



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

ABDENNOUR CHAIMA & HAMANI RANIA FADOUA

*Thème*

**Etude de quelques activités biologiques des feuilles de *Cassia angustifolia Vahl***

Soutenu le: 03 / 07 /2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Benfodil Karima</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Bouteldja Razika</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Chirifi assia</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2022/2023

# Remerciement

*Nous commençons par remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.*

*Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à madame **BOUTHELDJA Razika**, qui nous a honorées de proposer et diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Nous étions satisfaits de votre bonne enseignante, merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; nous ne pouvons, madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.*

*Un grand merci à **MAIZ M. Yacine** et **Dr SALHI Omar** nous tenons également à leur exprimer notre gratitude pour leur disponibilité et surtout pour leurs judicieux conseils, Ces derniers qui ont contribué à alimenter notre réflexion et d'avoir accepté d'examiner ce travail. Un grand merci à Mme **Ben Foudile Karima** d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.*

*Nous remercions également les ingénieurs de labo de la Faculté ST/SM On cite Mme **HAMANI Siham**, Mme **Naima**, Mlle **Khalida**, qui ont mis tout en œuvre pour que notre stage se déroule dans les meilleures conditions possibles*

*Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles, amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail*

# Dédicaces

*A l'aide de Dieu, je réalise ce modeste travail que je dédie*

*Ma mère **Dahbia** , qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père **Boualem**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*A mes Sœurs Ikram et Zahra et à mon Frère Mohamed*

*À mon binôme et amie Rania, avec qui j'ai traversé tous les moments de stress et d'épuisement, mais aussi de joie contagieuse..*

*A mes cousines Nour El Houda, Maissa, Omaima , Nossaiba, Hind, Arwa.*

*A mes chères amies Randa, Yasmine, Asma, Fatima, Meriem, Rania, Je vous suis très reconnaissante pour les merveilleux moments que nous avons partagés ensemble. Que Dieu vous protège et vous comble de joie et de bonheur, et notre amitié reste éternelle.*

**Chaima**

# Dédicaces

A l'aide de Dieu, je réalise ce modeste travail que je dédie  
A mes chers parents et qui ont sacrifié leur vie pour  
Notre réussite. J'espère qu'un jour je pourrai leurs rendre un  
Peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête  
Bonheur et longue vie

A mes Sœurs Amel et Abir et à mes Frères Hsisen et Brahim  
Je vous souhaite tout ce qu'il y a de meilleur, je vous dédie ce travail  
avec mes  
Sincères remerciements.

A tous mes ONCLES ; TANTES ; COUSINS et COUSINES  
Que ce Travail soit témoignage mes sentiments les plus sincères et les  
plus affectueux.

Puisse dieu vous procurer bonheur et prospérité.

A mes très chers amis Meriem, Asmaa ,yasmine , Randa  
Merci pour les bons moments que nous avons passés ensemble. Que  
Dieu vous

Protège et vous procure joie et bonheur et que notre amitié reste à  
jamais.

A ma binôme Chaima et sa famille.

A tous ceux qui  
M'aiment. A tous ceux  
Que j'aime

***Rania***

## *Liste des abréviations*

- SFE            pressurized fluid extraction
- UAE            ultrasound assisted extraction
- MAE            microwave-Assisted Extraction
- DPPH          2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle
- PMAE          pressurized microwave-assisted extraction
- SFMAE        solvent-free microwave-assisted extraction
- FC              Folin–Ciocalteu
- EAG            Equivalent d'acide gallique
- E.COLI        Escherichia coli
- B.Cereus      Bacillus cereus
- AlCl<sub>3</sub>          Trichlorure d'aluminium
- IC<sub>50</sub>          Concentration inhibitrice à 50%.
- CMI            concentration minimale inhibitrice
- FDA            Food and Drug Administration

<b>Figure1.</b> <i>Cassia angustifolia</i> Vahl.....	3
<b>Figure2.</b> Les différentes parties aériennes de <i>C.angustifolia</i> .....	4
<b>Figure3.</b> Activité anti-oxydante des composés bioactifs des plantes <i>Senna</i> . Les molécules bioactives anti-oxydantes contenues dans les espèces de <i>Senna</i> neutralisent les radicaux libres en libérant des électrons .....	7
<b>Figure 4.</b> Les différentes classes des composés phénoliques .....	11
<b>Figure 5.</b> Structures chimique de base des flavonoïdes .....	12
<b>Figure 6.</b> L'acide gallique est l'unité structurale de base de tanins hydrolysables .....	13
<b>Figure 7.</b> Structures de base des Anthraquinones.....	14
<b>Figure8.</b> Méthodes d'extraction conventionnelles et modernes pour les polyphénols d'origine végétale .....	16
<b>Figure 9.</b> A) feuilles de <i>Senna makki</i> ; B) poudre de <i>Senna makki</i> .....	18
<b>Figure10.</b> Photographie des étapes de préparation d'extrait éthanolique .....	20
<b>Figure11.</b> Réaction du DPPH avec l'antioxydant .....	23
<b>Figure 12.</b> Image représentante l'activité antibactérienne .....	25
<b>Figure13.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	30
<b>Figure14.</b> Courbe d'étalonnage de la Quercétine .....	31
<b>Figure 15.</b> Histogramme de dosage des poly phénols et flavonoïdes totaux .....	32
<b>Figure16.</b> Profils de l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>C.angustifolia</i> .....	34
<b>Figure17.</b> Profils de l'activité antiradicalaire d'acide ascorbique des feuilles de <i>C.angustifolia</i> .....	35
<b>Figure 18.</b> Histogramme représentant les <b>IC50</b> pour l'extrait éthanolique de <i>C. angustifolia</i> Vahl par rapport à celle du standard antioxydant acide ascorbique .....	36
<b>Figure19.</b> Résultats de l'activité antibactérienne.....	38

---

<b>Tableau1.</b> Réactifs chimiques et appareillages.....	19
<b>Tableau2.</b> Rendement, aspect et couleur d'extrait du <i>c.angustifolia</i> .....	29
<b>Tableau3 :</b> Teneur en poly-phénols et en flavonoïdes d'extraits de <i>Cassia angustifolia Vahl</i> présenté avec le rendement obtenus.....	32
<b>Tableau4.</b> Résultats de l'activité anti-radicalaire obtenus pour les différents extraits des fleurs de <i>cassia angustifolia</i> .....	33
<b>Tableaux 5 :</b> diamètre de la zone d'inhibition (en mm) induits par les différentes concentrations en extraits testés sur les souches bactériennes .....	37

## Table des matières

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
Introduction .....	1
<b>Chapitre I: Généralité sur <i>Cassia angustifolia</i></b>	
I. Généralités sur <i>Cassia angustifolia</i> .....	3
I. 1. le séné ( <i>C. angustifolia</i> ) .....	3
I.2. Description botanique .....	4
I.3. Nom vernaculaire et synonymes de <i>Cassia angustifolia</i> .....	4
I.4. Classification systématique .....	5
I.5. Habitat et répartition géographique de <i>Cassia angustifolia</i> .....	5
I.6. Intérêt thérapeutique.....	6
I.7. Constituants chimique.....	6
I. 8. Activités biologiques de <i>Cassia angustifolia</i> .....	7
I.8.1 Activité anti-oxydante.....	7
I.8.1.1 Stress oxydatif.....	7
I.8.1.2 Radicaux libres .....	7
I.8.1.3 Les antioxydants.....	7
I.8.1 Activité antioxydante de <i>cassia angustifolia</i> .....	8
I.8.2 Activité antifongique .....	8
I.8.3 Activité anti microbienne .....	8
I.8.2 Activité parasitaire	
<b>Chapitre II: Métabolites secondaires</b>	
Introduction .....	10
Les composés phénoliques.....	10
acide phénolique.....	11
Flavonoïdes .....	11
Les tannins .....	12
Les alcaloïdes.....	13
Anthraquinones .....	13
Mode d'extraction des polyphénols .....	14
II. 7.1 Méthodes d'extraction conventionnelles .....	14
Extraction au soxhlet.....	14

Macération.....	15
II.7.1.1 Nouvelles méthodes d'extraction .....	15
Extraction par fluide à l'état supercritique .....	15
Extraction assistée par ultrasons(UAE) .....	15
Extraction assistée par micro-ondes (MAE).....	16

### **Chapitre III: Matériel et méthodes**

Matériel et méthode .....	18
Matériel biologique.....	18
Matériel non biologique.....	19
réactifs chimiques et appareillages.....	19
Méthodes.....	19
Extraction des polyphénols.....	19
Extraction par macération.....	19
Rendement d'extraction .....	21
dosage des poly phénols totaux.....	21
dosage des flavonoïdes.....	22
Evaluation des activités biologiques in vitro.....	22
Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	22
Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des puits.....	24

### **Chapitre IV: Résultats et discussions**

Résultat de calcul du Rendement d'extraction .....	29
Détermination de la teneur en polyphénols totaux .....	29
Détermination de la teneur en flavonoïde.....	31
Evaluation des activités biologiques in vitro.....	32
Evaluation de l'activité antioxydante.....	32
test au DPPH.....	33
calculs d'IC50.....	34
Résultat de l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	36
Conclusion.....	47
Perspective .....	48

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

### **Résumé**

*Introduction*  
*Générale*

## Introduction

La phytothérapie, une pratique ancienne datant de plusieurs siècles, repose sur l'utilisation des plantes comme remèdes. Les ont constamment été une source traditionnelle de traitements, qu'elles se présentent sous forme de préparations traditionnelles ou de composés actifs purs. Il est fréquent de découvrir des plantes d'intérêt potentiel dans un pays, qui ont été étudiées scientifiquement ailleurs. Les produits naturels sont régulièrement explorés en vue de leur potentiel dans la recherche de nouveaux composés actifs pour lutter contre diverses maladies. **(Farnsworth et al., 1986 ; Sebaihi, 2010).**

Cela pose le contexte de notre étude, met en évidence l'importance de la recherche sur les plantes médicinales, souligne l'intérêt de *Cassia angustifolia* et mentionne la lacune de connaissances actuelles sur ses mécanismes d'action.

En dépit des avancées de la médecine moderne, les traditions ancestrales continuent de persister en Afrique, où plus de 80% de la population préfère recourir à la médecine traditionnelle pour ses soins de santé. Cette persistance peut s'expliquer par plusieurs facteurs. D'une part, la médecine traditionnelle reste facilement accessible et disponible dans les pays en développement, contrairement aux médicaments modernes qui peuvent être coûteux et engendrer des effets secondaires néfastes. D'autre part, cette préférence découle également de la confiance accordée à la médecine traditionnelle, basée sur des pratiques ancrées dans la culture et transmises de génération en génération. Ces observations légitiment les initiatives en cours visant à développer la médecine traditionnelle et à l'intégrer aux systèmes de santé nationaux modernes. **(Biyiti et al., 2012).**

L'extrait d'herbe entière contient plusieurs ingrédients. Ces ingrédients agissent ensemble pour créer un effet thérapeutique tout en réduisant le risque d'effets secondaires d'un seul médicament. Plusieurs herbes sont souvent utilisées ensemble pour améliorer l'efficacité, les effets synergiques et réduire la toxicité. **(Chhetri et al., 2010)**

La plante, *Cassia angustifolia* Vahl, plus communément appelé Tinnevelly senna ou séné, est un membre de la famille des fabacées et est largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme laxatif. Elle est généralement recommandée pour traiter la constipation aiguë sur une période courte allant de 1 à 2 semaines, ainsi que pour le nettoyage de l'intestin avant une endoscopie diagnostique. **(Shazia Sultana, 2012).**

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne de certains extraits de la plante *C. angustifolia* en vue de déterminer la teneur en métabolites secondaires.

Notre travail est organisé comme suit :

- Une partie bibliographique composée de deux chapitres : le premier aborde les généralités sur la plante, tandis que le second traite des métabolites secondaires.
- Une partie expérimentale qui décrit la méthodologie, les résultats et la discussion.

Chapitre I  
Généralité sur *cassia*  
*angustifolia*

### I. 1. Le séné (*C. angustifolia*)

Le genre *Cassia* compte environ 580 espèces qui incluent des herbes, des arbustes, ainsi que des arbres. Un grand nombre de ces espèces sont utilisées à des fins médicinales, tandis que d'autres sont appréciées pour leur valeur ornementale. Parmi ces espèces, on trouve *Cassia angustifolia* Vahl., couramment appelé séné, qui est un petit arbuste vivace avec une stature érigée. (Trease et Evans, 1983).

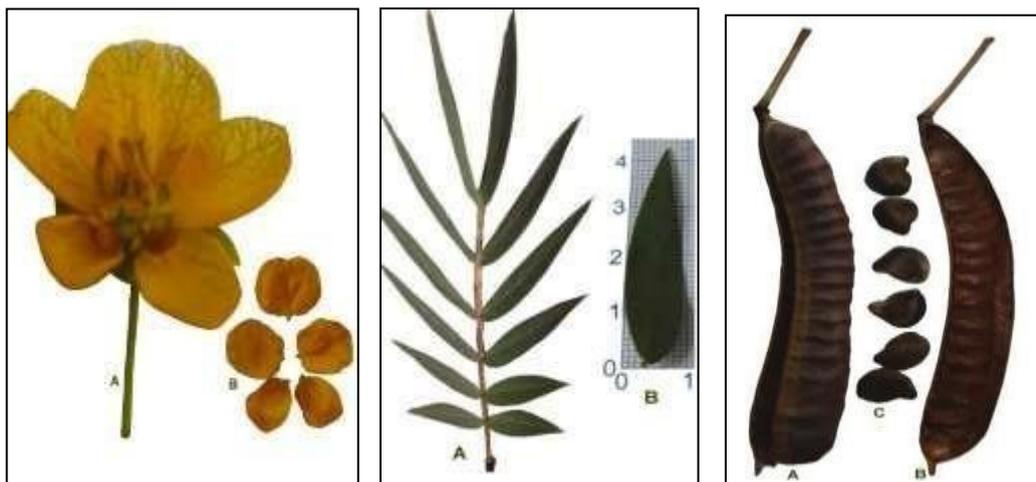
Le séné (*Cassia angustifolia*), une plante originaire du Yémen, de Somalie et d'Arabie saoudite, est désormais cultivé dans différentes régions du monde. Il est largement utilisé dans la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés bien connues. Principalement reconnu pour son effet cathartique, le séné est un remède précieux contre la constipation chronique. Les feuilles et les gousses de séné renferment des principes actifs, notamment les sennosides A et B, qui sont responsables de son effet laxatif. Ces composés sont des ingrédients essentiels utilisés dans la formulation de médicaments purgatifs. (Tripathi, 1999).



Figure 1. *Cassia angustifolia* Vahl (Peter et al., 2012).

### I. 2. Description botanique

*Cassia angustifolia* est un arbuste buissonnant appartenant à la famille des Caesalpinioideae (Fabaceae). Il a une petite taille, atteignant environ 1,5 mètre de hauteur, avec une tige et des branches dressées de couleur pâle. Ses feuilles sont composées, ovales, mesurant entre 2,5 et 6 cm de long sur 8 mm de large, arrangées en 3 à 7 paires. Elles peuvent être étroites ou arrondies, et ont une couleur allant du vert pâle au vert jaunâtre. Les fleurs de *Cassia angustifolia* sont d'un jaune vif et présentent une forme caractéristique. Elles dégagent une légère odeur rappelant celle du tabac. Une fleur typique se compose de cinq sépales similaires et de pétales. (voir figure 2) (Shazia et al., 2012).



**Figure2.** Les différentes parties aériennes de *Cassia angustifolia* (Săvulescu et al., 2018).

### I. 3. Nom vernaculaire et synonymes de *Cassia angustifolia* :

La plante *Cassia angustifolia* Vahl est identifiée sous différents noms, notamment Senna et **Sanna Makki** (السنا المكّي) en arabe. En anglais, elle est également désignée sous les appellations **Tinnevelly Senna** et Indian Senna (Sultana et al., 2012).

### I.5. Classification systématique

D'après **Kistamma et Venkateshwar(2018)** La classification de *Cassia angustifolia* est établie dans le tableau suivant :

<b>Nom botanique :</b>	<i>Cassia angustifolia</i>
<b>Embranchement:</b>	Plantae
<b>Sous-embranchement:</b>	Tracheobionata
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe:</b>	Mabnoliopsida
<b>Sous-classe:</b>	Rosidae
<b>Ordre:</b>	Fabales
<b>Famille:</b>	Caesalpinaceae
<b>Genre:</b>	<i>Cassia</i>
<b>Espèce:</b>	<i>Angustifolia</i>

### I. 5. Habitat et répartition géographique de *Cassia angustifolia*

Au début du premier siècle, *Cassia angustifolia*, également connue sous le nom de Senna arabe, était une plante sauvage abondante dans les provinces du Yémen et de Hadramaout en Arabie du Sud (Abulafatih, 1987 ; Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993). On la trouvait également sur la côte opposée en Somalie et dans la région du Punjab au Pakistan. Il est important de noter que le nom de séné Alexandrina fait en réalité référence à une autre plante (Gupta, 1974).

C'est grâce aux commerçants et aux médecins arabes que *Cassia angustifolia* a été introduite dans le sud de l'Inde au début du premier siècle. Elle était principalement cultivée dans les régions arides de l'État du Tamil Nadu (Pandse et al., 1974).

La plante pouvait facilement être cultivée dans les régions arides et semi-arides du Gujarat et des États du Rajasthan (Bentley et Trimen, 1992). De nos jours, elle est également cultivée avec succès dans des pays d'Asie du Sud-Est, d'Afrique du Nord et d'Europe occidentale (Husain, 1992).

### I. 6. Intérêt thérapeutique

La plante *Cassia angustifolia*, également connue sous le nom de Senna Makki, possède une valeur médicinale mentionnée dans les Hadiths. Ce remède est disponible sans ordonnance et est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis. Il est couramment utilisé pour traiter diverses affections, notamment la perte de poids, les troubles digestifs tels que la constipation chronique, les hémorroïdes et le syndrome du côlon irritable. De plus, il est utilisé dans le traitement de maladies telles que la dépression, l'asthme, l'eczéma et d'autres affections dermatologiques. Senna Makki est principalement utilisé pour traiter la constipation chronique en raison de ses puissantes propriétés laxatives (Kumar et al., 2020).

Les composés phytochimiques actifs qui présentent des activités antivirales peuvent être utilisés potentiellement pour le traitement des infections respiratoires et d'autres maladies virales contagieuses, telles que la COVID-19 (Naureen et al., 2022).

### I. 7. Les constituants chimiques

Le séné est une plante qui contient une variété de molécules bioactives et est couramment utilisée en médecine traditionnelle. Elle renferme plus de 3% de glycosides d'anthrone tels que les Sennosides A, A1 et B, ainsi que de faibles quantités de glycosides d'anthraquinone, notamment le rhein-8-glycoside et le rhein-8-sophroside. De plus, elle contient environ 2 à 3% de mucilage et 0,05% d'huiles essentielles (Czygan et al., 2004). Les métabolites secondaires tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les coumarines sont présents de manière inégale dans les différentes parties de la plante, comme les feuilles et les fruits (Elansary, 2018).

## I. 8. Activités biologiques de *Cassia angustifolia*

### I.8.1. Activité anti-oxydante

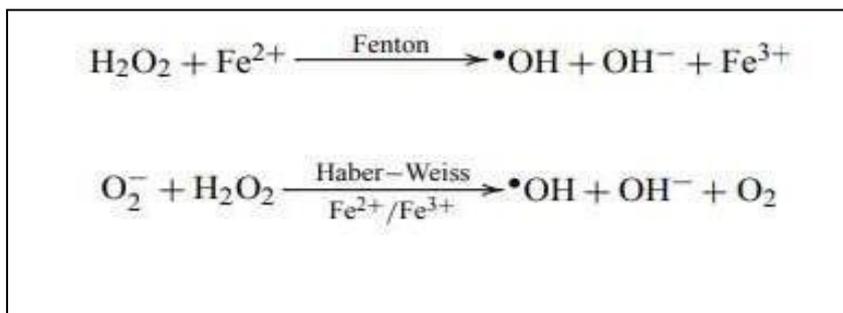
#### I.8.1.1 Stress oxydatif

##### Définition

Le stress oxydatif se caractérise par un déséquilibre entre la capacité de neutralisation et la production d'espèces réactives de l'oxygène, ce qui entraîne des dommages oxydatifs pouvant altérer les récepteurs, les lipides et les enzymes, et conduire à la dégradation des membranes cellulaires et des protéines, ainsi qu'à des mutations (Sergent et al., 2001).

#### I.8.1.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules qui contiennent au moins un électron dans une orbite externe et qui interagissent avec les molécules environnantes pour rétablir l'équilibre électronique. ce qui leur confère une réactivité et une toxicité extrêmes. Parmi les radicaux libres, on trouve notamment les radicaux OH (dont la durée de vie est limitée à quelques nanosecondes). Les réactions de Fenton et Haber-Weiss impliquent l'interaction de ces radicaux avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub>, et elles sont catalysées par le fer (Sergent et al., 2001).

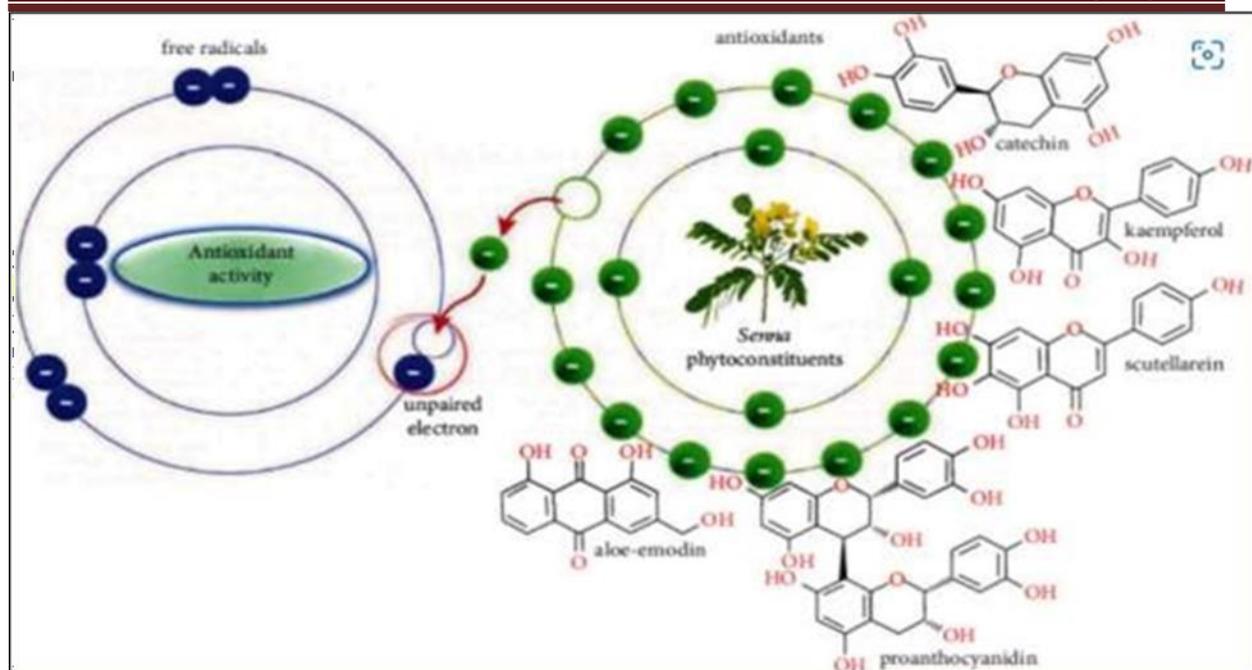


#### I.8.1.3 Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques présents à la fois dans les aliments et dans le corps humain. Ils jouent un rôle essentiel dans la protection des cellules en prévenant les dommages causés par l'oxydation, qui résultent de la formation de radicaux libres (Defraigne & Pincemail, 2008). Ces substances sont indispensables pour contrer les effets néfastes de la destruction oxydative sur les cellules.

### I.8.1. Activité anti-oxydante

Diverses études menées sur *Cassia angustifolia* ont révélé que les extraits de cette plante possèdent des propriétés antioxydantes en neutralisant les radicaux libres (voir Figure 3). Les polyphénols présents dans les plantes de séné ont démontré une activité antioxydante. Des recherches ont été réalisées sur la teneur en antioxydants et en polyphénols totaux du séné (Alshehri et al., 2022).



**Figure3.** Activité anti-oxydante des composés bioactifs des plantes *Senna*. Les molécules bioactives anti-oxydantes contenues dans les espèces de *Senna* neutralisent les radicaux libres en Libérant des électrons. (Alshehri et al., 2022)

### I.8.2 Activité antifongique

Le séné est couramment utilisé pour lutter contre les maladies fongiques telles que la candidose et les infections causées par de minuscules champignons. Ces infections ont connu une augmentation significative ces dernières années, principalement en raison de l'utilisation accrue de médicaments tels que les antibiotiques, les corticoïdes et les immunosuppresseurs. Les antibiotiques sont prescrits pour inhiber la croissance des bactéries et d'autres micro-organismes, tandis que les corticoïdes et les immunosuppresseurs affaiblissent le corps et la réponse immunitaire, augmentant ainsi le risque d'infections opportunistes (Akkouche et al., 2021).

Selon la localisation et la gravité de l'infection à levures, des médicaments antifongiques sont utilisés sous forme topique tels que des poudres, des crèmes ou des gels, ou par voie systémique sous forme de comprimés, d'ovules ou de perfusions intraveineuses. Le rôle de ces agents antifongiques est d'inhiber ou de tuer les champignons responsables de l'infection (Akkouche et al., 2021).

### **I.8.3 Activité anti microbienne**

Les propriétés antibactériennes de *cassia angustifolia* dans des expériences scientifiques ont déjà été mentionnées dans diverses études portant spécifiquement sur son activité antibactérienne. Les extraits de *cassia angustifolia* ont été étudiés à l'aide de diverses techniques microbiologiques et ont démontré leur efficacité contre les micro-organismes testés (**Brady., 2012**).

Plusieurs études ont démontré les propriétés antibactériennes des extraits de *cassia angustifolia* contre diverses souches bactériennes. L'extrait éthanolique d'ortie présente une activité antibactérienne importante contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, quelle que soit sa concentration. Dans des études antérieures menées sur neuf bactéries (*Citrobacter coseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*), des extraits éthanoliques de parties aériennes inhibaient en fait la croissance de ces bactéries. A l'exception de certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* (**Brady., 2012**).

### **I.8.4 Activité antiparasitaire**

Plusieurs études ont démontré des activités anti-protozoaires et scolicides contre *Echinococcus granulosus* et *Echinococcus multilocularis*, responsables respectivement de l'échinococcose kystique et de l'échinococcose alvéolaire. Ces maladies peuvent être contractées par les humains par l'ingestion d'aliments et d'eau contaminés par des œufs infectieux présents dans les selles des chiens hébergeant les vers adultes du ténia (**Baqer et al., 2014**).

*Chapitre II :*  
*Métabolites*  
*Secondaires*

## II.1. Introduction

Les plantes produisent des composés phénoliques, communément appelés polyphénols, dans leur métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions de leur environnement (**Gee et Johnson, 2001**). Une des caractéristiques remarquables d'une certaine sous-catégorie de flavonoïdes est leur capacité à colorer les fruits, les fleurs et les feuilles (**El Gharras, 2009**). Ces composés phénoliques remplissent ainsi une fonction essentielle dans la protection des plantes.

De nombreuses recherches ont démontré les bienfaits de la consommation de polyphénols sur la santé. En effet, il a été suggéré que ces composés pourraient jouer un rôle préventif contre différentes maladies telles que le cancer (**Brown et al., 1998**), les maladies dégénératives et cardiovasculaires (**Paganga et al., 1999**). Les autorités de santé publique recommandent donc la consommation d'aliments d'origine végétale riches en polyphénols. Parmi les antioxydants végétaux, les composés phénoliques semblent être parmi les plus efficaces pour protéger l'organisme (**Gee et Johnson, 2001**). Une méthode largement utilisée pour classer les composés phénoliques est basée sur le nombre d'atomes de carbone présents dans leur structure de base (**Dacosta, 2003**).

## II.2. Les composés phénoliques

Il existe une vaste gamme de polyphénols, comprenant plus de 8000 composés naturels, qui se répartissent en différentes catégories. Les flavonoïdes constituent la plus grande catégorie, représentant plus de la moitié des polyphénols. Les tanins sont formés par la polymérisation des flavonoïdes. Les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes de polyphénols sont également présents en nombre significatif (**Dacosta, 2003**).

Les composés phénoliques sont définis par la présence d'au moins un noyau benzénique lié directement à un ou plusieurs groupes hydroxyle, ainsi que d'autres groupes fonctionnels tels que des esters, des esters de méthyle, des glycosides, etc. (**Salunkhe, 1990 ; Bruneton, 1999**).

Les polyphénols naturels comprennent une variété de molécules, allant des acides phénoliques simples aux composés hautement polymérisés comme les tanins. Il existe plusieurs classes de polyphénols, parmi lesquelles figurent les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou les phytostanols. Parmi celles-ci, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins jouent un rôle particulièrement important

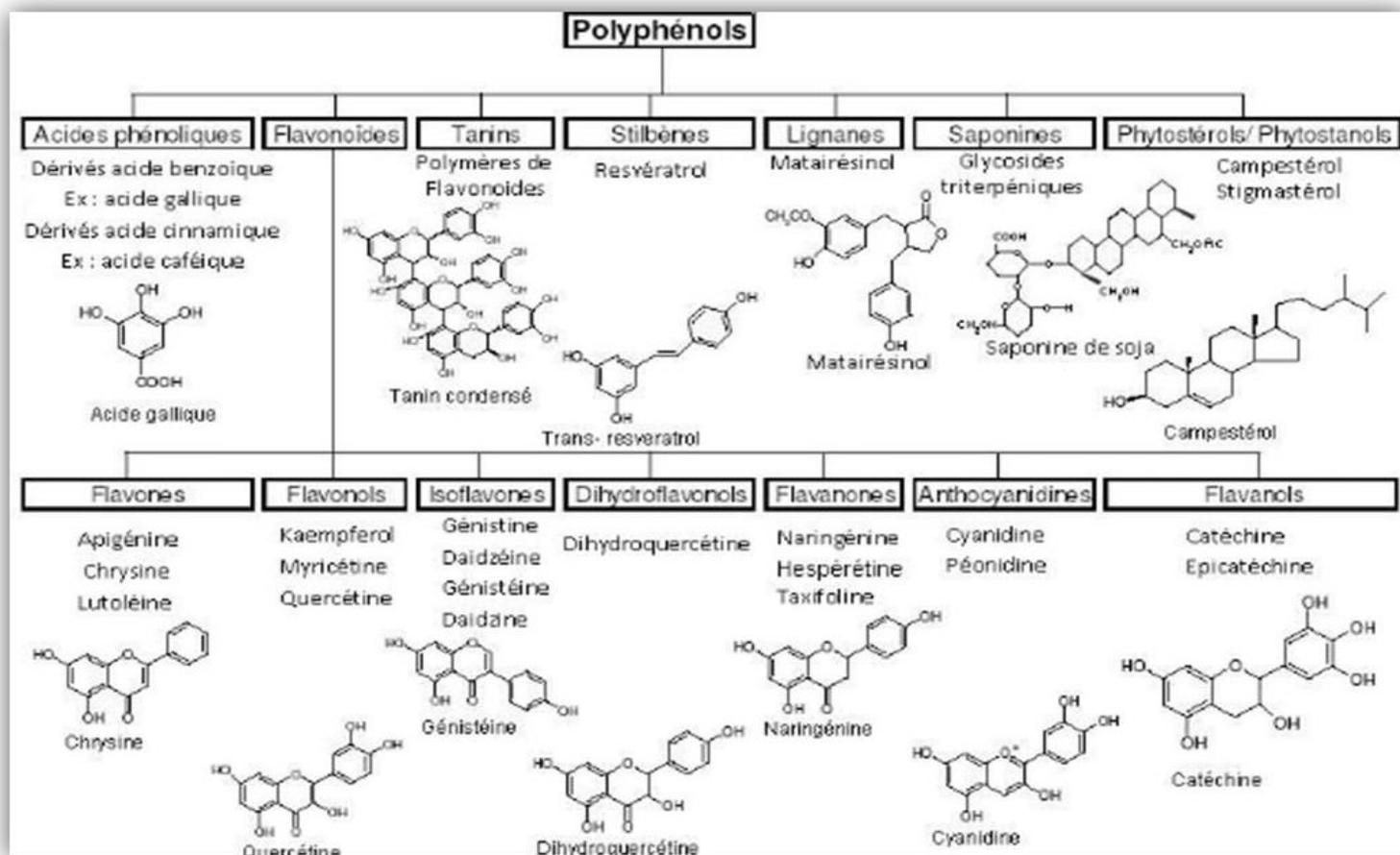


Figure 4. Les différentes classes des composés phénoliques (Gharbi., 2022)

### II.2.1 Les acides phénoliques

Les plantes agricoles et médicinales renferment une diversité d'acides phénoliques (Psotová et al., 2003). Ces acides sont caractérisés par un squelette composé de sept atomes de carbone. Dans la variété de datte Deglet Nour, on observe principalement la présence d'acide gallique, généralement lié à l'épicatéchine par une liaison ester (Singleton et Timbreuse, 1978).

### II.2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments présents dans presque tous les végétaux (Jean, 2009). Ils représentent le groupe le plus important et le plus varié des composés phytochimiques dans les plantes, jouant un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions, telles que les interactions pigmentaires avec les agents pathogènes, la fertilité et la protection contre les rayons UV (Watson, 2014).

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base constitué de deux anneaux aromatiques à six atomes de carbone (anneaux A et B), reliés par un hétérocycle comprenant trois atomes de carbone (anneau C) (C6-C3-C6) (figure 5) (Watson, 2014).

Les variations de la structure de l'hétérocycle central permettent de classer les flavonoïdes en différentes catégories structurales, telles que les flavones, les flavonols (comme la quercétine), les flavanones, les isoflavonoïdes, les anthocyanes (comme la cyanidine), les flavanols, également connus sous le nom de flavan-3-ols (comme la catéchine et l'épicatéchine), comprenant des monomères, des oligomères (proanthocyanidines) et des polymères appelés tanins condensés, ainsi que les chalconoïdes, les dihydrochalcones et les aures (figure 5).

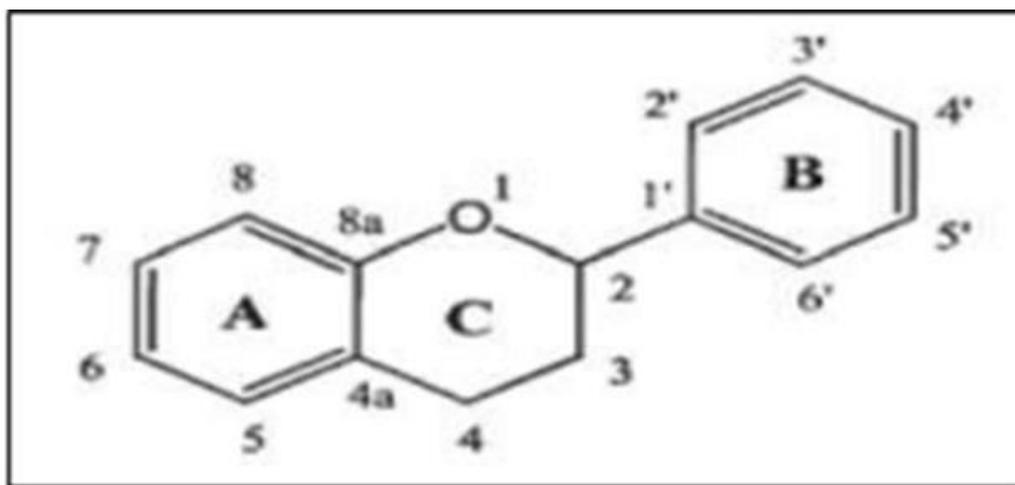


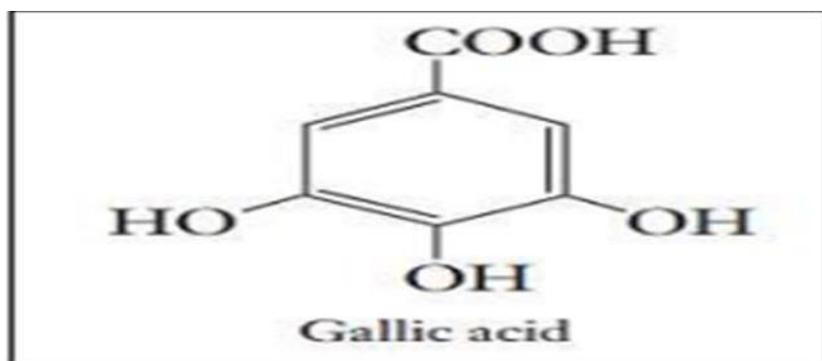
Figure 5. Structure chimique de base des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993).

### II.2.3. Les tanins

Le terme "tanin" trouve son origine dans la pratique historique de l'utilisation d'extraits de plantes pour le processus de "tannage" des peaux animales, qui consiste à les transformer en cuir. Ces extraits contiennent un mélange complexe de dérivés phénoliques qui se lient aux protéines, provoquant leur dénaturation (Hopkins & Hüner, 2008).

Les tannins revêtent une grande importance économique et écologique, et sont responsables de l'astringence présente dans de nombreux fruits, légumes et produits dérivés tels que le vin, le thé, la bière, provoquant une sensation puissante et parfois désagréable en bouche (Macheix et al., 2005).

De plus, les tanins ont tendance à réduire l'efficacité de l'utilisation des aliments, limitant ainsi la croissance et la survie des organismes. Selon l'interprétation conventionnelle, les tanins diminuent la digestibilité des protéines alimentaires en se liant probablement à des protéines dans l'intestin (Hopkins & Hüner, 2008).



**Figure 6.** L'acide gallique est l'unité structurale de base de tanins hydrolysables (Gharbi., 2022).

#### II.2.4 Les alcaloïdes

D'un point de vue biologique, les alcaloïdes sont considérés comme des produits naturels purs et parfaits. Ils sont des composés chimiques biologiquement actifs, hétérocycliques, contenant de l'azote, et peuvent présenter une certaine activité pharmacologique ainsi qu'une utilisation médicinale ou écologique dans de nombreux cas. Bien que cette définition, qui repose sur l'application, puisse être critiquée pour son manque de précision, elle offre un aperçu général des types de composés étudiés. En raison de la nature biologique et chimique de ce groupe de composés, chaque définition d'alcaloïdes est soit trop large, soit trop étroite, et une définition concise et précise n'est pas possible sans une longue liste d'exceptions (Aniszewski, 2007).

Les aspects les plus importants pour le biologiste sont que les alcaloïdes constituent un groupe spécial de produits chimiques qui sont actifs à divers niveaux cellulaires des organismes, et qu'ils participent aux processus biologiques des plantes, des animaux et des micro-organismes (Aniszewski, 2007).

#### II.2.5 Les anthraquinones

Les constituants aromatiques trouvés dans *Cassia angustifolia*, comme l'anthraquinone, ainsi que dans la rhubarbe d'ornement (*Rheum palmatum*), sont réputés pour induire des contractions des muscles de la paroi du gros intestin, ce qui leur confère une propriété fortement laxative (Hans et Kothe, 2010).

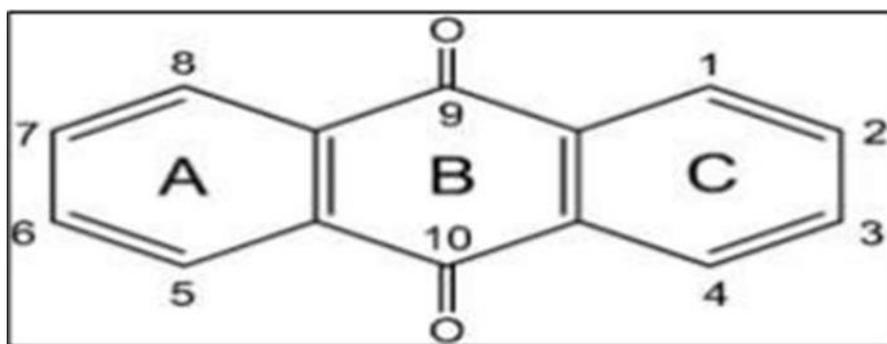


Figure7. Structures de base des Anthraquinones (Marref, 2019)

### II.3. Mode d'extraction des poly- phénols

Différentes techniques d'extraction du polyphénol ont été rapportées, y compris l'extraction par micro-ondes, l'extraction par ultrasons, l'extraction par Soxhlet et l'extraction par reflux thermique, selon une étude réalisée par **Rajbhar et al. (2014)**.

#### II.3.1 Méthodes d'extraction conventionnelles

Les méthodes traditionnelles utilisées pour l'extraction des échantillons solides reposent sur l'extraction solide-liquide en utilisant différents solvants. L'extraction solvant d'échantillons solides, également connue sous le nom de "lixiviation" ou "extraction par solvant", est une technique ancienne de préparation d'échantillons solides. Cette méthode est utilisée pour éliminer et séparer les composés d'intérêt des fractions insolubles de poids moléculaire élevé, ainsi que d'autres composés pouvant perturber les étapes ultérieures du processus d'analyse. (**Luque de Castro & Priego-Capote, 2010**).

##### II.3.1.1 Extraction au soxhlet

L'invention de l'extracteur Soxhlet remonte à 1879 et est attribuée à Franz von Soxhlet. Ce dispositif est largement utilisé en chimie pour séparer les espèces peu solubles des matrices solides. L'efficacité de l'extraction Soxhlet dépend des propriétés de la matrice et de la taille des particules, car la diffusion interne peut être un facteur limitant lors du processus d'extraction. L'extraction traditionnelle par Soxhlet présente plusieurs avantages intéressants (**Oreopoulou et al., 2019**).

L'extraction Soxhlet présente des avantages tels qu'une durée d'extraction plus courte et une consommation de solvant réduite par rapport aux méthodes de percolation et de macération. Cependant, il est important de manipuler soigneusement le processus d'extraction par Soxhlet en raison de l'impact négatif de la chaleur excessive sur les polyphénols thermolabiles. Un autre avantage de cette méthode d'extraction est sa commodité (**Alara et al., 2021**).

### II.3.1.2 Macération

La macération est devenue une technique largement adoptée en raison de sa simplicité et de son coût abordable pour l'extraction de composés phénoliques. De manière traditionnelle, cette méthode implique la sélection soigneuse de solvants et l'application de chaleur et/ou d'agitation pour accroître la solubilité des composés et encourager le transfert de masse (**Luque de Castro & Priego-Capote, 2010**).

Il est essentiel que les solvants utilisés possèdent des propriétés appropriées telles que le coefficient de distribution, la sélectivité, la solvabilité, la récupérabilité, la densité, la tension interfaciale et la réactivité chimique (**Oreopoulou et al., 2019**).

### II.3.1.1 Nouvelles méthodes d'extraction

#### II.3.2.1 Extraction par fluide à l'état supercritique

La méthode d'extraction par fluide supercritique, connue sous le nom de SFE, se caractérise par l'emploi de solvants dans un état supercritique. Dans cet état, le solvant se trouve dans une phase intermédiaire entre liquide et gaz en raison des conditions de température et de pression spécifiques. Cette transition d'état confère au solvant des propriétés physico-chimiques distinctes, notamment une capacité de solvation augmentée, comme l'ont souligné (**Nadjib & Amine, 2019**).

Bien que divers solvants puissent être employés en pratique, près de 90% des extractions par SFE utilisent du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), principalement pour des raisons pratiques. Le CO<sub>2</sub> présente de multiples avantages, tels que sa facilité d'obtention grâce à ses pressions et températures critiques relativement modestes, sa relative innocuité, sa disponibilité en haute pureté à un coût modéré, ainsi que sa facilité d'élimination de l'extrait, comme mentionné par (**Nadjib & Amine, 2019**).

La SFE est considérée comme une technique "verte" car elle nécessite peu ou pas de solvants organiques, et elle présente l'avantage d'être beaucoup plus rapide que les méthodes traditionnelles d'extraction (**Nadjib & Amine, 2019**).

#### II.3.2.2 Extraction assistée par ultrasons (UAE)

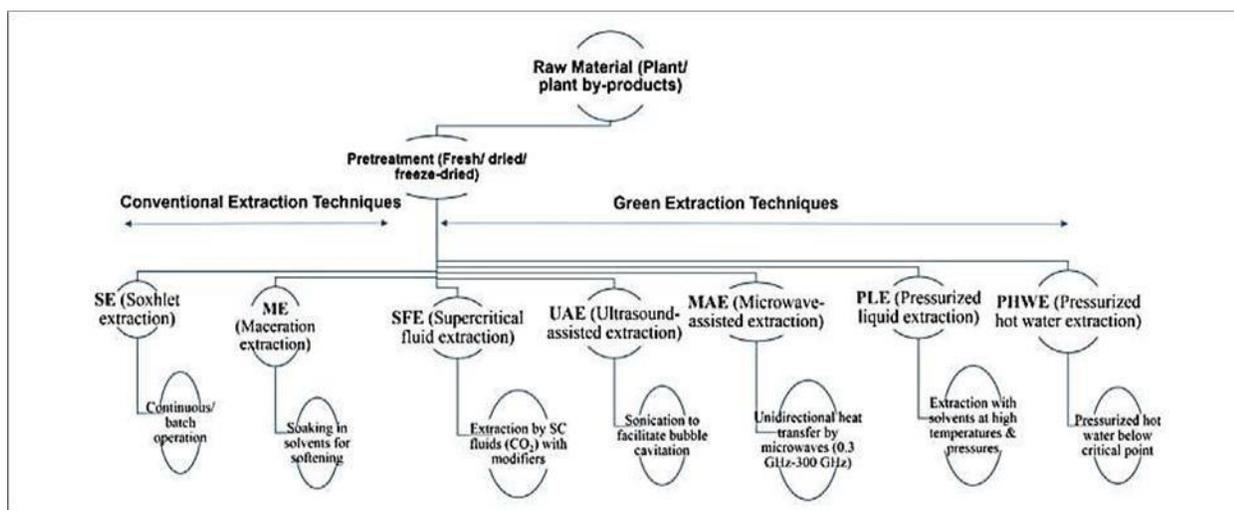
L'extraction assistée par ultrasons tire parti de l'énergie ultrasonique de haute intensité générée par l'implosion des bulles de cavitation. L'effondrement de ces bulles produit des effets physiques, chimiques et mécaniques, ce qui perturbe les membranes biologiques, facilite la pénétration du solvant dans la matrice de l'échantillon et augmente la surface de contact entre les phases solide et liquide. Cela favorise le transfert des composés extractibles dans le solvant d'extraction (**Watson, 2014**).

Récemment, l'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été largement utilisée pour extraire divers composés phénoliques présents dans différentes parties des plantes, telles que les feuilles, les tiges, les fruits et les graines (**Dai & Mumper, 2010**). Cette méthode d'extraction ultrasonique représente une alternative simple, respectueuse de l'environnement et efficace par rapport aux techniques d'extraction conventionnelles. Les principaux avantages de cette méthode sont sa facilité d'utilisation et ses faibles exigences en termes d'équipement. Les dispositifs à ultrasons comprennent un bain à ultrasons, principalement utilisé pour les extractions à petite échelle, et un système de sonde à ultrasons, adapté aux extractions industrielles à grande échelle (**Watson, 2014**).

### ***II.3.2.3 Extraction assistée par micro-ondes (MAE)***

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) est un processus qui utilise l'énergie des micro-ondes pour faciliter la séparation des analytes de la matrice de l'échantillon dans le solvant (**Dai & Mumper, 2010**).

L'utilisation de la MAE dans l'extraction de produits naturels a débuté à la fin des années 80, et grâce aux avancées technologiques, elle est devenue l'une des méthodes d'extraction les plus populaires et efficaces. Elle offre maintenant plusieurs instruments et méthodologies avancés, tels que l'extraction assistée par micro-ondes sous pression (PMAE) et l'extraction assistée par micro-ondes sans solvant (SFMAE). Cette méthode permet d'extraire plusieurs échantillons de manière quantitative en quelques minutes, avec une meilleure reproductibilité et une consommation de solvant réduite (**Rajbhar et al., 2014**).



**Figure 8.** Méthodes d'extraction conventionnelles et modernes pour les polyphénols d'origine végétale. (Ameer et al., 2017)

*Chapitre III :*

*Partie Expérimentale*

### III.1. Matériel

#### II.1.1 Matériel biologique

- **Matériel végétale**

Les feuilles de *Cassia angustifolia* ont été acquises auprès d'un herboriste localisé dans la région de Bouira (Figure 9.A). Après avoir été nettoyées et débarrassées des impuretés, les feuilles sont réduites en une fine poudre à l'aide d'un moulin électrique (Figure 9.B). Cette poudre est ensuite stockée dans un récipient hermétique pour prévenir toute détérioration due à l'humidité.



**Figure 9.** A) feuilles de *Senna makki* (photo originale 2023) B) poudre de *Senna makki*. (Photo originale 2023).

**Remarque :** Nous avons choisi les feuilles de séné au lieu de graines et de fruits parce que, grâce à des études antérieures et aux données disponibles, il a été constaté que les feuilles sont la partie la plus efficace de la plante, qui contient des concentrations plus élevées de composés biologiquement actifs que les fleurs et les graines.

- **Souches microbiennes utilisées**

Les souches utilisées pour le présent travail ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie de SNV/ST.

Les souches bactériennes qui ont été testés pour évaluer l'activité antibactériennes de *Cassia angustifolia* sont les suivants :

- *Bacillus cereus* : bactéries Gram+ ;

- *Escherichia coli* : bactéries Gram–
- *Klebsiella pneumoniae* : bactéries Gram\_ ;
- *Pseudomonas sp* : bactéries Gram\_

L'objectif de cette étude était de mettre en évidence l'intérêt médical du Séné en évaluant son activité sur des souches pathogènes pour l'homme. Tous les microorganismes sélectionnés pour cette étude sont connus pour avoir des effets néfastes dans les domaines de la biologie, de l'agroalimentaire et de la cosmétique.

**Matériel et méthode****III.1.2 Matériel non biologique****Réactifs chimiques et appareillages:****Tableau1.**Réactifs chimiques et appareillages

<b>Appareils :</b>	<b>Réactifs :</b>
Agitateur magnétique	Ethanol ; méthanol
Autoclave	Quercétine
Balance de précision(OHAUS)	DPPH (2,2-diphényl-1-piclylhydrazyl)
Vortex (VELP SCIENTIFICA)	Trichlorure d'aluminium (ALCL 3)
Bain-marie(memmert)	Acide gallique
Ultrason (SELECTA)	Acide ascorbique
Evaporateur rotatif (Hheidolph 8873)	Folin–Ciocalteu(FC)
Etuve (memmert)	Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
Plaque chauffante	Hydroxyde de sodium(NaOH)
PH mètre(OHAUS)	Hydroxydede potassium(KOH)
Spectrophotomètre UV-visible (LAB Alpha)	

**III.2. Méthodes****III.2.1 Extraction des poly-phénols**

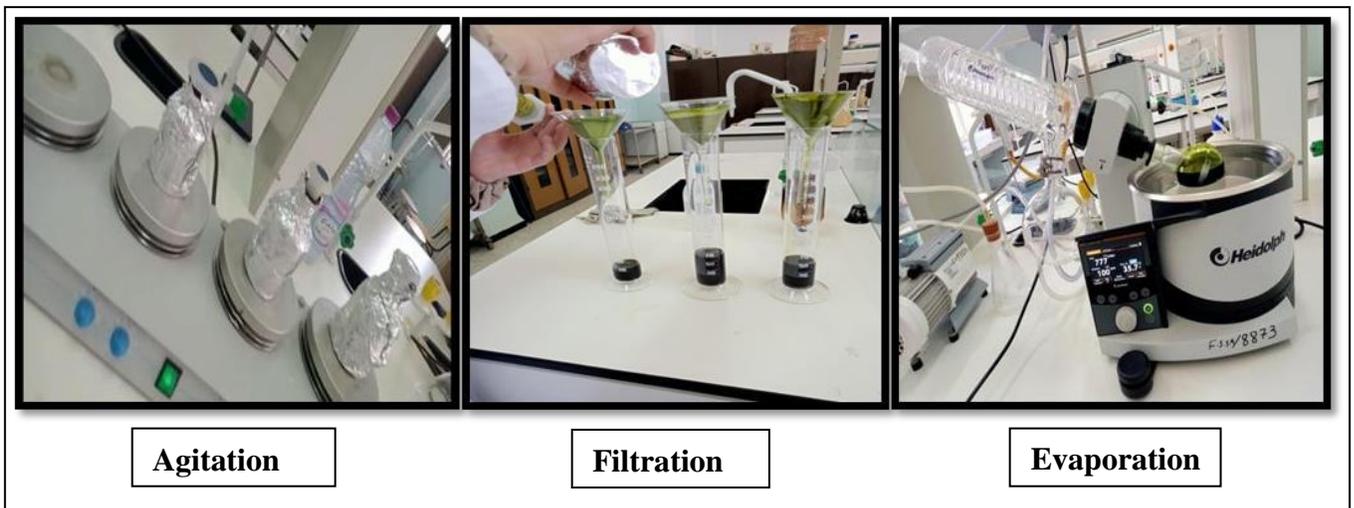
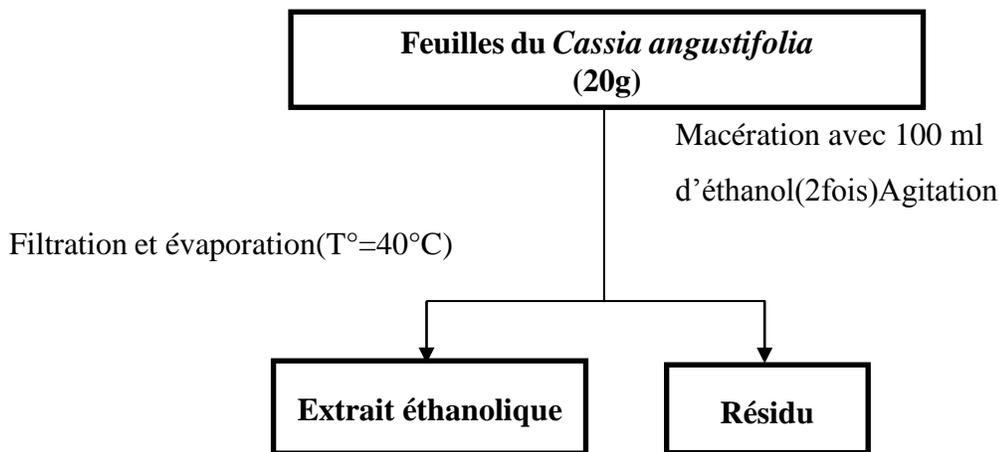
Elle est réalisée via trois méthodes distinctes : macération, Soxhlet, reflux.

**III.2.1.1 Extraction par macération (On a utilisé l'éthanol et le méthanol)**

Cette méthode d'extraction a été mise en œuvre en suivant le protocole élaboré par ( Ouedraogo et al., 2015), avec quelques ajustements apportés :

Une prise d'essai de 20g de la poudre sèche des feuilles de *C. Angustifolia* a été macérée avec 100 ml d'éthanol/ méthanol à 70 % (70/30 : v/v) et eau, sous agitation magnétique continue pendant 72 heures et à température ambiante. Une filtration du macérât est ensuite réalisée. L'extraction a été répétée jusqu'à épuisement (2fois) pour extraire le maximum de substances.

Le filtrat est alors évaporé à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor) puis porté dans l'étuve à 40°C pour donner un extrait brut de macération.



**Figure 10.** Photographie des étapes de préparation d'extrait éthanologique (photos originaux 2023)

### III.2.1.2. Rendement d'extraction

Le rendement (%) des extraits séchés évaporés a été calculé selon la formule : (Mahmoudietal. 2013)

$$R(\%) = \frac{P_{\text{ext}}}{P_{\text{éch}}} \times 100$$

Où :

$P_{\text{ext}}$  est le poids de l'extrait après évaporation du solvant,

$P_{\text{éch}}$  est le poids sec de l'échantillon végétal (Poudre initiale).

### III.2.2.1. Dosage des poly-phénols totaux

- Principe de dosage

- Mode opératoire

Les poly-phénols ont été évalués par spectrophotométrie par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et al. 1999), qui est un réactif jaune composé d'acide phosphotungstique ( $WO_4$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $MoO_4$ ). Lorsque les poly-phénols sont oxydés, ils transforment le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe bleu d'oxyde de tungstène et de molybdène. Le taux d'oxydation des produits chimiques phénoliques influe proportionnellement sur l'intensité de la coloration (Boizot et charpentier, 2006).

- ❖ Réactifs et extraits utilisés

➤ EE (1 mg/ml): (1mg extrait + 1 ml de méthanol).

➤ Folin-Ciocalteu dilué 10 fois: (1ml de folin-Ciocalteu + 9ml d'eau distillée).

➤ Un poly-phénol témoins: Acide gallique: (10mg + 10ml de méthanol).

➤ Carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) (7.5mg/ml): (3.75 g + 500 ml de l'eau distillé).

- Protocol de dosage

Le dosage de poly-phénols totaux dans notre extrait a été effectué par la méthode de Folin-

Ciocalteu suivant le protocole décrit par (Li et al. 2007).

Dans un tube à essai ; introduire un volume de 1 ml de l'extrait (1 mg/ml) en solution est mélangé avec 0,2 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué avec de l'eau distillée). Agiter vigoureusement puis, 4 minutes après, ajouter 0.8 ml de solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  : 7,5 %) et incuber à l'ombre et à la température ambiante pendant 2 heures. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm.

L'acide gallique est utilisé comme standard. Une gamme d'étalonnage est préparée (0 à 0.1mg /ml) a été préparée à partir d'une solution mère de 1mg/ml de concentration et ceci est réalisé dans les mêmes conditions que l'extrait.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (**mg EAG/g d'extrait**).

### III.2.2.2. Dosage des Flavonoïdes

- **Principe de dosage**

La méthode employée pour quantifier les flavonoïdes est la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), telle qu'elle a été décrite par (Bahorun et al. 1996). Cette technique repose sur la formation d'un complexe de couleur jaune en raison de la chélation de l'ion  $\text{Al}^{+3}$  avec les atomes d'oxygène situés sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Par conséquent, l'intensité de la teinte jaune générée est directement proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présentes dans l'extrait, comme rapporté par Ali-Rachedi et al. (2018).

#### **Protocole de dosage :**

1ml d'extrait (1mg/ml) ou standard est ajouté à 1ml d' $\text{AlCl}_3$  (2%). Le mélange est laissé réagir et incuber à l'obscurité à la température ambiante pendant 10 min puis la lecture est faite à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-0,1 mg/ml)

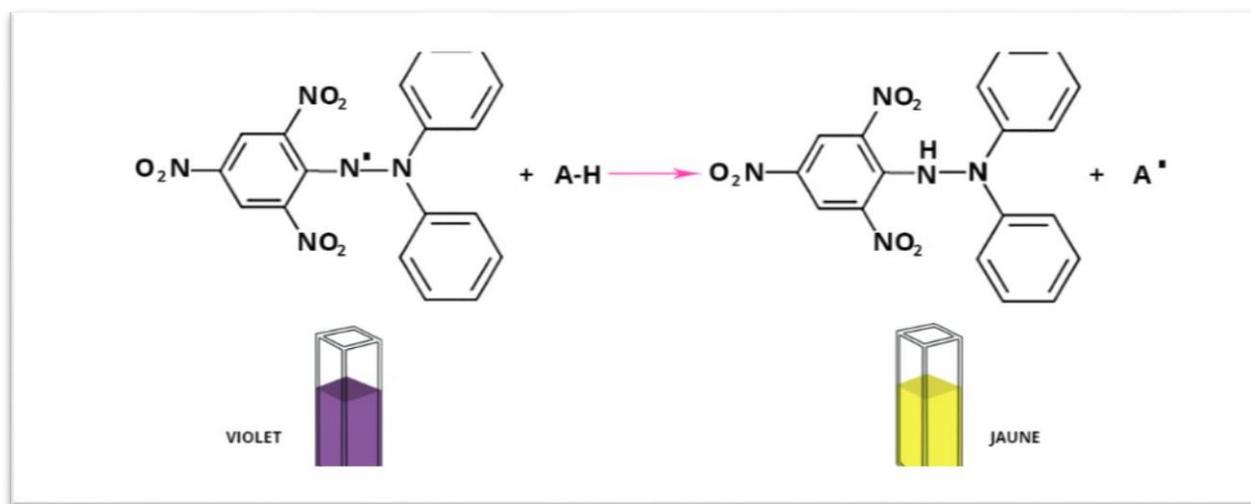
Les concentrations en flavonoïdes totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations de quercétine. Les résultats sont exprimés en mg EAG/g d'extrait.

### III.2.4. Evaluation des activités biologiques in vitro

#### III.2.4.1 Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)

### • Principe

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre d'un violet intense, qui peut être stabilisé ou devenir un accepteur d'hydrogène (Cavar et al., 2009). Lorsqu'il réagit avec des substances antioxydantes (AH), le DPPH perd sa couleur d'origine, car ces substances lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune (Gadow et al., 1997). Le changement de couleur et l'intensité de la décoloration dépendent de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents (Kroyer, 2003 ; Es Safi et al., 2007).



**Figure11** : réaction du DPPH avec l'antioxydant (Popovici et al.,2009)

### Protocole :

Le pouvoir antiradicalaire a été évalué en utilisant la méthode décrite par Djeddi et al. (2015). Pour préparer la solution de DPPH, 0,004 g de DPPH ont été dissous dans 100 ml d'éthanol. Ensuite, 100 µl de chaque échantillon ou du standard (acide ascorbique) à différentes concentrations ont été ajoutés à 2 ml de la solution de DPPH. Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel variaient de 0 à 25 mg/ml pour l'extrait éthanolique, tandis que celles de l'acide ascorbique étaient comprises entre 0 et 0,25 mg/ml. Le mélange a été laissé dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis les absorbances ont été réglées à une longueur d'onde de 517 nm.

Pour chaque dilution : le blanc est représenté par l'éthanol et le contrôle est composé d'un mélange de 2ml de la solution de DPPH avec 100 ml d'éthanol.

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres (I %) est calculé par la formule suivante :

$$I \% = [(AC - Ae) / AC] \times 100$$

Où :

I % : pourcentage d'inhibition.

A C : Absorbance du contrôle (solution de DPPH /méthanol en l'absence de l'extrait) Ae : Absorbance de l'échantillon (solution de DPPH en présence de l'extrait)

L'expérience a été répétée trois fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des IC 50 (Concentration inhibitrice de 50 % des radicaux DPPH). Cette concentration a été calculée à l'aide d'un logiciel (GraphPAD®).

#### 4.2.3. Etude de l'activité antimicrobienne a)Préparation des extraits

Les extraits sont préparés selon différentes concentrations (6mg, 10mg ,20mg) de l'extrait des feuilles, puis in volume de 1ml d'éthanol est ajouté dans chaque tube.

#### b)-Préparation des milieux de culture

Le milieu utilisé est celui de Muller Hinton, il est autoclavé pendant 20 min, ensuite coulé dans les boites de Pétri.

#### c)-Préparation des suspensions bactériennes

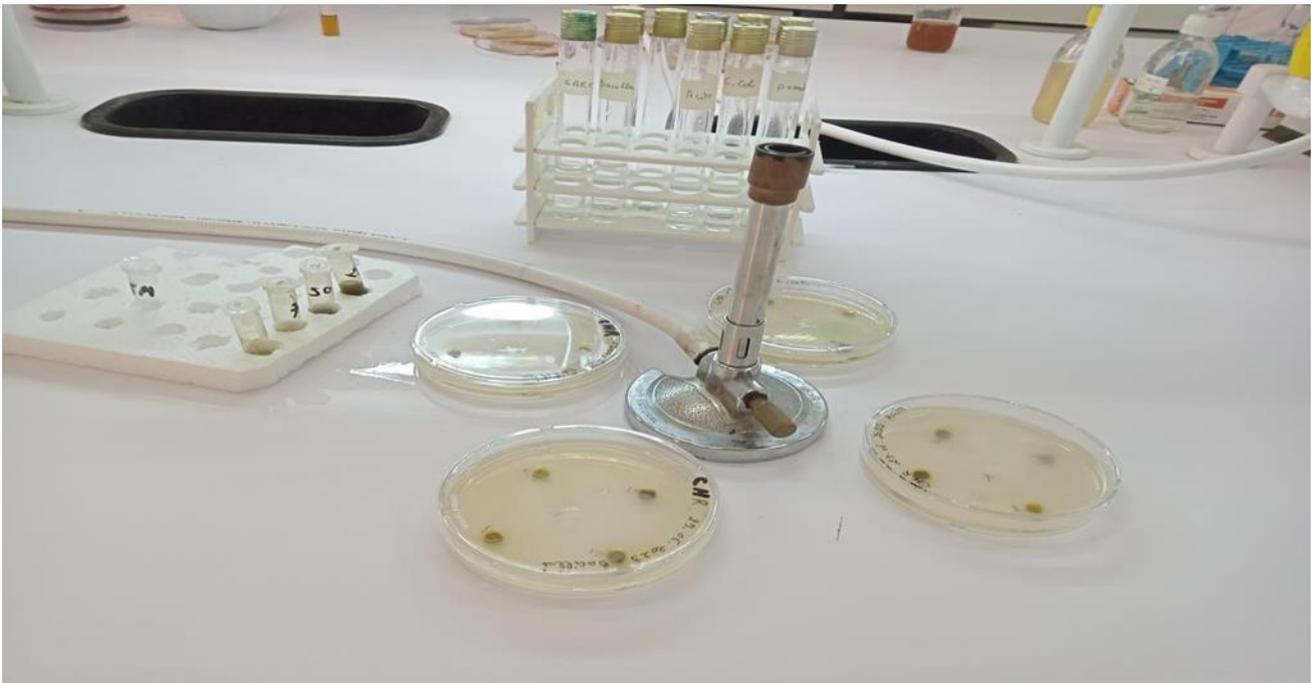
La suspension bactérienne est resuspendue à l'aide d'une anse de platine dans un volume de 9ml d'eau physiologique, la densité optique doit être mesurée entre (0,08nm-0,1nm).Les souches microbiennes utilisées sont : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *klebsiella* et *pseudomonas*

#### d)- mode opératoire

Après solidification des milieux, dans une zone stérile autour du bec benzène 4 puits sont réalisés dans chaque boite dont un puit est considéré comme témoin (T)et les 3 autres (C1, C2, C3) représentent les différentes concentrations de l'extrait.

Les suspensions bactériennes sont ensemencées sur la surface du milieu à l'aide d'un écouvillon, ensuite introduire dans le premier puits (T) qui est le témoin 50 µl de l'éthanol et dans les trois autres puits (C1, C2, C3) 50 µl de l'extrait à différentes concentrations (6mg /ml, 10mg /ml ,20mg/ml) (Sait, 2012).

Les boites de Petri sont incubées à une température de 37°C pendant 24h.



**Figure 12** : image représentant l'activité antibactérienne (photo originale 2023)

L'activité antibactérienne est évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, qui est représentée par une auréole formé autour de chaque puits ou aucune croissance bactérienne n'est observée.

*Chapitre IV :*  
*Résultats et discussion*

## IV.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche réduite en poudre.

Les résultats obtenus révèlent un rendement de **39,4%** pour l'extrait éthanolique de *Cassia angustifolia* Vahl.

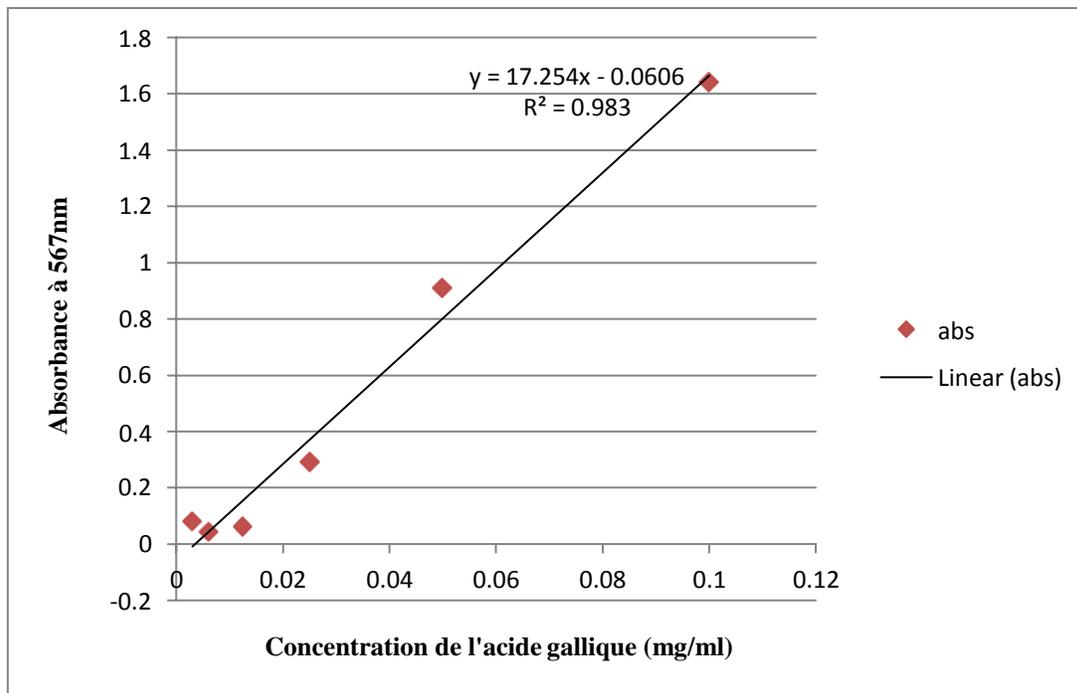
**Tableau 2.** Rendement, aspect et couleur d'extrait du *c. angustifolia*

Extrait sec	Aspect	Couleur	Rendement %
<b>Ethanolique (Macération)</b>	<b>Pâteux</b>	<b>Noire verdâtre</b>	<b>39,4%</b>

### IV.2.1. Détermination de la teneur en poly-phénols totaux

La détermination des phénols totaux a été effectuée au moyen d'une méthode spectrophotométrique adaptée utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, avec l'acide gallique comme étalon. Les données obtenues ont été exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mgEAG/g), en se référant à une courbe d'étalonnage (**voir Figure 13**).

La quantification des phénols totaux dans les extraits éthanoliques de *C. angustifolia* a été réalisée en établissant une courbe standard en utilisant diverses concentrations d'acide gallique. L'équation de régression linéaire résultante était la suivante :  $y = 17,254x - 0,0606$ , avec un coefficient de corrélation  $R^2$  de 0,983 (**consultez la Figure 13 pour plus de détails**).



**Figure 13 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Le dosage des polyphénols dans l'extrait éthanolique des feuilles de *C. angustifolia* a montré une quantité élevée en polyphénols. L'extrait éthanolique par macération est riche en polyphénols totaux et contient une teneur de 51 mg EAG/g.

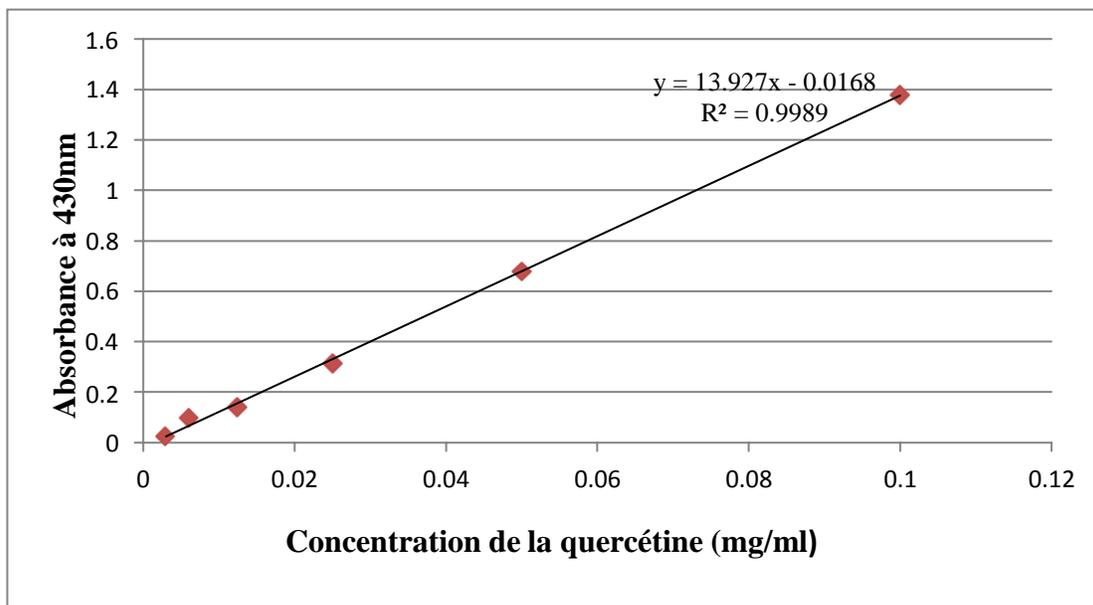
**VijayaSekhar et al., (2016)** ont rapporté un taux en polyphénols de 52.10 mg EAG/g d'extrait sec, à la suite de l'utilisation de méthanol comme solvant d'extraction et soxhlet comme méthode d'extraction. Par ailleurs, **Ahmed et al., (2016)** ont révélé un taux en poly-phénols totaux de 2.328 mg EAG/g et 0.535 mg EAG/g dans l'extrait méthanolique et aqueux des graines de *C. angustifolia* respectivement. Ces taux sont inférieurs à nos résultats indiquant que les feuilles sont plus riches en polyphénols que les graines.

Cette variation des teneurs peut être attribuée à une gamme de facteurs, y compris les procédures et les circonstances d'extraction, les types de solvants utilisés, les facteurs ambiants, les doses de réactif et le type de spectrophotomètre utilisé (**Medini et al., 2014**)

#### IV.2.1. Détermination de la teneur en flavonoïde

La quantité des flavonoïdes est rapporté en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait mg EAG/ g, et ceci sur la base des valeurs d'absorbance des solutions de l'extrait éthanolique réalisée par la méthode spectrophotométrique de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) respectivement.

La quantité totale de flavonoïdes a été déterminée en utilisant différentes concentrations grâce à la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine. L'équation de régression linéaire correspondante est la suivante :  $y = 13,927x - 0,0168$ , avec un coefficient de corrélation  $R^2$  égal à 0,9989. La teneur en flavonoïdes de chaque extrait est exprimée en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (**voir la figure 14**).



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de la Quercétine

L'extrait éthanolique obtenu par macération présente une teneur élevée en flavonoïdes totaux, avec une concentration de 116 mg EAG/g.

De plus, une étude réalisée par **Ahmed et ses collaborateurs en 2016** a mis en lumière que la concentration de flavonoïdes dans les graines de *C. angustifolia* était de 5,00 mg EQ/g dans l'extrait méthanolique et de 1,29 mg QE /g dans l'extrait aqueux. Ces constatations suggèrent que les

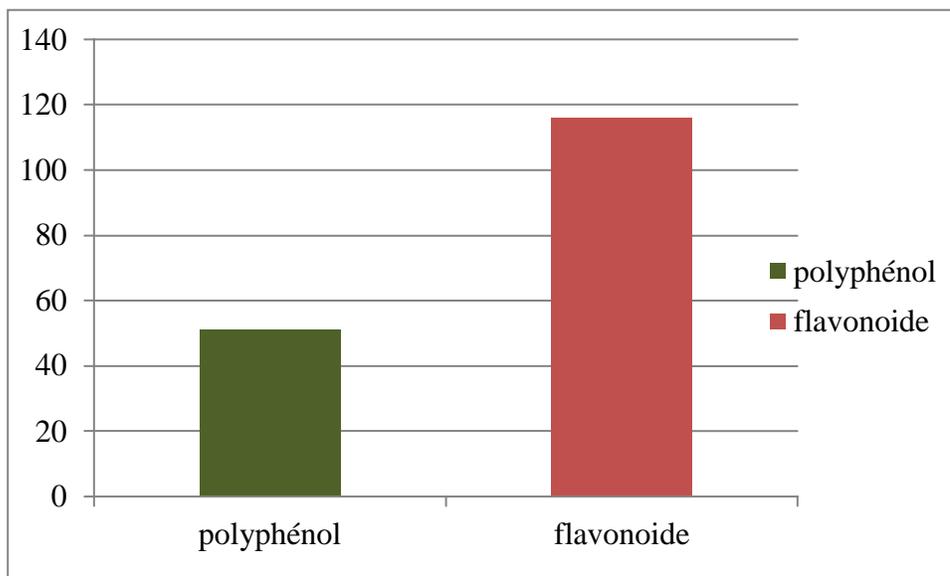
feuilles contiennent une quantité plus élevée de flavonoïdes par rapport aux graines.

Selon les conclusions de l'enquête menée par **Laghari et al. (2011)**, le taux de flavonoïdes dans les parties aériennes de *C. angustifolia* (obtenu par une méthode d'extraction par micro-ondes) s'élève à 28,15 mg EQ /g dans les fleurs et à 26,30 mg EQ/g dans les feuilles.

Cette variation des teneurs peut être attribuée à une gamme de facteurs, y compris les procédures et les circonstances d'extraction, les types de solvants utilisés, les facteurs ambiants, les doses de réactif et le type de spectrophotomètre utilisé (**Medini et al., 2014**).

**Tableau3** : Teneur en poly-phénols et en flavonoïdes d'extraits de *Cassia angustifolia Vahl* présenté avec le rendement obtenu.

L'extrait de plante <i>Cassia angustifolia</i> <i>Vahl</i>	Rendement (%)	Teneur en poly-phénols totaux (mg EAG/g E)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g E)
Extrait Ethanolique	<b>39.4 %</b>	<b>51± 0,019</b>	<b>116 ± 0,004</b>



**Figure 15:** Histogramme de dosage des poly phénols et flavonoïdes totaux

### IV.3. Evaluation des activités biologiques *in vitro*

#### IV.3.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante d'extrait éthanolique de *C. angustifolia Vahl* ainsi que l'anti-oxydante standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH ont été évaluées à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

Les résultats qui représentent les profils de l'activité anti-radicalaire obtenus pour la différente concentration d'extrait des feuilles de *cassia angustifolia* sont enregistrés dans le **tableau 3** suivant et sous forme de courbe dans **la figure14** ci-dessous.

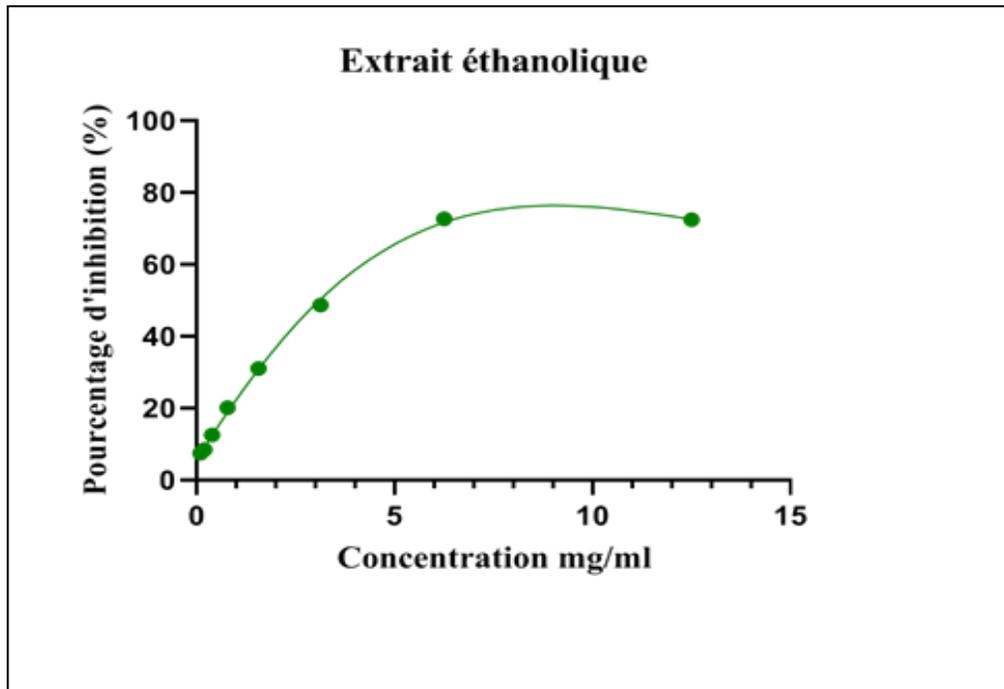
**Tableau4** : résultats de l'activité anti-radicalaire obtenus pour les différents extraits des fleurs de *cassia angustifolia*.

Numéro d solution	Concentration (mg/ml)	Absorbance (nm)	I (%)
1	12,5	0,261	72,46%
2	6,25	0,259	72,67%
3	3,125	0,486	48,73%
4	1,562	0,654	31,01%
5	0,781	0,757	20,14%
6	0,39	0,829	12,55%
7	0,195	0,868	8,43%
8	0,097	0,877	7,48%

DPPH= 0,86

Control = 0,948

L'IC50 est un paramètre fréquemment employé pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons. Cette valeur est définie comme la concentration requise pour réduire de 50 % la concentration initiale du DPPH. Une IC50 plus basse indique une activité antioxydante plus élevée (Rivero-Cruz et al., 2020).

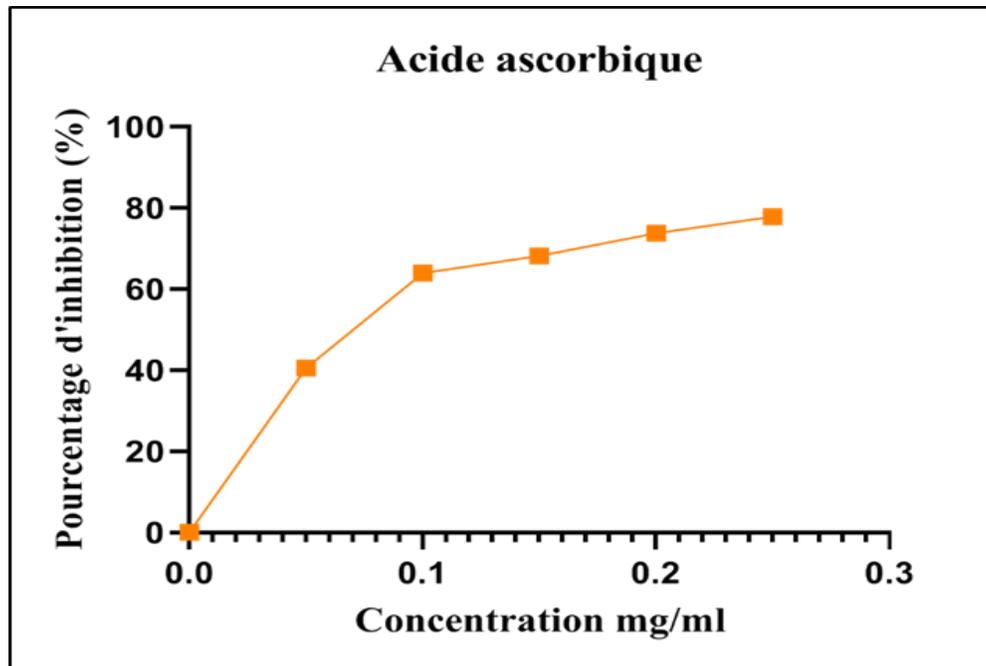


**Figure 16** : profils de l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanologique des feuilles de *C. angustifolia*

#### Calcul de l'IC50

✓ Taux d'IC50 des feuilles de *cassia angustifolia*

IC50 = 3,097 mg/ml



**Figure 17** : profils de l'activité anti-radicalaire d'acide ascorbique des feuilles de *C. angustifolia*

✓ **Taux d'IC50 des feuilles de *cassia angustifolia***

**IC50=0.068 mg/ml**

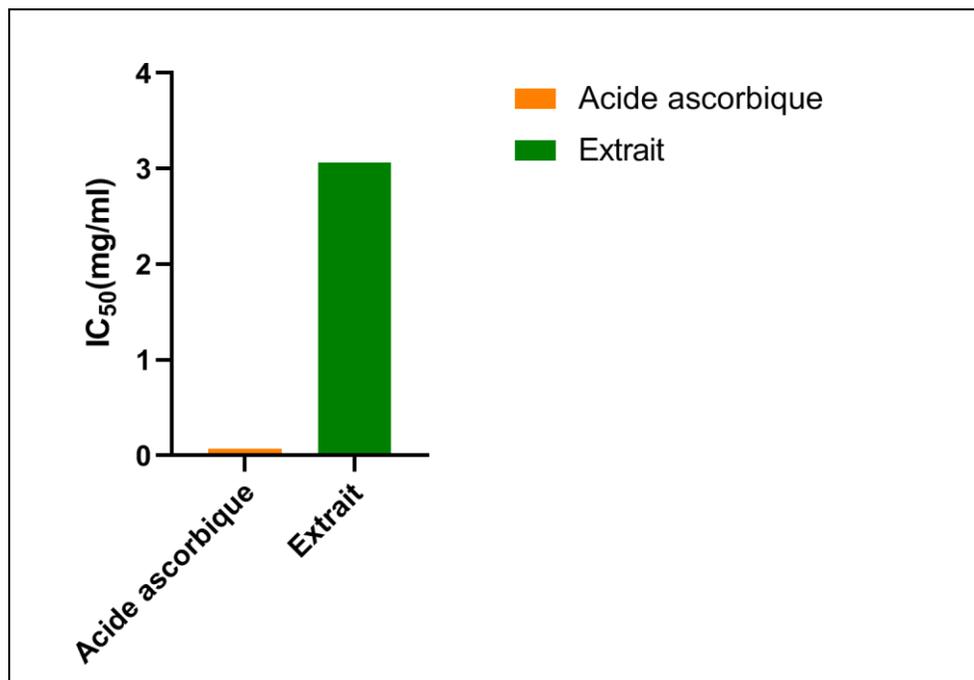
Les résultats indiquent que l'extrait présente IC50 de 3.09 mg/ml qui correspond à une capacité de piégeage très forte par rapport à celle de le standard antioxydant acide ascorbique présente une activité anti-oxydante élevée (IC50= 0.068mg/ml) .

Par contre, (**Laghari et al., 2011**) a montré que les extraits de feuilles de *C. angustifolia* présentent la plus grande capacité de réduction de DPPH que le BHT de référence (IC50 = 4,2 mg/L pour l'extrait méthanolique par méthode d'extraction soxhlet) et que les extraits de microonde montrent l'activité anti-oxydante plus élevée que le reste des extraits (soxhlet, sonication, macération, reflux).

Selon les conclusions de la recherche conduite par **Laghari et al. (2016)** portant sur les feuilles et les fleurs de *C. angustifolia* et utilisant diverses techniques d'extraction, notamment l'extraction par micro-ondes, il a été observé que le taux d'inhibition de 50% des radicaux libres s'élevait à 3,6 µg/ml pour les feuilles et à 3,1 mg/L pour les fleurs. Ces résultats révèlent que les fleurs présentent une activité anti-DPPH supérieure à celle des feuilles.

Une autre étude menée par **Ahmed et al., (2016)** a montré que la IC<sub>50</sub> de l'activité d'élimination des radicaux libres de l'extrait éthanolique (n'a pas précisé la partie étudiée) est de  $2.41 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$  ( $\mu\text{g/g}$ ). Ces études ont confirmé que *C. angustifolia Vahl* possède une activité anti-oxydante due à la présence des antioxydants dans la plante.

On peut conclure que la faible activité anti-oxydante de notre extrait due à la méthode utilisée en extraction aqueuse traditionnelle (par macération) et son faible rendement notamment en ce qui concerne le dosage des composés phénoliques et flavonoïdes, car la possibilité de perdre ces composés lors de ce type d'extraction est élevée, en particulier ceux qui ont un rôle dans l'activité anti-oxydante ; et aussi il y a d'autres facteurs qui peuvent affecter le rendement de l'activité anti-oxydante, tels que la qualité des feuilles de la plante peut être médiocre, la photosynthèse des feuilles insuffisante pour la synthèse de composés antioxydants, le manque d'intensité lumineuse sur la plante, mauvaises conditions agricoles ... etc.



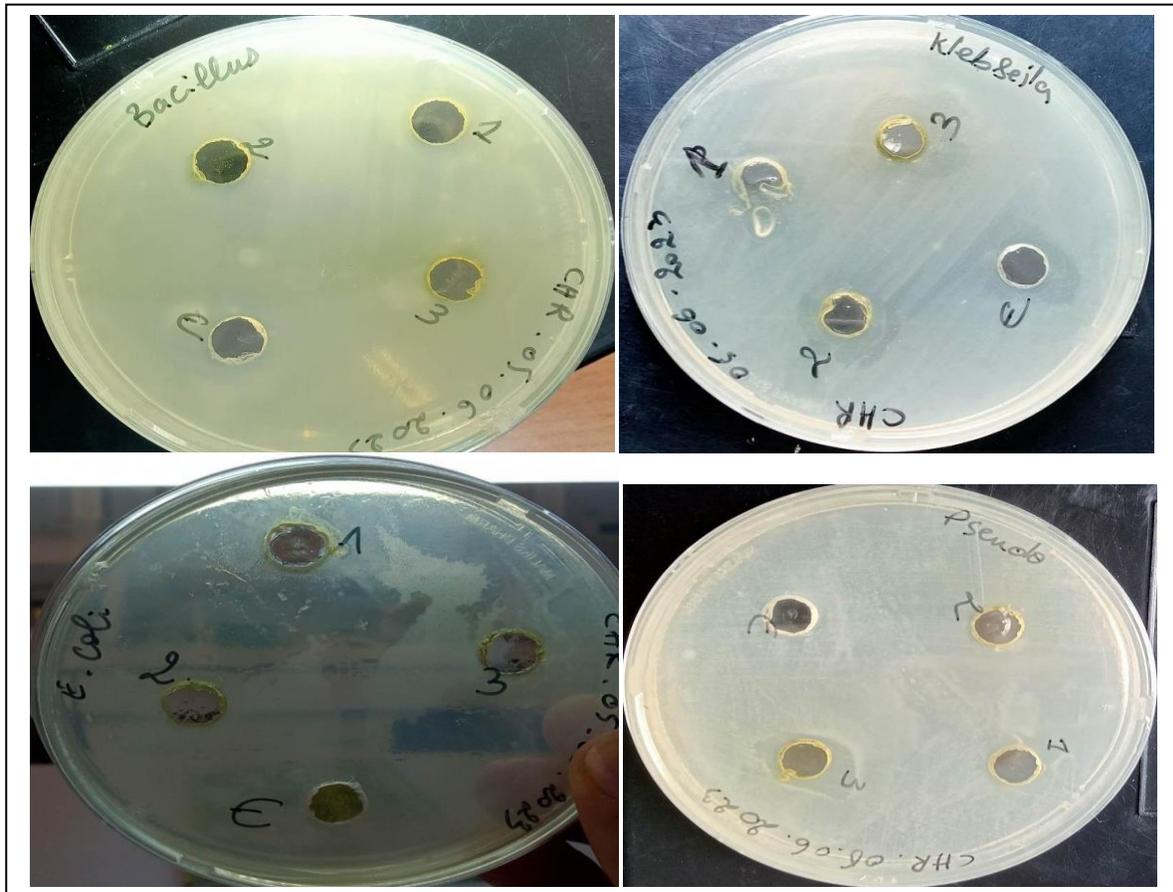
**Figure 18** : Histogramme représentant les IC<sub>50</sub> pour l'extrait éthanolique de *C.angustifolia Vahl* par rapport à celle du standard antioxydant acide ascorbique.

## 2) Evaluation de l'activité antibactérienne

Les diamètres des zones d'inhibition induite par les différentes concentrations des extraits éthanoliques préparés à partir des feuilles de *C. angustifolia* testés sur la croissance des souches bactériennes est reporté dans le tableau 5, les résultats est noté sur tableau est représenté par la figure 19. Nous avons représenté la résistance par le signe moins (-) dans le cas où aucune zone d'inhibition n'a été détectée, et par les chiffres dans le cas de détection de zone d'inhibition.

**Tableaux 5 :** diamètre de la zone d'inhibition (en mm) induits par les différentes concentrations en extraits testés sur les souches bactériennes

	Les feuilles			
	6 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	Ethanol
<b>E.Coli</b>	19 mm	-	-	-
<b>Bacillus cereus</b>	15 mm	12mm	-	-
<b>Klebsiella pneumoniae</b>	-	15 mm	20 mm	14 mm
<b>Pseudomonas</b>	-	-	21 mm	-



**Figure19:** résultat de l'activité antibactérienne (photo originale 2023)

Dans la présente étude, l'efficacité antimicrobienne de l'extrait brut de *C. angustifolia* a été évaluée quantitativement en fonction de la zone d'inhibition. Les extraits des feuilles de *C. angustifolia* présentaient des effets inhibiteurs variables contre toutes les souches pathogènes testées (tableau 5; Figure 19).

L'extrait éthanolique par (macération) a montré une activité antibactérienne modérée pour une bactérie à Gram positive (+) *Bacillus cereus* à une concentration de 6mg/ml (15mm) et (10mg/ml) (12mm), et n'a montré aucun effet à ma concentration de 20mg/ml).

Et pour une bactérie Gram négative (-) *klebsiella pnemoniae*, il a montré une activité antibactérienne dans les concentrations de 10mg/ml et 20mg/ml avec des zones d'inhibition de (15mm) et (20mm) respectivement et n'a montré aucun effet à la concentration de 6mg/ml.

Pour une bactérie Gram (-) *E. Coli*, il a montré une activité antibactérienne pour la concentration (6mg/ml) (19mm) et n'a montré aucun effet sur les concentrations (10mg/ml), (20mg/ml).

Pour une bactérie a Gram(-) *pseudomonas*, il a montré une activité antibactérienne pour la concentration (20mg/ml) (21mm) et n'a montré aucun effet sur les concentrations (6mg/ml) et 10mg/ml).

Il a également été signalé que l'extrait éthanolique (macération) de *C. angustifolia* présentait un potentiel antibactérien maximal contre *pseudomonas* (Gram-) et *klebsiella pnemoniae* (Gram-) avec des zones d'inhibition de 21mm et 20 mm, respectivement.

Cependant, il est important de noter que l'efficacité des extraits de feuilles de *Cassia angustifolia* dans l'inhibition de la croissance bactérienne dépend de divers facteurs tels que le solvant et la méthode d'extraction utilisés, ainsi que des souches bactériennes spécifiques testées (**Falleh et al., 2021**).

Effectivement, la disparité de sensibilité observée entre les bactéries Gram positif et Gram négatif peut être expliquée par les variations morphologiques entre ces micro-organismes, notamment en termes de perméabilité de leur paroi cellulaire (**Bereksi et al., 2018**).

Selon les conclusions d'une étude menée par **Ahmed et al. en 2016**, l'extrait de méthanol provenant de *C. angustifolia* a démontré une activité antimicrobienne remarquable, avec un large spectre d'efficacité contre diverses souches bactériennes pathogènes. Les chercheurs ont attribué cette activité bactéricide à la présence de flavonoïdes présents dans l'extrait de méthanol. Ils ont également observé que les extraits de méthanol et d'éthanol de *C. angustifolia* présentent une activité significative contre des bactéries telles que *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Shigella shinga*..(**Ahmed et al., 2016**).

*Conclusion et  
perspectives*

### *Conclusion*

Ce projet a été réalisé dans le but d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait éthanolique et de l'extrait obtenu par décoction de la partie aérienne de *C. angustifolia*, une plante de la famille des Caesalpinaceae. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés protectrices à long terme.

Une analyse quantitative de l'extrait éthanolique de la plante révèle que l'extrait des feuilles de *Cassia angustifolia* Vahl contient une concentration élevée de poly-phénols ( $51 \pm 0.019$  mg EAG /g d'extrait) et flavonoïdes ( $116 \pm 0.004$  mg EQ /g d'extrait).

L'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique de *Cassia angustifolia* Vahl a été évaluée en utilisant le test de réduction du radical libre DPPH. Les résultats indiquent que l'extrait éthanolique présente une capacité significative de piégeage du DPPH ( $IC_{50} = 3,09$  mg/ml) par rapport à l'acide ascorbique standard ( $IC_{50} = 0,068$  mg/ml).

Nos résultats ont révélé que l'extrait de *Cassia angustifolia* ont montré une activité antibactérienne.

D'après nos conclusions, il est évident que les feuilles de *C. angustifolia* constituent une source naturelle d'agents antioxydants et ont le potentiel d'être utilisé comme traitement préventif contre le stress oxydatif.

Notre étude a mis en évidence le rôle prépondérant des antioxydants présents dans *Cassia angustifolia*, tels que les poly-phénols et les flavonoïdes, dans l'inhibition de l'activité bactérienne. Ces résultats s'appuient sur les données rapportées dans différentes études antérieures ou récentes. Nous avons constaté que cette inhibition est directement liée à la durée d'exposition et à la concentration de l'extrait polyphénolique, ainsi qu'à la partie de la plante étudiée (les feuilles). Cette corrélation peut être attribuée à l'abondance de poly-phénols et de flavonoïdes présents dans cette plante.

**Perspectives :**

A la lumière de ces résultats, il serait intéressant dans le futur de :

- ✚ Rechercher et d'élaborer des méthodes d'extraction modernes afin d'extraire spécifiquement les poly-phénols, permettant ainsi d'obtenir des rendements plus élevés et de les comparer aux rendements obtenus par les méthodes traditionnelles.
- ✚ D'évaluer l'activité antioxydante des extraits par d'autres méthodes telles que TRAP (Total Radical - trappingAntioxidantParameter ) et ORAC ( Oxygen Radical Absorbance Capaci).

## Références bibliographiques

### A

AA Elansary, AA El Damatty 2018. Engineering Structures 159, 128-140,.Behaviour of Composite Conical Tanks under Hydrostatic Pressure.

- Abulafatih H.A.1987. Medicinal Plants of Southern Arabia, Economic Botany 41: 354-360.Flammarion. Paris .308p

Ahmed, S. I., Hayat, M. Q., Tahir, M., Mansoor, Q., Ismail, M., Keck, K., & Bates, R. B. (2016). Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia*Vahl. BMC complementary and alternative medicine, 16(1), 460

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., &Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. Current Research in Food Science, 4, 200–214.

Ali-Rachedi F, Meraghni S, Touaibia N, Mesbah S. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *ScabiosaAtropurpurea*sub. *Maritima* L. Bulletin de la société royale des sciences de liège. 2018

Alshehri, M. M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Tutuncu, S., Aydar, E. F., Topkaya, C., Mertdinc, Z., Ozcelik, B., Aital, M., Kumar, N. V. A., Lapava, N., Rajkovic, J., Ertani, A., Nicola, S., Semwal, P., Painuli, S., González-Contreras, C., Martorell, M., ... Cho, W. C. (2022). A Review of Recent Studies on the Antioxidant and Anti-Infectious Properties of *Senna*Plants.Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, e6025900.<https://doi.org/10.1155/2022/6025900>

Ameer, K., Shahbaz, H., & Kwon, J.-H. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review: Polyphenols extraction by green

Aniszewski, T. (2007). Alkaloids - secrets of life: Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role (1st ed). Elsevier.

### B

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J., Pinkas M. & Luycky M., 1996 : Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel- Forschung* 46, 1086-1089.

Baqer, N. N., Khuder, M. H., & Amer, N. (2014). Antiprotoscolices effects of ethanolic extract of *Zingiber officinale* against *Echinococcus granulosus* invitro and invivo. *International Journal of Advanced Research*, 2(10), 10.

Bentley R. and Trimen H. 1992. *Medicinal Plants*. Vol. II. Allied Book Centre, Dehra Dun, India. p. 91

BENANE, F., AKKOUCHE, A. (2021). Étude quantitative des polyphénols des feuilles, fleurs, fruits de *Crataegus Monogyna* et l'évaluation de leurs activités biologiques. (Mémoire master en biotechnologie microbienne), université Bouira, Algérie

Biyiti, L. F., V. T., Nga, N., Agbor, G., & Gangoué-Piéboji, J. (2012). Formulation d'une pommade antibactérienne à base d'un extrait éthanolique des écorces du tronc de *Tabernaemontana crassa* Benth. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 16

Boizot N., and Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp 79-82. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Brown, J. E., Khodr H., Hider, R. C. et Rice-Evans, C. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions. *Biochem. J.* 330: 1173-1178.

Bruneton, J. (1999) *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème édition. Tec&Doc. Paris.

Bereksi, M., Hassaine, H., Bekhechi, C., & Abdelouahid, D. (2018). Evaluation of Antibacterial Activity of some Medicinal Plants Extracts Commonly Used in Algerian Traditional Medicine against some Pathogenic Bacteria. *Pharmacognosy Journal*, 10, 507–512. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.3.83>

Brady, O. J. et al. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS neglected tropical diseases* 6, e1760, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001760> (2012).

Cavar S., Maksimovic M., Vidic D., Paric A. 2009. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Aetemisia annual L.* From Bosnia. *Industrial Crops and Products*. 37: 479-485.

Chhetri, H. P., Yogol, N. S., Sherchan, J., Anupa, K. C., Mansoor, S., & Thapa, P. (2010). Formulation and evaluation of antimicrobial herbal ointment. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 6(1), 102–107.

Czygan, F. C. (2004). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis*. CRC Press.

## D

Dacosta, Y. (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. Ed Yves Dacosta. Paris.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.

Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : *Rev Med Liège*, 10.

Djeddi, S., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., & Skaltsa, H. (2015). Activités anti-Dohou, N., Yamni, K., S., T., Idrissi Hassani, L. M., Alain, B., & Najib, G. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaealythroïdes*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 142, 61–78 du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical*

Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., & Cattoir, V. (Eds.). (2016). Copyright. In *Bactériologie Médicale (Troisième Édition)* (p. iv). Elsevier Masson. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74616-1.09991-X>

## E

El Gharras, H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology* 44(12): 2512-2518.

## F

Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S, Soejarto D.D., Guos Z.1986. Place des plantes medicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 64 (2): 159- 175 .

Falleh, H., Hafsi, C., Mohsni, I., & Ksouri, R. (2021). Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale: *Verbena officinalis*. *Biologie Aujourd'hui*, 215(3–4), 133–142. <https://doi.org/10.1051/jbio/2021009>.

## G

Gadaw, A. V., Joubert., Hansmann, C. F. 1997. Comparaison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 45: 632-638.

GHARBI, A., ZERGAT, N. (2022). Etude de quelques activités biologiques de *Cassia angustifolia*. (Mémoire master en biochimie appliquée), université Bouira, Algérie.

Gee, J.M. et Johnson, I.T. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. 8: 1-182.

Ghazanfar S.A. and Al-Sabahi A.A., 1993. Medicinal plants of northern and central Oman (Arabia), *Economic Botany* 41: 89-98.

Gupta R. 1974. Wild occurring senna (*C. angustifolia* Vahl) from Kutch, Gajarat, India. *Current Science* 43: 89

## H

Hans., Kothe . 2007. Contribution à l'étude des composés phénoliques des graines de *Myrtus communis* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*, P 24. Harmful and Beneficial Effect of Senna Makki in COVID-19. *Haya: The Saudi Journal*.

Heller W., Forkmann G. 1993. The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harbone  
Hopkins, W. G., & Hüner, N. P. A. (2008). *Introduction to Plant Physiology* (4th Edition). John  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>  
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>  
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253>  
<https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Husain A. 1992. Status Report on Medicinal Plants for NAM Countries. Dec. 1992, Centre for Science and Technology of NAM and other Developing Countries: 87-90JB .Ed. Chapman & Hall, London 399-425.

## J

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

## K

Kroyer G.T. 2003.Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient innovative. Food Science and Emerging Technologies 5: 101-105

Kistamma S., Venkateshwar C. 2018. Pharmacognosy of Cassia angustifolia Leaf Grown in Differently Treated Soils. Special Issue 6: 2580-2589

Kumar, S., Naeem, R., Radhawi, A. S. T., Mahmood, S. U., Batool, Z., &Naqi, S. R. A. (2020). SennaMakki and the COVID-19 pandemic: a reflection from Pakistan. Int J Community Med Public Health, 7(12), 5194.

## L

Laghari, A. Q., Memon, S., Nelofar, A., &Laghari, A. H. (2011). Extraction, Identification and Antioxidative Properties of the Flavonoid-Rich Fractions from Leaves and Flowers of Cassia angustifolia. American Journal of Analytical Chemistry, 2(8), 871–878.

Li, M., Cha, D. J., Lai, Y., Villaruz, A. E., Sturdevant, D. E., & Otto, M. (2007). The antimicrobial peptide sensing system aps of Staphylococcus aureus. Molecular microbiology, 66(5), 1136-114.

Luque de Castro, M. D., &Priego-Capote, F. (2010).Soxhlet extraction: Past and present panacea. Journal of Chromatography A, 1217(16), 2383–2389.

## M

Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses.

Mahmoudi, S., Khali, M., &Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de

différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). *Revue Nature et Technologie*, 5(2),35–40.

Marref, S. E. (2019). Contribution à l'étude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de la plante *Gladiolus segetum* in vivo et in vitro [Doctoral, Université de Batna 2]. <http://eprints.univ-batna2.dz/1682/methods> . . . *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16.

McDowell, R. H., Sands, E. M., & Friedman, H. (2022). *Bacillus Cereus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459121/>

## N

Nadjib, B. M., & Amine, F. (2019). MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE. 7. *Nature et Technologie*, 5(2), 35–40.

Naureen, I., Saleem, A., Shahid, A., Tasneem, Q., Tariq, A., Hassan, A., & Bibi, A. (2022). *of Life Sciences*, 7(1), 13–18. <https://doi.org/10.36348/sjls.2022.v07i01.003>

## O

Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of Poly-phenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters (pp. 243–259). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00025-6>

Ouedraogo, R. A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V., Outtara, L. P., Gnoula, C., Pale, E., & Nebie, R. H. C. (2015). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa L.*) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1), 281–291. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i1>

## P

Paganga, G., Miller, N., Rice-Evans, C. A. (1999). The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res.*30: 62-153.

Pandse G.S., Dange P.S. and Surange S.R. 1974. *J. Univ. Porma* 46: 157-162

Peter A T., Sivagami S., Akkini Devi T., Ananthi N., PriyaVelammal S . 2012. *Biogenic*

synthesis of silver nanoparticles by leaf extract of *Cassia angustifolia*. *Nanosci. Nanotechnol.*

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre. *RevGen Indus*, 4, 25- 39.

Psotova, J., Lasovsky, J. et Vicar, J. (2005). Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. *Biomed. Papers* 174-153 p

radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 11(2), 58-65

Rajbhar, K., Dawda, H., & Mukundan, U. (2014). Polyphenols: Methods of extraction. *Scientific Reviews & Chemical Communications*, 51, 1–6.

Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., Pérez-Rojas, J. M., Kumar-Passari, A., Diaz-Ruiz, G., & Rivero-Cruz, B. E. (2020). Phytochemical Constituents, Antioxidant, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of the Ethanolic Extract of Mexican Brown Propolis. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(1), E70. <https://doi.org/10.3390/antiox9010070>

## S

Sait, S. 2012. Activités antioxydante et antibactérienne des huiles d'oléaster (*Olea europaea* var. oléaster) de la région de Bejaïa

Salunkhe, D.K. (1990). *Dietary tannins: consequences and remedies*. Boca Raton, Florida: CRC press (AMALOU Nabil et MOUHOUBI El yesse, 2014)

Salunkhe, D.K. (1990). *Dietary tannins: consequences and remedies*. Boca Raton, Florida: CRC press

Săvulescu, E., Georgescu, M., Popa, V., & Luchian, V. (2018). Morphological and Anatomical Properties of the *Senna Alexandrina* Mill. (*Cassia Angustifolia* Vahl.). "Agriculture for Life Life for Agriculture" Conference Proceedings, 1, 305–310. <https://doi.org/10.2478/alife-2018-0045>

*Sciences*, 9(1), 281–291. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i1>

Sebaihi S. 2010. Activités anti radicalaires des extraits de Pistacialentiscus (Anacardiaceae) : caractérisation des fractions. Thèse de magistère, université Abderrahmane Mira, Algérie, 111p

Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., &Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. Pathologie Biologie, 49(9), 689–695. [https://doi.org/10.1016/S0369-8114\(01\)00244-9](https://doi.org/10.1016/S0369-8114(01)00244-9).

Shazia Sultana. (2012). Authentication of herbal drug Senna (Cassia angustifoliaVahl.): A village pharmacy for Indo-Pak Subcontinent. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6(30).<https://doi.org/10.5897/AJPP12.446>

Singleton, V. L., Orthofer, R., &Lamuella-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in enzymology (Vol. 299, pp. 152-178).Academic press.

Singleton, V. L., Timberlake, C. F. and Lea, A. G. H. (1978).The phenolic cinnamates of grapes and wine, Journal of Sciences and Food Agriculture. 29: 403-410

## T

Trease G.E. et Evans W.C. 1983. Pharmacognosy.BailliereTindall, London, UK. 812.

Tripathi Y.C. 1999. Cassia angustifolia, a versatile Medicinal crop.InternationalTreeCrops

## V

VijayaSekhar, V. E., Prasad, M. S., & Rao, S. S. (2016). Assessment of Phytochemical Evaluation and In-vitro Antimicrobial Activity of Cassia angustifolia.8 (2), 8

## W

Watson, R. R. (Ed.). (2014). Polyphenols in plants: Isolation, purification and extract preparation (First edition). Elsevier, Academic Press.

# *Annexe*

## **Annexe1**

### **Mueller Hinton Agar**

#### **Application**

Le bouillon Mueller-Hinton est un milieu liquide nutritif utilisé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aérobies et anaérobies facultatives vis à vis des agents antimicrobiens. Il est utilisé comme milieu de culture pour réaliser la technique d'antibiogramme en méthode de dilution ou bien comme milieu de base pour préparer tout inoculum bactérien.

Mueller Hinton Agar est maintenant utilisé comme milieu d'essai pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens. Mueller Hinton Agar est recommandé pour la diffusion d'agents antimicrobiens imprégnés sur disque de papier à travers un gel d'agar.

#### **Composition du milieu Mueller-Hinton**

Extrait de viande de bœuf : 2.0g

Peptone de caséine : 17.5g

Amidon de maïs : 1.5g

Agar : 17.0g

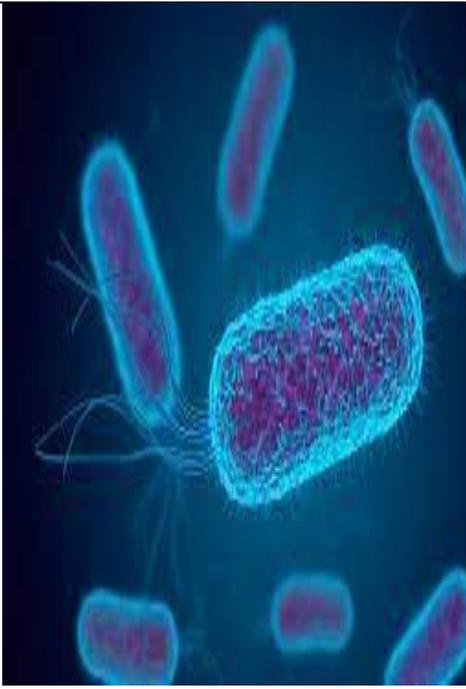
pH : 7.4

## **Annexe 2**

Matériels utilisés pendant la partie pratique.

- Tubes à essai
- Fioles
- Bec benzène
- Boîtes pétries
- Becher
- Erlenmeyer
- Embouts
- Cuve de spectrophotomètre
- Micropipettes
- Papier absorbant
- Papier absorbant
- Papier aluminium
- Para film
- Papier wattman
- Les écouvillons
- Lance de platine
- Verre de montre
- Les tubes à vis
- Les eppendorfs

## Annexes 3

<p><b>Bacillus cereus :</b></p> <p>Est une bactérie à gram positif anaérobie facultative produisant des toxines que l'on trouve dans l'environnement et peuvent contaminer les aliments. Il provoque souvent des maladies intestinales avec des nausées, des vomissements et de la diarrhée. Cependant, elle a été associée à des infections graves chez les hôtes immunodéprimés et peut causer une septicémie ainsi qu'une endophtalmie, ce qui peut entraîner une perte de vision. (McDowell et al., 2022)</p>	<p><b>Bacille Gram positif</b></p>	
<p><b>Escherichia coli :</b></p> <p>C'est un commensal de l'intestin de l'homme et des animaux représentant l'espèce aérobie quantitativement la plus importante de la flore digestive. Mais c'est aussi le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales. Les infections à E. coli sont de deux types : infections intestinales à type de diarrhées et infections extra-intestinales (infections urinaires, bactériémies et méningites). (Denis et al., 2016)</p>	<p><b>Gram négatif</b></p>	

## Résumé:

Cassia angustifolia fait partie des plantes médicinales, elle est utilisée à des fins thérapeutiques, tout au long de la partie pratique nous avons réalisé une méthode de macération, commençant par une extraction des polyphénols en utilisant l'éthanol comme solvant par méthode de macération. La teneur en polyphénols totaux et a été réalisée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu. Les niveaux les plus élevés de polyphénols **51mg GAE/g** ont été enregistrés dans l'extrait éthanolique par macération. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), leur teneur est de **116 mg EQ/g**.

L'effet antimicrobien des extraits a été évalué par la méthode des puits en milieu gélifié. Ces extraits ont ensuite été évalués par le potentiel antioxydant (TAC). Nos résultats ont montré que l'extrait éthanolique inhibait la croissance microbienne de E. Coli et S. aureus, il a également une activité antioxydante très élevée (TAC). Lors de l'évaluation de l'activité antioxydante, le taux d'inhibition le plus élevé a été rapporté dans l'extrait éthanolique par macération avec un CI50 égal à **3,09 mg/ml**.

Mots-clés : antimicrobien, Cassia angustifolia, ,activitéantioxydante, extrait polyphénolique, polyphénols, flavonoïdes.

## . Abstract:

Cassia angustifolia is one of the medicinal plants, it is used for therapeutic objects, throughout the practical part we have carried out a method of maceration, starting with an extraction of polyphenols using ethanol as a solvent by method of maceration. The content of total polyphenols and was using the Folin-Ciocalteu reagent. The highest levels of polyphenol **51mg GAE/g** were recorded in the ethanolic extract by maceration. Flavonoids were evaluated using the aluminum trichloride (AlCl<sub>3</sub>) method, their content is **116 mg EQ/g**.

The antimicrobial effect of the extracts was evaluated by the method of wells in gelled medium. These extracts were then evaluated by the antioxidant potential (TAC). Our results showed that the ethanolic extract inhibited the microbial growth of E. Coli and S. aureus, it also has very high antioxidant activity (TAC). During the evaluation of the antioxidant activity the highest rate of inhibition was reported in the ethanolic extract by maceration with an CI50 equal to **3.09mg/ml**.

**Keywords:** antimicrobial, Cassia angustifolia, antioxidant activity, polyphenolic extract, polyphenols, flavonoids.

ملخص

Cassia angustifolia هو أحد النباتات الطبية، ويستخدم للأغراض العلاجية، خلال الجزء العملي أدركنا طريقة للنقع، بدءًا من استخراج البوليفينول باستخدام الإيثانول كمذيب بطريقة النقع. إجمالي محتوى البوليفينول وتم تحقيقه باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu تم تسجيل أعلى مستويات 51 مجم GAE/g polyphenols في المستخلص الإيثانولي عن طريق النقع. تم تقييم الفلافونويد بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم (AlCl<sub>3</sub>) ، ومحتواها 116 ملغم من مكافئ الذهب/غرام. تم تقييم التأثير المضاد للميكروبات للمستخلصات من خلال طريقة بئر الجل. ثم تم تقييم هذه المستخلصات بواسطة إمكانات مضادات الأكسدة (TAC) أظهرت نتائجنا أن المستخلص الإيثانولي منع النمو الميكروبي للإشريكية القولونية والذهبية، كما أنه يحتوي على نشاط عالي جدًا لمضادات الأكسدة (TAC) عند تقييم النشاط المضاد للأكسدة، تم الإبلاغ عن أعلى معدل تثبيط في المستخلص الإيثانولي عن طريق النقع CI50 يساوي 3.09 ملغم/مل. الكلمات الرئيسية: مضادات الميكروبات، كاسيا أنجوستيفوليا، نشاط مضاد للأكسدة، مستخلص متعدد الفينولات، بوليفينول، فلافونويد.