

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS DE DEUX PLANTES MEDICINALES UTILISEES POUR TRAITER LES INFECTIONS CUTANEEES ET LES SEPTICEMIES AU BENIN

[PHYTOCHEMICAL STUDIES AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM TWO MEDICINAL PLANTS USED IN BENIN TO TREAT SKIN INFECTIONS AND SEPTICEMIES]

Mahudro Yovo¹, Sedjro-Ludolphe Oronce Dedome², Philippe Sessou^{1,2}, Guy Alain Alitonou¹, Fidèle Paul Tchobo¹, Felicien Avlessi¹, and Dominique Codjo Koko Sohounhloue¹

¹Département de Génie Chimique et Procédés, Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie, Université d'Abomey-Calavi, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Cotonou, Benin

²Département de Production et Santé Animale, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, Université d'Abomey-Calavi, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Cotonou, Benin

Copyright © 2020 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The present study aims to develop two medicinal plants used in Benin in the treatment of skin, urinary infections and septicemia. This study consists in determining the chemical composition, evaluating the antibacterial and antioxidant activities of the ethanolic, semi-ethanolic and aqueous extracts of the two plants investigated: *Diospyros mespiliformis* and *Entada africana*. The extracts of these plants were obtained by maceration for 72 hours. The identification of secondary metabolites carried out by the method of precipitation and staining in the tubes revealed the presence of tannins, saponosides, flavonoids, anthocyanins; alkaloids, coumarins, sterols and terpenes. The content of total phenolic compounds was estimated by the Folin-Ciocalteu method, it varies from 2455.36 ± 7.05 to 5141.51 ± 98.67 EAG / gMS for extracts of *D. mespiliformis* and 2261.00 ± 21.14 to 7256.6 ± 24.67 EAG / gMS for extracts of *E. africana*. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the anti-free radical test using the DPPH radical. The results obtained show that the extracts of *E. africana* have a higher free radical scavenging power than the extracts of *D. mespiliformis*. The antibacterial activity of the in vitro extracts against microorganisms is evaluated by two methods: diffusion on disc and microdilution. The results show that the ethanolic extract of *D. mespiliformis* exerts a bactericidal effect on *S. aureus* as well as the ethanolic and aqueous extracts of *E. africana* which have a bactericidal effect on the strains of *S. aureus* and SCN. These results show that the investigated extracts have antimicrobial properties and could be used in the fight against skin infections and septicemia. This justifies their use in traditional medicine.

KEYWORDS: *Diospyros mespiliformis*, *Entada africana*, biological activities, Benin.

RÉSUMÉ: La présente étude se propose de valoriser deux plantes médicinales utilisées au Bénin dans le traitement des infections cutanées, urinaires et les septicémies. Cette étude consiste à déterminer la composition chimique, évaluer les activités antibactérienne et antioxydante des extraits éthanolique, semi-éthanolique et aqueux des deux plantes investiguées: *Diospyros mespiliformis* et *Entada africana*. Les extraits de ces plantes ont été obtenus par macération pendant 72 heures. L'identification des métabolites secondaires effectuée par la méthode de précipitation et de coloration dans les tubes a révélé la présence des tanins, saponosides, flavonoïdes, anthocyanes ; alcaloïdes, coumarines, stéroïdes et terpènes. La teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu, elle varie de $2455,36 \pm 7,05$ à $5141,51 \pm 98,67$ EAG/gMS pour les extraits de *D. mespiliformis* et de $2261,00 \pm 21,14$ à $7256,6 \pm 24,67$ EAG/gMS pour les extraits de *E. africana*.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par le test antiradicalaire utilisant le radical DPPH. Les résultats obtenus montrent que les extraits de *E. africana* ont un pouvoir de piégeage des radicaux libres plus important que les extraits de *D. mespiliformis*. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits in vitro vis-à-vis des microorganismes est effectuée par deux méthodes : la diffusion sur disque et la microdilution. Les résultats montrent que l'extrait éthanolique de *D. mespiliformis* exerce un effet bactéricide sur *S. aureus* de même que les extraits éthanolique et aqueux de *E. africana* qui possèdent un effet bactéricide sur les souches de *S. aureus* et SCN. Ces résultats montrent que les extraits investigués possèdent des propriétés antimicrobiennes et pourraient être utilisés dans la lutte contre les infections cutanées et les septicémies. Ce qui justifie leur utilisation en médecine traditionnelle.

MOTS-CLEFS: *Diospyros mespiliformis*, *Entada africana*, activités biologiques, Bénin.

1 INTRODUCTION

Aujourd'hui comme jadis, la médecine moderne dépend beaucoup des plantes. Les laboratoires de chimie et de biologie à travers le monde ont emboîté le pas à la médecine traditionnelle pour la recherche des voies et moyens de venir à bout des pathologies diverses, ceci par la recherche de nouveaux principes actifs et la compréhension de leurs modes d'action [1]. Au cours du temps, d'autres constatations ont permis de sélectionner les plantes servant à soigner des maladies. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicament. Jusqu'au début du XXème siècle, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale [2]. L'utilisation des plantes médicinales sous différentes formes brutes ou préparées s'est considérablement élargie. L'organisation mondiale de la santé (L'OMS) estime que 80% de la population globale dépend notamment de la médecine traditionnelle pour les soins sanitaires et, il a été rapporté aussi que 51% des préparations médicamenteuses dans les pays industrialisés dérivent de plantes [3][4]. Il faut noter qu'à l'heure actuelle, le phénomène de résistance est connu pour toutes les familles d'antibiotiques. Face à ce phénomène dans un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore, la recherche de nouveaux principes actifs extraits de façon naturelle doit connaître un regain d'intérêt [5]. De ce fait nous sommes intéressés à faire l'étude chimique et évaluer les propriétés biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Bénin.

2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 MATÉRIELS

2.1.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est constitué de l'écorce de tronc de *Entada africana* et des feuilles de *Diospyros mespiliformis* récoltées à Bassila (Benin).

2.1.2 MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Il est constitué des souches de références de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25933), *Escherichia coli* (ATCC 25922), et de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 818E) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et la souche clinique de *Staphylococcus* à Coagulases Négatives. Ces souches ont été fournies par le Laboratoire de Bactériologie du Centre National Hospitalier Universitaire Hubert Koutoukou MAGA du Benin.

2.2 MÉTHODES

Après la collecte du matériel végétal, les échantillons ont été séchés à la température du laboratoire (25°C-30°C) puis réduits en poudre

2.2.1 SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Les grandes familles de métabolites secondaires ont été recherchées dans la plante suivant les méthodes classiques de caractérisation. Les tanins et polyphénols ont été identifiés par le test au FeCl₃ et le réactif de Stiasny; les flavonoïdes par la réaction à la cyanidine ; les saponosides par le test de mousse ; les triterpènes et stéroïdes par le test de Liebermann-Burchard

les mucilages par le test à l'éther éthylique, les coumarines par la fluorescence à l'UV et enfin les alcaloïdes par les tests de Mayer et Dragendorf [6] [7] [8] [9].

2.2.2 PRÉPARATION DES EXTRAITS ÉTHANOLIQUE, SEMI-ÉTHANOLIQUE ET AQUEUX

50g de poudre de chaque échantillon ont été extraits avec 500 ml de solvant durant 72 heures sous agitation. Les filtrats ont été regroupés et évaporés à sec sous vide. Après pesée et calcul de rendement (R), les extraits ont été conservés au réfrigérateur jusqu'à utilisation.

$$R = (\text{masse de l'extrait} / \text{masse de la poudre}) * 100$$

2.2.3 DOSAGE DES COMPOSÉS POLYPHÉNOLIQUES

Le dosage des composés polyphénoliques a été réalisé pour chacun des deux extraits. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes totaux par la méthode de $AlCl_3$, les tanins condensés par la réaction à la vanilline sulfurique. La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en mg d'équivalent acide gallique/g de matière sèche (mgEAG/gMS), la teneur en flavonoïdes totaux en mg d'équivalent catéchine/g de matière sèche (mgEC/gMS), les tanins condensés en mg d'équivalent de catéchine/g de matière sèche (mgEC/gMS). Ces méthodes ont été décrites par [8] et rapportées par [9].

2.2.4 TEST D'ACTIVITÉ ANTIRADICALAIRE

Ce test a été réalisé suivant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH'. Dix (10) concentrations de chaque extrait ont été préparées dans le solvant approprié. 200 μ L de chacune des solutions d'extrait (solvant seul pour le blanc) ont été mélangées à 3800 μ L d'une solution de DPPH' (Sigma-Aldrich) à 100 μ M et placés à l'obscurité. La cinétique de la réaction a été suivie durant 2h, avec mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à 517nm toutes les 15 minutes. Le taux de piégeage des radicaux DPPH' a été calculé suivant l'équation [9].

$$\text{Pourcentage de piégeage des DPPH'} : (\%) = (\text{Absorbance témoin} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs témoin} \times 100.$$

A partir de ce pourcentage la concentration d'extrait inhibant 50% des radicaux DPPH' (IC_{50}) a été déterminée. L'acide gallique, la Quercétine et le BHT ont été utilisés comme standards de référence.

2.2.5 TEST D'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE

Les tests d'activité antibactérienne ont été réalisés par méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé et la méthode de dilution dans les puits.

2.2.5.1 MÉTHODE DE DIFFUSION PAR DISQUE

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits a été préalablement réalisée par la méthode de diffusion par disque sur le milieu gélosé Muller-Hinton Agar [1] afin d'identifier les extraits actifs sur lesquels seront menées les études ultérieures. Les solutions à tester ont été préparées à la concentration de 100 mg/ml avec de l'eau distillée stérile pour l'extrait aqueux et un mélange éthanol/eau (4/6) pour l'extrait éthanolique. Les suspensions microbiennes en phase exponentielle de croissance (0,5 sur l'échelle de McFarland, soit environ $1,5.10^6$ cellules/ml) ont étéensemencées sur de la gélose MHA stérile. Des disques imprégnés de 25 μ L d'extrait (2,5mg), de 25 μ L de solvant pour les témoins négatifs et le disque d'antibiotique de référence, en l'occurrence la gentamycine (10 μ g/disque) chloramphénicol (30 μ g/disque) et la vancomycine (30 μ g/disque) comme témoins positifs ont été déposés sur la gélose MHA préalablement ensemencée. Après une pré-diffusion de 30 min à température ambiante, les boîtes de Pétri ont été incubées 18 à 24 heures à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne ont été mesurés, les moyennes calculées (l'opération est réalisée en triplicata) et les écart-types déterminés. Les extraits ayant présenté un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 12 mm (disque compris 6mm) [10], ont été retenus pour la détermination de la CMI et de la CMB.

2.2.5.2 MÉTHODE DE DILUTION DANS LES PUIITS

La détermination de la CMI et de la CMB a été réalisée suivant la méthode de microdilution en bouillon de culture utilisant les microplaques de 96 puits [10]. A partir d'une solution-mère d'extrait à 400 mg/ml, une dilution successive de raison 2 (100 à 0,19 mg/ml) est réalisée puits par puits avec du Mueller-Hinton Broth et un bouillon de suspension microbienne à 1,5.10⁶ cellules/ml. La solution d'extrait diluée dans du MHB seul est prise comme témoin négatif et comme témoin positif, la suspension microbienne avec du MHB seul. Les microplaques ainsi ensemencées, sont recouvertes de parafilm et incubées 24h à 37°C. Le jour d'après, le puits correspondant à la plus petite concentration d'extrait pour laquelle on n'observe pas de turbidité est pris comme étant la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de l'extrait sur la souche testée. A partir de la CMI, les puits n'ayant montré aucune croissance microbienne visible à l'œil nu sont ré-isolés sur de la gélose Muller-Hinton Agar. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h. La plus faible concentration pour laquelle on n'observe aucune colonie microbienne (99,99% de destruction) est la Concentration Minimale Bactéricide (CMB), de l'extrait sur la souche testée. Le pouvoir antibiotique de la souche est déterminé en faisant le rapport CMB/CMI ; lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, l'extrait est qualifié de bactéricide et dans le cas où le rapport est supérieur à 4, l'extrait est dit bactériostatique [11].

2.2.6 ANALYSE STATISTIQUE

Les résultats d'analyses microbiologiques obtenus de trois essais indépendants, ont été traités grâce au logiciel Excel pour la comparaison des moyennes.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 RENDEMENTS D'EXTRACTION

Les rendements d'extraction sont indiqués dans le tableau1 ci-dessous. Les rendements d'extraction obtenus sont importants et varient de 16,96% à 30,34% pour les feuilles de *D. mespiliformis* et de 12,15% à 21,75% pour les extraits de l'écorce de tronc de *E. africana*. Pour les deux échantillons, le rendement le plus élevé est obtenu au niveau de l'extrait semi-éthanolique. Le rendement de l'extrait éthanolique des feuilles de *D. mespiliformis* récoltées au Nigéria est de 25,2% [12]. Ce résultat est en accord avec celui obtenu dans le présent travail. Par contre les études menées au Ghana [13] sur l'écorce de tronc de *E. africana* ont donné 25,5% pour l'extrait aqueux qui est le double de celui obtenu dans notre étude et 11,41% pour l'extrait éthanolique ; cette dernière valeur de rendement est inférieure à celle de notre échantillon.

Tableau 1. Rendements d'extraction

	Rendements (%)		
	E1	E2	E3
<i>D. mespiliformis</i> (feuilles)	29,14±0,09	30,34±0,10	16,96±0,04
<i>E. africana</i> (écorce de tronc)	18,64±0,05	21,75±0,09	12,15±0,01

Légendes : E1= extrait éthanolique ; E2= extrait semi-éthanolique ; E3= extrait aqueux

3.2 SCREENING PHYTOCHIMIQUE ET EXTRACTION

Les résultats issus du criblage phytochimique indiqués dans le tableau 2 montrent que les extraits sont riches en métabolites secondaires et contiennent tous des flavonoïdes, tanins catéchiques, leucoanthocyanes, saponosides. Les stérols et terpènes sont présents dans les extraits éthanolique et semi-éthanolique de l'écorce de tronc de *E. africana* puis dans les extraits aqueux et semi-éthanoliques de *D. mespiliformis*. Les mucilages sont contenus dans tous les extraits des feuilles *D. mespiliformis* alors qu'ils ont été identifiés seulement dans l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *E. africana*. Par ailleurs, les anthraquinones libres, absents dans les extraits de *E. africana* ont été identifiés dans tous les extraits de *D. mespiliformis*. Les coumarines sont présentes dans les extraits éthanoliques des deux échantillons et dans l'extrait aqueux de *E. africana*. Les études effectuées au Nigéria [12] ont montré que les feuilles de *D. mespiliformis* contiennent des tanins, saponosides, alcaloïdes, stérols et terpènes. Dans l'échantillon du Burkina, les anthraquinones et les flavonoïdes sont absents dans les extraits aqueux et éthanoliques [14]. Cependant ils ont identifié les alcaloïdes et les tanins dans ces deux extraits. Par ailleurs, l'extrait aqueux ne contient pas les anthocyanes, les stérols et terpènes contrairement à l'extrait éthanolique qui contient ces deux familles de composés. Une étude récente effectuée au Bénin [15] sur les extraits de l'écorce de tronc de *E. africana*, a révélé la présence des tanins

catéchiques, saponosides, mucilage, leucoanthocyanes et l'absence des alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines, stérols dans l'extrait aqueux de plante. Ces résultats corroborent en partie avec les nôtres. Au Cameroun, les tests de criblage phytochimique effectués sur l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *E. africana*, révèlent la présence des composés réducteurs, tanins, flavonoïdes, leucoanthocyanes et l'absence des alcaloïdes, stérols et terpènes [16]. Les études effectuées sur l'échantillon du Nigéria [17] ont noté l'absence des flavonoïdes dans l'écorce de tronc de *E. africana* mais ils ont identifié les tanins, les anthraquinones, les saponosides, les stérols et terpènes. La gamme variée de métabolites secondaires remarquée au niveau de nos échantillons par rapport aux travaux antérieurs pourrait être liée à divers facteurs climatiques, à la nature du sol et à la période de la récolte [18]. La diversité en métabolites secondaires de ces plantes pourrait expliquer leurs utilisations dans le traitement de plusieurs affections.

Tableau 2. Métabolites secondaires identifiés dans les extraits

	<i>E. africana</i>			<i>D. mespiliformis</i>		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
Alcaloïdes	-	+	+	+	+	-
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+
Tanins	Galliques	+	-	-	+	+
	Catéchiques	+	+	+	+	+
Anthocyanes	+	+	+	+	-	+
Leucoanthocyanes	+	+	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	+	+	+
Anthraquinones	-	-	-	-	-	+
Anthraquinones libr.	-	-	-	+	+	+
Mucilages	-	+	-	-	+	-
Stérols et terpènes	+	+	-	-	+	+
Coumarines	+	-	+	+	-	-
Comp. réducteurs	-	-	+	+	+	+

Légendes : E1= extrait éthanolique ; E2= extrait semi-éthanolique ; E3= extrait aqueux

3.3 TENEURS EN COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Les teneurs en composés phénoliques sont indiquées dans le tableau 3. La teneur en phénols totaux est exprimée en milligramme d'Equivalent d'Acide gallique par gramme de matière Sèche (mgEAG/gMS), celle des tanins condensés et flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme d'Equivalent de Catéchine par gramme de matière sèche (mgEC/gMS).

Concernant *D. mespiliformis*, la teneur en phénols totaux de l'extrait éthanolique est de 3957,48±59,91 mgEAG/gMS alors que celle de l'extrait semi-éthanolique et aqueux sont respectivement de 5141,51±98,67 mgEAG/gMS et 2455,36±7,05 mgEAG/gMS. Du point de vue de la teneur en flavonoïdes totaux, l'extrait éthanolique a donné 358,83±8,14 mgEC/gMS, celui semi-éthanolique est de 332,83±2,81mgEC/gMS et 161,83±5,90 mgEC/gMS pour l'extrait aqueux. Quant à la teneur en tanins condensés, celle la plus élevée est obtenue au niveau de l'extrait éthanolique avec une valeur de 202,39±1,12 mgEC/gMS suivie de 176,62±2,03 mgEC/gMS pour l'extrait semi-éthanolique et 84,54±1,7 mgEC/gMS pour l'extrait aqueux. Par rapport à l'écorce de tronc de *E. africana*, la teneur en phénols totaux des extraits éthanolique, semi-éthanolique sont respectivement de 7256,6±24,67 mgEAG/gMS et 6529,43±3,52 mgEAG/gMS alors que celle de l'extrait aqueux est 2261,00±21,14 mgEAG/gMS. la teneur en composés phénoliques de l'extrait aqueux obtenue au Burkina est de 2330±33 mgEAG/gMS [20]. Cette valeur est en accord avec celle obtenue dans cette étude. La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique est de 259,14±9,27mgEC/gMS, celle de l'extrait semi-éthanolique est de 220,17±2,53 mgEC/gMS alors qu'une valeur de 63,73±11,52 mgEC/gMS est obtenue pour l'extrait aqueux. Un faible taux en flavonoïdes totaux (6,95%) a été obtenu dans l'extrait aqueux de l'échantillon étudié par [19], ce qui est en accord avec notre résultat. Quant à la teneur en tanins condensés, elle est de 142,18±0,33 mgEC/gMS, 192,53±0,21 mgEC/gMS et 107,42±0,17 mgEC/gMS respectivement pour les extraits éthanolique, semi-éthanolique et aqueux.

La variabilité des teneurs en métabolites secondaires d'une région à l'autre peut dépendre de plusieurs facteurs. Au nombre de ces derniers figurent les conditions climatiques et édaphiques (la température, exposition solaire, la sécheresse, salinité...), les conditions de stockage et de l'état de maturité de la plante [9].

Tableau 3. Teneurs des composés phénoliques des extraits des échantillons étudiés

	<i>D. mespiliformis</i>			<i>E. africana</i>		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
Ph. Totaux (mgEAG/gMS)	7256,60±24,67	6529,43±3,52	2261,00±21,14	3957,49±59,90	5141,51±98,67	2455,36±7,05
Fl. Totaux (mgEC/gMS)	259,14±9,247	220,17±2,52	63,73±11,51	358,83±8,14	332,37±2,81	161,83±5,89
T. Condensés (mgEC/gMS)	142,18±0,33	192,53±0,21	107,41±0,17	202,4±1,12	176,62±2,03	84,54±1,70

3.4 ACTIVITÉ ANTIRADICALEIRE DES EXTRAITS BRUTS DES PLANTES ÉTUDIÉES

Le taux de piégeage des radicaux libres en fonction des concentrations des extraits des feuilles de *D. mespiliformis* et des extraits de l'écorce de tronc de *E. africana* sont exprimés en mg/mL.

Concernant les feuilles de *D. mespiliformis* et pour les concentrations de l'extrait éthanolique inférieures à 0,29mg/mL, nous observons une augmentation progressive du pourcentage de piégeage qui devient constant au-delà de cette concentration et est égal à 100%. La concentration de cet extrait permettant de piéger 50% des radicaux libres est égale à 0,09mg/mL. En ce qui concerne l'extrait aqueux, nous notons qu'aux concentrations supérieures à 0,58mg/mL, le pourcentage de piégeage reste quasiment constant et égal à 100%. Pour cet extrait, la concentration ayant permis de piéger 50% de radicaux libres est de 0,14mg/mL. Au niveau du profil de l'extrait aqueux, nous observons une augmentation progressive du pourcentage de piégeage qui reste presque constant (90%) au-delà d'une concentration égale à 0,87mg/mL. La concentration de cet extrait ayant permis de piéger 50% des radicaux libres est égale à 0,6mg/mL. L'IC50 de l'extrait aqueux des feuilles de *D. mespiliformis* étudié en Namibie [20] a pour valeur 0,075mg/mL. Cette valeur est inférieure à celle de notre extrait et montre que l'échantillon de Namibie est plus actif que celui étudié dans le présent travail.

Nous notons à partir des valeurs des IC50 que l'extrait éthanolique est le plus actif suivi de l'extrait semi-éthanolique et aqueux respectivement. Ce qui est justifié par la plus grande valeur de teneur en phénols totaux obtenue pour l'extrait éthanolique.

Quant à l'écorce de tronc de *E. africana*, Nous notons qu'au-delà de 0,2mg/mL, le pourcentage de piégeage des radicaux libres DPPH· reste constant et égal à 100% pour les extraits éthanolique et semi-éthanolique. Les concentrations ayant réduit la moitié des radicaux libres sont de 0,08mg/mL et 0,09mg/mL respectivement pour les extraits éthanolique et semi-éthanolique. Concernant l'extrait aqueux, le pourcentage de piégeage a atteint les 100% pour les concentrations supérieures à 0,51mg/mL. L'IC50 de cet extrait est de 0,22mg/mL. L'IC50 de l'extrait aqueux de l'échantillon récolté au Gampela (Burkina) a pour valeur 0,11mg/mL [20]. La valeur de l'IC50 de l'extrait aqueux étudié au Cameroun est de 0,50mg/mL[16]. Ce résultat est en parfait accord avec celui obtenu dans notre étude.

Nous notons une forte activité des extraits de l'écorce de tronc de *E. africana* témoignée par les faibles IC50 et qui pourrait être justifiée par leur forte teneur en phénols totaux.

3.5 ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS DES PLANTES ÉTUDIÉES

3.5.1 MÉTHODE DE DIFFUSION SUR DISQUES

Pour caractériser l'activité antimicrobienne de nos extraits, nous avons utilisé au prime abord la méthode de diffusion sur disques. C'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparents autour des disques imprégnés d'extraits. Il ressort de l'analyse des résultats qu'à la concentration de 100mg/mL, certains extraits présentent des diamètres d'inhibition considérables sur les souches. L'extrait éthanolique des feuilles de *D. mespiliformis* a présenté un diamètre d'inhibition égal à 12,5±0,71 mm sur *S. aureus*. Ce résultat est en accord avec celui des études effectuées au Nigéria [21], qui ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *D. mespiliformis* a inhibé la souche de *S. aureus* sur un diamètre de 12mm. Ils ont aussi montré que les souches de *K. pneumoniae* et *S. aureus* ont développé une résistance face à l'extrait aqueux des feuilles de *D. mespiliformis* ; ce qui corrobore notre résultat. Par contre, ils ont montré que l'extrait éthanolique a inhibé la souche de *E. coli* sur un diamètre de 12mm. Aux concentrations de 90mg/mL et 120mg/mL de l'extrait éthanolique des feuilles de *D. mespiliformis* récoltées à Sokoto (Nigéria) [22], la souche de *E. coli* a été inhibé aux diamètres de 12mm et

14mm respectivement. Pour le même échantillon, *Ps. aeruginosa* a été inhibée aux diamètres de 12mm et 13mm. Ces résultats ne sont pas en accord avec les nôtres. L'extrait aqueux de cet échantillon a également inhibé la souche de *S. aureus* sur 12 et 13mm, la souche de *Ps. Aeruginosa* sur 11 et 13mm et la souche de *E. coli* aux diamètres de 11mm et 13mm aux concentrations de 90mg/mL et 120mg/mL. Les souches de *S. aureus* et de SCN ont été sensibles à l'extrait éthanolique de l'écorce de tronc de *E. africana* sur un diamètre de 13,50±0,71mm et très sensibles à l'extrait aqueux de la même plante sur des diamètres de 14,50±0,71mm et 15,00±1,41mm respectivement. Les résultats issus des travaux effectués par [18] sur l'extrait éthanolique de l'écorce de tronc de *E. africana* révèlent qu'à la concentration de 10mg/mL, cet extrait a inhibé les souches de *S. aureus* et de *E. coli* aux diamètres de 6,80±0.01mm et 6,90±0.00mm respectivement.

3.5.2 MÉTHODE DE DILUTION EN MILIEU LIQUIDE

La détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides, nous permet non seulement de confirmer, de quantifier et de comparer les activités, mais aussi de caractériser la nature de l'effet révélé par un extrait sur un microorganisme donné. Comme cela a été rapporté dans la littérature, un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10mm [23]

Une substance est dite bactéricide lorsque le rapport CMB/CMI est égale à 2 et bactériostatique lorsque ce rapport est supérieur à 2[23]. De ce fait, une interprétation globale des résultats montre que les valeurs des CMI concordent d'une manière générale avec celle des diamètres d'inhibition ; les extraits ayant induit une importante zone d'inhibition présentent les plus petites CMI sur les souches correspondantes.

Nous notons que les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'extrait éthanolique des feuilles de *D. mespiliformis* sur *S. aureus* sont de 4,68mg/mL et 9,37mg/mL respectivement. Concernant l'extrait éthanolique de *E. africana*, les CMI et CMB sont de 12,5mg/mL et 25mg/mL sur *S. aureus* et de 1,56mg/mL et 3,12mg/mL sur SCN. Les valeurs des CMI et CMB de l'extrait éthanolique sur *S. aureus* sont en accord avec celles publiées par [18], qui ont montré que ces concentrations sont supérieures à 10mg/mL pour l'échantillon récolté au Nigéria. Quant aux concentrations de l'extrait aqueux, elles sont de 4,68mg/mL et 15,62mg/mL sur *S. aureus* et de 0,78mg/mL et 1,56mg/mL sur SCN. Ces activités pourraient être liées aux métabolites secondaires contenus dans ces extraits. En effet, outre leur pouvoir antioxydant, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de plusieurs types de microorganismes [24]. Bien que leur mécanisme d'action demeure encore imprécis, certaines études ont donné un début d'explication de leur potentiel antibactérien.

4 CONCLUSION

La présente étude nous a permis de mettre en évidence la richesse des extraits éthanolique, semi-éthanolique et aqueux des feuilles de *D. mespiliformis* et de l'écorce de tronc de *E. africana* en coumarines et en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes... qui sont probablement responsables des activités antiradicalaire et antimicrobienne observées sur les souches de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus* à Coagulase négative. Nous pouvons donc dire que l'extrait éthanolique de *D. mespiliformis* et les extraits éthanolique et aqueux de l'écorce de tronc de *E. africana* pourraient être considérer comme agents naturels de lutte contre les infections cutanées et les septicémies. De nouvelles perspectives sont envisagées par une étude plus poussée des activités antiradicalaire et antimicrobiennes des fractions de ces extraits, de la mixture des extraits et d'évaluation de leur toxicité.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements au professeur Paul YEDOMONHA pour sa disponibilité à identifier et collecter ces plantes

REFERENCES

- [1] F. Beddou, C. Bekhechi, R. Ksouri, S.D. Chabane, F.B. Atik, Evaluation of natural antimicrobial phenolic compounds from *Anvillea radata* Coss & Dur, International Journal of Pharmaceutical Research and Bioscience, 3(1) :172-187 ; 2014.
- [2] P. Waridel : "Investigation phytochimique des plantes aquatiques *Potamogeton pectinatus* L., *P. lucens* *Potamogetonaceae*", Thèse de doctorat, LAUSANNE, 2003
- [3] G. Vania Zuin et H.Y. Jenete Vilegas Phytoterapy research. 14 :73-88 ; 2000.

- [4] L. Ziane, Ha. Lazouni, A. Moussaoui, N. Hamidi, M. Djellouli, A. Belabbes Flavonoid From Methanolic Extract of *Limoniastrum Feei* (Girard) Batt (Plumbaginaceae) ; *Asian Journal of Pharmaceutiacal Clinical Research* 8(2) : 218-219 ; 2015.
- [5] L. Ryma, A. Saoudi, B. Nabila Chemical Composition And Antifungal Activity Of Essential Oil From *Satureja Calamintha Nepeta* Against Phytopathogens Fungi, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(7) : 208-211; 2015
- [6] Y.A. Békro, J.A.M. Békro, B.B. Boua, B.F.H Tra, E.E. Ehilé, 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, 4 (2): 217-225.
- [7] F. Traoré, Proposition de formulation d'un sirop antipaludique à base de *argemone mexicana papaveraceae*. *Médecine, de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie du Mali*, p 94. 2010
- [8] D.C.P. Agbangnan, C.B. Tachon, A. Chrostowka, E. Fouquet, D.C.K. Sohounhloue, Phytochemical study of a tinctorial plant of Benin traditional pharmacopoeia: The red sorghum (*sorghum caudatum*) of Benin. *Scientific Study & Research*, 13(2):121-135. 2012
- [9] Y.A. Koudoro, Y. Mahudro, B. Yehouenou, D.C.P. Agbangnan, F.P. Tchobo, G.A. Alitonou, C.K.D. Sohounhloue Chemical study, antiradical and antibacterial potential of the extracts of *Ximenia americana* and *Cussonia arborea* of Benin, *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(12): 1626-1635. 2014.
- [10] A.G. Ponce, R. Fritz, C. de Lvalle, S.I. Roura Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*, 36:679-684. 2003
- [11] L.Ziane Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de *Limoniastrum Feei*–Blombaginaceae - (Mlefet Khadem) ; thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en-sciences, Option : Chimie Organique, universite abou-bekr belkaid – tlemcen (Algérie), p69, 2016.
- [12] A.A. Ebbo, M. Mammam, M.M. Suleiman, A. Ahmed, A. Bello Preliminary phytochemical screening of *Diospyros mespiliformis*. *Research Journal of Agriculture and Environmental Management*, 4(1): 023-026. 2015.
- [13] V.C. M'batchou, A.J. Ayebila, O.B. Apea, Antibacterial activity of phytochemicals from *Acacia nilotica*, *Entada africana* and *Mimosa pigra* L. on *Salmonella typhi*. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 10(1): 1248-1258. 2011.
- [14] R.G. Belemtougri, B.Constantin, C. Cognard, G.Raymond, L. Sawadogo Effects of two medicinal plants *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) and *Diospyros mespiliformis* L. (Ebenaceae) leaf extracts on rat skeletal muscle cells in primary culture. *Journal of Zhejiang University Science*, 7(1): 56-63. 2006.
- [15] F. C. C. Tiropa, A. G. Bienvenu, A. Sabbas, P.O. Abiodoun Chemical components of main used herbal remedies in somba cattle health care in the northern benin. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(5) : 175-184, 2016
- [16] F.N. Njayou, E.C.E. Aboudi, M.K. Tandjang, A.K. Tchana, B.T. Ngadjui, P.F. Moundipa Hepatoprotective and antioxidant activities of stem bark extract of *Khaya grandifoliola* (Welw) CDC and *Entada africana* Guill. et Perr. *Journal of Natural Products*, 6: 73-80. ,2013.
- [17] J. C Ifemeje., C., Egbuna S.C., Udedi H.I. Iheukwumere Phytochemical And In Vitro Antibacterial Evaluation of the Ethanolic Extract of the Stem Bark of *Entada africana* Guill. & Perr and *Sarcocephalus latifolus*. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 4(6): 584-592. 2014.
- [18] F. Manolaraki, Propriétés anthelmintiques du sainfoin (*Onobrychisviciifoliae*). Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse III, Toulouse. 2011.
- [19] A. Tibiri, W.S. Richard, O. Noufou, B. Jean-Theophile, Evaluation of Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Entada africana* Guill. et Perr. (Mimosaceae) Organ Extracts. *Research Journal of Medical Sciences*, 4 (2): 81-87, 2010.
- [20] N.N. Sylvia, R.M.Davis, Phytochemical Analysis and In Vitro Anti-plasmodial Activity of Selected Ethnomedicinal Plants Used to Treat Malaria Associated Symptoms in Northern Namibia. *International Science of Technology Journal Namibia*, 2(1): 78-93. 2013.
- [21] M.H. Shagal, D. Kubmarawa and H. Alim, Preliminary phytochemical investigation and antimicrobial evaluation of roots, stem-bark and leaves extracts of *Diospyros mespiliformis*. *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics*, 2(1): 011-015. 2012.
- [22] S.M. Dangoggo, L.G Hassan, I.S. Sadiq, S.B. Manga, Phytochemical Analysis and Antibacterial Screening of Leaves of *Diospyros Mespiliformis* and *Ziziphus Spina-Christi*. *Journal of Chemical Engineering*, 1(1): 31-37. 2012.
- [23] F. Beddou, Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss & Dur, Thèse. Université Abou Belkaid, p122. 2015.
- [24] R.N. Okigbo, C.S. Mbajiuka, C.O Njoku., antimicrobial potentials of (UDA) *Xylopia aethopica* and *Occimum gratissimum* L. on pathogens of man. *International Journal of Molecular Medicine*, 1(4): 392-397, 2005.