



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

Domaine : SNV **Filière** : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Gharbi Abderrahim & Zergat Nour El Houda

Thème

Etude de quelques activités biologiques de *Cassia angustifolia*

Soutenu le : 06 /07/2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme BOUHENNI Hamida

MAB

Univ. de Bouira

Présidente

Mme BOUTELDJA Razika

MCA

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme BENSMAIL Souhila

MCB

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions en premier lieu **ALLAH**, le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage et la patience pour faire ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à notre promotrice **Mme Bouteldja Razika**, nous la remercions de nous avoir orientés, aidés et conseillés durant notre parcours universitaire. Un grand merci pour vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse qui méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

Un grand merci à **Mme Bensmail Souhila**, nous voulons aussi adresser nos reconnaissances à elle pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

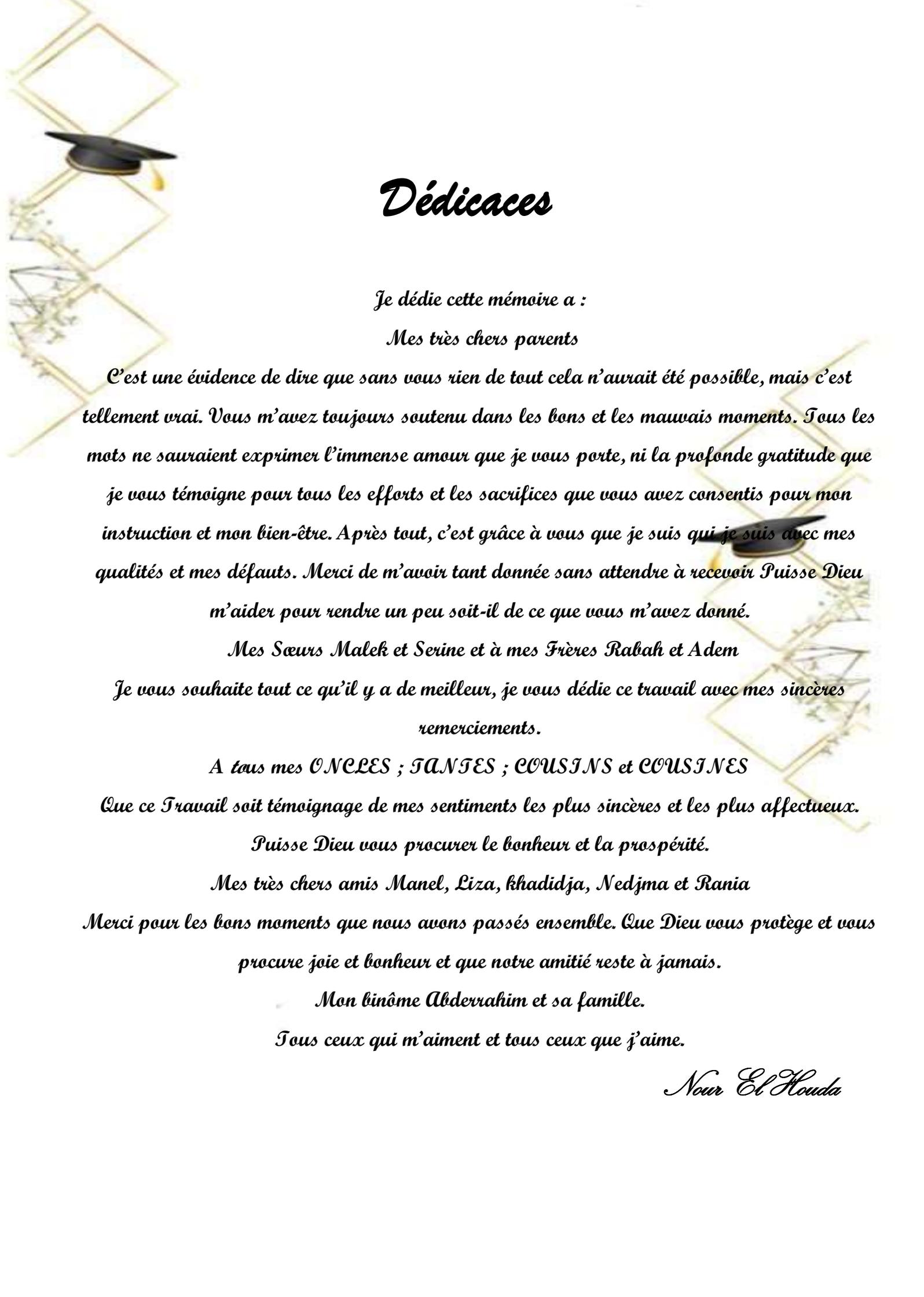
Un grand merci à **Mme Bouhenni Hamida** d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.

On exprime nos profonds remerciements et notre vive connaissance à notre maître de stage au sein de l'entreprise SAIDAL site de production Dar EL Beida, **Mme Mechit Ouahiba**, pour sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordée qui nous a permis de réaliser ce travail.

Ainsi tous les membres du personnel de laboratoire physicochimique, microbiologique et laboratoire de Contrôle Qualité, Groupe Industriel SAIDAL site de production Dar EL Beida en tête : **Mr Boukhelkhal, Mme Samia, Mme Faiza, Mme Siham, Mr Amine**, qui ont mis tout en œuvre pour que notre stage se déroule dans les meilleures conditions possibles.

Nous tenons à remercier également tous nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie (UAMOB), durant notre cycle d'étude.

Merci à toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Dédicaces

Je dédie cette mémoire à :

Mes très chers parents

C'est une évidence de dire que sans vous rien de tout cela n'aurait été possible, mais c'est tellement vrai. Vous m'avez toujours soutenu dans les bons et les mauvais moments. Tous les mots ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Après tout, c'est grâce à vous que je suis qui je suis avec mes qualités et mes défauts. Merci de m'avoir tant donné sans attendre à recevoir. Puisse Dieu m'aider pour rendre un peu soit-il de ce que vous m'avez donné.

Mes Sœurs Malek et Serine et à mes Frères Rabah et Adem

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 de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux.

Puisse Dieu vous procurer le bonheur et la prospérité.

Mes très chers amis Manel, Liza, khadidja, Nedjma et Rania

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.

Mon binôme Abderrahim et sa famille.

Tous ceux qui m'aiment et tous ceux que j'aime.

Nour El Houda

Je dédier ce travail a :

Mes chères et respectueux parents : Vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer ma reconnaissance, mon amour éternel, et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour ma réussite, vous êtes la lumière de mes jours merci de croire en moi. Puisse Dieu le tout puissant vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Mon frère Ismail, un chemin de lumière et un repère essentiel Je vous dédie ce mémoire en témoignage de mon amour éternel et ma gratitude infinie. Je vous souhaite tout le bonheur et la réussite dans vos études et dans votre vie.

Mes sœurs Fatima et Manel : la lune et le soleil de mon ciel et la joie de ma vie, je vous souhaite tout le bonheur et un parcours plein de réussite.

A la mémoire de :

Mes grands-parents que Dieu les accueille dans son vaste paradis. J'aurais bien voulu qu'ils soient auprès de moi en ce moment, mais le destin en a voulu autrement.

Mes oncles Gharbi Farid et Smaili Rachid décidé trop tôt qui m'ont toujours soutenu, motivé et poussé dans mes études ainsi ma vie personnelle J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu les accueille dans son vaste paradis.

Mes tantes Gharbi Djamilia et Smaili Zehira mon cœur se souvient de nos moments partagés votre absence ne pourra jamais me les faire oublier. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde

Toute ma famille, à mes tantes, oncles, cousins et cousines Que ce travail soit le témoin de toute mon affection, mon estime et mon attachement.

Mes amis Younes, Rafik, Sami, Nedjma, Liza, Ibtissem, Rym, Khadidja pour les moments passés ensemble, veuillez trouver ici mon profond hommage.

Mon binôme Nour el houda et sa famille.

A tous ceux qui me sont chers.

Alderrahim

Partie I : Etude Bibliographique

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Chapitre I : Généralités sur <i>Cassia angustifolia</i>	3
I.1. Le genre Cassia	3
I.2. Description botanique.....	3
I.3. Classification systématique :	4
I.4. Distribution géographique.....	4
I.5. Intérêt thérapeutique.....	5
I.6. Composants chimiques.....	6
I.7. Activités biologiques de <i>C. angustifolia</i>	6
I.7.1 . Activité antioxydante	6
I.7.1.1. Stress oxydatif	6
I.7.1.2. Radicaux libres	7
I.7.1.3. Les antioxydants	7
I.7.1.4. Activité anti oxydante de <i>C. angustifolia</i> :	7
<i>Métabolites secondaires</i>	7
II.1. Généralité	9
II.2. Les composés phénoliques.....	9
II.3. Flavonoïdes.....	10
II.4. Les tannins	11
II.5. Les alcaloïdes	12
II.6. Anthraquinones	12
II.7. Mode d'extraction des polyphénols.....	13
II.7.1. Méthodes d'extraction conventionnelles	13
II.7.1.1 Extraction au Soxhlet.....	14
II.7.1.2 Macération.....	14
II.7.2. Nouvelles méthodes d'extraction	14
II.7.2.1 Extraction par fluide à l'état supercritique	14

II.7.2.2	Extraction assistée par ultrasons (UAE).....	15
II.7.2.3	Extraction assistée par micro-ondes (MAE).....	15
Matériel et méthodes		8
I.1.	Matériel :.....	18
I.1.1.	Matériel biologique	18
I.1.2.	Matériel non biologique	19
I.2.	Méthodes.....	19
I.2.1.	Criblage phytochimique	19
I.2.2.	Extraction des polyphénols.....	21
I.2.2.1.	Extraction par macération.....	21
I.2.2.2.	Extraction au Soxhlet :	22
I.2.2.3.	Extraction par reflux.....	23
I.2.3.	Evaporation.....	24
I.2.4	Rendement d'extraction	24
I.2.5.	Analyses des composés phénoliques	25
I.2.5.1	Dosage des polyphénols totaux	25
I.2.6.	Evaluation des activités biologiques <i>in vitro</i>	26
I.2.6.1.	Test de piégeage du radical libre DPPH	26
I.2.6.2.	Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques.....	27
I.2.6.3.	Évaluation de l'activité antiparasitaire.....	28
I.2.7.	Formulation d'une crème à base des extraits alcooliques des feuilles de <i>C. angustifolia</i>	31
II.	Résultats et discussion.....	8
II.1.	Criblage phytochimique.....	34
II.2.	Rendement d'extraction	37
II.3.	Détermination de la teneur en polyphénols totaux	37
II.4.	Evaluation des activités biologiques <i>in vitro</i>	38
II.4.1.	Evaluation de l'activité antioxydante	38
II.4.2.	Activité antibactérienne	40
II.4.3.	Évaluation de l'activité antiparasitaire	43
II.4.3.1.	Test de fertilité des kystes hydatiques.....	43
II.4.3.2.	Test de viabilité des protoscolex :	44
II.4.3.3.	Evaluation de l'activité scolicide	44

II.5. Contrôle de qualité des crèmes formulées.....	47
II.5.1. Analyse macroscopique	47
II.5.2. Analyse microscopique	47
II.5.3. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)	48
II.5.4. Conditionnement.....	48
II.5.5. Résultats obtenus de l'effet du crème sur la teigne	49
Conclusion.....	50
References bibliographiques.....	52
Annexes.....	61

Liste des abréviations

- BHT Buthylhydroxytoluène
- Co.cal Corpuscule calcaire
- Co.cro Couronne de crochets
- DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- EAG Equivalent d'acide gallique
- FC Folin–Ciocalteu
- MS Matière Sèche
- MAE *Microwave-Assisted Extraction*
- PMAE *Pressurized microwave-assisted extraction*
- *P.v.inv* *Protoscolex vivant invaginé*
- SFE *Pressurized fluid extraction*
- SFMAE *Solvent-free microwave-assisted extraction*
- UAE *ULtrasound assisted extraction*

Liste des figures

Figure 1. <i>Cassia angustifolia</i>	3
Figure 2. Morphologie de la plante <i>C. angustifolia</i>	4
Figure 3. Les différentes parties aériennes de <i>C. angustifolia</i>	4
Figure 4. Répartition géographique des espèces de <i>Senna</i> . Toutes les régions ou les plantes de <i>Senna</i> sont les plus communes sont surlignées en rouge.	5
Figure 5. Activité antioxydante des composés bioactifs des plantes <i>Senna</i> . Les molécules bioactives antioxydantes contenues dans les espèces de <i>Senna</i> neutralisent les radicaux libres en libérant des électrons	8
Figure 6. Structures de base des flavonoïdes	10
Figure 7. Structures chimiques de différents flavonoïdes	11
Figure 8. Structure d'acide gallique, l'unité structurale de base des tanins hydrolysables	12
Figure 9. Structures de base des anthraquinones	13
Figure 10. Méthodes conventionnelles et modernes pour l'extraction des polyphénols d'origine végétale	13
Figure 12. La démarche expérimentale.....	17
Figure 13. Les feuilles de <i>Senna Makki</i> (A) et leur poudre (B). (Original)	18
Figure 14. Procédé de l'extraction par macération. (Original).....	22
Figure 15. Schéma de l'extraction par macération.....	22
Figure 16. Extracteur Soxhlet conventionnel.....	23
Figure 17. Extracteur reflux.....	24
Figure 18. Dosage des polyphénols totaux des extraits de <i>C. angustifolia</i> par la méthode du réactif de Folin–Ciocalteu (Original).....	26
Figure 19. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>C. angustifolia</i> . (Original).....	27
Figure 20. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de <i>C. angustifolia</i> par la méthode de diffusion des disques. (Original).....	28
Figure 21. Evaluation de l'activité antiparasitaire des extraits de <i>C. angustifolia</i> .(Original)	30
Figure 22. Les différentes étapes de formulation de la crème à base d'un extrait alcoolique des feuilles de <i>cassia angustifolia</i> . (Original).....	32
Figure 23. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	38
Figure 24. Capacité antioxydante totale des extraits de <i>C. angustifolia</i> évaluée par le test de DPPH.....	40
Figure 25. Aspect des cultures bactériennes et des zones d'inhibition en présence des extraits.	41
Figure 27. Examens microscopiques des protoscolex de kyste hydatique fertile au G X40. (Photo originale)	44
Figure 28. Aspect du protoscolex vivant (A) et protoscolex mort (B) observe au G X 40 (Photo Originale)	44
Figure 29. Aspects morphologiques des protoscolex exposés aux différentes concentrations des extraits obtenus (observe aux G X 10 et X 40). (Photos originales)	46
Figure 30. Aspect de la crème après l'étalement sur une surface plane.	47
Figure 31. Structure microscopique de la crème formulée à base de l'extrait éthanolique (a) et l'extrait méthanolique (b) de <i>C.angustifolia</i> , respectivement.	48
Figure 32. Présentation de la crème Biocasa dans des tubes de 50 mL.....	48

Figure 33. Evolution de l'infection cutanée jusqu'à la guérison	49
--	----

Liste des tableaux

Tableau I : Réactifs chimiques et appareillages	19
Tableau II . Les composants utilisés pour faire une crème antifongique à base d'extraits alcooliques de <i>C. angustifolia</i> et leur fonction.....	31
Tableau III . Mise en évidence de certaines familles de métabolites secondaires dans l'extrait et la poudre des feuilles de <i>C. angustifolia</i>	34
Tableau IV . Rendement, aspect et couleur de différents extraits du <i>c. angustifolia</i>	37
Tableau V . Résultats du dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits des feuilles de <i>C. angustifolia</i> ..	38
Tableau VI . Activité antioxydante des extraits obtenus exprimée en valeurs IC ₅₀	40
Tableau VII . Résultats des tests de diffusion sur disque pour les extraits de <i>C. angustifolia</i> (zones d'inhibition en mm).....	42
Tableau VIII . Effet scolicide de différentes concentrations de l'extrait éthanolique et méthanolique de <i>C.angustifolia</i> sur le taux de mortalité des protoscolex du kyste hydatique à divers temps d'exposition.	45
Tableau IX . Effet scolicide de différentes concentrations de l'extrait éthanolique par reflux et Soxhlet de <i>C.angustifolia</i> sur le taux de mortalité des protoscolex du kyste hydatique à divers temps d'exposition.	45

Introduction

« Le meilleur médecin est la nature : elle guérit les trois quarts des
maladies et ne dit jamais de mal de ses confrères. »

Louis Pasteur

Introduction

La phytothérapie est un domaine de la médecine qui utilise les plantes pour traiter les maladies ou comme agents de promotion de la santé. On l'appelle souvent herboristerie en médecine occidentale. L'utilisation traditionnelle des phytothérapies préserve généralement la composition originale et l'intégrité de la plante source, de sorte que soit la plante entière, soit un pourcentage désiré de ses composants minimalement falsifiés, est utilisé à des fins médicinales. Plusieurs traditions médicales utilisent des thérapies à base de plantes, y compris la médecine anthroposophique, la médecine naturopathique, la médecine traditionnelle chinoise (MTC), la médecine ayurvédique et la médecine allopathique (**Falzon & Balabanova, 2017**).

Depuis longtemps, les plantes médicinales sont utilisées comme remèdes aux maladies humaines parce qu'elles contiennent des centaines, voire des milliers de composés chimiques actifs appelés métabolites secondaires. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 80 % de la population mondiale utilise des médicaments non conventionnels, en particulier des plantes, dans ses soins de santé primaires. L'importance de l'utilisation des plantes médicinales est liée à leur teneur en métabolites secondaires comme les polyphénols, les flavonoïdes et les huiles essentielles. En raison de sa richesse en plantes médicinales et endémiques, la flore algérienne joue un rôle important dans le soutien de la médecine traditionnelle, largement pratiquée dans le pays. Plusieurs plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle en Algérie constituent une source inépuisable de substance bioactive dotée de nombreuses propriétés pharmacologiques.

À l'heure actuelle, plusieurs questions ont été soulevées au sujet de l'innocuité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire ; le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont mené à la recherche de substances naturelles ayant des antioxydants et des activités antimicrobiennes. Plusieurs espèces d'*angustifolia* ont attiré des chercheurs en raison de leur contenu en composants chimiques, parmi lesquels *Cassia angustifolia*, communément appelée « Senna ». (**Boudjouref Mourad et al., 2014**)

Cassia angustifolia ou *Senna* a d'abord été découvert poussant à l'état sauvage autour de l'ancienne et bénie ville de Makkah, dans le coeur de la vieille province de Hijaz. La plante pousse avec abondance et a d'abord été utilisé comme phytothérapie par le Saint Prophète Muhammad (**Shazia Sultana, 2012**).

Le Senna est largement utilisé comme purgatif, laxatif, expectorant, pansement, antidysentrique et carminatif. Les feuilles de Senna sont couramment utilisées comme laxatif naturel

à la fois dans les systèmes modernes et traditionnels de médecine. Le sennoside de calcium est une forme populaire de dispensation utile dans la constipation habituelle en médecine moderne. Cependant, les feuilles ont une demande internationale et sont préférées comme ingrédient de la tisane en Europe (**Rama Reddy et al., 2015**).

Cette plante est acceptée par la pharmacopée tant au Royaume-Uni et aux États-Unis et les feuilles et les gousses de *C. angustifolia* sont utilisés pour le traitement sous forme de décoction des vers intestinaux. Elle est également largement utilisée comme un antipyrétique dans la typhoïde, élargissement de la rate, traitement de choléra, agent laxatif, anémie, toxicité et génotoxicité induite par *E.coli* (**Albrahim et al., 2021**).

Echinococcus granulosus est un parasite commun dans certaines parties du monde, et il est présent sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique (**Pakala et al., 2016**). Les organismes d'*Echinococcus*, cause de l'échinococcose (maladie de kyste hydatique), sont des helminthes parasites dont le cycle biologique implique un hôte définitif carnivore (généralement un chien ou un renard) et un hôte intermédiaire (humain, ongulé ou rongeur) (**Zhang et al., 2008**).

Notre travail s'articule essentiellement autour des points suivants :

Fractionnement et identification des différents composés chimiques majoritaires contenus dans les feuilles de *C. angustifolia* ; l'extraction des composés phénoliques contenus dans la plante par différentes méthodes ;

dosage des antioxydants ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus ; déterminer le potentiel bactéricide des extraits de *C. angustifolia* ; l'étude de l'effet de l'extrait polyphénolique de *C. angustifolia* (agents scolicide) sur la morphologie et la viabilité d'*Echinococcus granulosus* (effet anti-hydatique).

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

**Chapitre I : Généralités sur *Cassia
angustifolia***

I.1. Le genre *Cassia*

La plante *C. angustifolia* (Figure 1), un membre de la famille des *Fabaceae*, est l'une des herbes importantes utilisées dans les systèmes de médecine allopathique et ayurvédique (Peter Amaladhas et al., 2012). Cette espèce peut se trouver dans de vastes habitats, dans des conditions climatiques, des latitudes et des continents distincts comme l'Amérique, l'Afrique et l'Océanie et, dans une moindre mesure, dans les îles de l'Asie et du Pacifique.

Les plantes *Senna* colonisent les forêts (humides et sèches), les déserts (froids et secs) et les affleurements rocheux. Certaines espèces ornementales sont largement utilisées pour le jardinage paysager en raison des inflorescences jaunes attrayantes et de la grande adaptabilité des sols et des conditions environnementales (Alshehri et al., 2022).

Récemment, certaines espèces des climats désertiques ont été proposées pour prévenir ou bloquer la désertification dans les zones arides. L'utilisation de l'espèce *Cassia* est signalée dans l'ancienne littérature ayurvédique comme laxatif, antipaludique, relaxant et anti-inflammatoire. À ce jour, le genre est également reconnu pour ses composés biologiquement actifs et ses propriétés médicinales. (Alshehri et al., 2022)



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

Cassia, un genre appartenant à la famille *Fabaceae*, contenant quelque 600 espèces. Les glycosides d'anthraquinones se trouvent dans les feuilles et les gousses de *C. angustifolia* Vahl et sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique, en particulier les sennosides a et b (Albrahim et al., 2021).

I.2. Description botanique

C. angustifolia est un petit arbuste érigé et vivace qui atteint 100-120 cm de hauteur. Les feuilles de la plante sont pennées, avec des folioles étroites, aiguës, lancéolées et glabres, de couleur vert pâle (voir Figures 2, 3). Les fleurs de couleur jaune vif apparaissent sous forme d'une inflorescence racémeuse de 30-45 cm de longueur. Les gousses ont une longueur de 4-7 cm, contenant 5-7 graines brun foncé et presque lisses (Figure 3) (Tripathi, 1999).



Figure 2. Morphologie de la plante *C. angustifolia* (Naureen *et al.*, 2022).

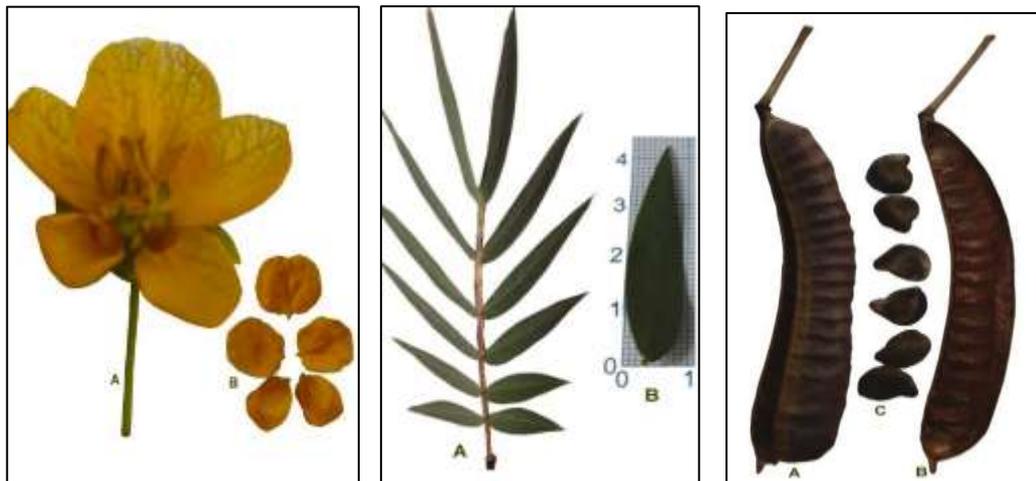


Figure 3. Les différentes parties aériennes de *C. angustifolia* (Săvulescu *et al.*, 2018)

I.3. Classification systématique :

La classification de *Cassia angustifolia* est établie comme suivant :

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

I.4. Distribution géographique

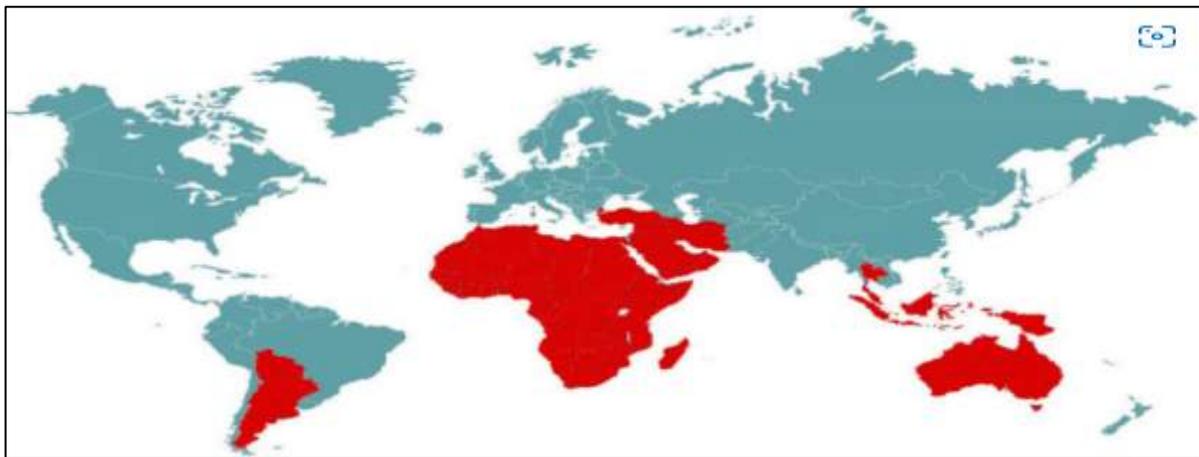
Les plantes du genre *Senna* sont présentes dans toutes les régions tropicales et poussent

bien sur les friches, les berges des rivières, les champs humides non cultivés, ou des zones similaires dans la région côtière de basse altitude. Elles poussent également à des endroits avec

des altitudes allant jusqu'à 1000-1400 m (Figure 4) (Alshehri *et al.*, 2022).

L'histoire évolutive de *Senna* est également liée aux terres arides que ce genre peuple actuellement, comme les déserts et les régions xérophiles d'Amérique du Sud, dans le sud de la Bolivie, le sud-est du Paraguay, et le centre et le nord-ouest de l'Argentine (Figure 4). Plusieurs types de recherches menées sur des plantes du genre *Senna*, poussant dans diverses conditions climatiques, ont révélé une variation du phénotype entre les individus au sein des espèces qui pourrait découler de la plasticité phénotypique (Alshehri *et al.*, 2022).

Figure 4. Répartition géographique des espèces de *Senna*. Toutes les régions où les plantes



de *Senna* sont les plus communes sont surlignées en rouge. (Alshehri *et al.*, 2022)

La séparation géographique et/ou la variation morphologique entre les individus de *Senna* provoque la formation d'espèces et de sous-espèces dans un habitat différent, grâce aux stratégies d'adaptation. L'Amérique compte la majorité des espèces *Senna* (74 %), suivie de l'Australie avec 13 % des espèces et de l'Afrique et/ou de Madagascar avec 10 %, tandis que seules quelques espèces proviennent du Proche-Orient, de l'Asie du Sud-Est et des îles du Pacifique. Environ 19 espèces dans la région floristique d'Afrique de l'Ouest, l'ensemble des 19 espèces au Nigéria et au moins 8 espèces dans le sud-ouest du Nigéria, avec une grande variété d'habitats, allant des arbres (près de 34 m de hauteur) aux herbes annuelles prostrées. Il y a environ 18 espèces de *Senna* en Afrique australe (Alshehri *et al.*, 2022).

I.5. Intérêt thérapeutique

La plante ayant une importance médicinale mentionnée dans le Saint Coran et les Hadiths, et l'identification de composés phytochimiques actifs ayant des propriétés antivirales qui peuvent être utilisées pour la guérison des maladies respiratoires et d'autres maladies virales contagieuses, y compris le COVID 19 (Naureen et al., 2022).

Le séné est un puissant cathartique utilisé dans le traitement de la constipation, agissant par une stimulation du péristaltisme intestinal. Le séné est également utilisé comme expectorant, comme pansement, comme antidysentérique et comme agent carminative. Il est utile dans le traitement de la gonorrhée, des maladies de la peau, de la dyspepsie et la fièvre. La plante est utilisée sous forme de matière végétale brute ou de poudre, en infusion orale ou en extraits (liquides ou solides). Il est toujours conseillé d'utiliser le médicament sous la supervision d'un médecin, car l'utilisation excessive du séné peut avoir des effets indésirables entraînant des douleurs d'estomac soudaines et intenses et des coliques ou des douleurs abdominales (Jnanasha et al., 2018).

I.6. Composants chimiques

La plante contient chimiquement les sennoside A, B, C et D. Ces derniers sous forme de diglucosides de sennidines sont présents dans la feuille et la gousse de cette plante. *C. angustifolia* est utilisé pour ses propriétés purgatives. Ensemble, les Sennoside A et B sont responsables de 40 à 60% de l'activité du *Senna* brut. La plante contient également de la rhéine, de l'aloé-émuline, du chrysophanol et leurs glycosides.

En outre, le *Senna* contient des glycosides de naphthalène (glycoside de tinnevelline et glycoside de 6-hydroxymusizine), du flavonoïde (kaempferol), des phytostérols, de l'alcool myricylique, de l'acide salicylique, de l'acide chrysophénique, du mucilage, de la résine et de l'oxalate de calcium.

Dans la fraction de la famille des flavanoïdes, le *Senna* contient la coloration jaune flavanol. Les matières kaempferol (3, 4, 5, 7- trihydroxyflavone), sont le glucoside (kaempferin) et isorhamnetine, β -sitostérol, oxalate de calcium, mucilage, résine, saponines et hydrocolloïdes polysaccharidiques sont également présentes. (Singanaboina et Chinna, 2018)

I.7. Activités biologiques de *C. angustifolia*

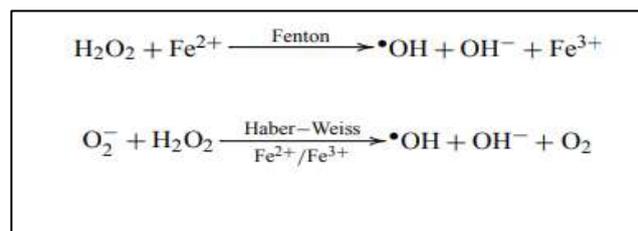
I.7.1 . Activité antioxydante

I.7.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre de la balance "oxydant-antioxydant" en faveur des oxydants, entraînant des dommages oxydatifs sur tous les composants cellulaires : modifications des lipides, des récepteurs et des enzymes avec destruction des membranes cellulaires, protéines avec mutations, acides nucléiques avec mutations et risque de cancer. Par conséquent, un stress oxydatif peut survenir après une surproduction d'oxydants tels que les espèces réactives de l'oxygène et/ou une baisse des systèmes de défense antioxydants. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont principalement représentées par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde (O_2^-) et le radical hydroxyle (OH) (Sergent *et al.*, 2001).

I.7.1.2. Radicaux libres

Les radicaux libres ont la propriété de présenter au moins un électron libre dans l'orbite externe et de réagir avec les molécules environnantes pour appairer cet électron, lui conférant une réactivité et une toxicité extrêmes. Considéré comme l'un des plus réactifs, les radicaux



OH (durée de vie limitée à quelques nanosecondes) sont issus des réactions de Fenton et Haber-Weiss impliquant H_2O_2 et O_2 (Sergent *et al.*, 2001).

Catalysées par le fer :

I.7.1.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques qui sont naturellement présents dans les aliments et aussi dans le corps humain. Ces substances jouent un rôle vital dans la prévention des dommages cellulaires causés par la destruction oxydative résultant de la génération de radicaux libres (Defraigne et Pincemail, 2008).

I.7.1.4. Activité anti oxydante de *C. angustifolia* :

Plusieurs études sur *C. angustifolia* rapportent que les extraits de cette plante présentent des propriétés antioxydante (Figure 5). La neutralisation des radicaux libres par les polyphénols contenus justifie les activités antioxydantes du genre *Senna*. La capacité antioxydante et la teneur totale en polyphénols du genre *Senna* ont été étudiées par des expériences *in vitro* et *in vivo*. (Alshehri *et al.*, 2022)

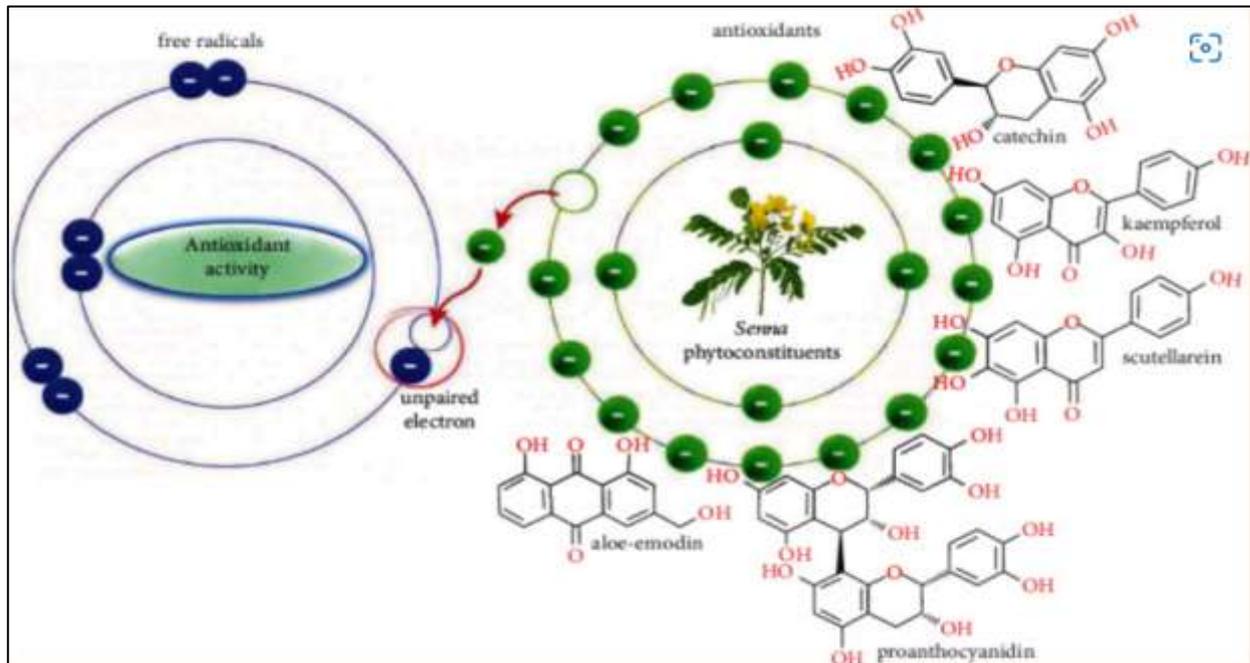


Figure 5. Activité antioxydante des composés bioactifs des plantes *Senna*. Les molécules bioactives antioxydantes contenues dans les espèces de *Senna* neutralisent les radicaux libres en libérant des électrons (Alshehri *et al.*, 2022).

I.7.2. Activité anti-parasitaire :

De nombreuses études ont signalé des activités anti-protozoaires du genre *Senna* comme échinococcose, la maladie hydatide, aussi appelée hydatidose, qui est une maladie kystique résultant d'une infection par le métacestode, ou forme larvaire, de ténias parasites de chien du genre *Echinococcus*.

La grande majorité des maladies humaines sont d'*Echinococcus granulosus* et d'*Echinococcus multiocularis* qui causent l'échinococcose kystique et l'échinococcose alvéolaire. Les humains peuvent être infectés par l'ingestion d'aliments et d'eau contaminée par des œufs infectieux libérés dans les selles des chiens abritant le ver à ruban adulte (Baqer *et al.*, 2014).

Métabolites secondaires

II.1. Généralité

Les plantes produisent un vaste assortiment diversifié de composés organiques, dont la grande majorité ne semble pas participer directement à la croissance et au développement. Ces substances appelées métabolites secondaires sont souvent réparties de façon différentielle entre des groupes taxonomiques limités au sein du règne végétal. Leurs fonctions, dont beaucoup restent inconnues, sont élucidées de plus en plus fréquemment (**Croteau *et al.*, 2000**).

Chaque espèce végétale possède son propre ensemble spécifique de métabolites secondaires. Environ 100.000 composés des plantes sont maintenant connus, avec environ 4000 nouveaux sont découverts chaque année (**Verpoorte *et al.*, 1999**). Au cours des dernières années, l'intérêt pour le métabolisme secondaire des plantes s'est rapidement accru. En particulier, les possibilités de modification génétique ont ouvert des perspectives intéressantes pour l'exploitation de la capacité biosynthétique des plantes et des cellules végétales (**Verpoorte *et al.*, 1999**). Ces métabolites secondaires pourraient représenter dans un avenir proche une nouvelle frontière et un défi pour le développement de nouveaux composés anticancéreux, anti-inflammatoires et antimicrobiens (**Epifano *et al.*, 2007**) .

Les métabolites secondaires peuvent être classés en plusieurs groupes principaux : composés phénoliques, terpéniques et stéroïdes, et composés azotés, y compris les alcaloïdes. Chacune de ces classes contient une très large gamme de composés avec un très large éventail d'activités en biologie humaine (**Krief, 2003**).

II.2. Les composés phénoliques

La famille des composés phénoliques comprend un grand nombre de produits végétaux secondaires qui diffèrent par leur structure chimique et leur réactivité, allant de composés simples à des composés hautement polymérisés et qui proviennent de la phénylalanine et, dans une moindre mesure, de la tyrosine, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique (groupement phénol) comportant au moins un ou plusieurs groupes hydroxyles (OH). Plus de 8000 structures phénoliques ont été signalées et elles sont largement dispersées dans tout le règne végétal. Les plantes contiennent une grande variété de dérivés phénoliques et les groupes phénoliques les plus pertinents pour la santé humaine sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les stilbènes (**Watson, 2014**).

Les composés phénoliques ont suscité beaucoup d'intérêt ces dernières années en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé des humains, de leurs propriétés antioxydantes puissantes, de leur abondance dans l'alimentation et de leurs effets crédibles dans la prévention de divers maladies liées au stress (Watson, 2014).

II.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux (Jean, 2009). Ils constituent le groupe le plus important et le plus diversifié de composés phytochimiques dans les plantes, présentent un large éventail de fonctions importantes, y compris les interactions entre la pigmentation et les agents pathogènes, la fertilité et la protection contre les rayons UV (Watson, 2014).

Le squelette de base des flavonoïdes se compose de deux anneaux aromatiques avec six atomes de carbone (anneaux A et B) liés par un hétérocycle comprenant trois atomes de carbone (anneau C) (C6-C3-C6) (Figure 6). Les modifications de l'hétérocycle central divisent les flavonoïdes en différentes classes structurales : les flavones, les flavonols (ex. quercétine), les flavanones, les isoflavonoïdes, les anthocyanes (ex. cyanidine), les flavanols, aussi appelés flavan-3-ols [ex. monomérique (catéchine et épicatechin), oligomères (proanthocyanidines) et composés polymériques aussi appelés tanins condensés], chalconoïdes (ex. chalcone), dihydrochalcones et aurones (Figure 6). (Watson, 2014)

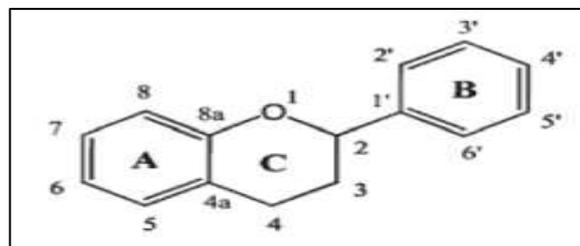


Figure 6. Structures de base des flavonoïdes (Watson, 2014).

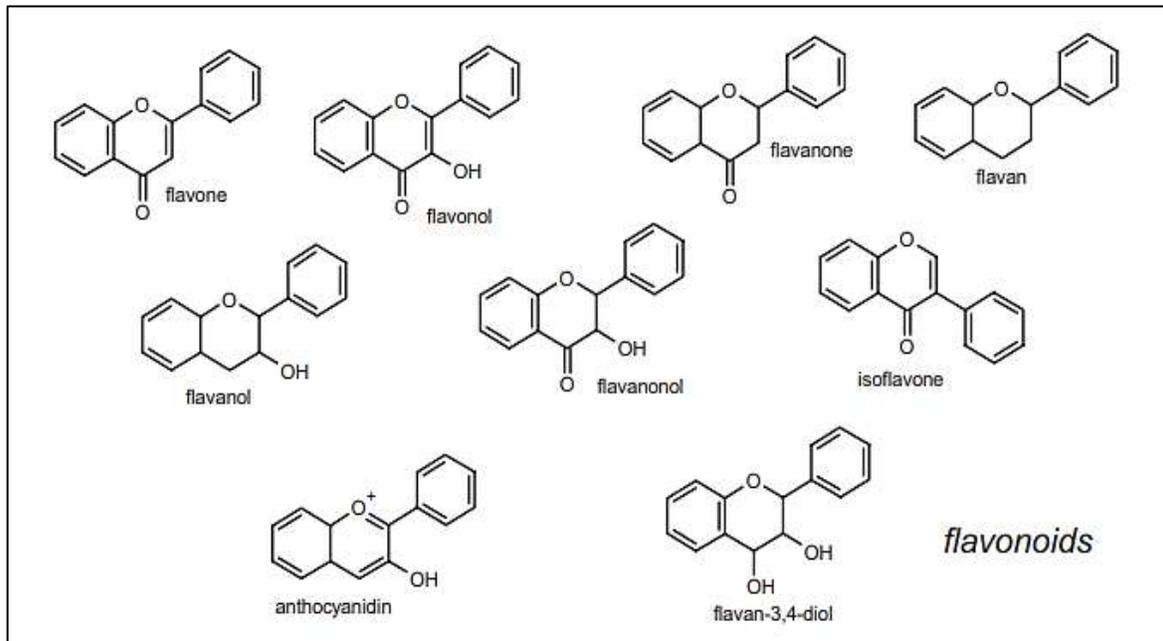


Figure 7. Structures chimiques de différents flavonoïdes (Watson, 2014)

II.4. Les tannins

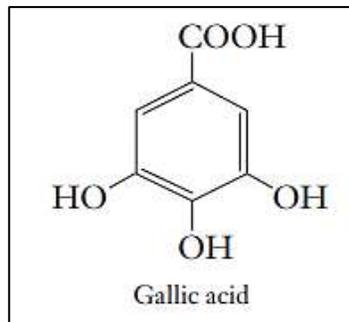
Le nom tannin est dérivé de la pratique historique consistant à utiliser des extraits de plantes pour « tanner » les peaux d'animaux, c'est-à-dire pour convertir les peaux en cuir. Ces extraits contiennent un mélange de dérivés phénoliques chimiquement complexes qui se lient aux protéines et donc les dénaturent (Hopkins et Hüner, 2008). Les tannins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (vin, thé, bière...) « une sensation forte, un peu désagréable en bouche pour laquelle on note des tannin » (Macheix *et al.*, 2005).

De plus, les tannins ont tendance à réduire l'efficacité de l'utilisation des aliments, le taux de croissance et la survie. L'interprétation conventionnelle a été que les tannins réduisent la digestibilité des protéines alimentaires, probablement en se liant avec des protéines dans l'intestin (Hopkins et Hüner, 2008).

Deux catégories de tannins sont désormais reconnues : les tannins condensés et les tannins hydrolysables.

- Les tannins condensés sont des polymères d'unités flavonoïdes liées par de fortes liaisons carbone-carbone. Ces liaisons ne sont pas soumises à l'hydrolyse mais peuvent être oxydées par un acide fort pour libérer des anthocyanidines.

- L'unité structurale de base des tanins hydrolysables est un sucre, habituellement du glucose, avec ses groupes hydroxyles estérifiés en acide gallique (Figure 8) (Hopkins et Hüner, 2008).



Hüner, 2008).

Figure 8. Structure d'acide gallique, l'unité structurale de base des tanins hydrolysables (Hopkins et Hüner, 2008).

II.5. Les alcaloïdes

Pour le biologiste, l'alcaloïde est un produit naturel pur et parfait. Du point de vue biologique, l'alcaloïde est tout composé chimique biologiquement actif et hétérocyclique qui contient de l'azote et peut avoir une certaine activité pharmacologique et, dans de nombreux cas, une utilisation médicinale ou écologique. Cette définition, relativement large et fondée sur l'application, peut être critiquée comme inexacte. La nature biologique et chimique de ce groupe de composés conduit à la conclusion que chaque définition d'alcaloïdes est trop large ou trop étroite. Une courte définition exacte n'est pas possible sans une longue liste d'exceptions (Aniszewski, 2007).

Les points les plus importants sont que les alcaloïdes représentent un groupe spécial de produits chimiques qui sont actifs à différents niveaux cellulaires des organismes, et qu'ils prennent part aux processus biologiques des plantes, des animaux et des micro-organismes (Aniszewski, 2007).

II.6. Anthraquinones

Les anthraquinones sont des principes actifs assez fréquents chez *Cassia*. Elles appartiennent à la famille des anthracénosides et existent dans les plantes à l'état de génine libre ou sous forme d'hétéroside. Le squelette de base des anthraquinones se compose de trois cycles accolés (Figure 9) (Marref, 2019).

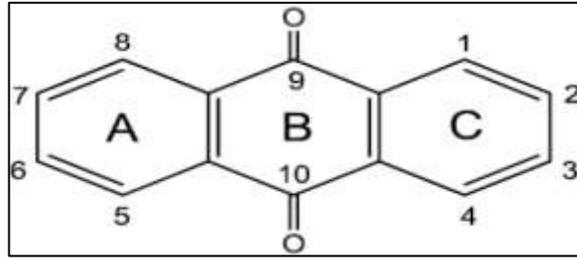


Figure 9. Structures de base des anthraquinones (Marref, 2019)

II.7. Mode d'extraction des polyphénols

Diverses méthodes d'extraction ont été signalées pour l'extraction des polyphénols, notamment l'extraction par micro-ondes, par ultrasons, par Soxhlet et l'extraction par reflux thermique (Figure 10) (Rajbhar *et al.*, 2014).

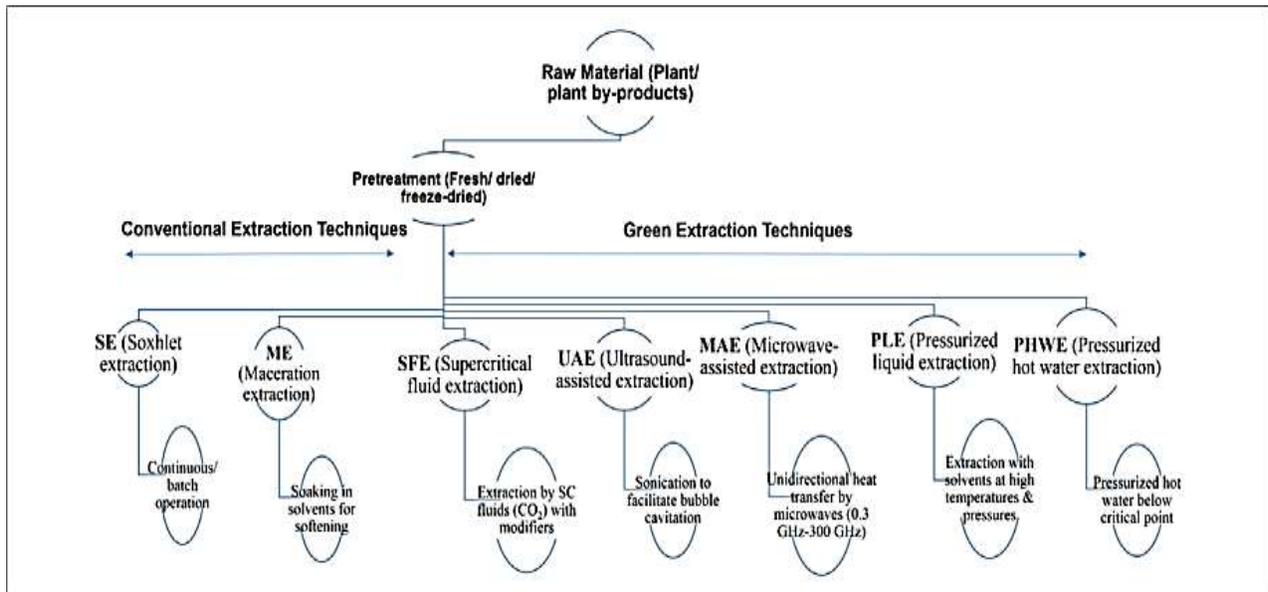


Figure 10. Méthodes conventionnelles et modernes pour l'extraction des polyphénols d'origine végétale (Ameer *et al.*, 2017).

II.7.1. Méthodes d'extraction conventionnelles

Les méthodes conventionnelles sont basées sur l'extraction solide-liquide avec divers solvants. L'extraction par solvant d'échantillons solides, communément appelée « extraction solide-liquide », mais qui devrait plutôt être appelée « leaching » ou « lixiviation » pour respecter plus strictement son fondement physique-chimique, est l'une des plus anciennes

techniques de préparation d'échantillons solides. Elle sert non seulement à éliminer et à séparer les composés d'intérêt des fractions insolubles de poids moléculaire élevé, mais aussi d'autres composés qui pourraient interférer avec les étapes subséquentes du processus d'analyse (**Luque de Castro et Priego-Capote, 2010**).

II.7.1.1 Extraction au Soxhlet

L'extracteur Soxhlet a été inventé par Franz von Soxlet en 1879. Ce dispositif a des applications majeures en chimie pour séparer les espèces peu solubles des matrices à l'état solide. L'extraction par Soxhlet dépend fortement des propriétés de la matrice et de la taille des particules, car la diffusion interne peut être une étape limitante lors de l'extraction (**Oreopoulou et al., 2019**).

L'extraction par Soxhlet est avantageuse parce qu'elle nécessite moins de temps et moins de solvant par rapport aux méthodes de percolation et de macération. Cependant, il est nécessaire de manipuler soigneusement le processus d'extraction du Soxhlet parce que des rapports ont mis en évidence l'influence de la chaleur excessive sur les polyphénols thermolabiles. Un autre avantage de la méthode d'extraction par Soxhlet est sa commodité (**Alara et al., 2021**).

II.7.1.2 Macération

La macération est devenue populaire car c'est un moyen simple et peu coûteux d'extraire des composés phénoliques. Classiquement, le lessivage a été largement réalisé par macération, basé sur le choix correct des solvants et l'utilisation de la chaleur et/ou de l'agitation pour augmenter la solubilité des composés et le taux de transfert de masse (**Luque de Castro et Priego-Capote, 2010**).

Les solvants devraient avoir des propriétés appropriées comme le coefficient de distribution, la sélectivité, la solvabilité, la récupérabilité, la densité, la tension interfaciale et la réactivité chimique (**Oreopoulou et al., 2019**).

II.7.2. Nouvelles méthodes d'extraction

II.7.2.1 Extraction par fluide à l'état supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de

solvation accru (Nadjib et Amine, 2019).

Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait.

La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles (Nadjib et Amine, 2019).

II.7.2.2 Extraction assistée par ultrasons (UAE)

L'extraction assistée par ultrasons utilise l'énergie ultrasonique de haute intensité créée par l'implosion des bulles de cavitation. L'effondrement des bulles peut produire des effets physiques, chimiques et mécaniques, ce qui a entraîné la perturbation des membranes biologiques et améliore la pénétration du solvant dans la matrice de l'échantillon et augmente la surface de contact entre les phases solide et liquide, ce qui facilite le rejet de composés extractibles dans le solvant d'extraction (Watson, 2014).

Récemment, les UAE ont été largement utilisées dans l'extraction de divers composés phénoliques de différentes parties des plantes telles que les feuilles, les tiges, les fruits et les graines de plantes (Dai et Mumper, 2010). L'extraction assistée par ultrasons est une alternative simple, écologique et efficace aux techniques d'extraction conventionnelles. Les principaux avantages de la méthode sont la simplicité d'utilisation et de faibles exigences instrumentales. Les appareils à ultrasons comprennent un bain à ultrasons principalement utilisé pour les extractions à petite échelle ou un système de sonde à ultrasons pour l'extraction industrielle à grande échelle (Watson, 2014).

II.7.2.3 Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

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

L'utilisation des micro-ondes dans l'extraction de produits naturels a commencé à la fin des années 80 et, grâce aux progrès technologiques, elle est maintenant devenue l'une des plus

populaires et des plus coûteuses méthodes d'extraction efficaces disponibles avec plusieurs instrumentations et méthodologies maintenant disponibles, ex. extraction assistée par micro-ondes sous pression (PMAE) et extraction assistée par micro-ondes sans solvant (SFMAE). Cette méthode permet d'extraire plusieurs échantillons quantitatifs en quelques minutes, avec une reproductibilité accrue et une consommation de solvant réduite (**Rajbhar et al., 2014**).

Partie II : Etude expérimentale

Matériel et méthodes

Notre étude de recherche a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie de département de biologie-faculté des sciences de la nature et de la vie SNV-ST et au sein de la sous-direction Laboratoire de Contrôle Qualité, Laboratoire physico-chimique et microbiologique, Groupe Industriel SAIDAL site de production Dar EL Beida.

Les étapes de l'expérimentation sont présentées dans la Figure 11.

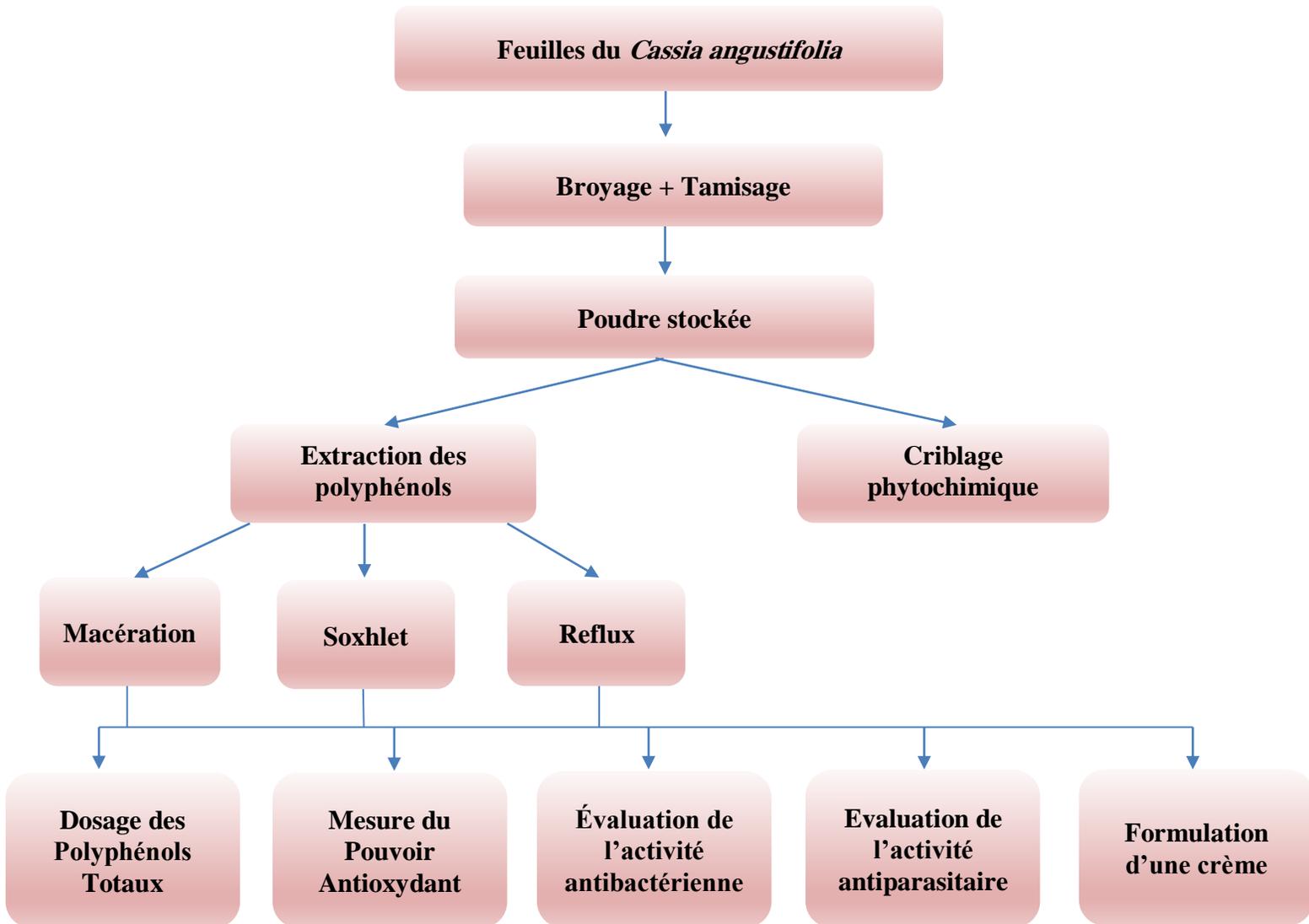


Figure 11. La démarche expérimentale.

I.1. Matériel :

I.1.1. Matériel biologique

- **Matériel végétale**

Les feuilles de *C. angustifolia* ont été achetées auprès d'un herboriste dans la région de Lakhdaria (Nord de l'Algérie) (figure 13. A). Après un nettoyage minutieux et l'enlèvement des matières étrangères, les feuilles de *C. angustifolia* ont été pulvérisées en poudre fine avec un moulin électrique (Figure 13.B), ensuite la poudre a été bien stockée dans un récipient hermétique pour éviter l'effet de l'humidité.

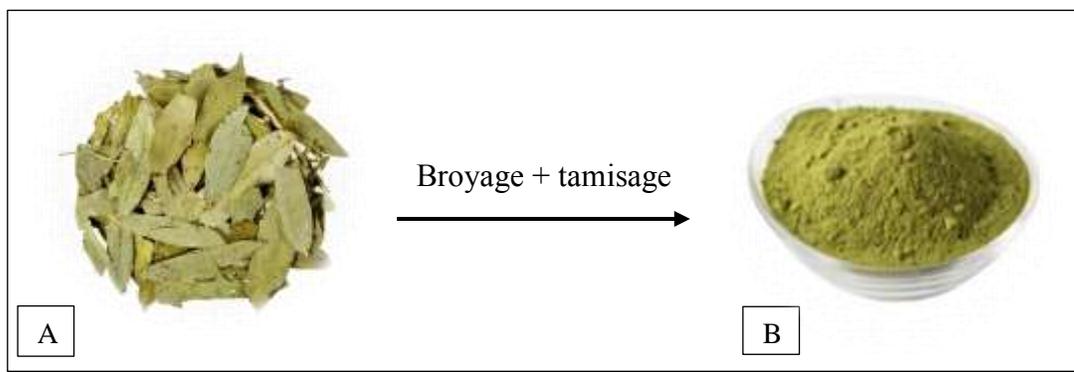


Figure 12. Les feuilles de Senna Makki (A) et leur poudre (B). (Original)

- **Souches microbiennes utilisées**

Les 3 souches utilisées pour le présent travail ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie de Groupe industriel SAIDAL. Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne de *C. angustifolia* sont les suivants : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (bactéries Gram+) et *Escherichia coli* (bactéries Gram-).

Cette étude a été menée sur des bactéries pathogènes pour l'Homme afin de mettre en évidence l'intérêt médical de Séné. Toutes les bactéries choisies pour cette étude ont des effets délétères dans les domaines biologique, agroalimentaire et cosmétique (voir annexe 1).

- **Les kystes hydatiques**

Les kystes hydatiques ont été obtenus à partir de l'abattoir Hadja Fatima (Ain Bessem Wilaya du Bouira). La recherche des kystes hydatiques a été effectuée principalement sur le foie de mouton. L'organe parasité a été transporté dans une glacière et acheminés jusqu'au laboratoire

de biochimie au niveau de la faculté SNV-ST.

I.1.2. Matériel non biologique

Réactifs chimiques et appareillages : Plusieurs réactifs chimiques et appareillages ont été utilisés dans la présente étude (**Tableau I**).

Tableau II : Réactifs chimiques et appareillages

Appareils	Réactifs
Agitateur magnétique	Ethanol ; méthanol
Autoclave	Acide chlorhydrique (HCl)
Balance de précision	Acétate de sodium ($C_2H_3NaO_2$)
Broyeur électrique	Ammoniac ($NH_4 OH$)
Bain-marie	Acide gallique
Conductimètre	Butylhydroxytoluène (BHT)
Evaporateur rotatif	Chlorure ferrique ($FeCl_3$)
Etuve	Chloroforme ($CHCl_3$)
Plaque chauffante	Carbonate de sodium ($Na_2 CO_3$)
PH mètre	Hydroxyde de sodium (NaOH)
Spectrophotomètre UV-visible	Hydroxyde de potassium (KOH)
Vortex	Folin–Ciocalteu (FC)

I.2. Méthodes

I.2.1. Criblage phytochimique

Cette étude qualitative est basée sur des réactions de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques. Les extraits médicinaux ont été soumis à un dépistage préliminaire pour déceler la présence ou l'absence de constituants phytochimiques tels que des alcaloïdes, des composés phénoliques, flavonoïdes, saponines, tanins et des anthraquinones.

Nous avons caractérisé les différents groupes chimiques par référence aux techniques décrites dans les travaux de (**Dohou et al. (2003)**), (**N'Guessan et al. (2009)**), (**VijayaSekhar et al. (2016)**) et (**Marref (2019)**).

- Préparation de l'infusé (l'extrait aqueux)

Pour préparer l'extrait aqueux, nous avons infusé 5g de la poudre sèche des feuilles de *C.*

Angustifolia dans 100 mL d'eau distillée, pendant 15 min. L'infusé a été filtré pour produire l'extrait aqueux.

a) Détection des tannins

La caractérisation des tanins s'est effectuée par le test de chlorure ferrique (**VijayaSekhar et al., 2016**). A 5 mL du filtrat clair, 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique à 10% a été ajoutée. Ceci a été observé par un changement de couleur au noir bleuâtre.

b) Détection des tanins galliques

Pour les tanins galliques, l'acétate de sodium a été ajoutée à 5 mL d'infusé. L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ provoquerait l'apparition d'une coloration bleu-noir intense, signe de la présence de tanins galliques (**N'Guessan et al., 2009**).

c) Détection des saponosides

Leur présence est déterminée par le test de mousse (**VijayaSekhar et al., 2016**). 5 mL d'infusé à 5% de poudre végétale a été dilué avec de l'eau distillée à 10 mL et cela a été agité dans un cylindre gradué pendant 15 min. La formation d'une couche de mousse persistante de 1 cm indique la présence de saponosides.

d) Détection des anthocyanes

L'extrait a été ajouté à 2 mL de HCl 2 N et d'ammoniac. L'apparition initiale de la couleur rose-rouge se transformant en bleu-violet indique la présence d'anthocyanes (**VijayaSekhar et al., 2016**).

e) Détection des coumarines

Trois (3) mL de NaOH 10% ont été ajoutés à l'extrait. La formation d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (**VijayaSekhar et al., 2016**).

f) Test des mucilages

Un volume de 1 mL de l'infusé a été mélangé avec 5 mL d'éthanol absolu. La formation d'un précipite floconneux indique la présence des mucilages.

g) Détection des anthraquinones

➤ **Préparation de l'extrait chloroformique**

Dans un tube à essai, 1 g de la poudre végétale a été mouillée avec 10 ml de chloroforme ensuite nous avons procédé à un chauffage au bain marie pendant 15 min, puis on filtre et le volume obtenu est ajusté à 10 ml avec du chloroforme.

➤ **Préparation de l'hydrolysat**

10 mL de la solution d'acide chlorhydrique à 10% a été ajouté au résidu épuisé par le chloroforme, puis la solution est portée au bain Marie bouillant pendant 15 min. Après refroidissement, on filtre le mélange et on ajuste le filtrat à 10 mL avec l'eau distillée.

Pour rechercher les anthraquinones, à l'extrait chloroformique, on ajoute du KOH aqueux à 10 % (v/v). Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge (Dohou *et al.*, 2003).

h) Test d'anthraquinones libres

Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 mL de l'extrait chloroformique et 1 mL de NH₄OH dilué au demi. Le mélange a été secoué et la présence d'une couleur rose, rouge ou violette dans la phase ammoniacale (inférieure) indique la présence d'anthraquinones libres.

i) Les dérivés anthracéniques combinés

-Les O-hétérosides

Prélever 5 mL d'hydrolysate et agiter avec 5 mL de chloroforme. Après décantation de la solution, soutirer la phase organique et l'introduire dans un tube à essai puis ajouter 1 mL de NH₄OH dilué. Leur présence est révélée par une coloration rouge plus ou moins intense.

-Les C-hétérosides

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hétérosides par 10 mL d'eau distillée et ajouter 1 mL d'une solution de FeCl₃ à 10%, maintenir le tube à essai dans un bain Marie pendant 30 min. Après refroidissement sous courant d'eau, agiter la solution avec 5 mL de chloroforme. Soutirer la phase chloroformique et l'agiter avec 1 mL de NH₄OH dilué. L'existence des C-hétérosides est confirmée par la coloration rouge plus ou moins intense.

I.2.2. Extraction des polyphénols

L'extraction de ces métabolites à partir des feuilles de séné est réalisée via trois méthodes distinctes : macération, Soxhlet et par reflux.

I.2.2.1. Extraction par macération (On a utilisé l'éthanol et le méthanol)

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par Ouedraogo *et al.* (2015) avec quelques modifications :

Une prise d'essai de 20g de la poudre sèche des feuilles de *C. angustifolia* a été macérée avec 100 mL d'éthanol ou méthanol à 70% (70/30 : v/v), 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 (2 fois) pour extraire le maximum de substances (Figure 14).

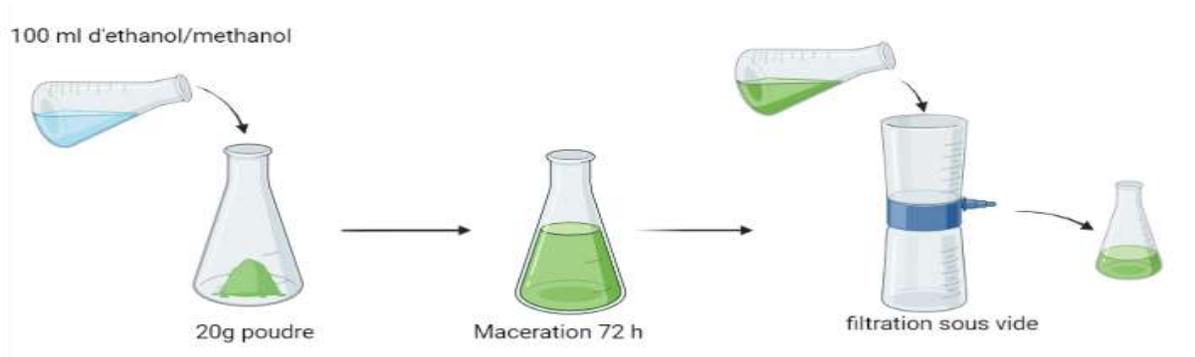


Figure 13. Procédé de l'extraction par macération. (Original)

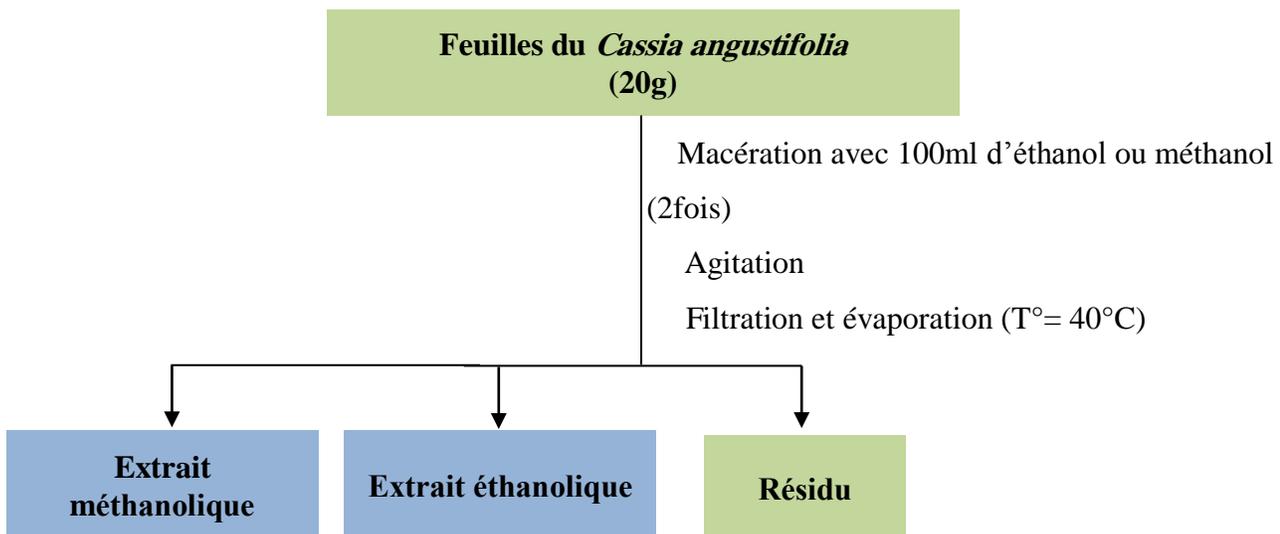


Figure 14. Schéma de l'extraction par macération.

I.2.2.2. Extraction au Soxhlet :

Tout d'abord, l'échantillon est mis en contact à plusieurs reprises avec un solvant frais, ce qui facilite le déplacement de l'équilibre de transfert. En outre, le système reste à une température d'extraction relativement élevée par l'effet de la chaleur appliquée au ballon de distillation, atteignant la cavité d'extraction dans une certaine mesure. De plus, aucune filtration n'est nécessaire après le lessivage. L'extraction par Soxhlet est une méthode très simple qui nécessite peu de formation, peut extraire plus de masse d'échantillon que la plupart des méthodes alternatives (extraction assistée par micro-ondes, extraction par fluide supercritique, etc.) (**Luque**

de Castro et Priego-Capote, 2010).

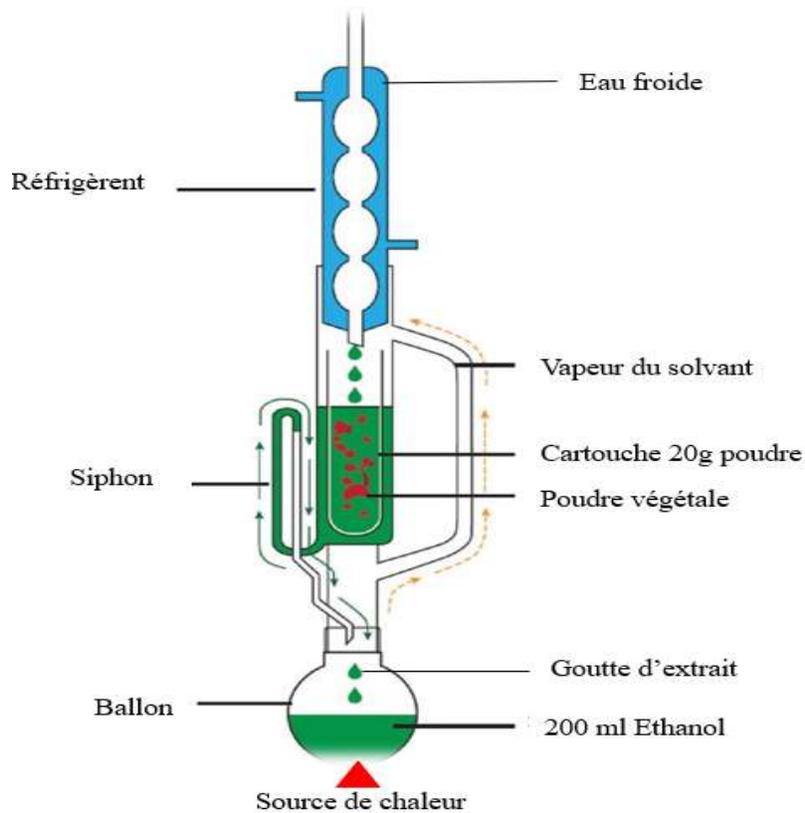


Figure 15. Extracteur Soxhlet conventionnel.

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Laghari et al. (2011)** en y apportant quelques modifications :

20g de la poudre de feuilles ont été prises et transférées dans une cartouche en papier filtre. 100 ml d'éthanol (70%) ont été versés ensuite dans un ballon rond, puis ils ont été fixés sur un ensemble Soxhlet. Le matériel végétal est progressivement rempli d'extractant frais condensé (terme utilisé pour désigner le solvant utilisé pour l'extraction) à partir d'un ballon de distillation.

Lorsque le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire le soluté de la chambre d'extraction et le décharge dans le ballon de distillation, transportant ainsi les analytes extraits dans le liquide en vrac. Le temps d'extraction a été de 5 h, jusqu'à ce que la solution claire ait été observée au niveau de la chambre d'extraction.

I.2.2.3. Extraction par reflux

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Laghari et al. (2011)**

avec quelques modifications :

20 g de la poudre des feuilles sont introduits dans une fiole à fond rond (capacité de 250 ml) contenant 100 ml d'éthanol aqueux (70%). Après avoir fixé un condenseur, il a été laissé pour condensation de reflux sur la cheminée de chauffage à 70-80°C pendant 2-3h.

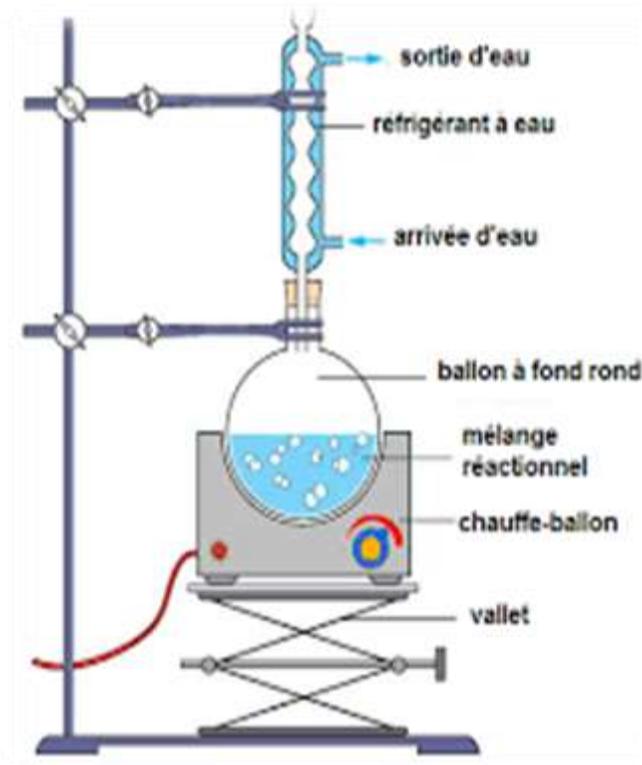


Figure 16. Extracteur reflux

I.2.3. Evaporation

Le solvant a ensuite été concentré, en utilisant un évaporateur rotatif (rotavapor). L'extrait brut concentré a été séché dans l'étuve à 40°C pour produire un extrait brut sec. L'extrait brut concentré séché a été pesés pour calculer le rendement d'extraction et stockés dans des bouteilles étanches à l'air, jusqu'à ce qu'ils soient utilisés pour l'analyse.

I.2.4 Rendement d'extraction

Le rendement (%) des extraits séchés évaporés a été calculé selon la formule suivante :
(Mahmoudi *et al.*, 2013)

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

Où :

Pext : le poids de l'extrait après évaporation du solvant.

Péc : le poids sec de l'échantillon végétal (poudre initiale).

I.2.5. Analyses des composés phénoliques

I.2.5.1 Dosage des polyphénols totaux

La quantité totale en polyphénols peut être quantifiée par des méthodes colorimétriques en utilisant des courbes standard dérivées de quantités connues de molécules de polyphénols purifiées telles que l'acide gallique ou la catéchine (Watson, 2014).

La teneur en phénols totaux des extraits de *C. angustifolia* a été déterminée par la méthode du réactif de Folin–Ciocalteu (FC) (Singleton *et al.*, 1999). Ce réactif est formé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui, après oxydation des phénols, sont réduits à des oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), respectivement (Watson, 2014).

Un volume de 125 μ L de chaque extrait est mélangé avec 625 μ L du réactif de Folin–Ciocalteu (RF-C) (10 fois dilué). Le mélange est agité vigoureusement puis laisser reposer 3 min avant l'addition de 500 μ L d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (Na_2CO_3). Après une nouvelle agitation, l'échantillon est maintenu à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min avant la mesure de son absorbance. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à 765 nm (Figure 18).

L'acide gallique est choisi comme contrôle positif. Pour ce faire, une courbe d'étalonnage a été établie au préalable en préparant une gamme de solutions d'acide gallique de concentration variante de 0,005 à 0,1mg/ML. Ces solutions d'acide gallique ont été utilisées à la place des extraits (mêmes conditions opératoires que les extraits).

Les taux de composés phénoliques totaux sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g MS).

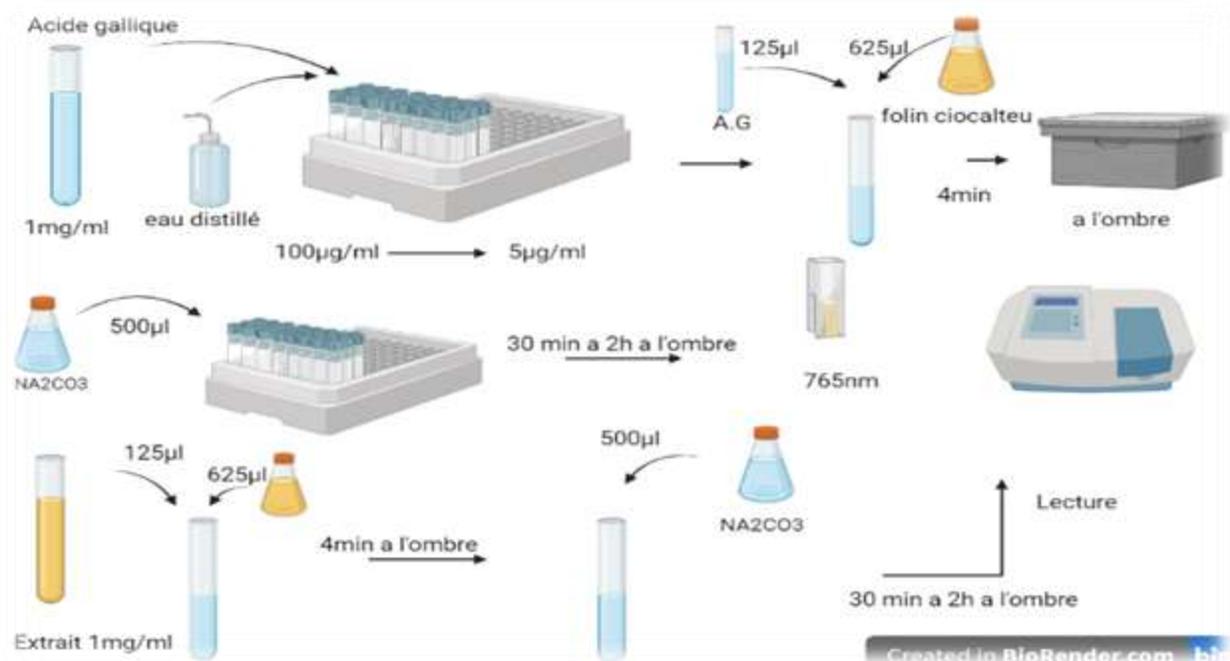


Figure 17. Dosage des polyphénols totaux des extraits de *C. angustifolia* par la méthode du réactif de Folin–Ciocalteu (Original).

I.2.6. Evaluation des activités biologiques *in vitro*

I.2.6.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le test de piégeage des radicaux DPPH est basé sur la réduction du DPPH lorsqu'il est mélangé avec un antioxydant tel que le polyphénol, ce qui entraîne la perte de sa couleur violette et une réduction de son absorption à 517nm.

La capacité des extraits de *C. angustifolia* à réduire le radical 2, 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode décrite par **Ita et Eduok (2017)**.

Un volume de 1 mL de chaque extrait (1 mg/mL) à différentes concentrations (de 3,9 à 500 µg/mL) a été mélangé avec 1 ml de la solution de DPPH (0,004% dans le méthanol). Ce mélange a été vigoureusement secoué et laissé dans l'obscurité pendant 30 min. Ensuite, la réduction du radical de DPPH a été déterminée en mesurant son absorption à 517 nm (Figure 19). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé, il contient seulement la solution de DPPH et le méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; BHT dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque

concentration le test est répété 3 fois.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ scavenger du DPPH} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

✓ A contrôle : Absorbance du contrôle

✓ A test : Absorbance de l'échantillon

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC50 (Boudjouref *et al.*, 2014).

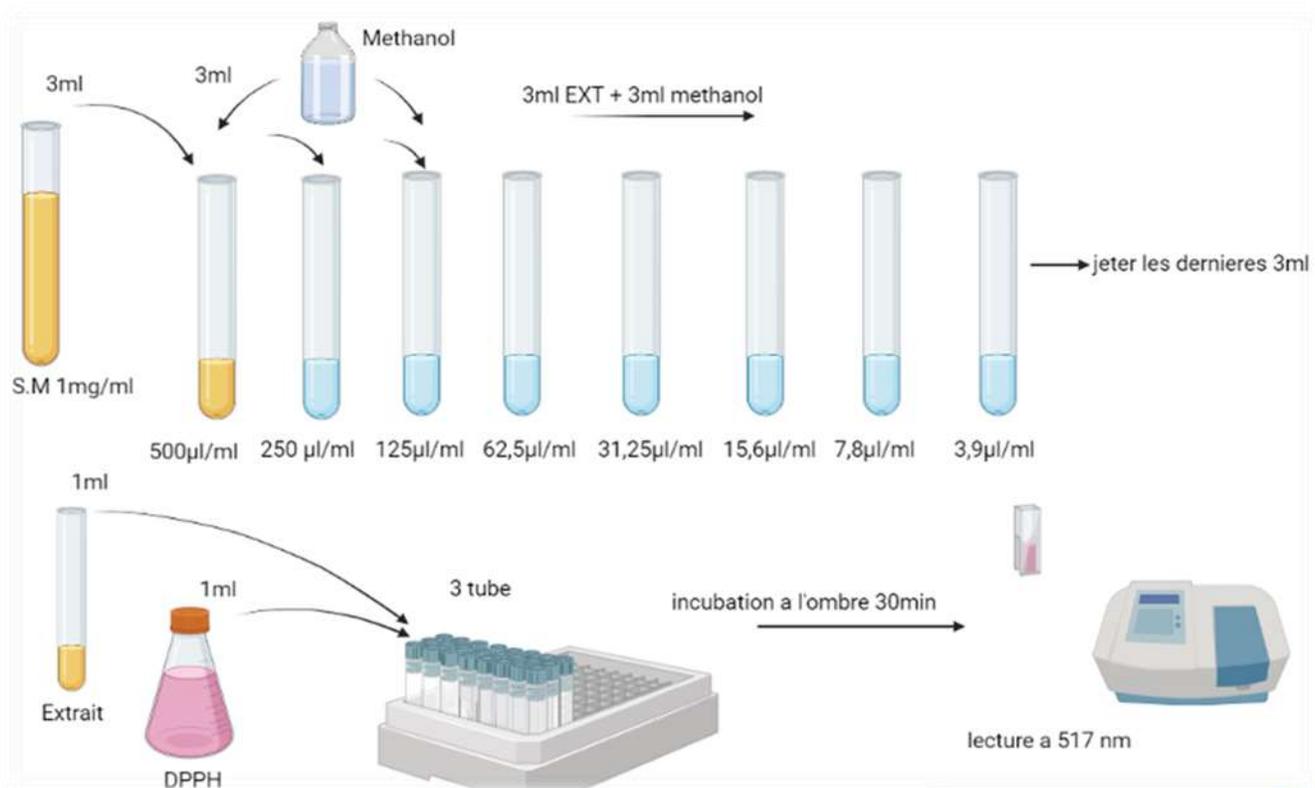


Figure 18. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *C. angustifolia*. (Original)

I.2.6.2. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive. L'inoculum a été préparé à partir de la préculture. A l'aide d'une anse de platine, quelques colonies ont été prélevées puis introduites dans des tubes à essai contenant l'eau physiologique stérile. Après une bonne homogénéisation de la suspension bactérienne, une lecture de sa densité optique a été effectuée à 625nm. La densité optique doit être comprise

entre 0,08 et 0,1 qui correspond à 108 bactérie/ml. Une dilution au 1/100em est effectuée afin d'avoir une concentration finale de 106 cellule/ml.

L'analyse antibactérienne a été effectuée à l'aide de la méthode de diffusion des disques décrite par **Falleh et al.(2021)** en y apportant quelques modifications :

Le test consiste à déposer des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, stériles vierges et imprégnés de 20 µL de solutions d'extraits (1 mg/ml) sur les zones précédemment marquées dans les plaques de gélose (l'agar Mueller Hinton) qui ont été préalablement inoculées par des souches pathogènes. Les boîtes de Pétri sont ensuite maintenues à 37°C pendant 24 à 48 h. L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait à tester. La lecture s'effectue par la mesure du diamètre (en mm) du halo d'inhibition (Figure 20).

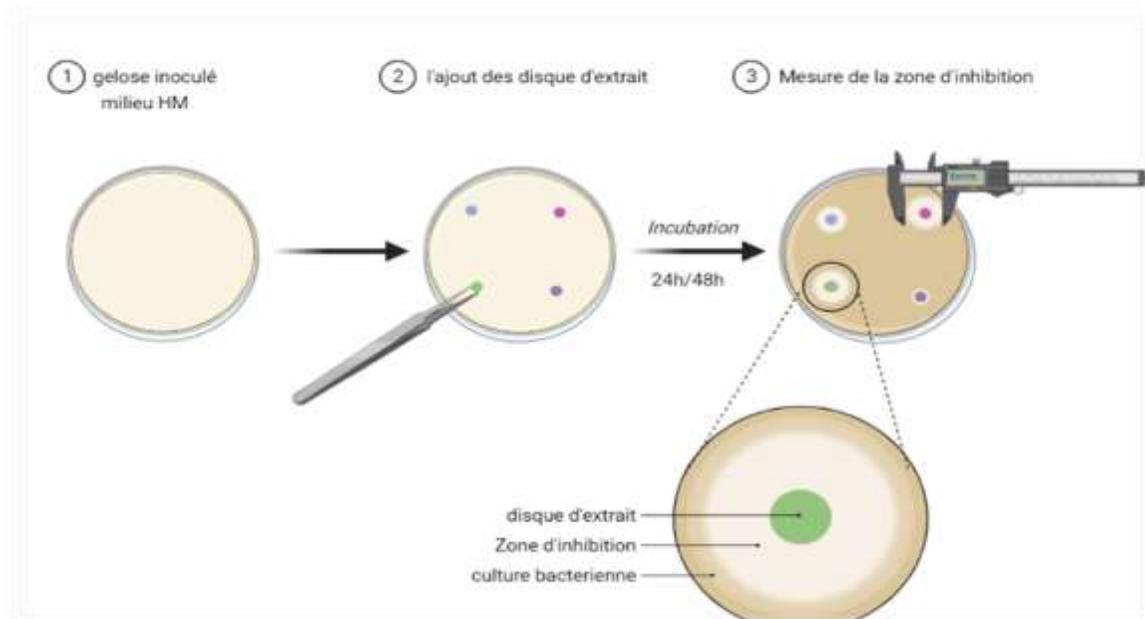


Figure 19. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *C. angustifolia* par la méthode de diffusion des disques. (Original)

I.2.6.3. Évaluation de l'activité antiparasitaire

L'analyse de l'activité antiparasitaire a été effectuée selon le protocole décrit par **Baquer et al.(2014)** avec quelques modifications :

a. Test de fertilité du kyste hydatique

La fertilité du kyste a été déterminée par la présence de protoscolex libres dans le liquide kystique par un examen microscopique d'une goutte de montage humide. Les kystes hydatiques

contenant les protoscolex sont considérés comme fertiles, en revanche, ceux qui n'en contiennent pas sont considérés stériles (acéphalocystes).

b. Test de viabilité des protoscolex

La viabilité des protoscolex a été déterminée avant les expériences par coloration à l'éosine aqueuse à 0,1%, comme coloration vitale, et a été vérifiée au microscope après avoir ajouté 10 µl de solution d'éosine à 10 µl de protoscolex pendant 5 min. Les protoscolex non colorés ont été considérés comme viables tandis que les protoscolex colorés ont été considérés comme non viables.

$$\text{Taux de protoscolex morts} = n \times 100 / N$$

N : nombre total de protoscolex ; n : nombre de protoscolex morts

$$\text{Taux de viabilité (\%)} = 100\% - \text{taux de protoscolex mort}$$

c. Etude de l'activité scolicide

Des solutions mères d'extraits alcooliques de *C. angustifolia* ont été préparées en dissolvant 1mg de l'extrait séché dans 1 µl d'eau physiologique (1 mg/µl) à des concentrations de 31,25- 62,5-125-250 et 500 mg/µl. L'étude *in vitro* a été réalisée dans des ensembles de 6 tubes. Un volume de 0,5 µl de protoscolex viables a été placé dans chaque tube et 0,5 µl d'extrait végétal pour chaque concentration a été ajouté à chaque tube puis mélangé doucement et incubé à 37°C. Ensuite, 20 µl d'éosine à 0,1% ont été ajoutés aux protoscolex, puis examinés sous microscope optique aux grossissements (G X 10) et (G X 40) (Figure 21).

Les pourcentages de protoscolex viables ou de survie ont été déterminés pour chaque expérience après 5 min et en série (toutes les 30 min) jusqu'à ce que tous les protoscolex soient morts.

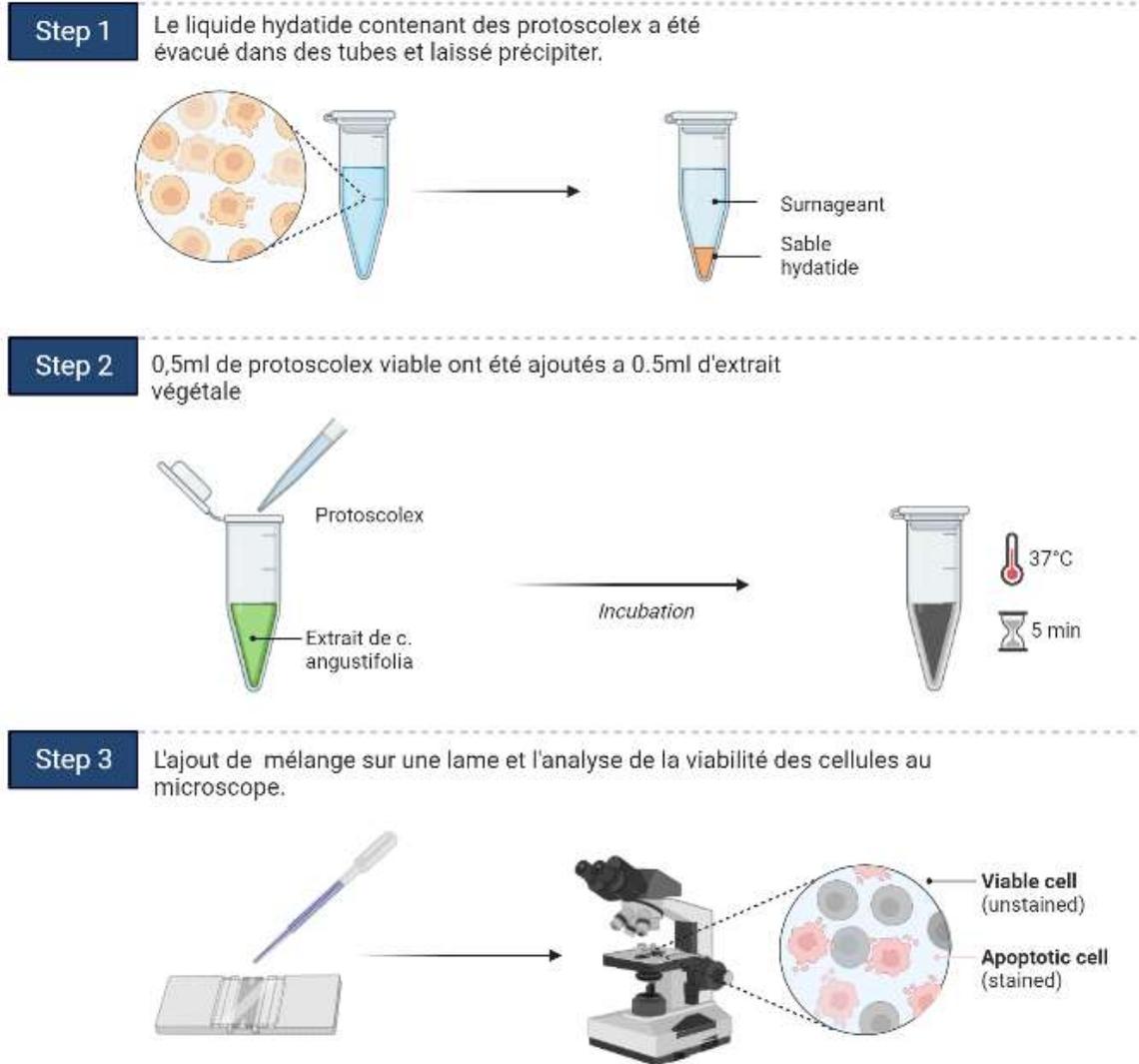


Figure 20. Evaluation de l'activité antiparasitaire des extraits de *C. angustifolia*.(Original)

I.2.7. Formulation d'une crème à base des extraits alcooliques des feuilles de *C. angustifolia*

(Une à base de l'extrait éthanolique et l'autre à base de l'extrait méthanolique des feuilles de séné).

a. Préparation des crèmes antifongique

Une crème à base d'émulsion huile dans eau (O/W) (formulation semi-solide) a été formulée (tableau 2) pour traiter un sujet ayant la teigne du corps. Les matières premières sont pesées à l'aide d'une balance dans des récipients séparés, selon les quantités mentionnées dans la formule de fabrication. Dans un bécher la phase huileuse a été ajoutée : l'isopropyl myristate, l'acide stéarique, l'alcool cétylique puis ont été mélangé manuellement jusqu'à la dissolution complète à une température de 70 °C. Ensuite, dans un autre bécher l'eau purifiée a été ajoutée puis chauffée à 70 °C, c'est la phase aqueuse. En maintenant la température à 70 °C. Les deux phases ont été laissées pour refroidir à 50 °C puis incorporer la phase huileuse dans la phase aqueuse et agiter.

Pour la crème à base d'extrait méthanolique, 1 g de l'extrait méthanolique de *C. angustifolia* a été ajouté et pour la crème à base d'extrait éthanolique, 1 g de l'extrait éthanolique de *C. angustifolia* a été ajouté, puis ont été dispersé dans une partie de l'eau purifiée utilisée en totale puis introduire le mélange dans le bécher à 40 °C et agiter (Figure 22).

Après homogénéisation et libération de toute inclusion d'air les crèmes ont été stockée dans des tubes à une température ambiante.

Tableau III. Les composants utilisés pour faire une crème antifongique à base d'extraits alcooliques de *C. angustifolia* et leur fonction

Composant	Fonction
Myristateisopropylique	Emollient
Acide stéarique	Agent de durcissement
Alcool cetylique	Emollient
Polyoxy-40-Stéarate	Agent émulsifiant
Laurylsulfate de sodium	Agent émulsifiant
Eau purifiée	Solvant
Butylhydroxytoluene (BHT)	Antioxydant

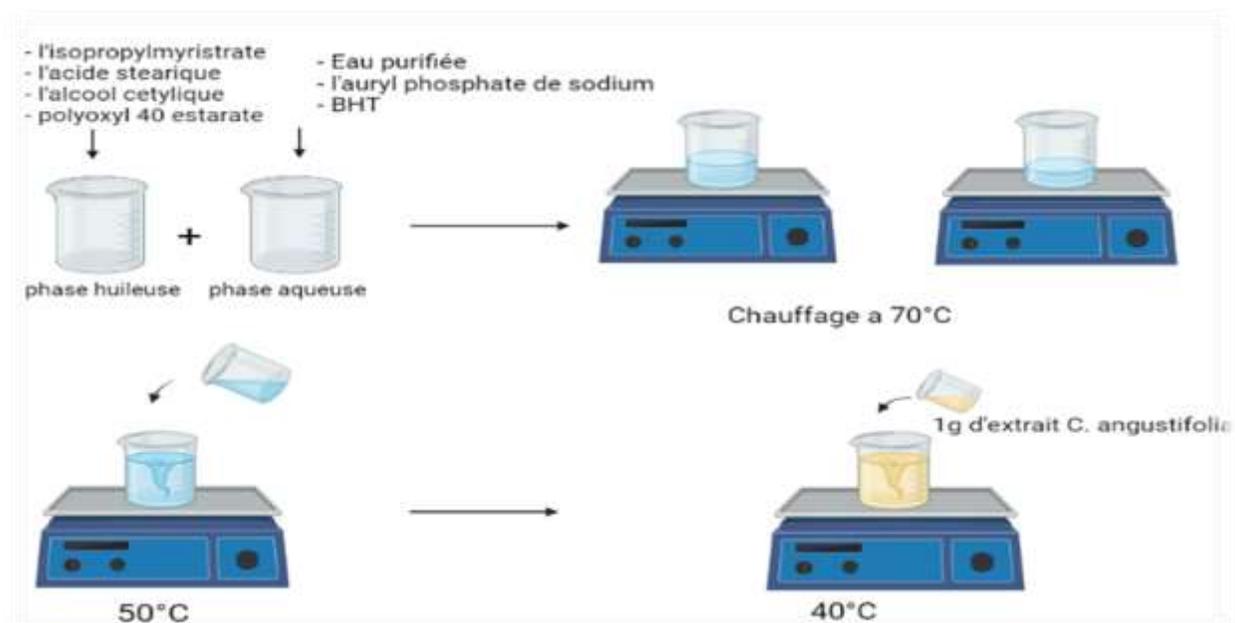


Figure 21. Les différentes étapes de formulation de la crème à base d'un extrait alcoolique des feuilles de *cassia angustifolia*. (Original)

b. Contrôle de qualité de la crème :

Les paramètres examinés à l'œil nu étaient notamment les caractères macroscopiques de la préparation, l'homogénéité, le pH et enfin le conditionnement.

- **Caractères macroscopiques**

Les caractères tels que la couleur, la consistance, la stabilité et l'odeur ont été notés.

- **Homogénéité**

La vérification de l'homogénéité du crème s'est faite en l'étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans l'excipient a été notée.

- **Détermination du pH**

Le pH de la crème est mesuré par un pH-mètre numérique standard à température ambiante en prenant une quantité adéquate de la formulation diluée avec un solvant approprié dans un bécher.

- **Conditionnement**

Des tubes d'une contenance de 50mL ont été utilisés. La mise en tube se fait manuellement. Chaque tube est pesé pour vérifier le poids après remplissage.

- **Test sur un sujet ayant la teigne du corps**

Tinea corporis est une infection cutanée fongique superficielle causée par les dermatophytes. Il est défini explicitement par l'emplacement des lésions qui peuvent toucher le tronc, le cou, les bras et les jambes. Il existe d'autres noms pour les infections dermatophytes qui affectent les autres zones du corps. Ceux-ci comprennent le cuir chevelu (*tinea capitis*), le visage (*tinea faciei*), les mains (*tinea manuum*), l'aîne (*tinea cruris*), et les pieds (*tinea pedis*).{Citation}Le test a été effectué sur un sujet ayant une maladie de la teigne, elle a été appliquée une fois par jour pendant 14 jours. La lecture s'est faite après 24h et 14 jours de l'application.

II. Résultats et discussion

II.1. Criblage phytochimique

Le dépistage phytochimique est principalement étudié sur les plantes médicinales pour déterminer la présence des composés biologiquement actifs dans les plantes.

Les résultats du criblage phytochimique des extraits aqueux de *C. angustifolia* sont résumés dans le tableau IV..

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence la présence des tannins, des tanins galliques, des anthraquinones libres, des mucilages et dérivés anthracéniques combinés (O-hétérosides, C-hétérosides). D'un autre coté d'autres métabolites comme les anthocyanes, saponosides et les coumarines sont complètement absents conformément aux données de la littérature. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par **VijayaSekhar et al.(2016)**.

Tableau V. Mise en évidence de certaines familles de métabolites secondaires dans l'extrait et la poudre des feuilles de *C. angustifolia*.

Métabolites	L'aspect avant l'ajout des réactifs	Résultat observé	Réaction
Tannins			Positive
Tannins galliques			Positive

<p>Saponosides</p>	 A hand in a blue nitrile glove holds a test tube containing a small amount of blue liquid at the bottom.	 A hand in a blue nitrile glove holds a test tube containing a small amount of yellow liquid at the bottom.	<p>Négative</p>
<p>Anthocyanes</p>	 A hand in a blue nitrile glove holds a test tube containing a small amount of blue liquid at the bottom.	 A hand in a blue nitrile glove holds a test tube containing a small amount of orange liquid at the bottom.	<p>Négative</p>
<p>Mucilages</p>	 A test tube containing a small amount of blue liquid at the bottom.	 A hand in a blue nitrile glove holds a test tube containing a small amount of blue liquid at the bottom.	<p>Positive</p>

<p>Coumarines</p>			<p>Négative</p>
<p>Anthraquinones libres</p>			<p>Positive</p>
<p>O-hétérosides</p>			<p>Positive</p>

C-hétérosides			Positive
---------------	---	--	----------

II.2. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction en polyphénols des feuilles de *C. angustifolia* selon les trois méthodes d'extraction utilisées sont reportés dans le tableau VI.

Les rendements d'extraction ont été calculés par rapport au poids total de la poudre végétale. Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction que la macération en utilisant le méthanol donne le meilleur rendement d'extraction (17,65%) suivi par la macération avec l'éthanol (16,95%), ensuite l'extraction par Soxhlet (9,93%) et enfin l'extraction éthanolique par reflux qui donne le rendement le plus faible avec (7,9%). Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents (Tableau VII).

Tableau VIII. Rendement, aspect et couleur de différents extraits du *c. angustifolia*.

Extrait sec	Aspect	Couleur	Rendement %
Méthanolique (Macération)	Cristallisé	Marron foncé	17,65
Ethanolique (Macération)	Cristallisé	Marron foncé	16,95
Ethanolique (Soxhlet)	Pâteux	Noire verdâtre	9,93
Ethanolique (Reflux)	Pâteux	Noire verdâtre	7,9

II.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu en utilisant comme standard l'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g) à l'aide d'une courbe d'étalonnage (Figure 23).

L'analyse a montré qu'une quantité considérable de contenu phénolique était présente dans les extraits de *C.angustifolia*, (Tableau IX).

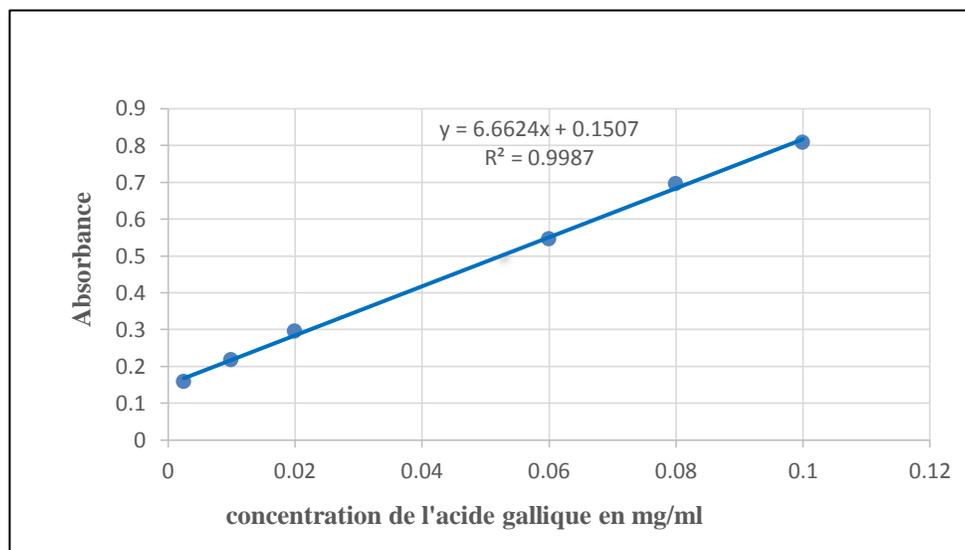


Figure 22. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau X. Résultats du dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits des feuilles de *C. angustifolia*

Extrait obtenu par	Teneurs en polyphénols (mg EAG/g d'extrait)
Reflux	111,15±18,03
Soxhlet	86,1±1,41
Macération (Ethanol)	88,15±9,68
Macération (Méthanol)	88,80±6,7

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 le Soxhlet comme méthode d'extraction.

Ahmed et al. (2016) ont révélé un taux en polyphénols 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, on peut conclure que les feuilles sont plus riches en polyphénols que les graines.

II.4. Evaluation des activités biologiques *in vitro*

II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'IC₅₀ est un paramètre largement utilisé pour mesurer l'activité antioxydante des échantillons. Elle est définie comme la concentration nécessaire pour diminuer la concentration initiale du DPPH de 50%. Plus la valeur IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est élevée

(Rivero-Cruz *et al.*, 2020).

En comparant les IC₅₀ on observe que l'extrait éthanolique a reflux possède une meilleure activité antioxydante suivi par l'extrait éthanolique de Soxhlet. Tandis que l'IC₅₀ la plus faible est notée au niveau de l'extrait de macération avec le méthanol (Tableau XI).

La Figure 24 montre que les quatre extraits présentent une activité antioxydante importante avec la concentration qui augmente.

Les extraits éthanoliques obtenus par macération, reflux et Soxhlet sont caractérisés par des pourcentages d'inhibition de 89,13%, 88,94% et 85,01%, respectivement pour une concentration 500ug/mL. L'extrait méthanolique obtenu par macération est caractérisé par un pourcentage d'inhibition de 80,12 %, plus inférieure par rapport aux extraits éthanoliques pour la même concentration.

En comparaison avec le standard BHT, l'extrait éthanolique issue d'une macération montre une capacité antioxydante plus élevée contrairement aux autres extraits.

Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les extraits présentant une capacité antioxydante importante renferment des molécules ayant un potentiel réducteur remarquable,

Cependant, **Laghari *et al.* (2011)** ont montré que les extraits de feuilles de *C. angustifolia* présentent la plus grande capacité de la réduction de DPPH que le BHT comme référence et que l'extrait résultant d'une extraction par micro-onde montre l'activité antioxydante la plus élevée que le reste des extraits (Soxhlet, sonication, macération, reflux).

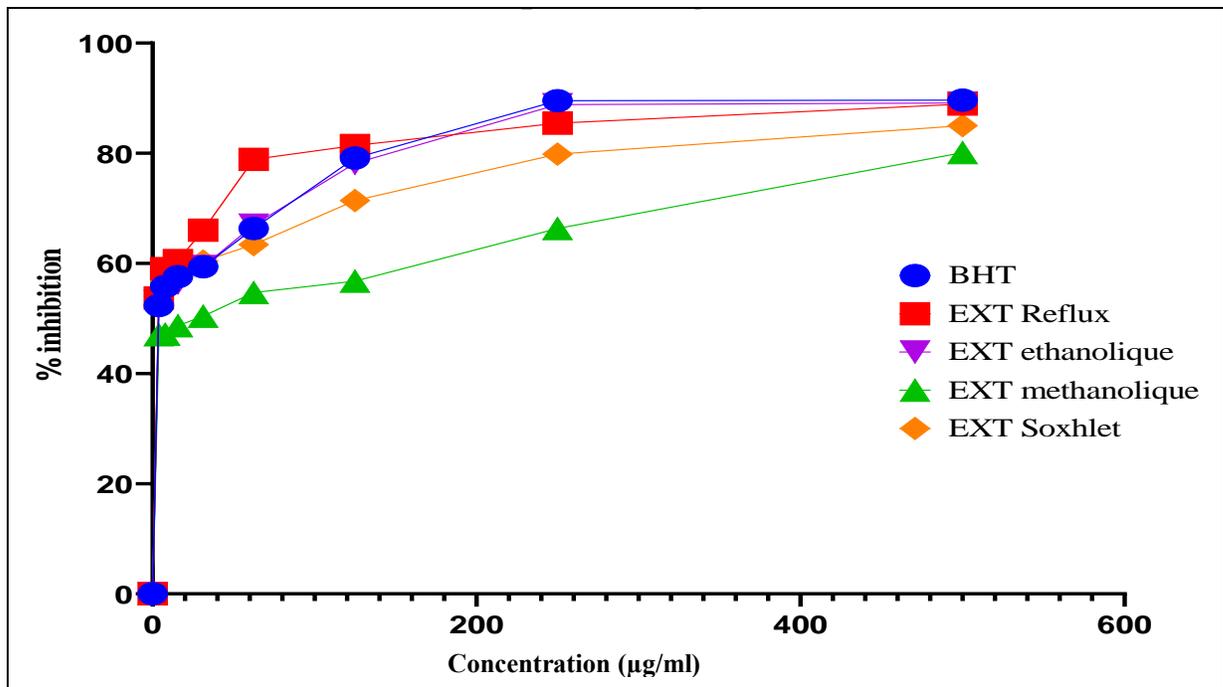


Figure 23. Capacité antioxydante totale des extraits de *C. angustifolia* évaluée par le test de DPPH

Tableau XII. Activité antioxydante des extraits obtenus exprimée en valeurs IC_{50}

Extraits	IC_{50} µg/mL
Reflux	12,601
Soxhlet	15,844
Macération (méthanol)	27,173
Macération (ethanol)	16,64
BHT	16,715

II.4.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *C. angustifolia* a été testée sur trois souches bactériennes *S. aureus*, *B.cereus*, *E. coli*. Après une période d'incubation, les résultats ont été évalués et représentés sur la figure 25.

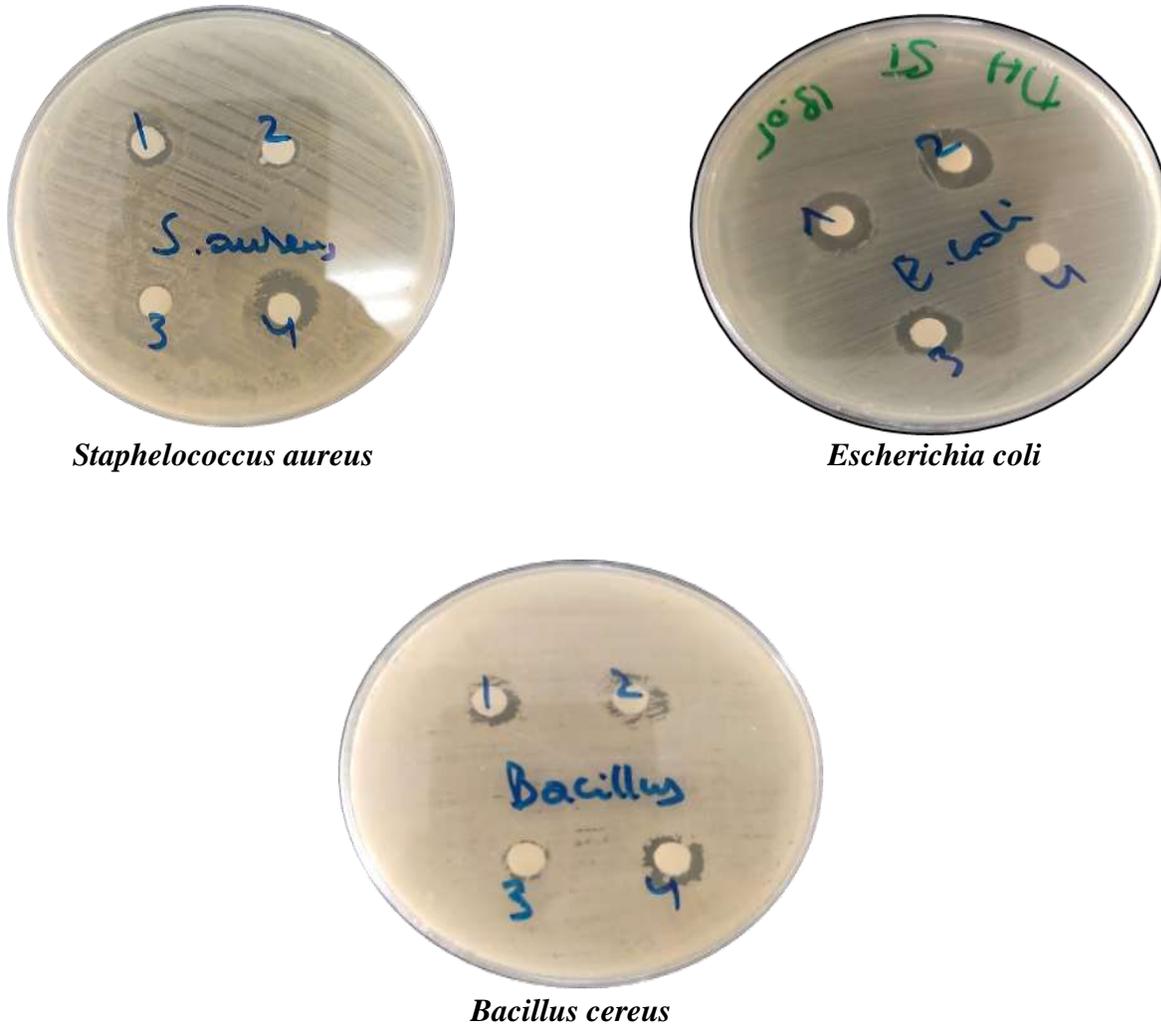


Figure 24. Aspect des cultures bactériennes et des zones d’inhibition en présence des extraits.

1-Extrait de Reflux / 2-Extrait méthanolique (macération)/3-Extrait de Soxhlet /4-Extrait éthanolique (macération).

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* présentent des effets inhibiteurs variables contre toutes les souches pathogènes testées (tableau XIII; Figure 25)

L’étude a montré que l’extrait méthanolique (macération) à une concentration de (1 mg/ml) n’a pas exercé une inhibition de la croissance de *B.cereus*. Ainsi, l'extrait a montré une activité antibactérienne modéré sur *E. Coli* (12,62mm). Cependant, une potentialité plus faible est considérée comme un agent antibactérien contre *S.aureus* (7,4 mm).

Mais, dans le cas de l'extrait éthanolique de macération, il a montré une activité antibactérienne modérée pour les deux bactéries à Gram +, *B. cereus* ($10,08 \pm 0,1$ mm) et *S. aureus* (13,06 mm) et n'a montré aucun effet sur *E. coli*-Gram négatif.

L'étude a également montré que l'extrait éthanolique par soxhlet n'a aucune activité antibactérienne pour les deux bactéries à Gram + utilisées dans notre étude (*S.aureus* et *B.cereus*). En revanche, l'extrait a montré une activité antimicrobienne modérée (12 mm) sur *E. coli*.

L'extrait éthanolique par reflux des feuilles de *C.angustifolia* présente la zone d'inhibition la plus élevée (12,86 mm) contre *E. coli*. L'étude a également montré peu de potentialité contre *S. aureus* et *B.cereus* ($8,89 \pm 0,02$ mm et $9,05 \pm 0,07$) respectivement.

Il a également été signalé que l'extrait éthanolique (macération) de *C. angustifolia* présentait un potentiel antibactérien maximal contre *S. aureus* et *B.cereus* avec des zones d'inhibition de 13,06 mm et $10,08 \pm 0,1$ mm, respectivement.

Sur la base d'une analyse comparative, l'extrait éthanolique par macération et par reflux ont montré une tendance à une activité antibactérienne plus élevée que l'extrait éthanoliques par soxhlet.

Tableau XIV. Résultats des tests de diffusion sur disque pour les extraits de *C. angustifolia*

Microorganisme	Diamètre de zone d'inhibition (mm)			
	E1	E2	E3	E4
<i>Staphelococcus aureus</i>	$8,89 \pm 0,02$	7,4 mm	-	13,06 mm
<i>Escherichia coli</i>	12,86 mm	12,62 mm	12 mm	-
<i>Bacillus cereus</i>	$9,05 \pm 0,07$	ND	-	$10,08 \pm 0,1$

(zones d'inhibition en mm).

E1 : Extrait Reflux ; E2 : Extrait méthanolique (macération) ; E3 : Extrait Soxhlet ; E4 : Extrait éthanolique (macération).

(-) : Absence d'inhibition

Il convient de souligner néanmoins que l'efficacité des extraits des feuilles de *C. angustifolia* à inhiber la croissance bactérienne est dépendante de plusieurs facteurs tels que le solvant d'extraction, la méthode d'extraction et dépend grandement des souches testées (**Falleh et al., 2021**).

En effet, la différence dans la sensibilité entre les bactéries Gram positif et Gram négatif

peut être attribuée aux différences morphologiques entre ces micro-organismes, surtout aux différences de perméabilité de la paroi cellulaire (**Bereksi et al., 2018**). Les bactéries Gram positif sont généralement plus sensibles que les bactéries Gram négatif en raison des spécificités de leur membrane externe. De fait, celle-ci n'a pas le même degré d'hydrophilie que chez les bactéries Gram négatif dont la résistance est liée à la richesse de leur membrane externe en lipopolysaccharides, qui constituent une barrière efficace contre la pénétration de nombreuses molécules antibiotiques.

Nos résultats, ont montré également que la méthode d'extraction des composés phénoliques compte beaucoup dans l'efficacité antibactérienne des extraits de *C. angustifolia*, ce qui corroborent avec les travaux de **Chebaibi et al.(2011)** effectuée sur la grenade *Punica granatum*.

Selon **Ahmed et al. (2016)**, l'extrait méthanolique de *C. angustifolia* a enregistré l'activité la plus élevée et un large spectre d'activité contre les souches bactériennes pathogènes. Il a été signalé que l'activité bactéricide était due à la présence de flavonoïdes trouvés dans cet extrait. Il a été rapporté que les extraits a base du méthanol et d'éthanol des feuilles de *C. angustifolia* possèdent une activité antibactérienne significative contre *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Shigella shinga* (**Ahmed et al., 2016**).

L'extrait le plus pauvre en composés polyphénols a montré une activité antibactérienne nettement plus prononcée que celui du plus riche. Cela peut être expliqué par le caractère autant qualitatif que quantitatif des composés présents dans l'extrait éthanolique ou méthanolique, car l'efficacité d'un composé phénolique dépend de ses propriétés physicochimiques et de sa structure hétérogène (**Basli et al., 2012**).

II.4.3. Évaluation de l'activité antiparasitaire

II.4.3.1. Test de fertilité des kystes hydatiques

Les kystes recueillis au niveau de l'abattoir de « Ma mère Haja Fatima » ont été examinés sous microscope optique (G X 40) au niveau du laboratoire. Nos observations ont confirmé la présence de protoscolex dans le liquide hydatique (Figure 27) donc les kystes sont considérés



comme fertiles.

Figure 25. Examens microscopiques des protoscolex de kyste hydatique fertile au G X40. (Photo originale)

II.4.3.2. Test de viabilité des protoscolex :

Selon l'étude de **Blibek, (2009)**, l'éosine à 0,1% à la propriété de diffuser à travers le tégument du protoscolex mort qui devient ainsi coloré en rose (Figure 28). Cependant, lorsque le protoscolex est vivant, sa membrane est imperméable au colorant et apparaît réfringent au microscope photonique.

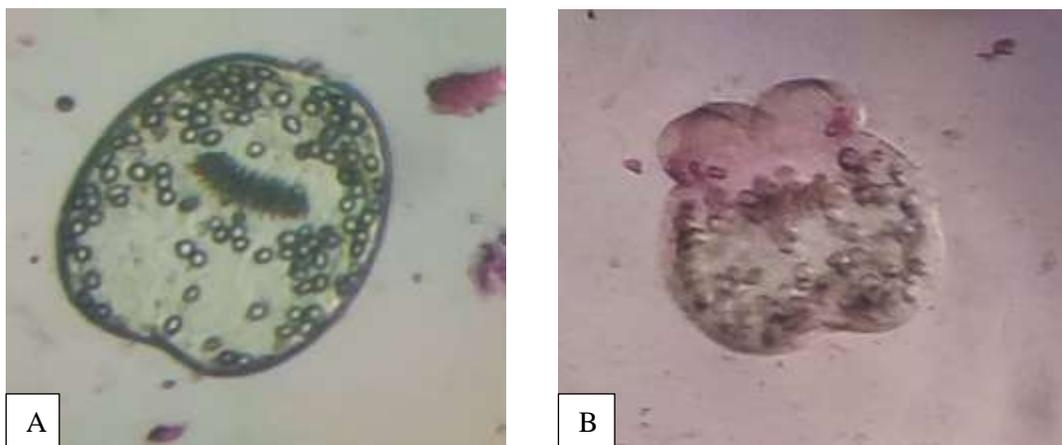


Figure 26. Aspect du protoscolex vivant (A) et protoscolex mort (B) observé au G X 40 (Photo Originale)

II.4.3.3. Evaluation de l'activité scolicide

Les résultats relatifs à l'effet des différents extraits testés dans notre étude sont reportés dans les tableaux XV et XVI)

Les résultats obtenus ont montré un effet scolicide pour tous les extraits et à différentes concentrations. A la concentration de 250 $\mu\text{g/mL}$ les extraits ont entraîné un taux de mortalité qui dépasse 88% jusqu'à plus de 90% après 20 min d'exposition. A 500 $\mu\text{g/mL}$ le taux de mortalité a augmenté pour tous les extraits allant jusqu'à 100%. La concentration de 31,25 $\mu\text{g/mL}$ a montré un effet moyen estimé à 56,36% pour l'extrait méthanolique de macérations.

Les protoscolex morts montrent une diffusion de l'éosine avec une irrégularité du tégument et une altération de la double couronne de crochets conduisant à l'altération de la morphologie des protoscolex (Figure 29).

Tableau XVII. Effet scolicide de différentes concentrations de l'extrait éthanolique et méthanolique de *C.angustifolia* sur le taux de mortalité des protoscolex du kyste hydatique à divers temps d'exposition.

C (µg/ml)	Extrait	Ethanolique (Macération)			Méthanolique (Macération)		
		5 min	10 min	20 min	5 min	10 min	20 min
31,25		10,86	34,78	41,3	18,18	41,81	56,36
62,5		14,28	34,28	57,14	33,33	70	81,16
125		32,25	48,38	70,96	43,75	72,5	90
250		40	64	86	45	76,6	93,75
500		50	93,75	98,75	46,15	91,66	100

Tableau XVIII. Effet scolicide de différentes concentrations de l'extrait éthanolique par reflux et Soxhlet de *C.angustifolia* sur le taux de mortalité des protoscolex du kyste hydatique à divers temps d'exposition.

C (µg/ml)	Extrait	Reflux			Soxhlet		
		5 min	10 min	20 min	5 min	10 min	20 min
31,25		11,11	24,44	44,44	18,6	34,88	53,48
62,5		19,6	37,25	45,09	22,22	36,11	72,22
125		23,63	38,18	78,18	36,17	53,19	80,85
250		36,36	47,27	84,78	40	60	82,5
500		37,25	50,98	96,07	42,85	71,42	92,85

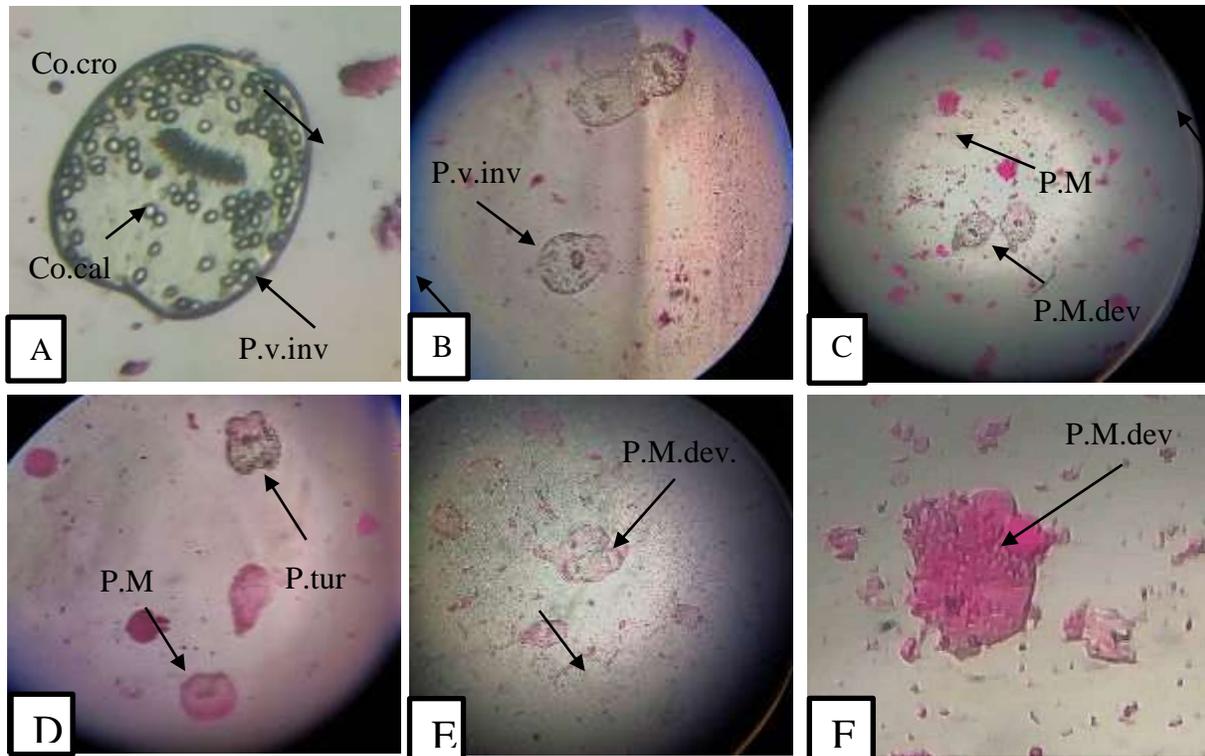


Figure 27. Aspects morphologiques des protoscoleces exposés aux différentes concentrations des extraits obtenus (observés aux G X 10 et X 40). (Photos originales)

- A. Témoin :** Protoscolex vivant invaginé (P.v.inv) présence des Corpuscule calcaire (Co.cal) et double couronne de crochets (co.cro).
- B. 31,25 µg/ml :** Présence de protoscolex vivant forme invaginé (P.v. inv).
- C. 62,5 µg/ml :** Protoscolex mort de forme dévaginée turgescents (P. M.dév).
- D. 125 µg/ml :** Protoscolex dévaginé turgescents (P.tur), protoscolex mort (P.M)
- E. 250 µg/ml :** Protoscolex morts de forme dévaginé (P.M.dév).
- F. 500 µg/ml :** Protoscolex morts de forme dévaginé (P.M.dév).

De nombreux composés phénoliques en particulier les flavonoïdes possèdent des propriétés antiparasitaires. Plusieurs travaux ont bien confirmé cette propriété.

Selon notre recherche, aucun travail n'a été publié sur l'activité antiparasitaire des extraits obtenus à partir de *C. angustifolia*, par contre des études réalisées sur les polyphénols extraits de feuilles de *Prosopis farcta* publiées par (Hammoshi & Shareef, 2005) et l'extrait de *C. fistula* obtenu par (Sarvestani et al., 2021) montrent un effet scolicide contre *Echinococcus*

granulosus .

II.5. Contrôle de qualité des crèmes formulées

II.5.1. Analyse macroscopique

Les résultats des analyses macroscopiques de nos crèmes sont :

- ✚ **Couleur** : La crème à base de l'extrait éthanolique et méthanolique de feuilles de séné a une couleur allant du vert jaunâtre au vert foncé.
- ✚ **Odeur** : Caractéristique
- ✚ **Consistance** : semi-solide.
- ✚ **Aspect** : La méthode de préparation a permis d'obtenir une très bonne homogénéité (répartition régulière de l'extrait), après étalement d'une couche mince de notre crème sur une surface plane (Figure 30).



Figure 28. Aspect de la crème après l'étalement sur une surface plane.

II.5.2. Analyse microscopique

Toutes les observations microscopiques montrent que ce sont des systèmes diphasiques (des émulsions) qui contiennent deux phases : une phase hydrophile (l'extrait des feuilles de *C. angustifolia*, eau purifiée, Laurylsulfate de sodium) et une phase lipophile (acide stéarique, alcool cetylique, BHT, Polyoxy-40-Stéarate, Myristateisopropylique), l'une sous forme des gouttelettes aqueuses dispersées dans une phase huileuse (Figure 31).

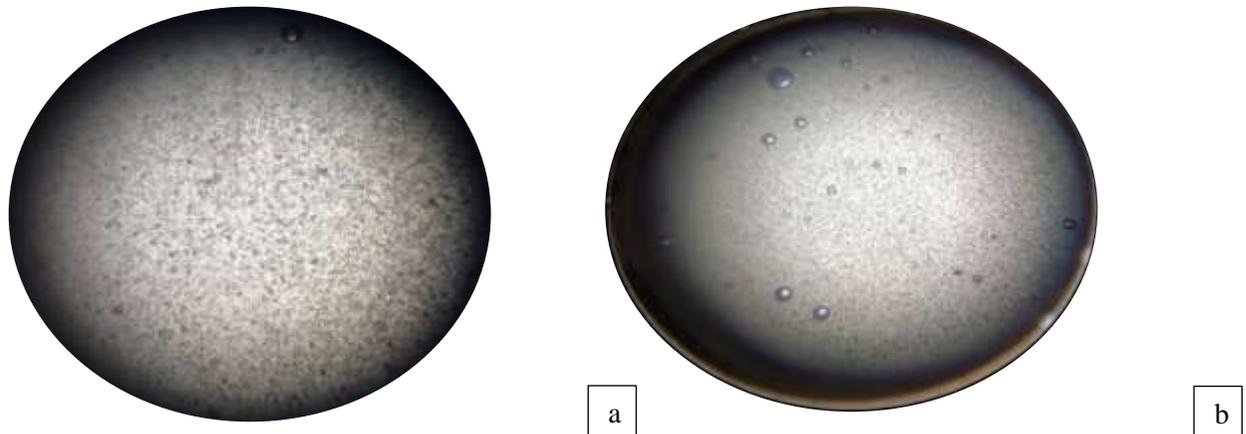


Figure 29. Structure microscopique de la crème formulée à base de l'extrait éthanolique (a) et l'extrait méthanolique (b) de *C.angustifolia*, respectivement.

II.5.3. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

L'extrait éthanolique et méthanolique à 70 % à un pH compris entre 5 et 6. Les crèmes préparées à base de ces extraits ont le même potentiel d'hydrogène (pH= 5) qui convient à une application topique. Parce que le pH de la peau se situe entre 4,5 et 6.

Les résultats des paramètres organoleptiques, l'homogénéité, la capacité d'étalement, le pH sont comparables à ceux obtenus par (JOHNSON et al., 2020).

II.5.4. Conditionnement



Des tubes d'une contenance de 50mL ont été utilisés (Figure 32).

Nom de la forme pharmaceutique : Biocasa.

Figure 30. Présentation de la crème Biocasa dans des tubes de 50 mL.

II.5.5. Résultats obtenus de l'effet du crème sur la teigne

Deux jours après l'application de la crème à base d'extrait éthanolique de *C. angustifolia* sur la lésion, on a remarqué une variation de l'infection allant d'un arrêt de progression des lésions de forme ronde et rougeâtre avec démangeaison à un brunissement de la lésion. La figure 33 montre l'effet de la crème sur la lésion dès l'application jusqu'à la guérison. Selon les infections dermatologiques, le temps de guérison était variable. Ainsi la guérison s'observait de 72 h à 14 jours.

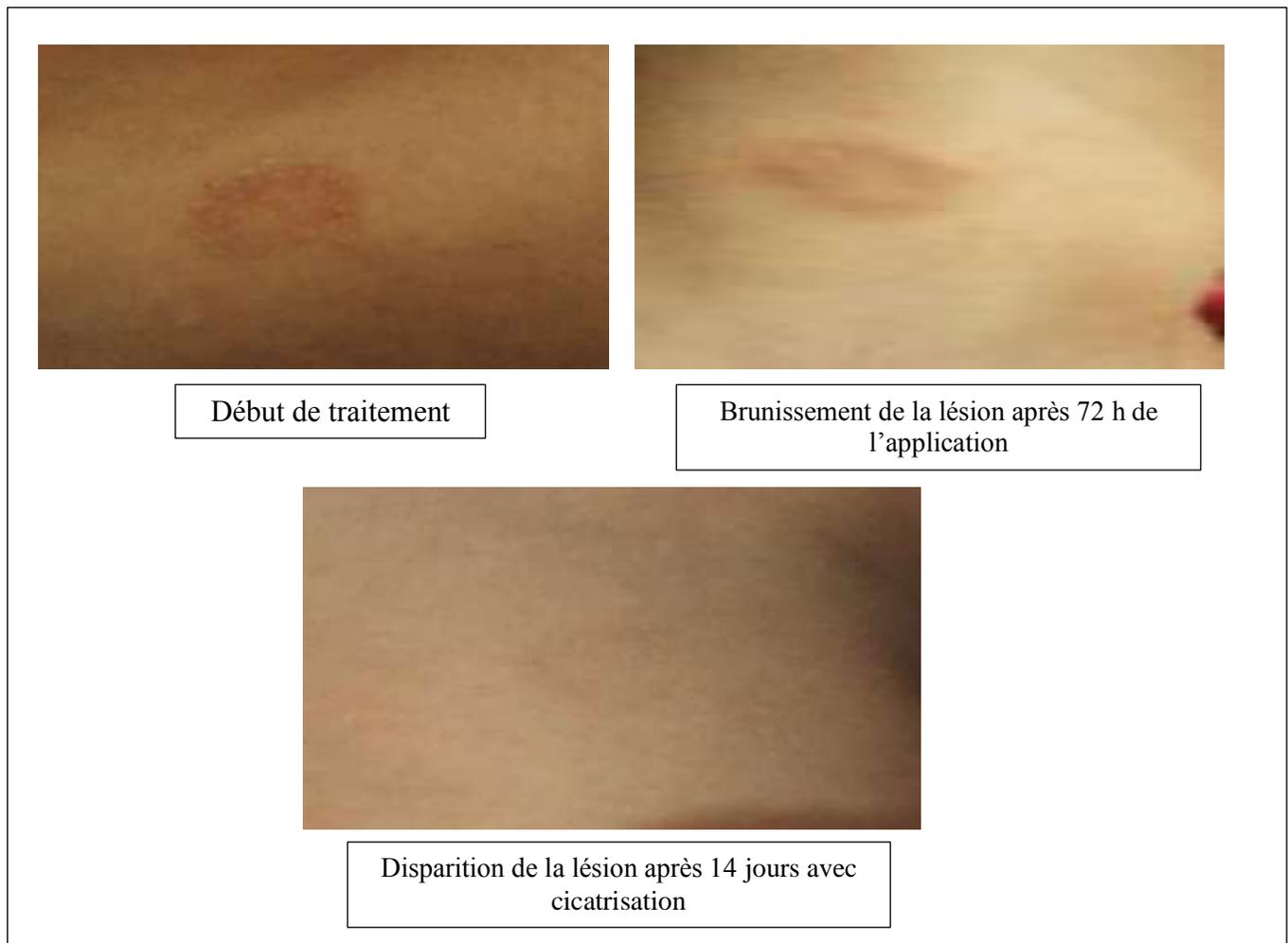


Figure 31. Evolution de l'infection cutanée jusqu'à la guérison

Conclusion et perspectives

Conclusion

De nos jours l'utilisation des plantes médicinales devient une alternative de la médecine moderne à cause de ces principes actifs qui sont les métabolites secondaires où elles fournissent des activités biologiques pour soigner la santé.

Dans cette étude, *C. angustifolia* a été fait l'objet de notre recherche, la caractérisation des métabolites secondaires dans la plante a révélé la présence des tannins, des tanins galliques, des anthraquinones libres, des mucilages, des dérivés anthracéniques combinés (O-hétérosides, C-hétérosides) avec absence des anthocyanes, des saponosides et coumarines.

L'extraction des feuilles de la plante a permis d'obtenir des rendements qui sont différentes en fonction de la méthode et le solvant d'extraction utilisées (17,65 pour l'extraction par macération avec le méthanol, 16,95% pour l'extraction par macération avec l'éthanol, 9,93% pour l'extraction par soxhlet avec l'éthanol, 7,9% pour l'extraction par reflux avec l'éthanol).

Notre étude permet de conclure que les feuilles de *C. angustifolia* représentent une source naturelle d'agents antioxydants et peut servir comme traitement préventif contre le stress oxydatif.

Les résultats de nos travaux ont montré une bonne activité antibactérienne, l'effet le plus puissant enregistré est celui de l'extrait éthanolique par macération sur *S. aureus*. L'extraction éthanolique par macération ou reflux ont montré une tendance à une activité antibactérienne plus élevée que l'extraction éthanoliques par soxhlet.

L'étude que nous avons effectuée, ont indiqué que les différents extraits polyphénoliques des feuilles *C.angustifolia* ont un effet anti-hydatique sur le parasite *Echinococcus granulosus*, aussi bien sur la viabilité que la morphologie du protoscolex.

Notre étude a montré que les différents antioxydants (polyphénols) contenus dans *C. angustifolia* jouent un rôle principal dans l'inhibition de l'activité parasitaire, basant ainsi sur les données citées dans les différentes études qui ont été faites au paravent ou récemment. Cette inhibition est proportionnelle au temps ainsi que la concentration de l'extrait polyphénolique qui est probablement liée à la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes.

Perspectives

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

- ✚ Développer des méthodes d'extraction modernes pour l'extraction spécifique des polyphénols afin d'obtenir des rendements plus élevés et de les comparer à ceux assurés par les méthodes conventionnelles
- ✚ Réaliser des études *in vivo* afin d'étudier les effets de ces extraits ainsi que l'infusé de *Cassia angustifolia* administré par gavage sur les réactions inflammatoires déclenchées après avoir infecté les animaux de laboratoire par le parasite *Echinococcus granulosus*.
- ✚ Etablir un nouveau médicament permettant d'inhiber la multiplication des parasites ainsi que la diminution du développement du kyste hydatique sans recourir à une solution chirurgicale.
- ✚ Valoriser l'activité antifongique de la plante qui constitue une source potentielle d'agents antifongiques et qui peut avoir une importance économique en tant que source de produits végétaux naturels antifongiques.
- ✚ Evaluer l'activité antioxydante des extraits par d'autres méthodes telles que TRAP (Total Radical - trapping Antioxidant Parameter) et ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 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. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1443-z>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2021.03.011>
- Albrahim, J. S., Alosaimi, J. S., Altaher, A. M., Almulyfi, R. N., & Alharbi, N. F. (2021). Employment of *Cassia angustifolia* leaf extract for zinc nanoparticles fabrication and their antibacterial and cytotoxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(6), 3303–3308. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.075>
- 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. (2022a). 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>
- 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. (2022b). A Review of Recent Studies on the Antioxidant and Anti-Infectious Properties of Senna Plants. *Oxidative Medicine and Cellular*

- Longevity*, 2022, 6025900. <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 methods . . . *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253>
- Aniszewski, T. (2007). *Alkaloids - secrets of life: Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role* (1st ed). Elsevier.
- B. N., I., & S. I., E. (2017). Radical Scavenging Activity of Edible Fungal Sporocarp Extracts from the Niger Delta Region of Nigeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(4). <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i4.8119>
- Baquer, 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.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2–9. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0683-9>
- 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>
- Chebaibi, A., Rhazi Filali, F., Amine, A., & Zerhouni, M. (2011). Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum* L.) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158.

- <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0626-5>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, *12*(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, *24*, 1250–1319.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, *15*(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : *Rev Med Liège*, *10*.
- 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>
- Dohou, N., Yamni, K., S., T., Idrissi Hassani, L. M., Alain, B., & Najib, G. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, *142*, 61–78.
- Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., & Curini, M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, *68*(7), 939–953. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.01.019>
- 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), Article 3–4. <https://doi.org/10.1051/jbio/2021009>
- Falzon, C. C., & Balabanova, A. (2017). *Phytotherapy: An Introduction to Herbal Medicine*.

- Primary Care*, 44(2), 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2017.02.001>
- Hammoshi, M. H., & Shareef, A. Y. (2005). *Effect of Ethanolic Extract and Crude Alkaloids of Peganum harmala Seeds on The Viability of Echinococcus granulosus Protoscolices in vitro*. 8.
- Hopkins, W. G., & Hüner, N. P. A. (2008). *Introduction to Plant Physiology* (4th Edition). John Wiley & Sons.
- Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.)*. Lavoisier.
- Jnanesha, A. C., Kumar, A., Tk, V., & Verma, D. (2018). *Opportunities and challenges in the cultivation of senna (Cassia angustifolia Vahl)*. 06, 41–43.
- JOHNSON, B., Arakareddy, B., & SAM, K. (2020). FORMULATION OF AN ANTI-BACTERIAL CREAM FROM PLANTOXALIS CORNICULATA AND ITS EVALUATION. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 40–44. <https://doi.org/10.22159/ijcpr.2020v12i5.39763>
- Kistamma Singanaboina* and Venkateshwar Chinna. (2018). Pharmacognosy of Cassia angustifolia Leaf Grown in Differently Treated Soils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 2580–2589.
- Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*.
- 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), Article 8.

- <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.28100>
- Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383–2389.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* 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/>
- McDowell, R. H., Sands, E. M., & Friedman, H. (2022). *Bacillus Cereus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459121/>
- Mourad, B., & Sihem, B. (2018). *Antioxidant Activity and Phenolic Content of Artemisia Campestris from Two Regions of Algeria*. 6.
- Nadjib, B. M., & Amine, F. (2019). *MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE*. 7.
- Naureen, I., Saleem, A., Shahid, A., Tasneem, Q., Tariq, A., Hassan, A., & Bibi, A. (2022). Harmful and Beneficial Effect of Senna Makki in COVID-19. *Haya: The Saudi Journal of Life Sciences*, 7(1), 13–18. <https://doi.org/10.36348/sjls.2022.v07i01.003>
- N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening

- phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1), Article 1.
<https://doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>
- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). *Extraction of Polyphenols 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), Article 1. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i1>
- Pakala, T., Molina, M., & Wu, G. Y. (2016). Hepatic Echinococcal Cysts: A Review. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 4(1), 39–46.
<https://doi.org/10.14218/JCTH.2015.00036>
- Peter Amaladhas, T., Sivagami, S., Akkini Devi, T., Ananthi, N., & Priya Velammal, S. (2012). Biogenic synthesis of silver nanoparticles by leaf extract of *Cassia angustifolia*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 3(4), 045006.
<https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/4/045006>
- Rajbhar, K., Dawda, H., & Mukundan, U. (2014). Polyphenols: Methods of extraction. *Scientific Reviews & Chemical Communications*, 51, 1–6.
- Rama Reddy, N. R., Mehta, R. H., Soni, P. H., Makasana, J., Gajbhiye, N. A., Ponnuchamy, M., & Kumar, J. (2015). Next Generation Sequencing and Transcriptome Analysis Predicts Biosynthetic Pathway of Sennosides from Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.), a Non-

- Model Plant with Potent Laxative Properties. *PLoS ONE*, 10(6), e0129422.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129422>
- 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>
- Sarvestani, A., Karimian, A., Mohammadi, R., Cheraghipour, K., Zivdri, M., Nourmohammadi, M., Almasian, M., & Nafari, A. (2021). Scolicidal effects of *Cassia fistula* and *Urtica dioica* extracts on protoscoleces of hydatid cysts. *Journal of Parasitic Diseases: Official Organ of the Indian Society for Parasitology*, 45(1), 59–64.
<https://doi.org/10.1007/s12639-020-01273-x>
- 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>
- 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 angustifolia* Vahl.): 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., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In

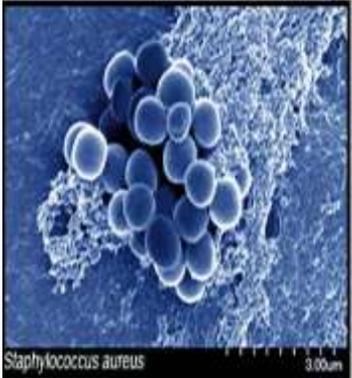
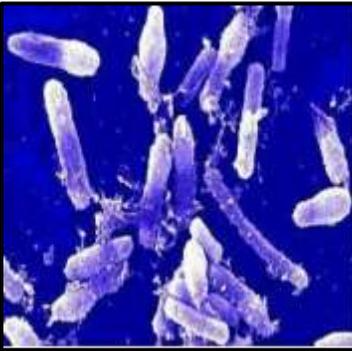
- Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178). Elsevier.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Tripathi, Y. C. (1999). *CASSIA ANGUSTIFOLIA* , A VERSATILE MEDICINAL CROP.
International Tree Crops Journal, 10(2), 121–129.
<https://doi.org/10.1080/01435698.1999.9752999>
- Verpoorte, R., van der Heijden, R., ten Hoopen, H. J. G., & Memelink, J. (1999). Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals.
Biotechnology Letters, 21(6), 467–479. <https://doi.org/10.1023/A:1005502632053>
- 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.
- Watson, R. R. (Ed.). (2014). *Polyphenols in plants: Isolation, purification and extract preparation* (First edition). Elsevier, Academic Press.
- Yee, G., & Al Aboud, A. M. (2022). Tinea Corporis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544360/>
- Zhang, W., Ross, A. G., & McManus, D. P. (2008). Mechanisms of Immunity in Hydatid Disease: Implications for Vaccine Development. *The Journal of Immunology*, 181(10), 6679–6685. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.10.6679>

Annexes

Annexe 1

Les souches microbiennes utilisées

Tableau 1 : Caractéristiques des différents micro-organismes utilisées.

Souches testé	Gram	Figure
<p><i>Staphylococcus aureus</i> :</p> <p>Est une bactérie à Gram positif qui est en forme de cocci et qui tend à être disposée en grappes. <i>Staphylococcus aureus</i> est l'une des causes mondiales les plus fréquentes de morbidité et de mortalité due à un agent infectieux. Cet agent pathogène peut provoquer une grande variété de maladies, allant des infections cutanées modérément graves aux pneumonies et septicémies mortelles. Le traitement des infections à <i>S. aureus</i> est compliqué par la résistance aux antibiotiques et un vaccin efficace n'est pas disponible (Cheung <i>et al.</i>, 2021).</p>	<p>Cocci Gram positif</p>	
<p><i>Bacillus cereus</i> :</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 <i>et al.</i>, 2022).</p>	<p>Bacille Gram positif</p>	
<p><i>Escherichia coli</i> :</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 <i>E. coli</i> sont de deux types : infections intestinales à type de diarrhées et infections extra-intestinales (infections urinaires, bactériémies et méningites) (Denis <i>et al.</i>, 2016).</p>	<p>Gram négatif</p>	

Annexe 2

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. Il est recommandé pour la diffusion d'agents antimicrobiens imprégnés sur disque de papier à travers un gel d'agar.

Préparation du milieu

Suspendre 38,0 grammes dans 1000 mL d'eau purifiée ou distillée. Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.

Stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50°C. Bien mélanger et verser dans des boîtes de Petri stériles.

Résumé :

Cassia angustifolia est l'une des plantes médicinales utilisée pour des objets thérapeutiques. Dans la partie pratique de notre travail nous avons effectué plusieurs méthodes, en commençant par un screening phytochimique dans le but d'identifier les différents composés chimiques contenus dans les feuilles de notre plante, passant à une extraction des polyphénols en utilisant l'éthanol ou le méthanol comme solvant par trois méthodes macération, Soxhlet et reflux. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur la plus élevée en polyphénol 111,15 mg GAE/g a été enregistré dans l'extrait éthanolique par reflux. L'effet antimicrobien des extraits a été évalué par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé. Ces extraits ont ensuite été évalués par le potentiel antioxydant (TAC). Nos résultats ont montré que l'extrait méthanolique à inhiber la croissance microbienne d'*E. coli* et de *S. aureus*, avec une très forte activité antioxydant (TAC). Pendant l'évaluation de l'activité antioxydante le taux d'inhibition le plus élevé a été signalé chez l'extrait éthanolique par reflux avec un IC_{50} égal à 12,601 $\mu\text{g/mL}$. *Cassia angustifolia* possède un effet anti-hydatique sur *Echinococcus granulosus* à cause de la présence des agents scolicide parmi ses composés chimiques, et c'était prouvé par l'étude réalisée dans notre projet fin d'étude.

Mot clés : *Cassia angustifolia*, polyphénols, activité antimicrobienne, activité antioxydante, *Echinococcus granulosus*, activité anti-hydatique

Abstract

Cassia angustifolia is one of the medicinal plants used for therapeutic objects. In the practical part of our work we carried out several methods, starting with phytochemical screening in order to identify the different chemical compounds contained in the leaves of our plant, switching to polyphenols extraction using ethanol or methanol as a solvent by three maceration methods, Soxhlet and reflux. The total polyphenols content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent. The highest polyphenol content of 111.15 mg GAE/g was recorded in the reflux ethanol extract. The antimicrobial effect of the extracts was evaluated by the diffusion method on a disc in an agar medium. These extracts were then evaluated by the antioxidant potential (TAC). Our results showed that the methanol extract inhibits the microbial growth of *E. coli* and *S. aureus*, with a very high antioxidant activity (TAC). During the evaluation of antioxidant activity, the highest inhibition rate was reported in the reflux ethanolic extract with a IC_{50} equal to 12.601 $\mu\text{g/mL}$. *C. angustifolia* has an anti-hydatic effect on *Echinococcus granulosus* due to the presence of scolicide agents among its chemical compounds, and this was proved by the study carried out in our final study project.

Keywords: *Cassia angustifolia*, polyphenols, antimicrobial activities, antioxidant activity, *Echinococcus granulosus*, anti-hydatic activity.

المخلص

Cassia angustifolia هو أحد النباتات الطبية المستخدمة للأشياء العلاجية. في الجزء العملي من عملنا، قمنا بعدة طرق، بدءًا من الفحص الكيميائي النباتي من أجل تحديد المركبات الكيميائية المختلفة الموجودة في أوراق نباتنا، والتحول إلى استخراج البوليفينول باستخدام الإيثانول أو الميثانول كمذيب بثلاث طرق للنقع، Soxhlet، Reflux، Macération وارتجاع. تم تحديد إجمالي محتوى البوليفينول باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu وسُجل أعلى محتوى من البوليفينول قدره 111.15 ملغ / غ في مستخلص الإيثانول المرتجع. تم تقييم التأثير المضاد للميكروبات للمستخلصات من خلال طريقة الانتشار على قرص في وسط أغار. ثم تم تقييم هذه المستخلصات بواسطة إمكانات الأكسدة (TAC). أظهرت نتائجنا أن مستخلص الميثانول يثبط النمو الميكروبي للإشريكية القولونية والذهبية، مع نشاط عالي جدًا لمضادات الأكسدة (TAC). أثناء تقييم النشاط المضاد للأكسدة، تم الإبلاغ عن أعلى معدل تثبيط في مستخلص الإيثانول المرتجع IC_{50} يساوي 12.601 ملغ/مل *C. angustifolia*. له تأثير مضاد للهيداتيكي على *Echinococcus granulosus* بسبب وجود عوامل مبيدة للجلد بين مركباته الكيميائية، وقد أثبتت ذلك الدراسة التي أجريت في مشروعا الدراسي النهائي.

الكلمات الرئيسية: *Cassia angustifolia*؛ البوليفينول، الأنشطة المضادة للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، *Echinococcus granulosus*، النشاط المضاد للهيداتيكي.