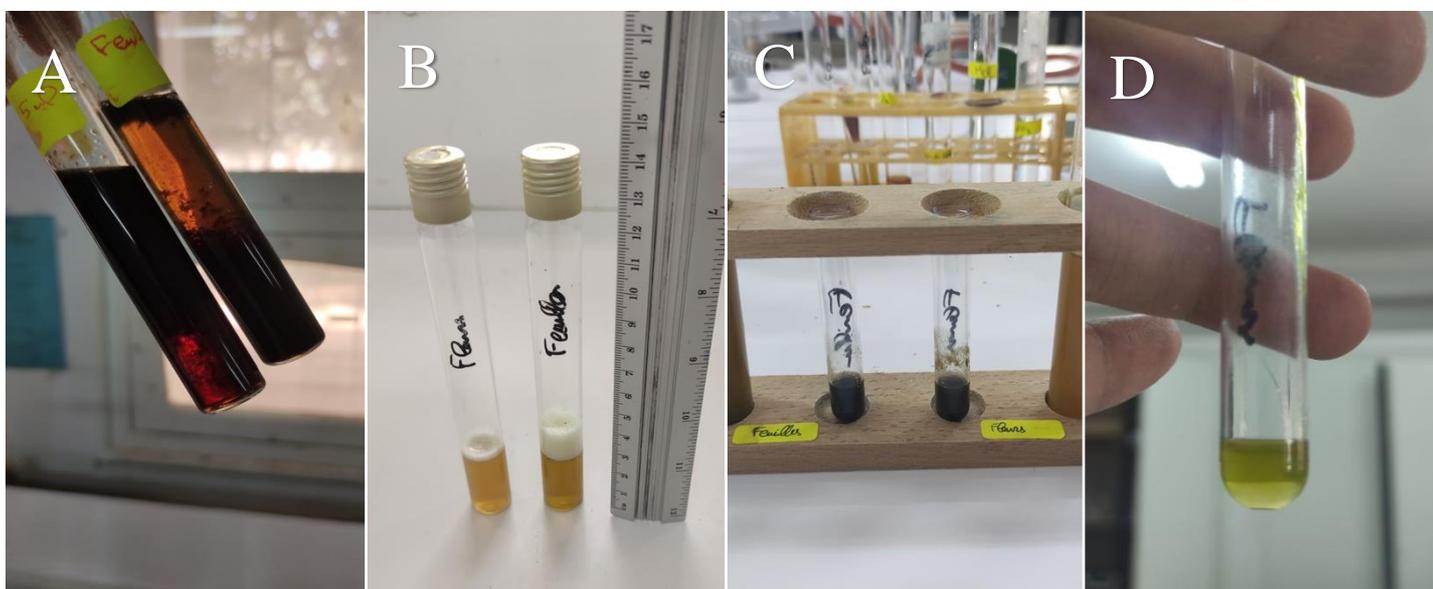


Figure 19 Photos de quelques résultats de screening chimique

A : recherche des anthocyanes B : La détection des saponosides, C : Recherche des tanins par FeCl_3 ,
D : Recherche des quinones libres

2.1 Dosage des composés phénoliques totaux :

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives très recherchées parce qu'elles sont réputées pour leurs excellentes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Clérivet *et al.*, 1996).

Le dosage spectrophotométrique cible les composés réduits résultants de l'oxydation des composés phénoliques par le Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

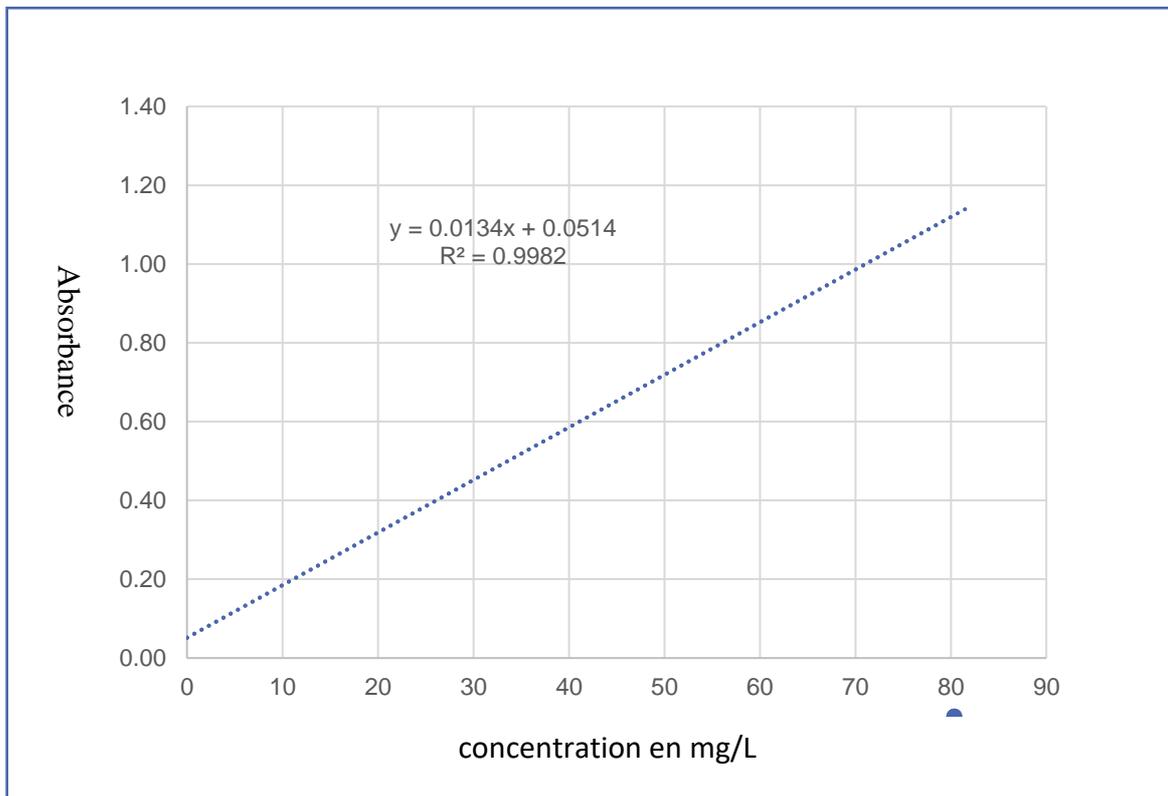


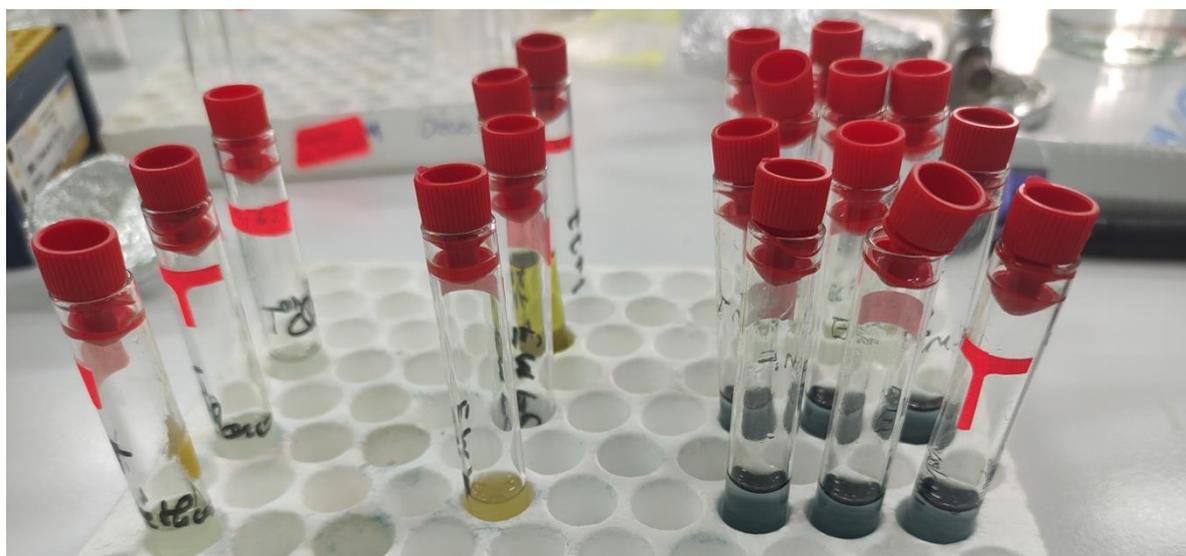
Figure 20 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 5 Teneur en composés phénoliques dans les différents extraits de la plante (*C. parqui*).

Extraits	Concentration moyenne en mg EAG/g MS	Écart type
EM-FL	61,36	2,21
EM-F	46,49	1,23
EC-FL	17,68	0,48
EC-F	30,79	3,44

Les résultats du dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde de 765nm est mentionné dans le tableau 5. La concentration des composés phénoliques totaux est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

Les résultats de la teneur en composés phénoliques totaux montrent que l'extrait méthanolique des fleurs est plus riche avec un taux de $(61.36 \pm 2.21 \text{ mg EAG/g MS})$, suivie de l'extrait Méthanolique des feuilles avec un taux de $(46.49 \pm 1.23 \text{ mg EAG/g MS})$ et l'extrait chloroformique des fleurs possède la plus faible concentration avec $(17.68 \pm 0.48 \text{ mg EAG/g MS})$,

**Figure 21** Dosage des polyphenols (Original).

2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (5 à 30 mg/L).

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g MS) (**Bourgou et al., 2008**) (Figure 13).

Les résultats du dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde de 430 nm du complexe flavonoïde-aluminium est mentionné dans tableau 6. La concentration des flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière sèche.

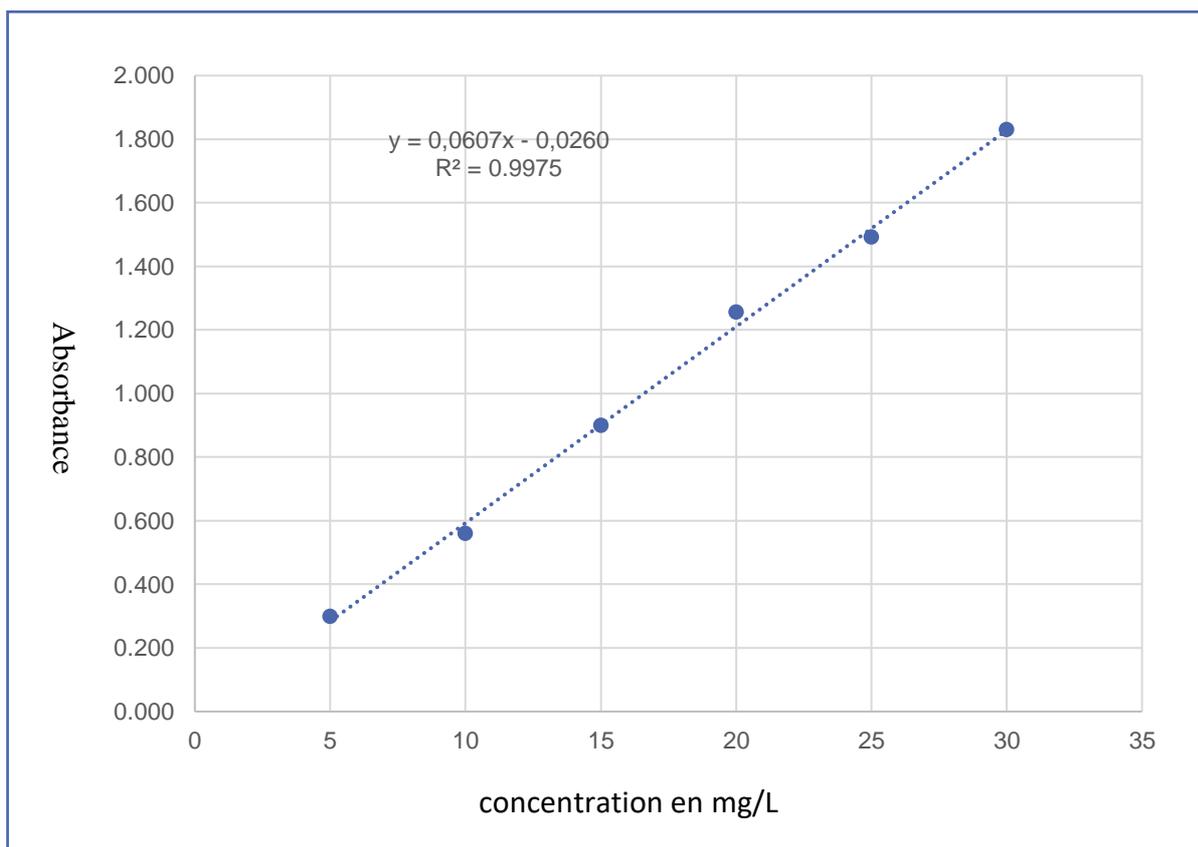
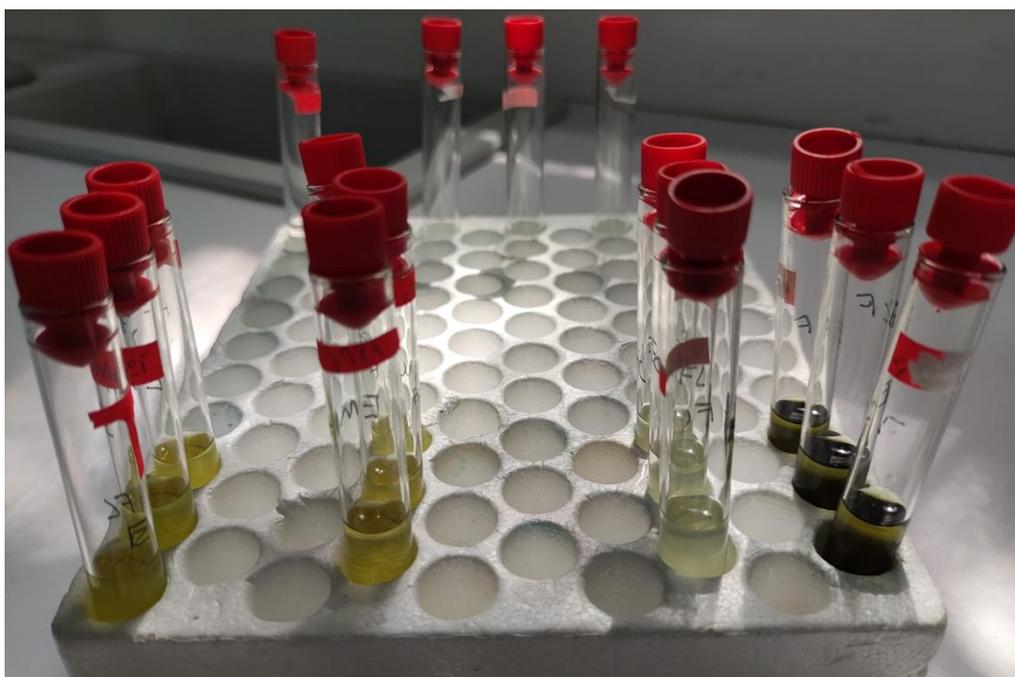


Figure 22 Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 6 Teneur en flavonoïdes.

Extraits	Concentration moyenne en mg EQ/g MS	Écart type
EM-FL	13,76	0,70
EM-F	9,33	0,19
EC-FL	2,97	0,05
EC-F	15,63	0,18

Les résultats du dosage des flavonoïdes (tableau 6) indiquent que la teneur la plus importante a été retrouvée dans l'extrait chloroformique des feuilles (15.63 ± 0.18 mg EQ/g MS), suivie de l'extrait méthanolique des fleurs (13.76 ± 0.70 mg EQ/g MS). La valeur de la concentration de l'extrait méthanolique des feuilles est de (9.33 ± 0.19 mg EQ/g MS) et une concentration très faible dans l'extrait chloroformique des fleurs est enregistrée (2.97 ± 0.05 mg EQ/g MS).

**Figure 23** Dosage des Flavonoides (Original).

3 Résultat de l'activité antibactérienne et antifongique de l'EM-F, EM-FL, EC-F et EC-FL des feuilles de *Cestrum parqui*

Pour caractériser l'activité antimicrobienne de nos extraits, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques. C'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extraits végétaux.

De plus, l'inactivité du solvant (DMSO) utilisés pour dissoudre les résidus de ces extraits a été vérifiée. La sensibilité des souches aux antimicrobiens de référence a également été contrôlée.

Mutai *et al.*, (2009) et son équipe ont classé les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne « D » en cinq (5) classes, Très fortement sensible $D \geq 30\text{mm}$, Fortement sensible $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$, Modérément sensible $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$, Légèrement sensible $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$ et Résistante $D < 10\text{mm}$.

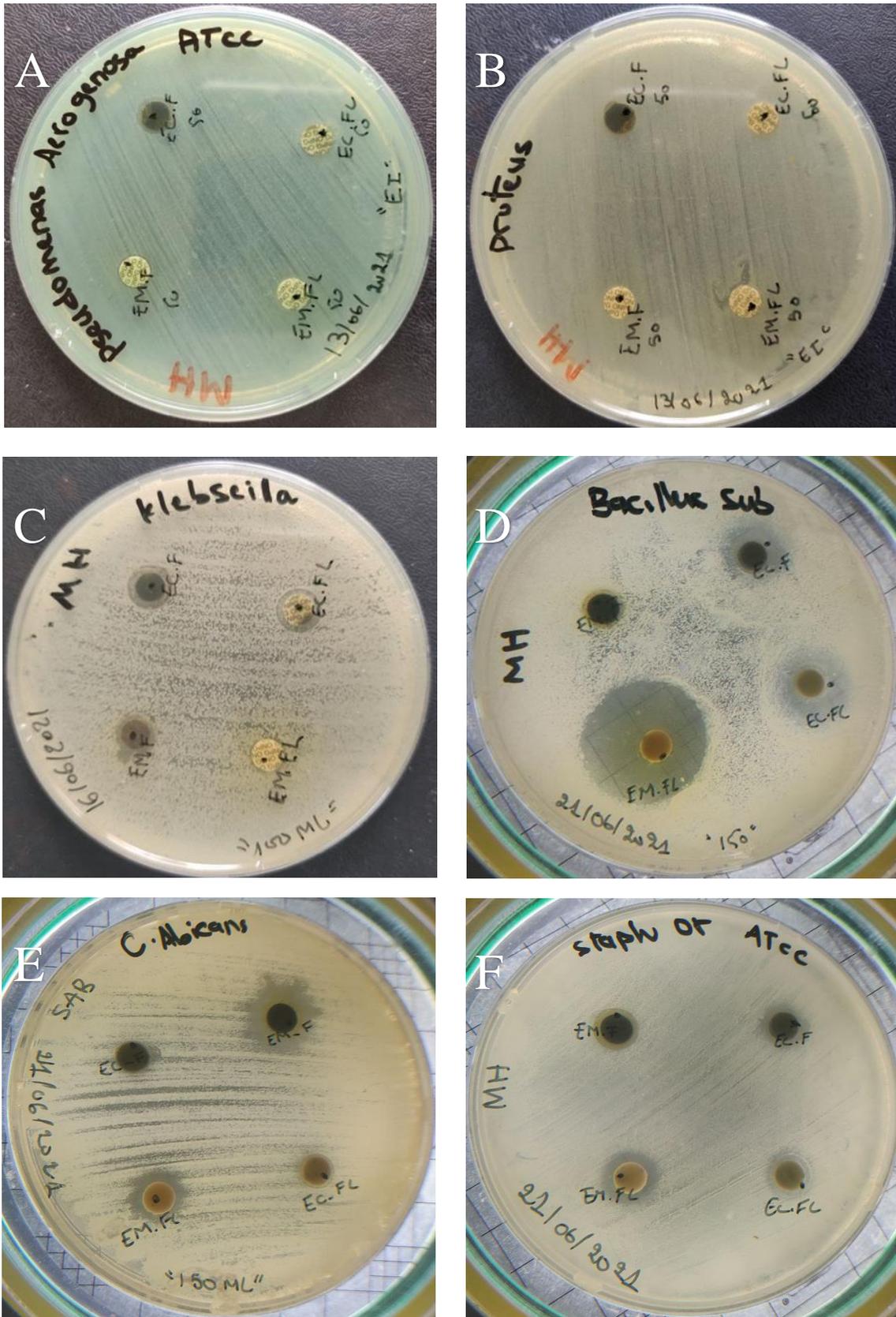


Figure 24 Photos de l'effet quelques extraits sur quelques souches bacteriennes et fongiques (Original).

A : *Pseudomonas Aerogenosa* ATCC avec extrait a 50mg/ml, B : *Proteus mirabilis* avec extrait a 50mg/ml, C : *klebsiella pneumoniae* avec extrait a 100mg/ml, D : *Staphylococcus aureus* avec extrait a 150mg/ml, D : *Bacillus subtilis* avec extrait a 150mg/ml , E : *Candida albicans* ATCC avec extrait a 150mg/ml, F : *Staphylococcus aureus* ATCC avec extrait a 100mg/ml.

3.1 Effet antibactérien des témoins positifs : La Ciprofloxacine et la Gentamicine

L'activité antibactérienne des témoins de références (Annexe 03) a été hautement significative. La ciprofloxacine a été l'antibiotique de référence le plus marqué ; d'ailleurs il a été actif sur toutes les souches bactériennes testées; une très forte activité a été observé sur les deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibitions de 40 et 37 mm respectivement.

La gentamicine a exprimé un pouvoir antibactérien moins important que la ciprofloxacine. Une très forte activité a été observé sur *Pseudomonas aeruginosa* hospitalière et *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibitions de 39 et 37 mm respectivement

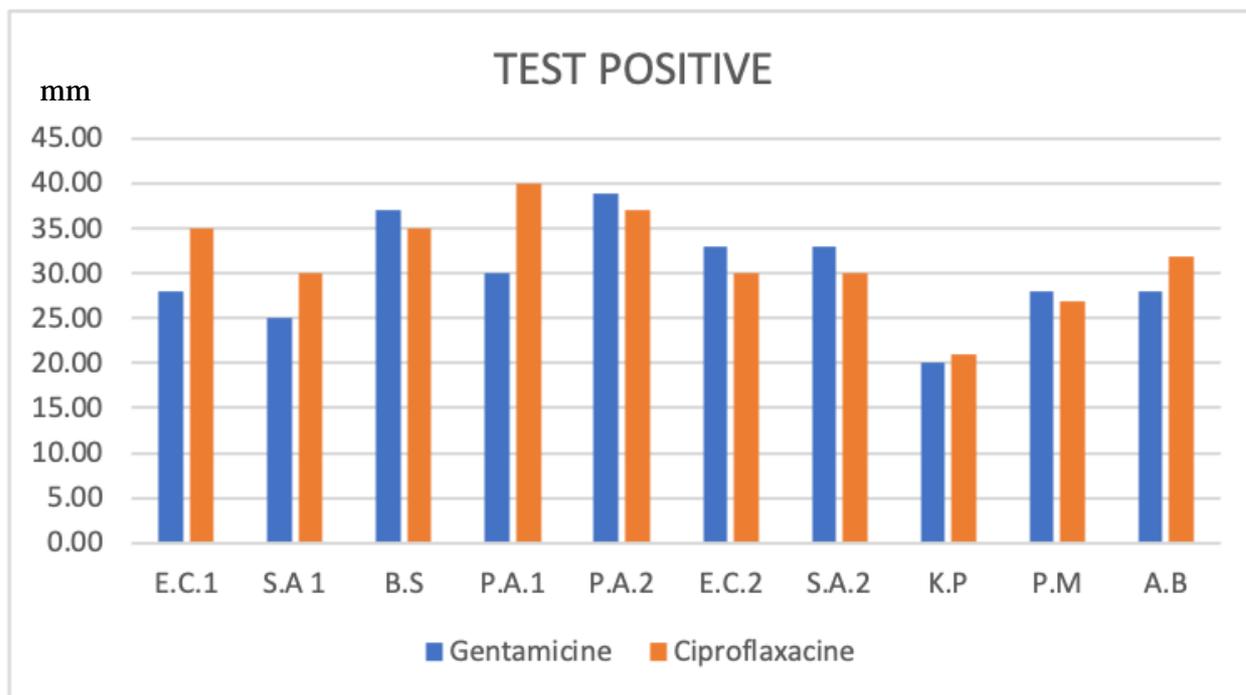


Figure 25 Moyennes des zones d'inhibitions de la ciprofloxacine et de la gentamicine vis a vis des bactéries étudiées.

E.C.1: *Escherichia coli* ATCC, S.A 1: *Staphylococcus aureus* ATCC, B.S: *Bacillus subtilis* ATCC, P.A.1: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, P.A.2: *Pseudomonas aeruginosa*, E.C.2: *Escherichia coli*, S.A.2: *Staphylococcus aureus*, K.P: *Klebsiella pneumoniae*, P.M: *Proteus merabilis*, A.B: *Acinitobacter baumannii*, C.A : *Candida albicans* ATCC, A.S: *Aspergillus brasiliensis* ATCC

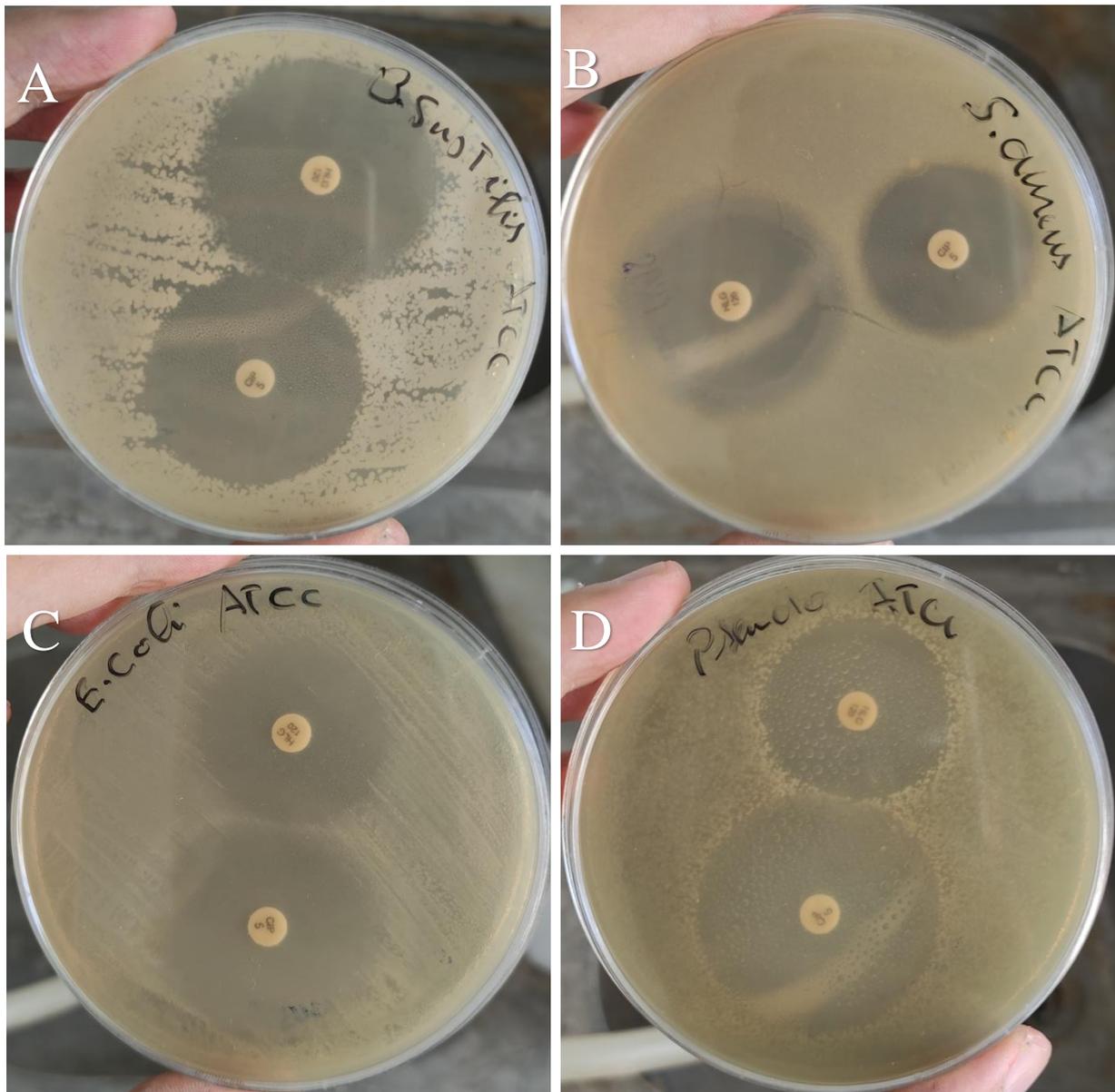


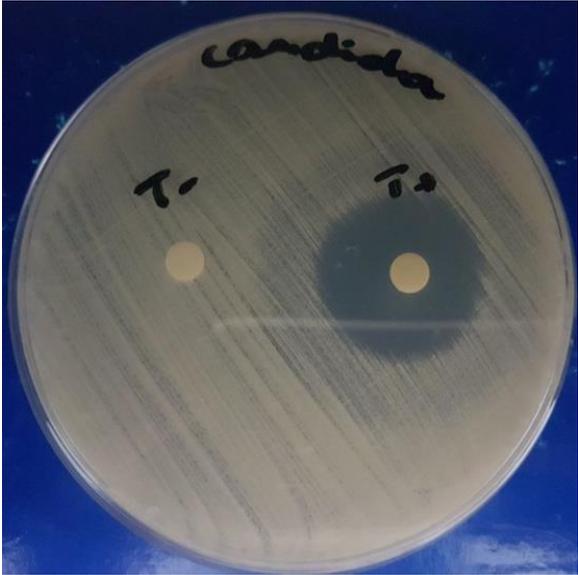
Figure 26 Photos de quelques resultats des temoins positif (gentamicine et ciprofloxacine).

A: *Bacillus subtilis*, B : *Staphylococcus aureus* ATCC, C : *Escherichia coli* ATCC, D: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC.

3.2 Effet antifongique des témoins : Le nitrate d'éconazole

D'après le tableau 7, le nitrate d'éconazole semble avoir une activité vis-à-vis la souche *Candida albicans* parcontre *Aspergillus brasiliensis* est totalement résistant.

Tableau 7 Résultats des témoins contre les souches fongiques.

<p><i>Candida albicans</i></p>	 <p>Zone d'inhibition = 22 mm</p>
<p><i>Aspergillus brasiliensis</i></p>	 <p>Zone d'inhibition = 0 mm</p>

3.3 Effet antibactérien et antifongique de l'extrait chloroformique des fleurs (EC-FL)

Les résultats présentés sur la figure 27 et l'annexe 3 montrent que l'extrait chloroformique des fleurs (EC-FL) a été largement actif sur la majorité des bactéries testées avec un pouvoir antibactérien prononcé principalement sur *B. subtilis* et une résistance totale des souches fongiques (*C. albicans* et *A. brasiliensis*) *S. aureus* hospitalières testées. Aucun effet antibactérien a été noté pour la concentration 50 mg /ml.

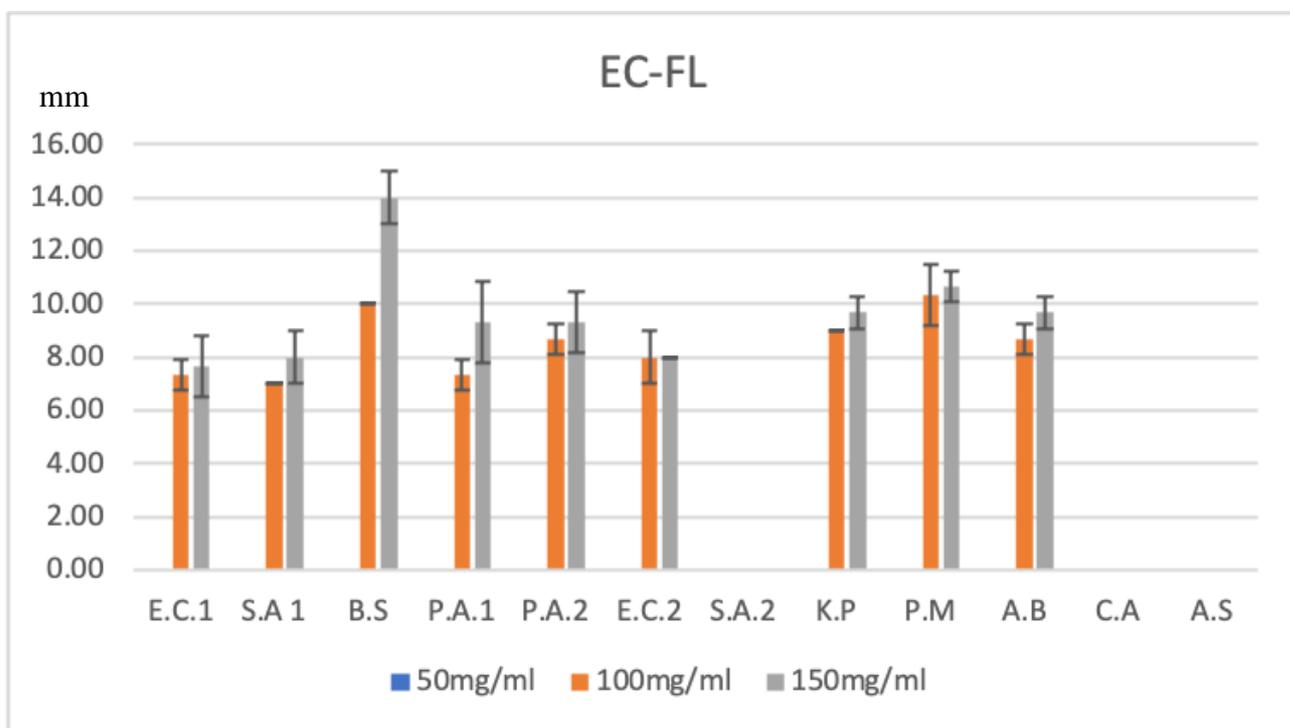


Figure 27 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait chloroformique des fleurs.

E.C.1: *Escherichia coli* ATCC, S.A.1: *Staphylococcus aureus* ATCC, B.S: *Bacillus subtilis* ATCC, P.A.1: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, P.A.2: *Pseudomonas aeruginosa*, E.C.2: *Escherichia coli*, S.A.2: *Staphylococcus aureus*, K.P: *Klebsiella pneumoniae*, P.M: *Proteus merabilis*, A.B: *Acinitobacter baumannii*, C.A : *Candida albicans* ATCC, A.S: *Aspergillus brasiliensis* ATCC

3.4 Effet antibactérien et antifongique de l'extrait chloroformique des feuilles (EC-F)

L'extrait chloroformique des feuilles à 50 mg/ml a présenté un effet antibactérien très faible sur trois souches bactériennes *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC et *Staphylococcus aureus* ; par contre sa concentration à 100 et 150 mg/ml ont exprimé un pouvoir antibactérien sur la totalité des bactéries testées (Annexe 03).

Nous avons noté une résistance totale des souches fongiques testées vis-à-vis de l'extrait chloroformique des feuilles de *C. parqui*.

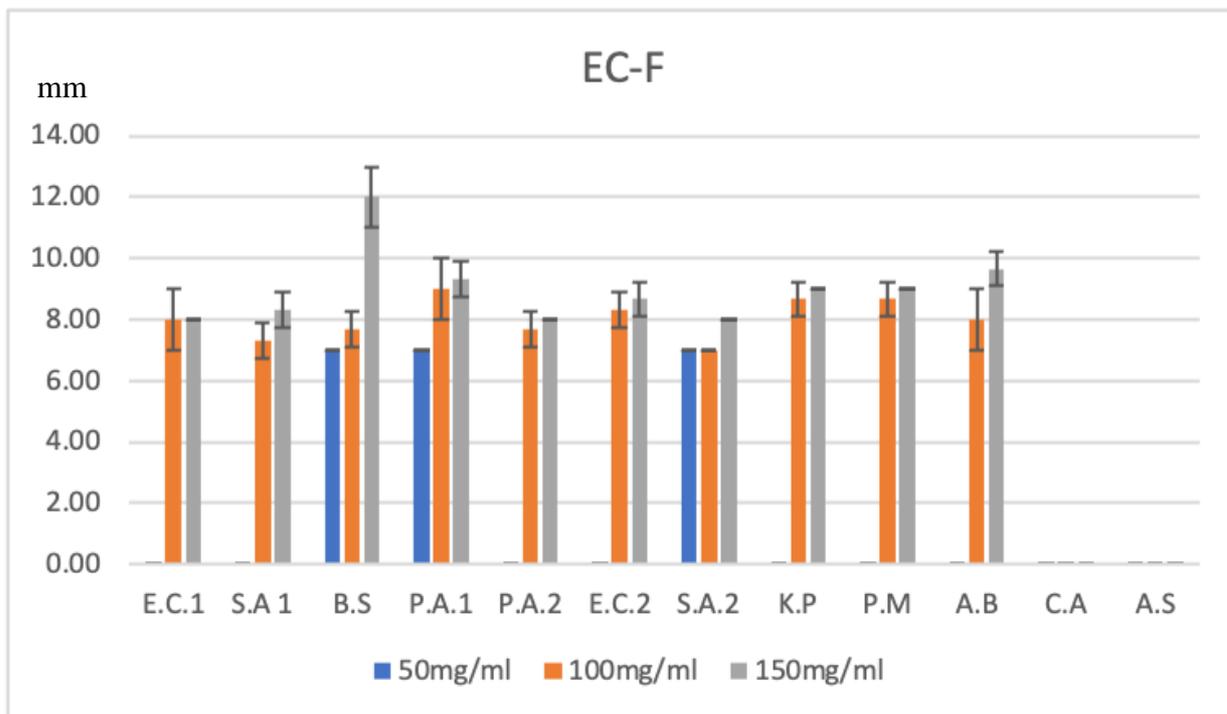


Figure 28 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait chloroformique des feuilles

E.C.1: *Escherichia coli* ATCC, S.A.1: *Staphylococcus aureus* ATCC, B.S: *Bacillus subtilis* ATCC, P.A.1: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, P.A.2: *Pseudomonas aeruginosa*, E.C.2: *Escherichia coli*, S.A.2: *Staphylococcus aureus*, K.P: *Klebsiella pneumoniae*, P.M: *Proteus merabilis*, A.B: *Acinitobacter baumannii*, C.A : *Candida albicans* ATCC, A.S: *Aspergillus brasiliensis* ATCC

3.5 Effet antibactérien et antifongique de l'extrait méthanolique des fleurs (EM-FL)

Les résultats représentés dans la figure 29 et l'Annexe 03 montrent que l'extrait méthanolique des fleurs (EM-FL) a été largement actif sur la majorité des bactéries et souches fongique testées. Nous avons remarqué une résistance de la souche hospitalière *S. aureus* et *A. brasiliensis* au deux concentrations 100 et 150 mg/ml de l'extrait testé. Aucun effet antibactérien a été noté pour la concentration 50 mg/ml.

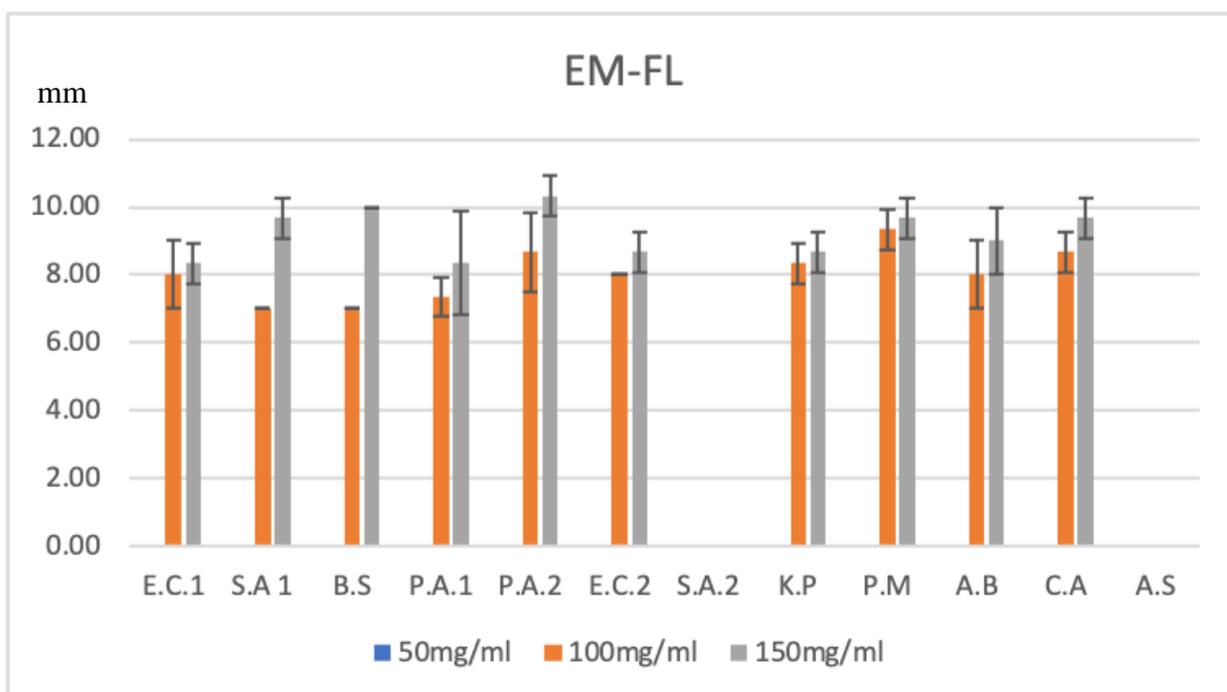


Figure 29 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait méthanolique des fleurs

E.C.1: *Escherichia coli* ATCC, S.A.1: *Staphylococcus aureus* ATCC, B.S: *Bacillus subtilis* ATCC, P.A.1: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, P.A.2: *Pseudomonas aeruginosa*, E.C.2: *Escherichia coli*, S.A.2: *Staphylococcus aureus*, K.P: *Klebsiella pneumoniae*, P.M: *Proteus mirabilis*, A.B: *Acinetobacter baumannii*, C.A: *Candida albicans* ATCC, A.S: *Aspergillus brasiliensis* ATCC

3.6 Effet antibactérien et antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles (EM-F)

La Figure 30 et l'Annexe 03 montrent une activité antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles (EM-F) sur *C. albicans* et une résistance d'*A. brasiliensis* ATCC. On a remarqué également la présence d'une activité antibactérienne de la plupart des souches testées sauf pour *B. subtilis* et *S. aureus*. L'extrait méthanolique des feuilles à 50 mg/ml a présenté un effet antibactérien contre *Eshrichia coli* ATCC.

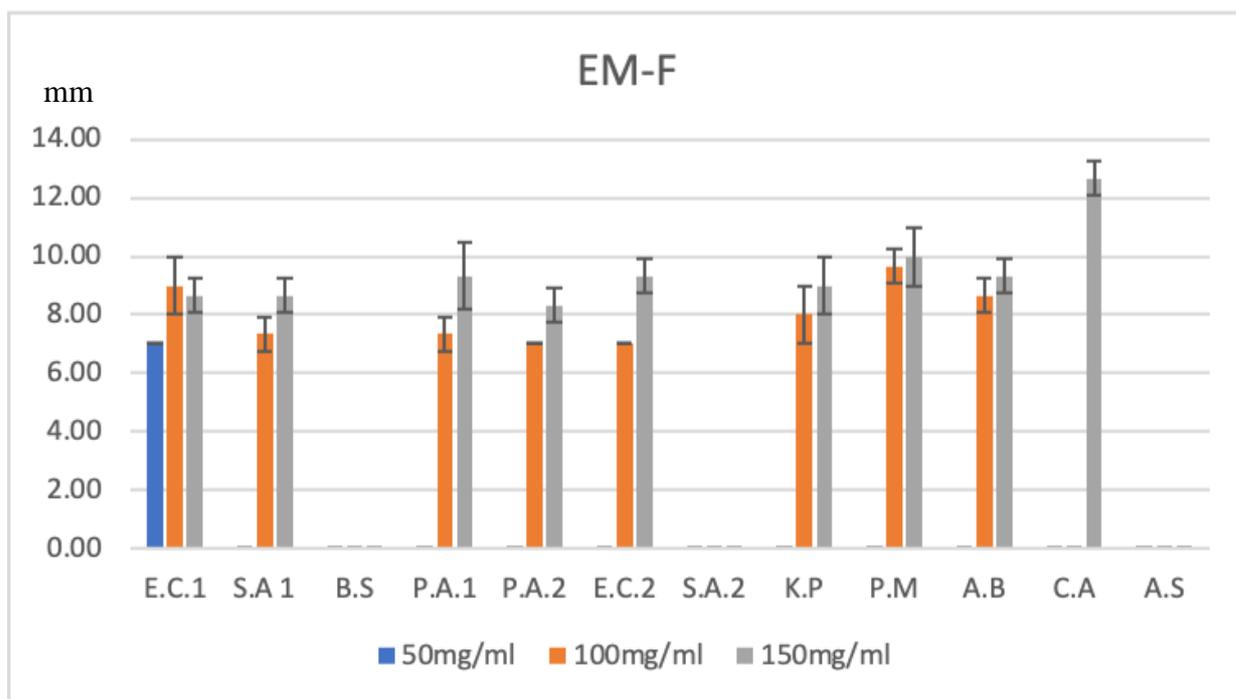


Figure 30 Moyennes des zones d'inhibitions en mm de l'extrait méthanolique des feuilles

E.C.1: *Escherichia coli* ATCC, S.A.1: *Staphylococcus aureus* ATCC, B.S: *Bacillus subtilis* ATCC, P.A.1: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, P.A.2: *Pseudomonas aeruginosa*, E.C.2: *Escherichia coli*, S.A.2: *Staphylococcus aureus*, K.P: *Klebsiella pneumoniae*, P.M: *Proteus merabilis*, A.B: *Acinitobacter baumannii*, C.A : *Candida albicans* ATCC, A.S: *Aspergillus brasiliensis* ATCC

4 Discussion

Les résultats de l'extraction des composés actifs des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui* par la méthode de Soxhlet en utilisant des solvants polaires (méthanol) et apolaires (chloroforme) ont montré que pour les fleurs, la teneur en composés apolaires est de 4.6 %. Alors que la teneur en composés polaires est de 16.1 % de la matière sèche.

A l'issue des résultats du screening phytochimique, nous avons constaté une richesse en métabolites secondaires au niveau de la partie aérienne de la plante, les fleurs plus précisément par rapport aux feuilles. Ces parties contiennent une quantité plus au moins importante des composés phénoliques (tanins, anthocyanes, coumarines et quinones libre), et des saponosides. Alors que, les résultats de l'étude de **Chikkaswamy (2015)** sur trois espèces de *Cestrum* sont avérées négatives vis à vis de la présence des saponines dans les feuilles de la plante.

De plus, nos résultats contrarient ceux obtenus par (**Nekkab, 2019**), ce chercheur a réalisé un criblage préliminaire sur trois extraits (aqueux, éthanolique et étheropétrolique) des feuilles de *C. parqui* révélant l'absence des coumarines, anthocyanes et quinones. Cette différence est peut-être due à la non solubilité de ces extraits dans les solvants cités.

La réalisation du dosage spectrophotométrique des composés phénoliques totaux et flavonoïdes totaux nous a permis de constater que les extraits méthanoliques des fleurs et des feuilles de *C. parqui* sont plus riches en composés phénoliques par rapport aux extraits chloroformiques. La teneur élevée en polyphénols dans l'extrait méthanolique est liée à la grande solubilité des phénols dans les solvants polaires (**Liu et al., 2010**).

Concernant le dosage des flavonoïdes totaux, les résultats de notre étude montrent que la teneur la plus importante a été retrouvée dans l'extrait chloroformique et méthanolique des feuilles de *C. parqui*.

Par ailleurs, il est difficile de comparer les valeurs trouvées dans nos résultats avec ceux observés dans la bibliographie ; l'utilisation de différentes méthodes d'extraction et de quantification réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. En plus, plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en flavonoïdes car des études montrent que les facteurs extrinsèques tels que les facteurs climatiques et environnementaux, le patrimoine génétique, la période de la

récolte et le stade de développement de la plante ont une nette influence sur le contenu en flavonoïdes des plantes (**Miliauskas et al., 2004**).

Le test de l'activité antimicrobienne de *C. parqui* vis-à-vis de différentes souches bactériennes et fongiques a montré une variable action selon les différentes concentrations testées.

Les modes d'actions des agents antibactériens diffèrent selon leurs modes d'actions et la nature de leur affinité entre la bactérie et l'agent inhibant la croissance bactérienne, L'efficacité de la ciprofloxacine sur toutes les souches bactériennes reflète le spectre large de son activité ; La ciprofloxacine se lie à l'ADN gyrase bactérienne en l'inhibant, une enzyme essentielle à la réplication de l'ADN au cours de la traduction (**Zhang et al., 2018**), ce qui le rend un antibiotique de référence et du première intention dans le cas des infections bactériennes les plus sévères.

L'efficacité de la gentamicine sur toutes les souches bactériennes est due à son mode d'action, cet agent se lie de manière irréversible à la sous-unité ribosomique 30S bactérienne. Plus précisément, cet antibiotique est logé entre l'ARNr 16S et la protéine S12 au sein de la sous-unité 30S. Cela conduit à une interférence avec le complexe d'initiation de la traduction, une mauvaise lecture de l'ARNm, entravant ainsi la synthèse des protéines et entraînant un effet bactéricide (**Shakil et al., 2008**).

L'antifongiques testé dans ce travail (le nitrate d'éconazole) s'est avéré efficace vis-à-vis de *C. albicans*.

Nos résultats peuvent être expliqués par l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol par le nitrate d'éconazole, ce qui endommage la membrane de la paroi cellulaire fongique en altérant sa perméabilité entraînant une perte des composants intracellulaires essentiels. De plus, le nitrate d'éconazole inhibe la biosynthèse des triglycérides et des phospholipides et inhibe l'activité enzymatique oxydative et peroxydative qui peut contribuer à la nécrose cellulaire et à la mort cellulaire (**Hines et al., 2017**). Nos résultats corroborent avec ceux trouvés par **Kaya et Kiraz (2007)** dont ils ont montré que trois (03) souches d'*Aspergillus spp* ont été résistantes à l'itraconazole. Selon **Jagdish Chander (2009)** ces mêmes souches sont susceptibles d'être résistantes au nitrate d'éconazole.

La différence de la sensibilité des souches aux extraits testés pourraient être dues à la variation du taux de pénétration des échantillons à travers la paroi et la membrane cellulaire des structures

(Cox *et al.*, 2000; Cox *et al.*, 2001). Les bactéries à Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des poids moléculaires à 50 KD (Hogan et Kolter, 2002).

D'autre part, nous avons constaté que l'EM-FL à 150 mg/ml a un effet antibactérien qui peut être attribué à la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans les fleurs de *C.parqui*. Ces composés sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes selon la littérature (Bruneton, 2009; Clérivet, *et al.*, 1996).

Du fait de la variabilité des résistances des souches testées et des profils des composants des quatre extraits, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson *et al.*, 2002).

Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont négligeables. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des feuilles de *C.parqui* sur les bactéries. Peu de travaux publiés sont rapportés sur l'activité antimicrobienne des extraits de *C.parqui*, en effet, Nekkab (2019) a montré que l'extrait éthanolique et étheropétrolique de feuille à 100 mg/ml été fortement actif sur les bactéries Gram positif testée.

Une étude faite par (Mølgaard *et al.*, 2011) a rapporté que l'extrait méthanolique de feuille à 1mg/ml de *C.parqui* a été actif seulement sur une Gram négatif (*E. coli*). Alors qu'elle présentait une insensibilité de *B. subtilis*, ce qui est en corrélation avec nos résultats de l'extrait EM-F.

Au vu des résultats de l'étude de l'activité antibactérienne, il nous apparaît que les extraits des fleurs ont été plus actifs que les extraits de feuilles sur la majorité des souches testées.

L'effet antibactérien obtenu avec les différents extraits méthanoliques de la plante pourrait être attribué à la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes (Daglia, 2012; Keykhasalar *et al.*, 2020). La sensibilité des bactéries aux différents polyphénols varie en fonction de la souche testée et de la structure du composé phénolique (Taguri *et al.*, 2004).

L'inefficacité des extraits chloroformiques sur toutes les souches fongiques utilisées est probablement due à une concentration faible en saponines, flavonoïdes, tanins et d'autres composés polyphénoliques ; qui sont doués d'une forte toxicité sur les levures et les champignons. (Bruneton, 2009).



CONCLUSION

5 Conclusion et perspectives

La phytothérapie est considérée comme très efficace pour les traitements et la médecine traditionnelle, qui a été marginalisée pendant des siècles, est désormais soutenue par le public et les chercheurs.

Notre travail est une contribution à l'étude et la validation des propriétés bioactives de la partie aérienne (feuilles et fleurs) de *Cestrum parqui* due à sa richesse en divers métabolites secondaires bioactifs tels que les flavonoïdes, les polyphénols, les saponines, les coumarines, mis en évidence par le criblage chimique préliminaire (screening phytochimique).

La nature des principes chimiques recouvert, nous a laissé prévoir des activités antibactérienne et antifongique intéressantes enfin confirmé la méthode de diffusion des disques.

L'extraction des molécules actives à partir des feuilles et des fleurs de *Cestrum parqui* est faite par deux solvants différents choisis pour leur polarité, le méthanol et le chloroforme, de manière à solubiliser un maximum de composés. Un rendement plus important est noté lors de l'utilisation du méthanol par rapport au chloroforme. Concernant l'activité antimicrobienne nous avons constaté que les extraits méthanoliques ont révélé une activité antifongique contre *Candida albicans* plus prononcé par l'extrait méthanolique des feuilles et des activités antimicrobiennes variables avec les quatre extraits contre les dix bactéries testées et une très bonne sensibilité observée chez *Bacillus subtilis* avec les deux extraits chloroformiques.

Les résultats de ce travail font un point de départ pour mieux comprendre les mécanismes d'inhibition et même pour tester d'autres extraits bruts ou fractionnés de cette plante, et de tester aussi d'autres souches bactérienne et fongiques afin d'optimiser les résultats.

Une étude chimique plus approfondie complétée par des tests biologiques ainsi que des extractions avec d'autres types de solvants et d'autres méthodes d'extractions (macération, décoction, extraction d'huile essentielle...), sont nécessaires pour élaborer des stratégies d'application pratique et afin d'isoler d'autres métabolites secondaires biologiquement actifs et de connaître les meilleurs rendements.

References:**A**

Azwanida Nik Nur. 2015. « A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation ». *Medicinal & Aromatic Plants* 04(03):3-8. doi: 10.4172/2167-0412.1000196.

B

Badaiga Mamadou. 2011. « Etude ethnobotanique , phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith , une plante médicinale africaine récoltée au Mali ».

Barbouche Naima, Béchir Hajjem, Georges Lognay et Mohamed Ammar. 2001. « Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.) ». *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* 5(2):85-90.

Barker Allen V. 2019. *Natural Products from Plants, Second Edition*. Vol. 43.

Boukhobza F. et Goetz P. 2014. *Phytothérapie en odontologie - Editions CdP*. Initiatives Santé.

Bourgou Soumaya, Riadh Ksouri, Amor Bellila, Ines Skandrani, Hanen Falleh, et Brahim Marzouk. 2008. « Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots ». *Comptes Rendus - Biologies* 331(1):48-55. doi: 10.1016/j.crv.2007.11.001.

Bruneton Jean. 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.)*. Lavoisier.

Builders Philip. 2019. *Herbal Medicine*. édité par P. F. Builders. IntechOpen.

C

Carapeto André. 2016. « New records of alien vascular plant species in mainland Portugal ». *Acta Botanica Malacitana* 41:281-86.

- Carroll Karen C., Janet S. Butel et Stephen A. Morse. 2015. « Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 27 E ». *Nursing mirror* 880.
- Carson Christine F., Brian J. Mee et Thomas V. Riley. 2002. « Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46(6):1914-20. doi: 10.1128/AAC.46.6.1914-1920.2002.
- Chikkaswamy B. K. 2015. « Anti-Oxidant Potential , Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening , in Three Species of Cestrum ». 4(3):1-10.
- Clériveret Alain, Ibrissam Alami, Frédéric Breton, Dominique Garcia et Christine Sanier. 1996. « Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes ». *Acta Botanica Gallica* 143(6):531-38. doi: 10.1080/12538078.1996.10515350.
- Cox S. D., C. M. Mann, et J. L. Markham. 2001. « Interactions between components of the essential oil of Melaleuca alternifolia ». *Journal of Applied Microbiology* 91(3):492-97. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01406.x.
- Cox S. D., Mann C. M., Markham J. L., Bell H. C., Gustafson J. E., Warmington J. R. et Wyllie S. G. . 2000. « The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (Tea tree oil) ». *Journal of Applied Microbiology* 88(1):170-75. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x.

D

- Daglia Maria. 2012. « Polyphenols as antimicrobial agents ». *Current Opinion in Biotechnology* 23(2):174-81. doi: 10.1016/j.copbio.2011.08.007.
- Daira Nour El-Houda, Mohamed Cherif MAAZI, et Azzedine Chefrour. 2016. « Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (Ammoides verticillata Desf. Briq.) de l'Est Algérien ». *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 85:276-90.
- Desmier Thomas. 2016. « Les antioxydants de nos jours: Définition et applications ».
- Dolinsky Arthur L. 2020. *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*.

Vol. 8.

Dougherty Thomas J. et Michael J. Pucci. 2012. *Antibiotic Discovery and Development*. édité par T. J. Dougherty et M. J. Pucci. Boston, MA: Springer US.

E

Elberry Ahmed A., Fathalla M. Harraz, Salah A. Ghareib, Salah A. Gabr, Ayman A. Nagy et Essam Abdel-Sattar. 2015. « Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats ». *International Journal of Diabetes Mellitus* 3(1):37-44. doi: 10.1016/j.ijdm.2011.01.004.

G

GBIF Secretariat. 2021. « *Cestrum parqui* (Lam.) L'Hér. in GBIF Secretariat (2021). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> ». Consulté 26 mai 2021 (<https://www.gbif.org/species/2928792>).

González-Gallego J., Sánchez-Campos S., et Tuñón M. J. 2007. « Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids ». *Nutrición hospitalaria* 22:287-93.

H

Hallé Francis, Danton P et Perrier C. 2007. « Architectures de plantes de l'Île Robinson Crusoe, archipel Juan Fernández, Chili ». 29(2):333-50.

Hart Tony et Paul Shears. 1997. *Atlas de poche de microbiologie*.

Hartmann Thomas. 2007. « From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism ». *Phytochemistry* 68(22-24):2831-46. doi: 10.1016/j.phytochem.2007.09.017.

Hennebelle T., S. Sahpaz et F. Bailleul. 2004. « Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif ». *Phytotherapie* 2(1):3-6. doi: 10.1007/s10298-004-0003-8.

- Hines Kelly M., Dylan H. Ross, Kimberly L. Davidson, Matthew F. Bush et Libin Xu. 2017. « Large-Scale Structural Characterization of Drug and Drug-Like Compounds by High-Throughput Ion Mobility-Mass Spectrometry ». *Analytical Chemistry* 89(17):9023-30. doi: 10.1021/ACS.ANALCHEM.7B01709.
- Hoffmann David. 2003. *MEDICAL HERBALISM THE SCIENCE AND PRACTICE OF HERBAL MEDICINE*. Healing Arts.
- Hogan Deborah et Roberto Kolter. 2002. « Why are bacteria refractory to antimicrobials? » *Current Opinion in Microbiology* 5(5):449-532.
- Hopkins W. G., Rambour S. ,et Evrard C. M., 2003. *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
- Hudzicki Jan. 2012. « Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information ». *American Society For Microbiology* (December 2009):1-13.
- Hulin A., Deguillaume A. M., Bretagne S. et Bézie Y. 2005. « Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives ». *Journal de Pharmacie Clinique* 24(3):125-38.

J

- Jagdish Chander. 2009. « Aspergillus Otomycosis - Aspergillus and Aspergillosis ». Consulté 15 juillet 2021 (http://www.aspergillus.org.uk/new_treatment/aspergillus-otomycosis/).
- Jean-Paul Anthony, Fyfe Lorna et Smith Huw. 2005. « Plant active components – a resource for antiparasitic agents? » *Trends in Parasitology* 21(10):462-68. doi: doi:10.1016/j.pt.2005.08.004.
- Jha Anubhuti et Awanish Kumar. 2019. « Anticandidal agent for multiple targets: The next paradigm in the discovery of proficient therapeutics/overcoming drug resistance ». *Future Medicinal Chemistry* 11(22):2955-74.

K

- Kaya Ayse Demet et Nuri Kiraz. 2007. « In vitro susceptibilities of *Aspergillus* spp. causing

otomycosis to amphotericin B, voriconazole and itraconazole ». *Mycoses* 50(6):447-50. doi: 10.1111/j.1439-0507.2007.01409.x.

Khan Haroon, Murad Ali Khan et Abdullah. « Antibacterial, antioxidant and cytotoxic studies of total saponin, alkaloid and sterols contents of decoction of Joshanda: Identification of components through thin layer chromatography ». *Toxicology and Industrial Health* 31, n° 3 (2015): 202-8. <https://doi.org/10.1177/0748233712468023>.

Keykhasalar Roghaye, Masoud Homayouni Tabrizi et Pouran Ardalan. 2020. « Antioxidant Property and Bactericidal Activity of Linum usitatissimum Seed Essential Oil Nanoemulsion (LSEO-NE) on Staphylococcus aureus ». *International Journal of Infection* 7(2). doi: 10.5812/iji.101639.

Khireddine Hamida, 2013. « Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie ».

L

Larbi Chafika. 2017. « Extraction, caractérisation de quelques métabolites secondaires d'une plante médicinale, Marrube blanc et quelques effets biologiques ».

Lehbili Meryem. 2018. « Étude phytochimique et biologique de trois espèces Algériennes : Calendula stellata Cav. (Asteraceae), Scabiosa stellata L. (Caprifoliaceae) et Salvia barrelieri Etl. (Lamiaceae) ».

Liu Hai Wen Jiang et Meng Xie. 2010. « Flavonoids: Recent Advances as Anticancer Drugs ». *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery* 5(2):152-64. doi: 10.2174/157489210790936261.

Luthria D. L. 2004. *Oil Extraction and Analysis Critical Issues and Comparative Studies*.

M

Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. 2005. *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Presses polytechniques et universitaires romandes.

- Mayo Simon et Gurchuran Singh. 2001. *Plant Systematics*. Vol. 56.
- Miara Mohamed Djamel, Hamdi Bendif, Mohammed Ait Hammou et Irene Teixidor-Toneu. 2018. « Ethnobotanical survey of medicinal plants used by nomadic peoples in the Algerian steppe ». *Journal of Ethnopharmacology* 219:248-56. doi: 10.1016/j.jep.2018.03.011.
- Miliauskas G., Venskutonis P. R. et Van Beek T. A. . 2004. « Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts ». *Food Chemistry* 85(2):231-37. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.05.007.
- Mølgaard Per, Jes Gitz Holler, Betül Asar, Iwona Liberna, Lise Bakkestrøm Rosenbæk, Christina Ploug Jebjerg, Lene Jørgensen, Jeanette Lauritzen, Alfonso Guzman, Anne Adsersen et Henrik Toft Simonsen. 2011. « Antimicrobial evaluation of Huilliche plant medicine used to treat wounds ». *Journal of Ethnopharmacology* 138(1):219-27. doi: 10.1016/j.jep.2011.09.006.
- Mutai Charles, Christine Bii, Constantinos Vagias, Dennis Abatis et Vassilios Roussis. 2009. « Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupane triterpenes ». *Journal of Ethnopharmacology* 123(1):143-48. doi: 10.1016/j.jep.2009.02.007.

S

- Nakkab Selma. 2019. « ETUDE DE QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES D ' UNE PLANTE : Cestrum parqui ». Blida 1.
- Nakkab Selma, Ghania TAIL, Fatma KARA et Naouel Eddaikra. 2018. « Screening Phytochimique , Essais in Vitro De Cytotoxicite , Et Antileishmanien De L ' Extrait Ethanologique De Feuilles ' Ee-F ' De Cestrum Parqui L ' Herit Vitro Tests of Ethanolic Extract of Leaves ' Ee-F ' of Cestrum ». *agrobiologia*.
- Neffati M. et M. Sghaier. 2014. « DEVELOPPEMENT ET VALORISATION DES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES (PAM) AU NIVEAU DES ZONES DESERTIQUES de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie) ». *Projet MENA-DELP, Observatoire du Sahara et du Sahel* 1-152.
- Newman David J. et Gordon M. Cragg. 2020. « Natural Products as Sources of New Drugs over

the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019 ». *Journal of Natural Products* 83(3):770-803. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

O

Omulokoli E., Khan B et Chhabra S. C. 1997. « Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants ». *Journal of Ethnopharmacology* 56(2):133-37. doi: 10.1016/S0378-8741(97)01521-3.

S

Santhakumar Abishek B., Maurizio Battino et José M. Alvarez-Suarez. 2018. « Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis ». *Food and Chemical Toxicology* 113(December 2017):49-65. doi: 10.1016/j.fct.2018.01.022.

Shakil Shazi, Rosina Khan, Raffaele Zarrilli et Asad U. Khan. 2008. « Aminoglycosides versus bacteria - A description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground ». *Journal of Biomedical Science* 15(1):5-14.

Sivaraj B., Vidya C., Nandini S. et Sanil. R. 2015. « Original Research Article Antimicrobial Activity of *Cestrum aurantiacum* L. » 4(3):830-34.

Slanis Alberto C., María C. Perea et Aníbal A. García. 2009. « DIASTATEA (CAMPANULACEAE, LOBELIODEAE), NUEVO GÉNERO PARA LA FLORA ARGENTINA Alberto ».

T

Taguri Toshitsugu, Takashi Tanaka et Isao Kouno. 2004. « Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease ». *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27(12):1965-69. doi: 10.1248/bpb.27.1965.

Thévenin T. 2017. « Quelle éthique, quelles pratiques pour des plantes médicinales de qualité ? » *Phytotherapie* 15(3):123-30. doi: 10.1007/s10298-017-1141-4.

V

Victoria Hammiche, Rachida Merad et Mohamed Azzouz. 2013. *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*.

W

Walsh Christopher et Timothy Wencewicz. 2015. *Antibiotics: challenges, mechanisms, opportunities*. Washington, DC 20036-2904, USA: Washington, DC : ASM Press,.

Witt Arne et Quentin Luke. 2017. « Guide to the naturalized and invasive plants of eastern afrika ». *CAB International*. doi: 10.1079/9781786392152.0000.

World Health Organization. 2019. « Essential Medicines and Health Products Information Portal ». *Essential Medicines and Health Products Information Portal*.

World Health Organization. 2021. « Antimicrobial resistance. » Consulté 20 juin 2021 (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>).

Z

Zhang Gui Fu, Xiaofeng Liu, Shu Zhang, Baofeng Pan et Ming Liang Liu. 2018. « Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities ». *European Journal of Medicinal Chemistry* 146:599-612. doi: 10.1016/J.EJMECH.2018.01.078.

Annexe

Annexe 01

RENDEMENT DE L'EXTRACTION SOLIDE-LIQUIDE PAR LA MÉTHODE DE SOXHLET :

Extraits	Poids de l'extrait sec	Rendement
Extrait chloroformique des feuilles EC-F	0,74g	3,7 %
Extrait chloroformique des fleurs EC-FL	0,92g	4,6 %
Extrait methanolique des feuilles EM-F	3,61g	18,05 %
Extrait Methanolique des fleurs EM-FL	3,22g	16,1 %

Annexe 02

Dosage des polyphenols

Extraits	L'Absorbance à 765nm		
	Repetitions		
EM-FL	0,896	0,885	0,840
EM-F	0,688	0,679	0,656
EC-FL	0,281	0,291	0,293
EC-F	0,508	0,468	0,416

Dosage des flavonoïdes

Extraits	L'Absorbance à 430nm		
	Repetitions		
EM-FL	0,761	0,842	0,825
EM-F	0,528	0,543	0,550
EC-FL	0,151	0,154	0,157
EC-F	0,911	0,925	0,932

Annexe 03

Effet antimicrobien des extraits sur les souches bactériennes, comparaison de l'effet du même extrait sur toutes les souches testées et les témoins positifs (la moyenne des zones d'inhibition est exprimée en mm, 3 essais sont fait pour chaque souche)

EM-F (Extrait Méthanolique des Feuilles)							
Bactéries	Extraits	50mg/ml		100mg/ml		150mg/ml	
		Zone	Écart type	Zone	Écart type	Zone	Écart type
	<i>Escherichia coli ATCC</i>	7,00	0,00	9,00	1,00	8,67	0,58
	<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	0,00	0,00	7,33	0,58	8,67	0,58
	<i>Bacillus subtilis ATCC</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	0,00	0,00	7,33	0,58	9,33	1,15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,00	0,00	7,00	0,00	8,33	0,58
<i>Escherichia coli</i>	0,00	0,00	7,00	0,00	9,33	0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,00	0,00	8,00	1,00	9,00	1,00
<i>Proteus merabilis</i>	0,00	0,00	9,67	0,58	1,00	1,00
<i>Acinitobacter baumannii</i>	0,00	0,00	8,67	0,58	9,33	0,58
<i>Candida albicans</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	12,67	0,58
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

EC-F (Extrait Chloroformique des Feuilles)

Bacteria	50mg/ml		100mg/ml		150mg/ml	
	Zone	Écart type	Zone	Écart type	Zone	Écart type
<i>Escherichia coli</i> ATCC	0,00	0,00	8,00	1,00	8,00	0,00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	0,00	0,00	7,33	0,58	8,33	0,58
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC	7,00	0,00	7,67	0,58	12,00	1,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	7,00	0,00	9,00	1,00	9,33	0,58
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,00	0,00	7,67	0,58	8,00	0,00
<i>Escherichia coli</i>	0,00	0,00	8,33	0,58	8,67	0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,00	0,00	7,00	0,00	8,00	0,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,00	0,00	8,67	0,58	9,00	0,00
<i>Proteus mirabilis</i>	0,00	0,00	8,67	0,58	9,00	0,00
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,00	0,00	8,00	1,00	9,67	0,58
<i>Candida albicans</i> ATCC	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

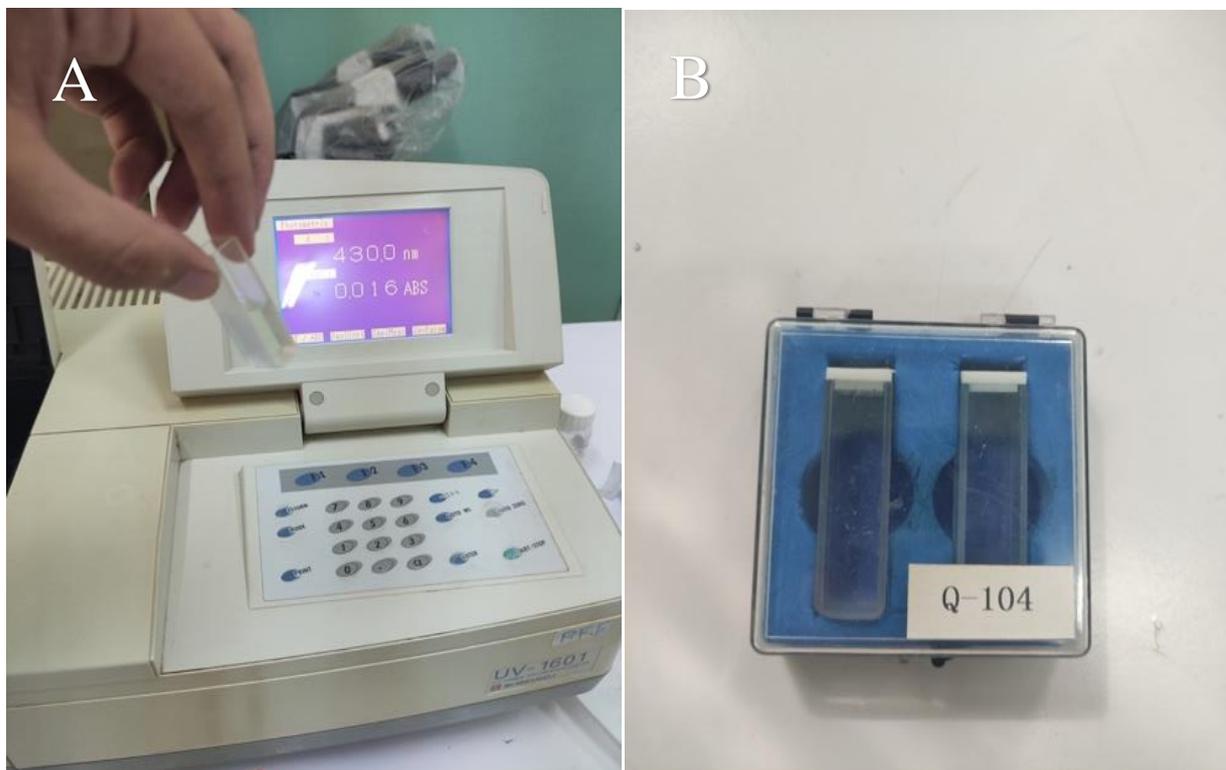
EM-FL (Extrait Metanolique des fleurs)						
Extractions	50mg/ml		100mg/ml		150mg/ml	
	Zone	Écart type	Zone	Écart type	Zone	Écart type
<i>Escherichia coli ATCC</i>	0,00	0,00	8,00	1,00	8,33	0,58
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	0,00	0,00	7,00	0,00	9,67	0,58
<i>Bacillus subtilis ATCC</i>	0,00	0,00	7,00	0,00	10,00	0,00
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC</i>	0,00	0,00	7,33	0,58	8,33	1,53
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,00	0,00	8,67	1,15	10,33	0,58
<i>Escherichia coli</i>	0,00	0,00	8,00	0,00	8,67	0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,00	0,00	8,33	0,58	8,67	0,58
<i>Proteus mirabilis</i>	0,00	0,00	9,33	0,58	9,67	0,58
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,00	0,00	8,00	1,00	9,00	1,00
<i>Candida albicans ATCC</i>	0,00	0,00	8,67	0,58	9,67	0,58
<i>Aspergillus brasiliensis ATCC</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

EC-FL (Extrait Chloroformique des fleurs)							
Bacteries	Extraits	50mg/ml		100mg/ml		150mg/ml	
		Zone	Écart type	Zone	Écart type	Zone	Écart type
	<i>Escherichia coli ATCC</i>	0,00	0,00	7,33	0,58	7,67	1,15
	<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	0,00	0,00	7,00	0,00	8,00	1,00
	<i>Bacillus subtilis ATCC</i>	0,00	0,00	10,00	0,00	14,00	1,00
	<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC</i>	0,00	0,00	7,33	0,58	9,33	1,53
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,00	0,00	8,67	0,58	9,33	1,15
	<i>Escherichia coli</i>	0,00	0,00	8,00	1,00	8,00	0,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,00	0,00	9,00	0,00	9,67	0,58
	<i>Proteus merabilis</i>	0,00	0,00	10,33	1,15	10,67	0,58
	<i>Acinitobacter baumannii</i>	0,00	0,00	8,67	0,58	9,67	0,58
	<i>Candida albicans ATCC</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Aspergillus brasiliensis ATCC</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Effet antibactérien des témoins positifs et négatifs (zone d'inhibition en mm)			
Extraits Bacteries	Ciprofloxacine	Gentamicine	DMSO
<i>Escherichia coli ATCC</i>	35,00	28,00	0
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	30,00	25,00	0
<i>Bacillus subtilis ATCC</i>	35,00	37,00	0
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC</i>	40,00	30,00	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37,00	39,00	0
<i>Escherichia coli</i>	30,00	33,00	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	30,00	33,00	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21,00	20,00	0
<i>Proteus mirabilis</i>	27,00	28,00	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	32,00	28,00	0

Annexe 04

Photo du spectrophotomètre et des cuves en quartz (originale)



A: Spectrophotomètre (UV-1601) et cuve en verre, B: Cuve en quartz (originale).

Annexe 05

Préparation des milieux, (La préparation est faite selon les instructions figurant sur la boîte renfermant la poudre)



Étapes de préparation des milieux (Original)

A : flacons stérilisés, B : pesage de la poudre, C : autoclave

Annexe 06

Composition de différents milieux de culture utilisés.

Eau physiologique stérile :

Chlorure de sodium (NaCl).....	9g
Eau distillée.....	1000ml

Gélose nutritive (GN) : (en g /l d'eau distillée)

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	18g
PH 7,4	

Gélose Muller Hinton (MH) : (en g/l d'eau distillée)

Extrait de viande.....	2g
Hydrolysa de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g
Agar.....	10g

Annexe 07

Photo d'un flacon de disques de 6 mm de diamètre

