

Etude phytochimique et évaluation des activités anti-inflammatoire et antibactérienne des extraits de *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae) 1849 et de *Bridelia ferruginea* Benth (Phyllanthaceae) 1849.

Phytochemical study and evaluation of the anti-inflammatory and antibacterial activities of extracts of *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae) 1849 and *Bridelia ferruginea* Benth (Phyllanthaceae) 1849

Isaac M. BILO^{1,2,*}, Israël F. BISUTA^{1,2}, Olivier K. MPUNGI^{1,2}, Georges M. BUNDU⁵, Fatuma L. LUHAHI¹, Gisèle K. MAKENGO^{1,4}, Odette N. KABENA^{1,3,5} & Joseph B. ITEKU^{1,2}

¹Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

²Laboratoire d'Ethnobiologie et de Phytochimie médicale (E-PHYMED), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

³Laboratoire de Microbiologie appliquée aux ressources biologiques et naturelles (LaMaRBN), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

⁴Laboratoire d'Analyse et de Recherche sur l'Alimentation et la Nutrition (LARAN), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

⁵Comité National de Protection contre les rayons ionisants (CNPRI), Ministère d'enseignement supérieur et universitaire, Recherche scientifique et Innovations, RD Congo ;

RESUME:

Etant donné que les effets secondaires des composés synthétiques constituent un fléau de la santé publique, nous nous sommes intéressés à cette problématique avec les plantes médicinales entre autres *Morinda lucida* et *Bridelia ferruginea* afin d'identifier des molécules bioactives présentant potentiellement des activités anti-inflammatoire et antibactérienne avec moins d'effets indésirables à la santé pour les maladies inflammatoires et infectieuses. L'objectif de notre travail est de réaliser une étude phytochimique afin de déterminer les activités anti-inflammatoire et antibactérienne. En outre, le screening phytochimique en solution a révélé que les feuilles et les écorces de ces deux plantes sont riches en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les quinones liées et les quinones libres. Les stéroïdes se sont révélés présents dans les feuilles de *Morinda lucida* mais absents dans les écorces de *Bridelia ferruginea*. Le dosage des métabolites secondaires ont prouvé que les feuilles de *Morinda lucida* et les écorces de *Bridelia ferruginea* contiennent une très forte teneur en polyphénols totaux et une teneur moyenne en flavonoïdes. Les extraits testés des feuilles et des écorces de nos deux plantes ont exhibé des activités anti-inflammatoires in vivo sur des cobayes et des rats. L'activité antibactérienne a révélé des actions bactéricide et bactériostatique après les rapports CMB/CMI avec nos extraits de *Bridelia ferruginea* tandis qu'avec les extraits de *Morinda lucida* il y a eu des valeurs indéterminées dues à de fortes concentrations mais ces extraits de *M. lucida* surtout organiques restent actifs pour la CMI en présentant des concentrations $\leq 250 \mu\text{g/mL}$. Ainsi, l'analyse et l'évaluation des extraits de nos plantes offrent une opportunité potentielle pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques qui présentent des propriétés pharmacologiques bénéfiques sans effets indésirables.

Mots clés : Etude phytochimique, activité anti-inflammatoire, activité antibactérienne.

ABSTRACT :

Give that the side effects of synthetic compounds represent a major public health issue, we investigated this problem using medicinal plants specifically *Morinda lucida* and *Bridelia ferruginea* to identify bioactive molecules with potential anti-inflammatory and antibacterial properties that carry fewer adverse health effects for the treatment of inflammatory and infectious diseases. The aim of our study was to conduct a phytochemical analysis to determine the anti-inflammatory and antibacterial activities of these plants. Furthermore, solution-based phytochemical screening revealed that the leaves and bark of both plants are rich in secondary metabolites, including polyphenols, flavonoids, anthocyanins, leucoanthocyanins, tannins, alkaloids, saponins, and both bound and free quinones. Steroids were found to be present in *Morinda lucida* leaves but absent in *Bridelia ferruginea* bark. Quantification of secondary metabolites demonstrated that *Morinda lucida* leaves and *Bridelia ferruginea* bark contain very high levels of total polyphenols and moderate levels of flavonoids. The tested extracts from the leaves and bark of both plants exhibited in vivo anti-inflammatory activity in guinea pigs and rats. Antibacterial testing specifically the MBC/MIC ratio revealed bactericidal and bacteriostatic effects for *Bridelia ferruginea* extracts; while *Morinda lucida* extracts yielded indeterminate values due to high concentrations, the *M. lucida* extracts particularly the organic ones remained active regarding MIC, showing concentrations of $\leq 250 \mu\text{g/mL}$. Thus, the analysis and evaluation of our plant beneficial pharmacological properties without adverse effects.

Keywords: Phytochemical study, anti-inflammatory activity, antibacterial activity.

*Adresse des Auteur(s)

Isaac M. BILO, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI & Laboratoire d'Ethnobiologie et de Phytochimie médicale (E-PHYMED), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

E-mail : isaacbilo989@gmail.com

Tél : +243819978205

Israël F. BISUTA, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI & Laboratoire d'Ethnobiologie et de Phytochimie médicale (E-PHYMED), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

Olivier K. MPUNGI, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI & Laboratoire d'Ethnobiologie et de Phytochimie médicale (E-PHYMED), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

Georges M. BUNDU, Comité National de Protection contre les rayons ionisants (CNPRI), Ministère d'enseignement supérieur et universitaire, Recherche scientifique et Innovations, RD Congo ;

Fatuma L. LUHAHI, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

Gisèle K. MAKENGO, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI & Laboratoire d'Analyse et de Recherche sur l'Alimentation et la Nutrition (LARAN), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

Odette N. KABENA, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI ; Laboratoire de Microbiologie appliquée aux ressources biologiques et naturelles (LaMaRBN), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI & Comité National de Protection contre les rayons ionisants (CNPRI), Ministère d'enseignement supérieur et universitaire, Recherche scientifique et Innovations, RD Congo ;

Joseph B. ITEKU, Mention Sciences de la vie, faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI & Laboratoire d'Ethnobiologie et de Phytochimie médicale (E-PHYMED), Université de Kinshasa, B.P. 190 KINSHASA XI, RD Congo ;

I. INTRODUCTION

De nos jours, la tendance de l'utilisation des produits naturels issus des plantes est en pleine croissance face au souci des effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs à la santé humaine et à l'environnement. De ce fait, la réflexion s'est développée auprès des industriels visant à diminuer leurs utilisations (Mnayer, 2014).

L'inflammation est de loin le problème de santé le plus fréquent auquel nous sommes confrontés au cours de notre vie (Mansour, 2015).

La réaction inflammatoire peut être associée à une très grande variété de situations pathologiques comme les infections, les maladies des systèmes, les cancers, les pathologies thrombo-emboliques. Les syndromes de l'inflammation sont très fréquemment rencontrés dans la pratique courante (Madieye et al., 2016). Cette réaction est donc liée à des signaux caractéristiques tels que la douleur, la rougeur, le gonflement et la perte de fonction de l'organe lésé (Usman et al., 2017).

La lutte contre les souches microbiennes est liée à leur pathogénicité et se fait principalement par l'usage d'antibiotiques. L'emploi de ces derniers est assez large et couvre aussi plusieurs domaines. Leur utilisation abusive ou répétée, a entraîné l'apparition de phénomène d'antibiorésistance résultant de l'exposition de certaines bactéries et champignons au stress qui peuvent échanger spontanément des gènes de résistance (Bergaoui et al., 2013).

Aujourd'hui, l'attention est portée sur les extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative dans le traitement des maladies infectieuses (Yakhlef et al., 2011).

En République Démocratique du Congo, plusieurs plantes médicinales utilisées traditionnellement ont été répertoriées. Parmi ces plantes médicinales, figurent *Morinda lucida* et *Bridelia ferruginea* pour lesquelles les études réalisées ont clairement montré des activités biologiques justifiant probablement leur usage traditionnel présentant potentiellement moins d'effets indésirables. C'est dans cette optique, face aux effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs à la santé humaine et à l'environnement, nous nous sommes intéressés à cette problématique afin d'identifier des molécules bioactives susceptibles de présenter un intérêt thérapeutique sans effets indésirables pour certaines pathologies comme les maladies inflammatoires et infectieuses en mettant en évidence des activités anti-inflammatoire et antibactérienne. Pour ce faire,

nous avons évalué qualitativement et quantitativement la composition phytochimique et enfin nous avons évalué les activités anti-inflammatoire et antibactérienne. L'objectif général de ce travail est d'analyser les feuilles de *Morinda lucida* et les écorces de *Bridelia ferruginea*. Quant aux objectifs spécifiques, il s'agit d'identifier qualitativement et quantitativement les grands groupes des métabolites secondaires présents dans les feuilles de *M. lucida* et dans les écorces de *B. ferruginea* et évaluer les activités anti-inflammatoire et antibactérienne.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Végétal

Nous avons utilisé les feuilles de *Morinda lucida* Benth, récoltées dans la commune de Kisenso et les écorces de *Bridelia ferruginea* Benth, achetées au marché Pascal dans la commune de Masina, dans la ville province de Kinshasa en République Démocratique du Congo.

II.1.2. Animal

Notre matériel animal a été constitué des cobayes (*Cavia porcellus*) et des rats wistar (*Rattus norvegicus*). Les cobayes provenaient de la Province du Kongo-central, en République Démocratique du Congo dont l'âge était de 6 mois environ et dont le poids variait entre 190 et 381 g. Les rats wistar provenaient de l'animalerie de la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Kinshasa, en République Démocratique du Congo dont l'âge moyen était de 6 mois et dont le poids variait entre 99 et 217 g.



Figure 1: Cobayes (Source : Bilo, 2025)



Figure 2: Rats wistar (Source : Bilo, 2025)

Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées dans le strict respect des standards internationaux de protection animale et de recommandations ARRIVE 2.0 relatives au soin et à l'utilisation des animaux de laboratoire pour la recherche impliquant les animaux. Le protocole a été approuvé éthiquement par le comité d'éthique approprié de l'animalerie de la faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Kinshasa.

Ces procédures sont en accord avec les principes éthiques internationaux reconnus pour la recherche des animaux expérimentaux, qui cherchent à minimiser la souffrance de l'animal avec l'assurance de la rigueur scientifique.

II.1.3. Microbiologique

Notre matériel microbiologique a été constitué de deux souches bactériennes isolées, à savoir *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* fournies par le laboratoire de Microbiologie appliquée aux ressources biologiques et naturelles (LaMaRBN) de la mention Sciences de la vie, de la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Kinshasa.

II.2. Méthodes

II.2.1. Conditionnement du matériel végétal

Les feuilles de *Morinda lucida* et les écorces de *Bridelia ferruginea* ont été séchées à l'air libre (environ 27 °C) et à l'abri du soleil pendant deux semaines environ.

Après séchage, le matériel végétal a été broyé dans un broyeur de marque Industrial high speed grinder et tamisé à l'aide d'un tamis de 1 mm de diamètre en vue d'obtenir une poudre fine. La poudre a servi aux analyses phytochimiques et biologiques.

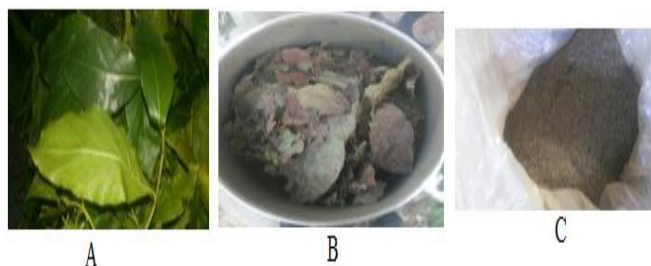


Figure 3: Feuilles fraîches de *Morinda lucida* (A) ; Feuilles sèches de *M. lucida* (B) ; Poudre de *M. lucida* (C) (Source : Bilo, 2025).

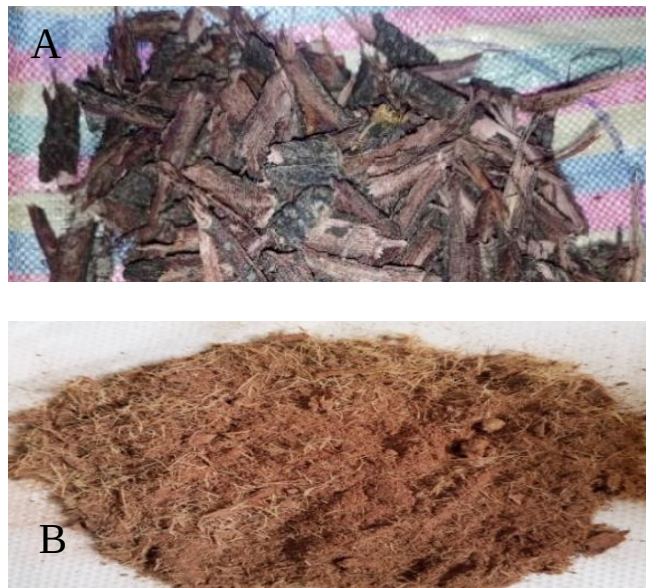


Figure 4: Ecorces fraîches de *Bridelia ferruginea* (A); poudre des écorces de *B.ferruginea*(B). (Source: Bilo, 2025)

II.2.2. Etude phytochimique

Les différents groupes des métabolites secondaires ont été identifiés par le screening standard comme par la méthode décrite précédemment par Ngbolua et *al.* (2016).

• Préparation des extraits

5 grammes de la poudre ont été macérés dans 50 mL d'eau distillée pendant 24 heures (pour la phase aqueuse) et puis 5 autres grammes de la poudre ont été encore macérés dans 50 mL d'éthanol pendant 48 heures (pour la phase organique). Ensuite nous avons utilisé un papier filtre de marque Whatman n°1 afin d'obtenir les filtrats pour l'analyse phytochimique. Les deux extraits obtenus respectivement ont été utilisés pour les tests classiques de coloration ou screening chimique en solution.

Test de la phase aqueuse

Recherche des Polyphénols

• Réactifs

Pour ce test, nous avons utilisé le réactif de Burton (FeCl_3) 2 %; $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1 % (1:1/v/v).

• Mode opératoire

Placer 1 mL d'extrait aqueux dans un tube à essai, y ajouter quelques gouttes de réactif de Burton à l'aide d'une pipette Pasteur.

En présence des polyphénols, la solution se colore en bleu intense (parfois accompagné d'un précipité). En cas de test positif, on procède systématiquement à la recherche de différents composés polyphénoliques notamment, les flavonoïdes, les quinones, les anthocyanes, les tanins, les leuco-anthocyanes etc.

Recherche des flavonoïdes

- **Réactifs**

Nous avons utilisé le réactif de Shinoda. Ce réactif est le résultat du mélange de divers réactifs à savoir : Alcool éthylique 95 %, HCl concentré, Eau distillée (1: 1: 1 v/v/v) et Copaux de Mg ou Zn.

- **Mode opératoire**

Prélever 1 mL d'extrait aqueux à l'aide d'une pipette Pasteur et le placer dans un tube à essai, y ajouter le réactif de Shinoda, quelques copaux de Mg et quelques gouttes d'alcool isoamylique; puis agiter et laisser reposer. La formation d'un film mince de coloration orangée (flavones), rouge cerise (flavonols) ou violacée (flavonones) dénote la présence des flavonoïdes.

Recherche des Anthocyanes

- **Réactifs**

Pour ce test, nous avons utilisé l'acide chlorhydrique à 20 % (HCl 20 %).

- **Mode opératoire**

Placer 1 mL d'extrait aqueux dans le tube à essai, puis ajouter quelques gouttes de HCl 20 % et chauffer au Bain marie. Il se développe une coloration violacée de chlorure d'anthocyanes qui peut cristalliser.

Recherche des Leuco-anthocyanes

- **Réactifs**

Réactif de Shinoda

- **Mode opératoire**

Placer 1 mL d'extrait aqueux, ajouter quelques gouttes de réactif de Shinoda, puis quelques gouttes d'alcool isoamylique, ensuite chauffer au bain marie.

La présence d'une coloration rouge ou violacée dans la couche surnageante est un test positif.

Recherche des Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles qui présentent à côté des réactions classiques des phénols, les propriétés de précipiter, les protéines et les alcaloïdes.

- **Réactifs**

FeCl₃ 2 %, réactif de Stiansny (formol 30 % + HCl concentré 2: 1), CH₃COONa.

- **Mode opératoire**

On prélève 1 mL de l'extrait aqueux dans un tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de FeCl₃ 1 %. L'apparition d'une coloration verte avec ou sans précipité, indique la présence des tanins de façon générale.

En cas de test positif, on peut différencier les tanins catéchiques et galliques de la manière suivante :

A 1 mL d'extrait aqueux dans un tube à essai, y ajouter quelques gouttes de réactif de Stiasny et chauffer au bain marie à 90 °C pendant 30 minutes, un précipité brun indique la présence des tanins catéchiques.

Filtrer en cas de présence des tanins catéchiques, saturer le filtrat avec des cristaux de CH₃COONa.

Ajouter ensuite 1 mL de FeCl₃ 2 %. Une coloration noirâtre indique des tanins galliques.

Recherche des alcaloïdes

La recherche des alcaloïdes se fait à l'aide de réactifs de Dragendorff (Bi(NO₃)₃ 0,85 g ; CH₃COOH glacial 10 mL; KI 8 g et l'eau distillée 80 mL) et du HCl 0,1 N.

- **Mode opératoire :**

Placer 1 mL d'extrait aqueux légèrement acidifié avec quelques gouttes de HCl 0,1 N, ajouter quelques gouttes de réactif de Dragendorff. Il se forme un précipité de couleur rouge-orange.

Recherche des saponines

Les saponines sont des hétérosides à génine stéroïdique ou terpénique caractérisés par leurs propriétés tensio-actives. Leur dissolution dans l'eau forme une solution moussante.

- **Mode opératoire :**

Mettre 1 mL d'extrait aqueux dans un tube à essai que l'on y ajoute quelques gouttes d'eau distillée et puis agiter vigoureusement. La formation d'une mousse résistante d'au moins 1 cm de hauteur pendant 15 minutes indique la présence des saponines ou un test positif.

Recherche des quinones liées

Cela se fait à l'aide du réactif de Bornträger (NaOH 10 % ou NH₄OH 10 %).

- **Mode opératoire :**

A 1 mL de l'extrait et le placer dans un tube à essai, ajouter le réactif de Bornträger et agiter énergétiquement. La coloration allant d'orange au rouge vif caractérise que le test est positif.

Test sur la phase organique

- **Recherche des stéroïdes et triterpénoïdes**

A 1 mL d'extrait organique, ajouter le réactif de Liebermann-Burchard.

Une coloration violette indique la présence des triterpénoïdes et stéroïdes. Séparément, les triterpénoïdes forment un complexe mauve tandis que les stéroïdes développent une coloration verte.

- **Recherche des quinones libres**

Les quinones libres sont mises en évidence par le traitement de l'extrait organique avec le réactif de Bornträger. L'apparition d'une coloration allant de l'orange au rouge vif témoigne la présence des quinones libres.

II.2.3. Dosage des métabolites secondaires

Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Nous avons déterminé la teneur en polyphénols totaux de nos extraits en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu (Kapepula et al., 2016).

- **Mode opératoire**

10 mg/mL de chaque extrait ont été dilués dans le méthanol 80 % de façon à obtenir une solution de 1 mg/mL pour chaque extrait. Ensuite nous avons préparé pour chaque extrait un mélange réactionnel composé de 0,5 mL d'extrait ;

5,0 mL d'eau distillée et 0,5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 minutes, ajouter 1,0 mL d'une solution saturée de Na₂CO₃ 20 %. Les mélanges ainsi préparés sont agités et incubés à la température du laboratoire à l'abri de la lumière pendant 1 heure. Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à 725 nm. Chaque dosage a été répété 3 fois.

- **Expression des résultats :**

La quantité des polyphénols totaux est exprimée en mg équivalents d'acide gallique (GAE)/g d'extrait sec en utilisant l'équation suivante issue de la droite d'étalonnage : $y = 1,7097 \ln(x) + 5,2062$ et $R^2 = 0,965$, où x est l'absorbance et y l'équivalent d'acide gallique (mg/g).

Dosage des flavonoïdes totaux

- **Principe**

Nous avons estimé la teneur en flavonoïdes totaux de nos extraits en suivant une méthode spectrophotométrique. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe à 415 nm (Bongo et al., 2017).

- **Mode opératoire**

Le mélange réactionnel contient 1 mL de la solution méthanolique (80 %) de chacun des extraits de concentration 10 mg/mL et 1 mL d'AlCl₃ 2% (dissout dans le méthanol) et le tout a été bien agité. Après 1 heure d'incubation à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière, mesurer les absorbances au spectrophotomètre à 415 nm. Les mélanges ont été préparés en duplicata pour chaque analyse et la valeur moyenne était retenue. Pour la préparation du blanc, nous avons opéré de la même façon sauf qu'à la place de l'extrait, mis 1 mL de méthanol a été mis.

- **Expression des résultats**

La teneur en flavonoïdes des extraits est exprimée en mg équivalent de quercétine (QE)/g d'extrait sec correspondant en utilisant l'équation issue de la droite d'étalonnage : $y = 0,5001 \ln(x) + 3,442$ et $R^2 = 0,944$ où x est l'absorbance et y l'équivalent de quercétine (mg/g).

II.2.4. Evaluation des activités biologiques

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

- **Préparation des extraits secs**

10 g de la poudre de l'échantillon ont été macérés dans 100 mL d'eau distillée préalablement chauffée (5-10 minutes).

L'infusé est filtré à l'aide du papier filtre wathman n°1 et le filtrat est placé dans une boîte de pétri qui, ensuite placé à l'étuve (HAREUS) à une température de 40 °C. Pour l'extrait organique, 10 g de la poudre de l'échantillon ont été macérés dans 100 mL de méthanol. Après 24 h, le macéré est filtré à l'aide du papier filtre wathman n°1 et le filtrat est placé dans une boîte de pétri qui, ensuite placé à l'étuve (HAREUS) à une température de 40 °C.

Test de l'œdème

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée *in vivo*, par la méthode de l'œdème de la patte de cobaye ou de rat induit par le formol 1 %, d'après les méthodes tirées de Soro (2015).

• Principe

L'injection du formol 1 % sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure du cobaye ou du rat entraîne l'apparition d'un œdème dont l'intensité atteint son maximum de développement (augmentation du volume de la patte par rapport au volume initial) après 5 heures. L'administration préventive par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème (Adepo, 2018).

• Mode opératoire

Les cobayes (*Cavia porcellus*) ont été utilisés pour l'activité anti-inflammatoire avec les extraits de *Morinda lucida* et les rats wistar (*Rattus norvegicus*) ont été utilisés pour l'activité anti-inflammatoire avec les extraits de *Bridelia ferruginea*.

Les cobayes et les rats (femelle et mâle) ont été répartis en 4 lots de 5 et mis à jeun pendant 16 heures avec accès uniquement accès à l'eau avant l'expérimentation. Ces cobayes ou rats ont été ensuite pesés au moment de l'expérimentation et les volumes des pattes (V_0) ont été mesurés au temps T_0 à l'aide d'un pied à coulisse digital avant l'administration des traitements. Trente minutes après l'injection de 0,04 mL de formol 1 % sous-cutanée au niveau de l'aponévrose de la patte postérieure gauche du cobaye ou du rat, nous avons administré par voie orale:

- Lot 1 : Extrait aqueux de la plante à la dose de 100 mg/Kg
- Lot 2 : Extrait organique de la plante à la dose de 100 mg/Kg
- Lot 3 : Eau distillée à raison de 1 mL/ cobaye ou rat (contrôle négatif)
- Lot 4 : Solution d'acide acétylsalicylique à la dose de 20 mg/Kg (référence ou contrôle positif).

La patte postérieure droite non traitée est considérée aussi comme un témoin. L'évolution de l'œdème de la patte

postérieure gauche par rapport à la patte postérieure droite a été déterminée à l'intervalle d'une heure et durant une période de 5 heures d'expérimentation. Le pied à coulisse a été utilisé pour déterminer le volume de l'œdème de la patte durant l'expérience. Les résultats du lot témoin et de référence ont servi pour juger l'effet de différents extraits pour la dose de chaque concentration.

L'importance de l'œdème sera appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation de l'œdème (% AUG) du volume de la patte du cobaye ou du rat suivant la formule:

$$\%_{AUG} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème selon la formule:

$$\%_{INH} = \frac{\% \text{ AUG témoin} - \% \text{ AUG traité}}{\% \text{ AUG témoin}} \times 100$$

Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *Morinda lucida* et de *Bridelia ferruginea* a été évaluée par la méthode de micro-dilution en milieu liquide pour la détermination des paramètres d'inhibition selon le protocole proposé par Delisle-Houde et al., 2019.

Méthode de Micro-dilution en milieu liquide

C'est une méthode quantitative beaucoup plus utilisée dans des laboratoires de recherche, permettant de déterminer avec une certaine exactitude des concentrations inhibitrices et bactéricides d'une drogue donnée par rapport à un microorganisme précis. Le test a été effectué sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Le choix de ces souches est dû du fait qu'elles sont des pathogènes courants responsables de nombreuses infections humaines: *E. coli* est souvent associée à des infections urinaires et gastro-intestinales et *S. aureus* est connue pour causer des infections cutanées.

• Principe

La méthode de micro-dilution dans les puits d'une microplaque consiste à préparer des concentrations décroissantes de la substance à tester sous un même volume (1 mL/1mg). Par la suite, on ajoute dans chaque puits un même volume de la suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance puis on incube à 37 °C pendant 24 heures.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration de la drogue, qui permet d'inhiber

complètement toute croissance visible d'un microorganisme dans la microplaque après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Sa détermination est basée sur l'évaluation de la sensibilité d'un microorganisme à une substance antimicrobienne (Hayes & Markovic, 2002).

Par contre, la concentration minimale bactéricide est la plus faible concentration de substance capable de tuer plus de 99,9 % d'inoculum bactérien (soit moins de 0,1 % des survivants) après 18 à 24 heures d'incubation à une température de 37 °C. Leur détermination est fondée sur la subculture à partir de la CMI sur milieu gélosé (Hayes & Markovic, 2002).

• Mode opératoire

La méthode utilisée est adaptée de l'étude menée par Mann & Markham, 1998. Comme milieu de culture on utilisera le Mueller Hinton.

• Dilution des extraits et incubation de la microplaque

Nous utiliserons une microplaque stérile en polystyrène de 96 puits de 8 lignes (A-H) et de 12 colonnes (1-12).

A l'aide d'une micropipette multicanaux de 100 µL, 100 µL de Mueller Hinton seront placés dans tous les puits de la microplaque de A1-A9 jusqu'à F1-D9.

Ensuite, à l'aide d'une micropipette de 100 µL, 100 µL de la solution mère de chaque extrait seront introduits dans les puits de la première colonne (de A1 à F1) et seront bien mélangés avec les bouillons BN par aspirations et rejets successifs dans les microplaques.

De cette disposition, des dilutions en cascade de raison deux seront effectués dans le Mueller Hinton de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 1000 µg/mL et 3,90 µg/mL (c'est-à-dire 100 µL du premier puits ont été prélevés et transférés dans le deuxième puits ainsi de suite jusqu'au dixième puits. Les 100 µL du neuvième puits sont éliminés).

Les puits de la colonne 11 ont servi de témoins positifs, à l'aide d'une micropipette multicanaux de 100 µL, 100 µL de Mueller Hinton ont été placés. Les puits de la colonne 12 quant à eux ont servi de témoins négatifs et à l'aide d'une micropipette multicanaux de 100 µL, 100 µL de la solution mère de l'extrait ont été placés.

Enfin, les microplaques seront recouvertes et incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures. La microplaque 1 est celle qui a été utilisée pour la souche de *Staphylococcus aureus* et la microplaque 2 a été utilisée pour la souche d'*Escherichia coli*.

Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Après 24 heures d'incubation, la CMI sera lue après ajout dans tous les puits de la microplaque de 4 µL de colorant resazurine (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-one 10-oxide) de concentration 0,1 mg/mL et incubation de 4 heures à 37 °C; un colorant bleu faiblement fluorescent. Le principe repose sur la capacité des cellules bactériennes vivantes à réduire la résazurine bleue en résorufine fluorescente colorée en rose par la succinate déshydrogénase mitochondriale en présence du NADH ou NADPH comme agent réducteur. Les cellules mortes dépourvues de cette enzyme demeurent bleues (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>).

La CMI est alors lue dans les premiers puits ne présentant aucune croissance bactérienne (Aigbe & Fawole, 2009). La croissance dans les puits contenant les extraits est comparée à celle des puits N°12 qui ont servi de contrôle positif de la croissance bactérienne. Le test n'est valide que si l'on observe une croissance acceptable dans ces puits de contrôle. Si la croissance est insuffisante dans ces puits, la microplaque est réincubée et la CMI est lue après 48 heures.

Il est à noter que lorsque la CMI est ≤ 250 µg/mL, la drogue est considérée comme active sur la souche bactérienne (Atilia & Djahoudi, 2015).

N.B: La préparation de la résazurine a consisté à peser 0,05 g de poudre de celui-ci dilué dans 5 mL d'eau distillée stérile afin d'obtenir une solution de 1 %.

Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB sera déterminée en ensemençant en stries sur un milieu solide 10 µL du contenu des puits de la microplaque n'ayant donné aucune croissance bactérienne visible en partant de la CMI. Les boîtes ainsiensemencées seront incubées pendant 24 heures à 37 °C. La plus faible concentration à laquelle il n'y a pas croissance dans la subculture sera considérée comme CMB.

Détermination du caractère bactéricide ou bactériostatique des extraits

Grâce à la méthode de micro-dilution en milieu liquide, il sera possible de préciser si les extraits inhibent (effet bactériostatique) ou tuent (effet bactéricide) les bactéries pathogènes. C'est le rapport CMB/CMI qui permet de confirmer le caractère bactéricide ou bactériostatique de la substance concernée (Caron & Boyer, 2019).

Lorsque ce rapport est supérieur à 4 mais inférieur à 16, la drogue est dite bactériostatique ; si ce rapport est inférieur ou égal à 4, la drogue est considérée comme bactéricide. Par contre, lorsqu'il est égal à 1, la drogue est dite bactéricide absolue (Caron & Boyer, 2019).

Cependant, lorsque ce rapport est égal ou supérieur à 32, les bactéries sont tolérantes à l'extrait (Atilia & Djahoudi, 2015).

III. RESULTATS

III.1. Composition phytochimique

Le tableau 1 ci-dessous présente la composition phytochimique des feuilles de *Morinda lucida* et des écorces de *Bridelia ferruginea*

Phases	Métabolites secondaires	Réactifs	Résultats	
			<i>M. lucida</i>	<i>B. ferruginea</i>
Phase aqueuse	Polyphénols	Burton	+	+
	Flavonoïdes	Shinoda	+	+
	Anthocyanes	HCL 20%	+	+
	Leuco-anthocyanes	Shinoda	+	+
	Tanins	FeCl ₃ 1%	+	+
	Alcaloïdes	Dragendorff	+	+
	Saponines	Eau distillée	+	+
Phase organique	Quinones liées	Bornträger	+	+
	Stéroïdes	Liebermann	+	-
	Quinones libres	Bornträger	+	+

Tableau 1 : Composition phytochimique des feuilles de *Morinda lucida* et des écorces de *Bridelia ferruginea*

Légende : + : Présence des métabolites recherchés ;
- : Absence des métabolites recherchés

L'analyse des résultats du screening phytochimique présentée dans le tableau 1 montre que les feuilles de *Morinda lucida* sont riches à tous les métabolites secondaires recherchés notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les quinones liées, les stéroïdes et les quinones libres. Ces résultats sont similaires avec les travaux de Zimudzi et Cardon (2008) qui ont révélé les alcaloïdes, les tanins et les saponines dans les feuilles de *Morinda lucida*. Quant aux écorces de *Bridelia ferruginea*, l'analyse des résultats du screening phytochimique présentée dans le tableau 1 révèle la présence des métabolites secondaires entre autres les polyphénols, les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes, les

tanins, les alcaloïdes, les saponines, les quinones liées et les quinones libres à l'exception des stéroïdes qui se sont révélés absents. Ces résultats sont similaires à ceux de Gg (2015) où quelques métabolites secondaires ont été révélés présents entre autres les quinones, les tanins, les flavonoïdes et les polyphénols et diffèrent à ceux de Traoré et al. (2009) qui ont révélé les stéroïdes dans les écorces de *B. ferruginea*.

III.2. Teneurs en métabolites secondaires

Le tableau 2 ci-dessous présente les teneurs en métabolites secondaires des extraits des feuilles de *Morinda lucida* et des écorces de *Bridelia ferruginea*.

Echantillon	Polyphénols totaux (mg EAG/g)	Flavonoïdes (mg EQ/g)
Feuilles de <i>M. lucida</i>	132,42±0,76	32,22±0,69
Ecorces de <i>B. ferruginea</i>	454,42±6,9	27,7±0,8

Tableau 2 : Teneurs en métabolites secondaires des extraits des feuilles de *Morinda lucida* et des écorces de *Bridelia ferruginea*.

Légende:

EAG/g: Equivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec

EQ/g: Equivalent de quercétine par gramme d'extrait sec

Les feuilles de *Morinda lucida* ont présenté une teneur élevée en polyphenols totaux, soit 132,42±0,76 mg EAG/g et une teneur en flavonoïdes de 32,22±0,69 mg EQ/g, cependant, ces résultats corroborent ceux de Mamyrbekova-Bekro (2011) où les polyphénols des extraits de *M. lucida* ont présenté une très forte teneur mais se diffèrent avec les flavonoïdes qui ont présenté une très faible teneur par rapport à la nôtre. Les écorces de *Bridelia ferruginea* ont également présenté une teneur élevée en polyphenols totaux, soit 454,42±6,9 mg EAG/g et une teneur en flavonoïdes de 27,7±0,8 mg EQ/g, ces résultats sont similaires à ceux d'Ambe, 2022 qui avait mis en évidence une forte teneur en polyphénols totaux de 402,65±1,60 mgEAG/g et une teneur en flavonoïdes de 33,56±0,13 mgEAG/g.

III.3. Activités biologiques

III.3.1. Activité anti-inflammatoire

Les figure 3 et 4 ci-dessous présentent les pourcentages d'inhibition de l'œdème de la patte de nos animaux testés vis-à-vis de nos extraits.

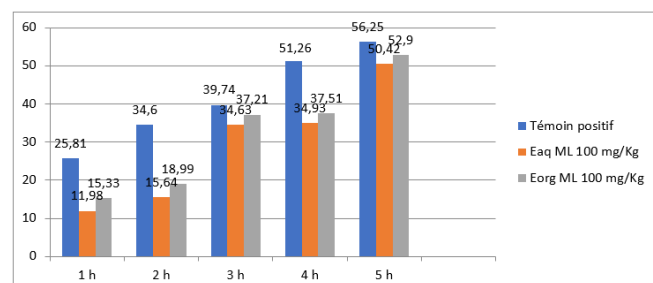


Figure 5 : Histogramme du pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des cobayes par les extraits de *M. lucida*

Légende:

Eaq ML: Extrait aqueux de *Morinda lucida*; Eorg ML: Extrait organique de *Morinda lucida*

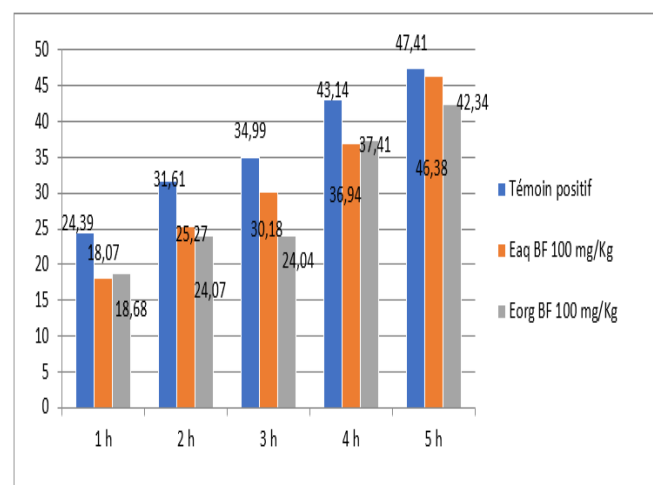


Figure 6 : Histogramme du pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des rats par les extraits de *B. ferruginea*

Légende :

Eaq BF: Extrait aqueux de *Bridelia ferruginea*; Eorg BF: Extrait organique de *Bridelia ferruginea*

Le test de l'ANOVA montre une différence significative d'une heure à une autre ($p < 0,05$) pour tous nos extraits ainsi que pour les témoins (aspirines).

Le test de Tukey révèle que les différences sont observées entre différents groupes, notamment l'extrait organique de *Morinda lucida* présente un pourcentage d'inhibition élevé par rapport à l'extrait aqueux. Quant au *Bridelia ferruginea*,

l'extrait aqueux a présenté un pourcentage d'inhibition élevé par rapport à l'extrait organique.

Les résultats de ces figures 5 et 6 prouvent que les différents extraits analysés de nos deux plantes ont exhibé une activité anti-inflammatoire et que cette activité augmente au fil du temps. En effet, à la cinquième heure, les extraits aqueux et organique ont prouvé une activité anti-inflammatoire significative de part et d'autre par rapport aux heures précédentes. Nos résultats convergent à ceux de [Frédéric et al. \(2021\)](#) où les extraits des feuilles de *Morinda lucida* ont considérablement inhibé l'œdème de la patte du rat induit par la carraghénine et à ceux d'[Olumayokun et al. \(1999\)](#) où les extraits des écorces de la tige de *Bridelia ferruginea* ont également inhibé l'œdème de la patte du rat induit par la carraghénine. Une réduction de la taille des pattes a été produite par les extraits sur une période de 5 heures. Ces deux plantes possèdent des propriétés anti-inflammatoires avec les taux d'inhibition allant de 11,98 % à 56,25 % pour l'extrait aqueux de *M. lucida*; de 15,33 % à 52,9 % pour l'extrait organique de *M. lucida*; de 18,07 % à 46,38 % pour l'extrait aqueux de *B. ferruginea* et de 18,68 % à 42,34 % pour l'extrait organique de *B. ferruginea*. Le témoin positif, l'aspirine pour analyse a montré une tendance similaire à celle observée avec nos extraits bien qu'avec des réductions de volume des pattes légèrement plus importantes allant de 25,81 % à 56,25 % avec les cobayes et 24,39 % à 47,41 % avec les rats. Ainsi, nos extraits ont montré une activité approximative à celle de l'aspirine à dose différente. L'activité anti-inflammatoire de nos plantes pourrait se justifier par la présence de plusieurs groupes chimiques entre autres les alcaloïdes, les saponines et les polyphénols ([Kouamé, 2011](#)).

III.3.2. Activité antibactérienne

III.3.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Le tableau 3 ci-dessous présente les concentrations minimales inhibitrices de nos extraits.

Extraits	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
	CMI µg/ml	CMI µg/ml
Extrait aqueux <i>M. lucida</i>	>1000	1000
Extrait organique <i>M. lucida</i>	250	250
Extrait aqueux <i>B. ferruginea</i>	250	62,5
Extrait organique <i>B. ferruginea</i>	125	125
Témoin (Pénicilline)	>1000	62,5

Tableau 3 : Concentration minimale inhibitrice des extraits de *M. lucida* et *B. ferruginea* sur *E. coli* et *S. aureus*.

D'après ce qui ressort du tableau 3, les CMI des extraits aqueux de *M. lucida* vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus* correspondent à de fortes concentrations respectivement $>1000 \mu\text{g/mL}$ vis-à-vis d'*E. coli* et $1000 \mu\text{g/mL}$ vis-à-vis de *S. aureus*; tandis celles des extraits organiques correspondent à $250 \mu\text{g/mL}$ partout; ce qui implique que les extraits organiques de *M. lucida* sur *E. coli* et *S. aureus* sont actifs par rapport aux extraits aqueux car il est à noter que lorsque la CMI est $\leq 250 \mu\text{g/mL}$, la drogue est considérée comme active sur la souche bactérienne (Atilia & Djahoudi, 2015). Il sied de noter que les concentrations élevées des extraits aqueux de *M. lucida* vis-à-vis de nos souches pourraient être dues par la nature de nos souches qui révèle une certaine résistance ou soit par le solvant utilisé. Ces résultats corroborent ceux de Nwinyi et al (2008) où l'extrait de *M. lucida* avait inhibé la croissance d'une souche bactérienne d'*E. coli* différente de nôtre en enregistrant une zone d'inhibition de 5 mm. Quant aux extraits aqueux de *B. ferruginea*, nous avons observé des concentrations de $250 \mu\text{g/mL}$ vis-à-vis d'*E. coli* et de $62,5 \mu\text{g/mL}$ vis-à-vis de *S. aureus*; tandis que l'on a observé des concentrations de $125 \mu\text{g/mL}$ partout pour les extraits organiques de la même espèce sur nos deux souches. Tous les extraits de *B. ferruginea* se sont révélés actifs puisque la CMI étant $\leq 250 \mu\text{g/mL}$.

Par ailleurs, la souche d'*E. coli* s'est avérée moins sensible ($>1000 \mu\text{g/mL}$) que celle de *S. aureus* à l'antibiotique ($62,5 \mu\text{g/mL}$) avec le témoin.

III.3.2.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Le tableau 4 ci-dessous présente les concentrations minimales bactéricides de nos extraits

Extraits	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
	CMB $\mu\text{g/mL}$	CMB $\mu\text{g/mL}$
Extrait aqueux <i>M. lucida</i>	>1000	>1000
Extrait organique <i>M. lucida</i>	>1000	>1000
Extrait aqueux <i>B. ferruginea</i>	1000	1000
Extrait organique <i>B. ferruginea</i>	1000	1000
Témoin (Pénicilline)	1000	>1000

Tableau 4 : Concentration minimale bactéricide des extraits de *M. lucida* et *B. ferruginea* sur *E. coli* et *S. aureus*.

Il ressort de ce tableau 4 que tous nos extraits présentent des CMB fortes vis-à-vis de nos souches, soit $>1000 \mu\text{g/mL}$, soit égale à $1000 \mu\text{g/mL}$. Ceci peut s'expliquer soit par la nature de nos souches, soit par la nature du solvant utilisé.

En effet, pour déduire si nos extraits inhibent ou tuent nos souches bactériennes utilisées, nous devons passer par le rapport CMB/CMI qui permet de confirmer le caractère bactéricide ou bactériostatique de nos extraits. Les valeurs du rapport CMB/CMI, renseignent sur la nature bactéricide ou bactériostatique des extraits et varient de 4 à 16.

III.3.2.3. Détermination du caractère bactéricide et bactériostatique des extraits

La figure 5 ci-dessous présente les caractères bactéricide et bactériostatique de nos extraits sur les souches bactériennes

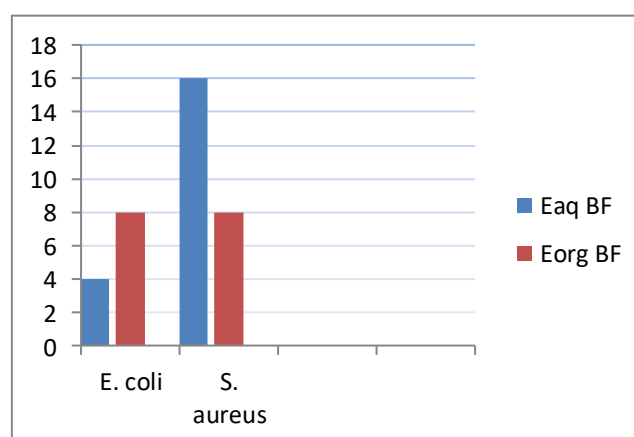


Figure 7: Histogramme des caractères bactéricide et bactériostatique de nos extraits sur les souches bactériennes

Légende :

Eaq BF: Extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* ;

Eorg BF: Extrait organique de *Bridelia ferruginea*

Il sied de noter sur cette figure 7 ci-haut que les rapports CMB/CMI des extraits aqueux et organique de *M. lucida* et du témoin (pénicilline) sont indéterminés sur nos deux souches bactériennes puisque leurs concentrations sont supérieures ou égales à $1000 \mu\text{g/mL}$. De tous nos extraits de nos deux plantes, seuls les extraits de *B. ferruginea* ont révélé des caractères bactéricide et bactériostatique sur nos deux souches bactériennes utilisées; soit égal à 4 (caractère bactéricide) pour l'extrait aqueux de *B. ferruginea* sur *E. coli*; soit égal à 8 (caractère bactériostatique) pour l'extrait organique de *B. ferruginea* sur *E. coli*; soit égal à 16 (caractère bactériostatique) pour l'extrait aqueux de *B. ferruginea* sur *S. aureus*; soit égal à 8 (caractère bactériostatique) pour l'extrait organique de *B. ferruginea* sur *S. aureus*.

Il a été démontré que les métabolites secondaires des plantes médicinales possèdent un effet inhibiteur remarquable sur différentes souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif (Katarzyna et al, 2007). Beaucoup d'études ont été faites pour l'évaluation des propriétés antibactériennes des

extraits de plantes médicinales sur les bactéries. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales (Moroh, 2008).

IV. CONCLUSION

Le présent travail a été initié dans le but d'analyser les feuilles de *Morinda lucida* et les écorces de *Bridelia ferruginea* dans la perspective d'identifier des molécules bioactives susceptibles avec un intérêt thérapeutique présentant potentiellement moins d'effets indésirables à la santé humaine.

Il en ressort de cette étude que:

- Les feuilles et les écorces de ces deux plantes sont riches en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les quinones liées et les quinones libres. Les stéroïdes se sont révélés présents dans les feuilles de *Morinda lucida* mais absents dans les écorces de *Bridelia ferruginea*.
- Le dosage des métabolites secondaires ont indiqué que les feuilles et les écorces de ces plantes contiennent de très fortes teneurs en polyphénols totaux et des teneurs moyennes en flavonoïdes.
- Ces deux plantes possèdent des propriétés anti-inflammatoires *in vivo* considérables, avec les taux d'inhibition qui varient en fonction du temps.
- Seuls les extraits des écorces de *Bridelia ferruginea* ont révélé des actions bactéricide et bactériostatique après les rapports CMB/CMI vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus* ; tandis qu'avec les extraits de *Morinda lucida* il y a eu des valeurs indéterminées dues à de fortes concentrations mais ces extraits de *M. lucida* surtout organiques restent actifs pour la CMI.
- Il serait donc souhaitable que les études phytochimiques plus approfondies soient poursuivies afin d'identifier d'autres molécules bioactives responsables des activités biologiques de ces deux plantes.

REFERENCES

1. Adepo, A. A. (2018). Évaluation des activités anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae). Thèse de Doctorat, Université Felix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 82 p.

2. Aigbe, S. O., & Fawole, B. (2009). First report of a cowpea seed rot caused by *Fusarium compactum* in Nigeria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(3), 388–392.
3. Ambe Alain (2022). Activité anti-oxydante et détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoids totaux de *Bridelia ferruginea* Benth et *Enantia polycarpa* (DC) Engl et Diels, deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la diarrhée à Abidjan (Côte d'Ivoire).
4. Atailia, I., & Djahoudi, A. (2015). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Géranium rosat* (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivé en Algérie. *Phytotherapie*, 13(3), 156–162. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0950-2>
5. Bergaoui, I., Zairi, A., Tangy, F., Aouni, M., Selmi, B., & Hani, K. (2013). In vitro antiviral activity of dermaseptin S4 and derivatives from amphibian skin against herpes simplex virus type 2. *Journal of Medical Virology*, 85(2), 272–281. <https://doi.org/10.1002/jmv.23450>
6. Bongo G, Inkoto C, Masengo C, Tshiana C, Lengbiye E, Djolu R, Kapepula M, Ngombe K, Mbemba T, Tshilanda D, Mpiana P, Ngbolua KN. (2017). Antisickling, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Afromomum alboviolaceum* (Ridley) K. Schum, *Annona senegalensis* Pers. and *Mondia whitei* (Hook. f.) Skeels. *American Journal of Laboratory Medicine*, 2: 5259.
7. Caron, F., & Boyer, S. (2019). « Le EUCAST / CA-SFM nouveau : les questions » Impact de la méthodologie CA-SFM / EUCAST 2015 sur l'évaluation de l'activité de Objectifs Méthodes Résultats. 36, 12. 25
8. Delisle-Houde, M., Toussaint, V., & Tweddell, R. J. (2019). Évaluation de l'activité antibactérienne contre *Xanthomonas campestris* pv. vitians et *Pseudomonas cichorii* de différents extraits végétaux à base d'espèces horticoles et d'essences forestières. *Phytoprotection*, 99(1), 21–26. <https://doi.org/10.7202/1062449ar.32>
9. Frédéric A., Ebenezer O., Stephen A., Michael A., Georgina D, Nathanael L., Mistuko O., Kwadwo A., Alfred A., Regina A. 2021. Activité anti-inflammatoire et mécanisme d'action de l'extrait éthanolique des feuilles de *Morinda lucida*

- Benth. Journal de Médecine traditionnelle et complémentaire.
10. Gg, A. (2015). Mitragina inermis utilisées dans les remèdes zootherapeutiques en Afrique de l'Ouest : origines historiques , utilisations actuelles et implications pour la conservation. 12.
 11. Hayes, A. J., & Markovic, B. (2002). Toxicity of Australian essential oil Backhousia citriodora (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. Food and Chemical Toxicology, 40(4), 535–543. [https://doi.org/10.1016/S02786915\(01\)00103-X](https://doi.org/10.1016/S02786915(01)00103-X)
 12. Katarzyna U., Anna M., Marta M., Joanna J.B., Et Grzegorz W. 2007. Assessment Of Antibacterial Effects Of Flavonoides By Estimation Of Génération Times In Liquid Bacterial Cultures Biologia., 62 (2) : 132-135.
 13. Kapepula PM, Mungitshi PM, Franck T, Ngoyi DM, Kalenda PDT, Ngombe NK, Tamfum J. (2016). Antioxidant potentiality of three herbal teas consumed in Bandundu rural areas of Congo Antioxidant potentiality of three herbal teas consumed in. Natural Product Research, <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1263844>
 14. Kouamé K. j., Fatou S. O-S., Georges A., N'guessan Z., Koffi Roger K., Kouassi Emile B. Kangah Mireille K.T., Jean-Jacques K.K. & Severin K. Activité Anti-Inflammatoire Et Études Phytochimiques De L'extrait Aqueux Des Écorces Distemonanthus Benthamianus Baill. (Caesalpiniaceae: Leguminosae - Caesalpinioideae). European Scientific Journal, ESJ, 2021, 74.
 15. Madieye S., Mamadou.N., Firmin S. B., Mbaye S., Willuim D., Abdou S., Awa N., Amadou M. & Guata Y. (2016). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de Elaeis guineensis. Jacq.(ARECACEAE) sur l'œdème aiguë de la patte de rat induit par la carraghenine. International Journal of Biological and Chemical sciences.
 16. Mamyrbekovakova-Bekro. (2011). Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradition thérapeutique de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire.
 17. Mann, C. M., & Markham, J. L. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of Applied Microbiology, 84(4), 538–544. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00379.x>
 18. Mansour Sadia (2015). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de 3 plantes médicinales : Artemisia obsinthium L., Artemisia herba alba Asso et Hypericum cariboides. Étude in vivo. Thèse de doctorat. Université de sciences et de la technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF, p3
 19. Mnayer. D (2014), Ingénieur Agronome, Eco-extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobien, thèse doctorat, académie d'Aix –Marseille université d'Avignon et des pays de Vaucluse.
 20. Moroh, J. L. A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G., & Guede-Guina, F. (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de Morinda morindoides (Baker) milne-redheat (rubiacaceae) sur la croissance in vitro des souches d'Escherichia coli. Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liege, 77, 44–61.
 21. Ngbolua KN, Shetonde OM Mpiana PT, Inkoto CL, Masengo CA, Tshibangu DST, Gbolo BZ, Baholy R, Fatiany PR. (2016). Ethno-pharmacological survey and Ecological studies of some plants used in traditional medicine in Kinshasa city (Democratic Republic of the Congo). Tropical Plant Research, 3: 413-42.
 22. Nwinyi OC, Chinedu NS, Ajani OO (2008). Evaluation of antibacterial activity of Pisidium guajava and Gongronema latifolium J.Med.Plants Res. 2(8):189-192
 23. Olumayokun A. Olajide, J. Modupe Makinde, S. Olubusayo Awe (1999). Effects of the aqueous extract of Bridelia ferruginea stem bark on carrageenan-induced oedema and granuloma tissue formation in rats and mice.
 24. Soro T Y, Néné-bi A S, Zahoui O S, Yapi A et Traoré F (2015). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Ximenia americana (Linné) (Olacaceae). Journal of Animal & Plant Sciences. Vol.24, Issue 3 : 3802-3813.
 25. Usman S., Agunu A., Atunwa S., Hassan S., Sowemimo et Salawu k. (2017). Phytochemical and anti-inflammatory studies of ethanolic extract of Terminalia macroptera Guill & Pèrè (Combretaceae) Stem Bark in rats and mice. Nigerian Journal of Pharmaceutical Research.

26. Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytotherapie*, 9(4), 209–218.
<https://doi.org/10.1007/s10298-011-0641-6>
27. Zimudzi C et Cardon DP. (2005). Plant resources of tropical. African resources
<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>