



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Activité antibactérienne et Constituants chimiques des feuilles de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae)

Aboua Timothée OKPEKON^{1*}, Konan Léon KOFFI², François Nicaise BONY²,
Kpan Nestor GONO³, André Sawa KPAÏBE² et Christophe N'Cho AMIN²

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), UFR Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Univ. FHB; 22 B.P: 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

²Département de Chimie Analytique, Minérale et Générale, Technologie Alimentaire, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Univ. FHB; B.P: 34 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Biologie et Santé, UFR Biosciences, Univ. FHB, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant; E-mail: okpekon@yahoo.fr; Tel.: (+225) 05 05 00 65 60.

Received: 03-05-2023

Accepted: 23-06-2023

Published: 30-06-2023

RESUME

Mareya micrantha (Euphorbiaceae) est une plante médicinale Ivoirienne utilisée contre la diarrhée, la toux, le téniasis et aussi à des fins laxatives et abortives. L'objectif de cette étude est de déterminer les principes antibactériens contenus dans ses feuilles. Ainsi, les feuilles, séchées et broyées, ont été macérées dans de l'éthanol pour constituer l'extrait brut éthanolique (FE) qui après contre-extraction a conduit aux sous-extraits hexanique (FEH), chlorométhylénique (FED), acétatique (FEA), butanolique (FEB) et aqueux résiduel (FEAr). Ces différents extraits ont été évalués sur certaines bactéries responsables d'affections entériques. L'extrait brut FE et ses sous-extraits FED et FEA ne s'étaient montrés plus actifs que sur *Salmonella bongori* et *Staphylococcus aureus* (diamètres d'inhibition de $12,20 \pm 0,80$ à $17,10 \pm 0,90$ mm). Les dérivés de nor-curcubitacine (C1) et de kaempférol (C4), déterminés grâce à leurs données spectrales (SM, IR, UV, RMN 1D et 2D), sont les principes antibactériens des feuilles de la plante contre *Salmonella bongori* et *Staphylococcus aureus*. Les CMI ($320 \mu\text{g/mL}$ à $730 \mu\text{g/mL}$) et CMB ($400 \mu\text{g/mL}$ à $850 \mu\text{g/mL}$) mesurées pour ces composés montrent qu'ils exercent une action bactéricide. Ces données pourraient permettre de justifier l'utilisation en médecine traditionnelle des feuilles contre les infections entériques.

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Mareya micrantha*, Constituants antibactériens, Nor-curcubitacines, Flavonoïdes.

Antibacterial activity and Chemical constituents from *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae)

ABSTRACT

Mareya micrantha (Euphorbiaceae) is an Ivorian medicinal plant used against diarrhea, cough, tapeworm and also for laxative and abortive purposes. The aim of this study is to determine the antibacterial principles presented in its leaves. Thus, the leaves, dried and ground, were macerated in ethanol to constitute the crude ethanolic extract (FE) which after counter-extraction led to the hexane (FEH), chloromethylene (FED), ethyl acetate (FEA), butanol (FEB) and residual aqueous (FEAr) sub-extract. These different extracts were evaluated

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

9422-IJBCS

DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v17i4.26>

on certain bacteria responsible for enteric diseases. The FE crude extract and its FED and FEA sub-extracts were only shown to be more active on *Salmonella bongori* and *Staphylococcus aureus* (inhibition diameters from 12.20 ± 0.80 to 17.10 ± 0.90 mm). Nor-curcubitacin (C1) and kaempferol (C4) derivatives, determined using their spectral data (MS, IR, UV, 1D and 2D NMR), are the antibacterial principles of the leaves of the plant against *Salmonella bongori* and *Staphylococcus aureus*. The MICs ($320 \mu\text{g/mL}$ to $730 \mu\text{g/mL}$) and MBCs ($400 \mu\text{g/mL}$ to $850 \mu\text{g/mL}$) measured for these compounds show that they exert a bactericidal action. These data could justify the use in traditional medicine of the leaves against enteric infections.

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Mareya micrantha*, Antibacterial constituents, Nor-curcubitacins, Flavonoids.

INTRODUCTION

Les experts estiment qu'entre 2015 et 2050, les maladies infectieuses, résistantes aux antibiotiques, seront la première cause de décès par maladie (Cassini et al., 2019 ; ARC, 2022). L'une des causes majeures de cette mortalité serait l'émergence exponentielle de bactéries multirésistantes. Celles impliquées dans les infections entériques sont essentiellement les entérobactéries et les Entérocoques ainsi que certains germes comme *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Clostridium difficile* (Mariani-Kurkdjian et al., 2016). Toutefois, les entérobactéries (*Escherichia*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*) semblent occuper une place importante car étant responsables d'émission de bêta lactamase à spectre étendu et de diffusion aisée de gènes de résistance aux antibiotiques (Giammanco et al., 2002 ; Canton et al., 2008 ; Konan et al., 2014). Cette menace de bactéries multirésistantes est particulièrement inquiétante dans les pays en développement où les infections bactériennes sont endémiques. Dans ce contexte, l'étude des principes antibactériens de plantes médicinales locales pourrait être une alternative.

Mareya micrantha (Benth.) Müll.Arg (Ephorbiaceae) est une plante utilisée en médecine traditionnelle à des fins purgatives, laxatives, et contre la diarrhée et le téniasis (Dosso et al., 2013). Les évaluations biologiques réalisées sur cette plante ont montré qu'elle a des propriétés myoactive (Doumbia et al., 2014 ; Dosso et al., 2017) et antimicrobienne (Zihiri et al., 2006).

Dans l'objectif de poursuivre nos recherches sur les principes actifs de *Mareya micrantha* (Koffi et al., 2020), la présente étude

a été menée. Nous présentons l'évaluation de l'activité antibactérienne d'extraits et de composés issus des feuilles de *Mareya micrantha* sur certaines bactéries couramment impliquées dans les infections entériques comme *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella bongori* et *Staphylococcus aureus*.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de feuilles de *Mareya micrantha* collectées en mai 2017 à Yakassé-Mé ($5^{\circ} 48' 40''$ N, $3^{\circ} 57' 04''$ O), dans le Département d'Adzopé au Sud-est de la Côte d'Ivoire. La plante a été authentifiée au Centre National Floristique (CNF) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan (Côte d'Ivoire) où est déposé un spécimen (OAT-Mm-17). Ces feuilles ont été séchées au laboratoire (25°C environ) pendant deux semaines.

Microorganismes testés

L'étude a été menée sur quatre souches bactériennes dont deux souches de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 27835 et *Escherichia coli* ATCC 25922) et deux isolats (*Enterococcus faecalis* CIP 815/18 et *Salmonella bongori* CIP 942/18). Ces souches bactériennes étaient celles disponibles au Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (UFHB), Abidjan-Côte d'Ivoire, au moment de nos essais.

Méthodes

Préparation des extraits

Les extraits ont été obtenus par macération suivie de contre-extraction liquide-liquide à l'aide des solvants organiques de polarité croissante. Pour la macération, 3 kg de poudre de feuilles de *Mareya micrantha* ont été suspendus dans 10 L d'éthanol et l'ensemble soumis à une agitation mécanique pendant 24 h. La phase organique obtenue a été successivement filtrée sur du tissu, du coton puis sur du papier filtre N° 4 de type Schleicher & Schuell. Le filtrat obtenu, concentré à l'évaporateur rotatif de type Heidolph, a conduit à un résidu qui a été séché à l'étuve (40°C) pour constituer l'extrait brut éthanolique des feuilles (FE). Une portion de l'extrait FE (400 g) suspendue dans 600 mL d'un mélange Ethanol/Eau (1:3, v/v) a été contre-extraite en utilisant des solvants organiques de polarité croissante. Les sous-extraits hexanique (FEH), chlorométhylénique (FED), acétatique (FEA), butanolique (FEB) et aqueux résiduel (FAR) ont été alors obtenus.

Screening phytochimique des extraits

Les grands groupes phytochimiques présents dans les extraits ont été mis en évidence en utilisant des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60F₂₅₄ (Merck) d'épaisseur 0,2 mm. Les révélateurs chimiques tels que le Fast Blue B, la vanilline sulfurique et le Dragendorff ont été utilisés pour la caractérisation des phénoloïdes, des terpénoïdes et des alcaloïdes, respectivement.

Isolement et détermination structural des composés

L'isolement des composés à partir du sous-extrait chlorométhylénique (FED) a été réalisé par chromatographies successives sur colonnes de gels de silice (Merck 60) et de Sephadex® LH-20, et par CCM préparative telle que décrite par Koffi et al. (2020). Concernant le sous-extrait acétatique (FEA), l'isolement a été d'abord réalisé par fractionnement sur colonne de gel de silice (Merck 60), sous pression atmosphérique, en utilisant un gradient d'élution AcOEt/MeOH (100:0 à 94:6). Des dix fractions (FEAF1 à FEAF10) obtenues, la fraction FEAF9, presque monotache sur CCM, a été purifiée

successivement sur colonnes de gels de silice (CH₂Cl₂/MeOH/HCOOH, 95:5:2) et de Sephadex® LH-20 (CH₂Cl₂/MeOH, 20:10) pour conduire au composé C4 (26,0 mg).

L'étude structurale de ces composés a été réalisée par l'analyse de leurs données spectrales (IR, SM, RMN 1D et 2D).

Essais d'activité antibactérienne

Les essais d'activité antibactérienne ont été réalisés en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide et la méthode de diffusion en milieu liquide. Pour la diffusion en milieu solide, elle a été réalisée en utilisant un milieu gélosé telle que décrite par Bauer et al. (1966). Une suspension bactérienne a été préparée dans l'eau distillée stérile à partir de colonies jeunes de 18 à 24 h de chacune des souches. L'inoculum a été ensemencé par inondation sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton. Des solutions de chaque extrait à 200 mg/mL et 100 mg/mL ont été préparées dans le DMSO (1/10). Des disques de papier buvard Wattman de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec 25 µL de chacune des solutions préparées et déposés sur la gélose ensemencée. En parallèle, des disques imprégnés de DMSO (1/10) et d'ampicilline à 10 µg/mL ont été pris respectivement comme témoins négatif et positif. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. A cet effet, une souche bactérienne est dite résistante si la mesure du diamètre de la zone d'inhibition est inférieure à 8 mm ; elle est dite sensible si cette mesure est comprise entre 9 et 14 mm, très sensible si celle-ci est comprise entre 15 et 19 mm. Au-delà de 20 mm, elle est dite extrêmement sensible (Ponce et al., 2003).

La méthode de diffusion en milieu liquide a été réalisée en utilisant la technique de la série de double dilution permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) telle que décrite par Sharififar et al. (2007). L'inoculum a été préparé pour chaque souche bactérienne dans du bouillon Mueller Hinton. La gamme de concentration de chaque extrait, de 50 à 0,39 mg/mL, a été préparée par des dilutions successives dans le DMSO (1/10). La CMI

d'un extrait vis-à-vis d'une souche a été définie comme étant la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe. Après la lecture de la CMI, la CMB a été déterminée par des repiquages en strie, sur une gélose neuve, des tubes sans croissance visible. Pour ce faire, il a été réalisé 24 h plus tôt, un témoin d'activité bactéricide en ensemençant en strie sur une gélose en boîte de Pétri, les dilutions 100, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum de départ, correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants. La CMB a été obtenue à partir de la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants. Le rapport (r) CMB/CMI a été évalué pour déterminer l'effet bactéricide ($r \leq 2$) ou bactériostatique ($r > 2$) des extraits.

Analyse statistique

Le traitement statistique des données relatives à l'évaluation *in vitro* a été effectué à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5 (Microsoft, San Diego Californie, USA). Les valeurs sont exprimées sous formes de moyenne plus l'erreur standard sur la moyenne (Moy \pm SD). L'analyse des variances (Anova) du test de comparaison multiple de Turkey-Kramer est utilisée pour apprécier la signification des différences observées. La valeur statistique est considérée significative si $p < 0,05$.

RESULTATS

Analyses phytochimiques

La recherche des grands groupes phytochimiques sur l'extrait éthanolique (FE) et ses sous-extraits hexanique (FEH), chlorométhylénique (FED), acétatique (FEA) et butanolique (FEB) ainsi que sur le résidu de contre-extraction (FEAr) a révélé que ceux-ci renferment des composés phénoliques et terpéniques. Cependant, il a été noté une absence des alcaloïdes. L'extrait brut éthanolique (FE) et ses sous-extraits ont été obtenus avec des rendements variant de 2,8 à 22,4% (Tableau 1).

La purification systématique des sous extraits FED et FEA, les plus actifs sur les bactéries testées, a conduit à l'isolement de

quatre composés dont trois de FED (C1 à C3) et un de FEA (C4). Les analyses spectrales réalisées de ces composés ont permis d'établir les données ci-après listées. L'examen minutieux de ces données ont permis d'établir des structures de type nor-curcubitacine, notamment la maremicranthine A (C1), la maremicranthine A glycoside (C2) et la maremicranthine B glycoside (C3), et de flavonoïde, le kaempférol-3-O- β -D-glucopyranoside (C4). Les structures de ces composés sont présentées dans la Figure 1.

Données spectrales des composés isolés

Maremicranthine A (C1) : Cristaux oranges ; $[\alpha]_D^{27} + 9,7$ (c 1,50, MeOH) ; UV λ_{\max} (nm) : 282, 230 ; IR ν_{\max} (cm^{-1}) : 3313, 2925, 1662, 1615, 1484, 1243, 1019 ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) : 6,96 (1H, dd, J = 15,4 and 7,1 Hz, H-24), 6,70 (1H, d, 15,5 Hz, H-23), 6,29 (1H, s, H-1), 5,39 (1H, t, J = 7,7 Hz, H-16), 4,09 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-15), 3,05 (1H, d, J = 14,4 Hz, H-12b), 2,82 (1H, dd, J = 18,7 et 9,4 Hz, H-6b), 2,70 (1H, d, J = 14,3 Hz, H-12a), 2,63 (1H, d, J = 7,3 Hz, H-17), 2,59 (1H, m, H-6a), 2,56 (1H, m, H-7b), 2,50 (1H, d, J = 7,1, H-25), 2,30 (1H, d, J = 3,1 Hz, H-8), 2,20 (1H, m, H-7a), 2,09 (3H, s, H-28), 1,90 (3H, s, H-18), 1,38 (3H, s, H-21), 1,35 (3H, s, H-19), 1,09 (6H, d, J = 6,5 Hz, H-26/H-27), 0,97 (3H, s, H-29) ; $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) : 216,5 (C-11), 204,4 (C-22), 172,1 (C-1'), 156,8 (C-24), 143,8 (C-3), 142,3 (C-2), 129,6 (C-10), 126,9 (C-5), 124,5 (C-4), 122,0 (C-23), 110,3 (C-1), 79,5 (C-20), 75,7 (C-15), 74,0 (C-16), 54,9 (C-17), 52,1 (C-9), 51,8 (C-12), 51,9 (C-14), 48,2 (C-13), 44,0 (C-8), 32,6 (C-25), 29,1 (C-19), 24,7 (C-21), 24,5 (C-6), 21,75 (C-27), 21,73 (C-26), 20,9 (C-2'), 20,6 (18), 19,4 (C-7), 12,3 (C-29), 11,5 (C-28) ; SMHR-IES m/z 543,2946 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{O}_8$, 543,2958).

Maremicranthine A glucoside (C2) : Poudre cristalline blanchâtre ; $[\alpha]_D^{27} - 10,8$ (c 1,42, MeOH) ; UV λ_{\max} (nm) : 281, 231 ; IR ν_{\max} (cm^{-1}) : 3313, 2925, 1662, 1615, 1484, 1243, 1019 ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) : 6,97 (1H, dd, J = 15,4 et 7,1 Hz, H-24), 6,73 (1H, s, H-1), 6,68 (1H, d, 15,4 Hz, H-23), 5,40 (1H, t, J = 7,7 Hz, H-16), 4,60 (1H, d, J = 7,3 Hz, H-1''), 4,10 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-15), 4,01 (1H, dd, J = 12,1 et 2,3 Hz, H-6b'''), 3,89 (1H,

dd, J = 12,1 et 4,3 Hz, H-6a''), 3,55 (1H, t, J = 4,34 Hz, H-4''), 3,50 (1H, t, J = 4,1 Hz, H-2''), 3,48 (1H, t, J = 4,4 Hz, H-3''), 3,37 (1H, m, H-5''), 3,05 (1H, d, J = 14,4 Hz, H-12b), 2,86 (1H, dd, J = 18,6 et 9,2 Hz, H-6b), 2,71 (1H, d, J = 14,3 Hz, H-12a), 2,66 (1H, m, H-6a), 2,63 (1H, d, J = 7,3 Hz, H-17), 2,56 (1H, m, H-7b), 2,52 (1H, m, H-25), 2,34 (1H, d, J = 6,3 Hz, H-8), 2,23 (1H, m, H-7a), 2,12 (3H, s, H-28), 1,90 (3H, s, H-18), 1,385 (3H, s, H-21), 1,376 (3H, s, H-19), 1,09 (6H, d, J = 6,5 Hz, H-26/H-27), 0,94 (3H, s, H-29) ; ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) : 216,4 (C-11), 204,4 (C-22), 172,1 (C-1'), 156,8 (C-24), 144,9 (C-3), 144,6 (C-2), 131,4 (C-10), 129,8 (C-5), 124,9 (C-4), 122,7 (C-23), 113,4 (C-1), 105,9 (C-1''), 79,5 (C-20), 78,1 (C-5''), 77,7 (C-3''), 75,6 (C-15), 74,8 (C-2''), 74,0 (C-16), 70,9 (C-4''), 62,1 (C-6''), 54,9 (C-17), 52,2 (C-9), 51,9 (C-12), 51,7 (C-14), 48,1 (C-13), 43,9 (C-8), 32,6 (C-25), 29,2 (C-19), 24,9 (C-6), 24,5 (C-21), 21,75 (C-27), 21,72 (C-26), 20,9 (C-2'), 20,6 (18), 19,4 (C-7), 12,3 (C-29), 11,5 (C-28) ; SMHR-IES *m/z* 705,3485 [M + H]⁺ (calculé pour C₃₇H₅₂O₁₃, 705,3486).

Maremicrantine B glycoside (C3) : Poudre amorphe blanchâtre ; [α]_D²⁷ - 25,2 (c 0,52, MeOH) ; UV λ_{max} (nm) : 245 ; IR ν_{max} (cm⁻¹) : 3321, 2929, 1679, 1615, 1246, 1027 ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7,00 (1H, dd, J = 15,4 et 7,0 Hz, H-24), 6,76 (1H, d, J = 15,4 Hz, H-23), 5,42 (1H, t, J = 7,6 Hz, H-16), 4,52 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-1''), 4,43 (1H, dd, J = 14,4 et 5,4 Hz, H-2), 4,11 (1H, d, J = 8,1 Hz, H-15), 3,92 (1H, d, J = 6,0 Hz, H-6a''), 3,69 (1H, dd, J = 11,7 et 6,0 Hz, H-6b''), 3,42 (1H, m, H-3''), 3,31 (1H, m, H-2''), 3,30 (2H, m, H-4''/H-5''), 3,27 (1H, m, H-10), 3,21 (1H, d, 16,6 Hz, H-12b), 2,72 (2H, m, H-12a/ H-17), 2,62 (1H, m, H-6), 2,57 (1H, m, H-25), 2,28 (1H, m, H-8), 2,20 (1H, m, H-1b), 2,17 (1H, m, H-7b), 2,00 (1H, m, H-7a), 1,94 (3H, m, H-2'), 1,85 (1H, m, H-1a), 1,82 (3H, s, H-28), 1,42 (3H, s, H-21), 1,39 (1H, s, H-1a), 1,14 (6H, dd, J = 6,7 et 2,3 Hz, H-26/H-27), 1,13 (3H, s, H-18), 1,10 (3H, s, H-19), 1,11 (3H, s, H-29) ; ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) : 215,9 (C-11), 204,5 (C-22), 200,1 (C-3), 172,0 (C-1'), 159,9 (C-5), 156,9 (C-24), 132,0 (C-4), 122,1 (C-23), 105,1 (C-1''), 80,1 (C-2), 79,6 (C-20), 78,2 (C-

5''), 78,1 (C-3''), 76,0 (C-15), 75,7 (C-2''), 73,8 (C-16), 71,5 (C-4''), 62,9 (C-6''), 55,9 (C-17), 52,4 (C-12), 51,5 (C-14), 50,1 (C-9), 46,3 (C-13), 45,9 (C-8), 41,4 (C-10), 33,2 (C-25), 32,7 (C-1), 28,9 (C-6), 24,5 (C-21), 23,3 (C-19), 21,8 (C-26/C-27), 21,6 (C-27), 21,1 (C-18), 20,9 (C-2'), 13,4 (C-29), 11,2 (C-28) ; SMHR-IES *m/z* 707,3647 [M + H]⁺ (calculé pour C₃₇H₅₄O₁₃, 707,3643).

Kaempférol-3-O-β-D-glucopyranoside (C4) : Cristaux pourpres ; UV λ_{max} (nm) : 255, 355 ; IR ν_{max} (cm⁻¹) : 3388, 3275, 2929, 1714, 1615, 1542, 1027 ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 8,04 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-2'/H-6'), 6,88 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-3'/H-5'), 6,38 (1H, s, H-8), 6,19 (1H, s, H-6), 5,22 (1H, d, J = 7,4 Hz, H-1''), 3,69 (1H, dd, J = 14,0 et 9,7 Hz, H-6b''), 3,53 (1H, dd, J = 17,3 et 6,4 Hz, H-6a''), 3,44 (1H, m, H-2''), 3,40 (1H, m, H-3''), 3,34 (2H, m, H-4''), 3,21 (1H, m, H-5'') ; ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) : 179,6 (C-4), 166,1 (C-7), 163,0 (C-5), 161,6 (C-4'), 159,1 (C-2), 158,5 (C-9), 135,5 (C-3), 132,3 (C-2'/C-6'), 122,8 (C-1'), 116,1 (C-3'/C-5'), 105,0 (C-10), 104,2 (C-1''), 100,0 (C-6), 94,8 (C-8), 78,4 (C-5''), 78,0 (C-3''), 75,7 (C-2''), 71,4 (C-4''), 62,7 (C-6'') ; SMHR-IES *m/z* 449,0998 [M + H]⁺ (calculé pour C₂₁H₂₀O₁₁, 449,1084).

Activité antibactérienne

Les résultats de l'évaluation de la capacité antibactérienne de l'extrait éthanolique brut des feuilles (FE) indiquent que cet extrait possède une activité antibactérienne importante contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori*, avec des diamètres d'inhibition allant de 12,94 ± 0,80 mm à 15,57 ± 0,30 mm relativement aux concentrations testées (Tableau 2). Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) et de concentration minimale bactéricide (CMB) mesurées pour ces bactéries pathogènes montrent que la CMI la plus faible (6,25 ± 0,28 mg/mL) a été enregistrée avec *Staphylococcus aureus* contre une CMB de 11,65 ± 1,88 mg/mL. Concernant *Salmonella bongori*, la CMI était égale à la CMB avec une valeur de 7,50 ± 0,81 mg/mL (Tableau 3). Les rapports CMB/CMI calculés, inférieurs à 2 (Tableau 3),

suggèrent que l'extrait brut éthanolique FE agit par une action bactéricide sur ces bactéries.

Les sous-extraits issus du fractionnement de l'extrait brut FE, testés sur ces deux dernières souches bactériennes, aux concentrations de 10 mg/mL et 5 mg/mL, montrent que les sous-extraits chlorométhylénique (FED) et acétatique (FEA) ont les meilleures activités inhibitrices, doses dépendantes, avec des diamètres d'inhibition compris entre $12,20 \pm 0,80$ et $17,10 \pm 0,90$ mm. Les autres sous-extraits (FEH et FEB) n'ont montré qu'une faible activité avec des diamètres d'inhibition variant de 0 à $9,77 \pm 2,33$ mm (Tableau 4). S'agissant des autres paramètres antimicrobiens, les sous-extraits FED et FEA ont donné des rapports CMB/CMI inférieurs à 2 (Tableau 5), ce qui suggère que ces sous-extraits ont un effet bactéricide au même titre que l'extrait brut (FE).

Quant aux composés isolés de FED (C1, C2 et C3) et de FEA (C4), testés contre les

souches étudiées aux concentrations de 5 mg/mL et 2,5 mg/mL, il ressort que les composés C1 et C4 sont les plus actifs avec des diamètres d'inhibition allant de $13,01 \pm 0,42$ mm à $25,42 \pm 1,05$ mm (Tableau 6). Toutefois, le composé C1 semble être le plus actif sur *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition supérieurs à $21,00 \pm 0,95$ mm. Cependant, cette activité semble être modérée, comparée à celle de l'ampicilline (10 µg/mL) utilisée comme antibiotique de référence (Tableau 6). Concernant les composés C2 et C3, ils n'ont été que moyennement actifs sur ces deux souches avec des diamètres d'inhibition compris entre $8,28 \pm 0,31$ et $12,48 \pm 0,74$ mm. Les différentes valeurs de CMI ($320,0 \pm 8,8$ µg/mL à $730,0 \pm 10,9$ µg/mL) et CMB ($400,0 \pm 12,1$ µg/mL à $850 \pm 12,3$ µg/mL) obtenues de ces composés ont permis de déterminer le pouvoir bactéricide des composés C1 et C4 sur *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori* (Tableau 7)

Tableau 1: Grands groupes chimiques de composés présents dans les différents extraits.

Extrait ou Sous-extraits	Rendement ^a (%)	Constituants chimiques		
		Polyphénols	Terpènes	Alcaloïdes
FE	22,40	+	+	-
FEH	3,56	+	+	-
FED	2,80	+	+	-
FEA	3,92	+	+	-
FEB	6,10	+	+	-
FEAr	4,80	+	+	-

+ : présence ; - : absence ; ^a valeur calculée par rapport à la matière végétale.

FE : Extrait brut éthanolique ; FEH : Sous-extrait hexanique ; FED : Sous-extrait chlorométhylénique ;

FEA : Sous-extrait acétatique ; FEB : Sous-extrait butanolique ; FEAr : Résidu de contre-extraction.

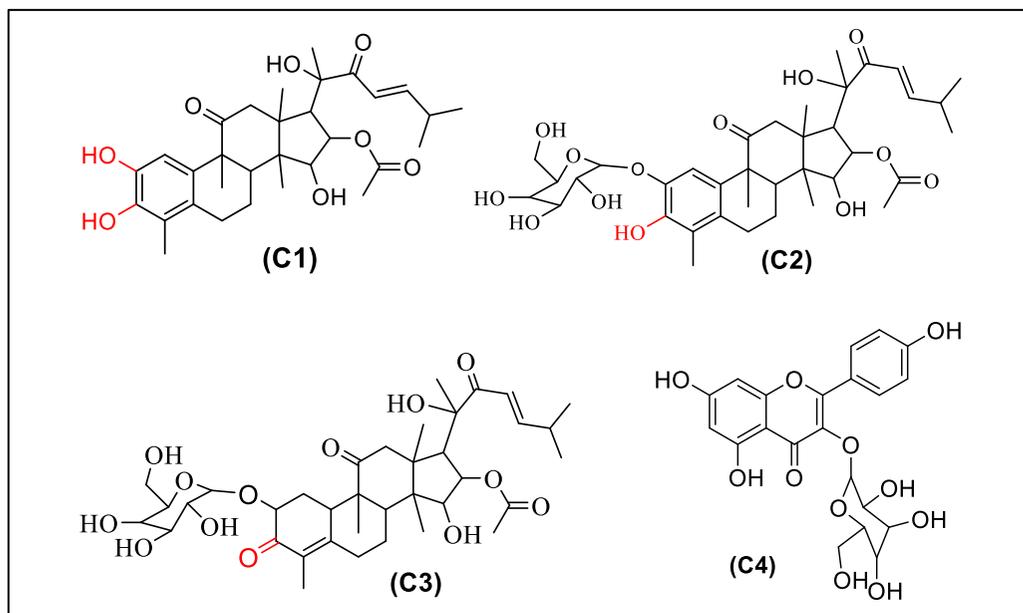


Figure 1: Structures des composés isolés des sous-extraits FED et FEA.

C1 : maremicanthine A ; C2 : maremicanthine A glycoside ;
 C3 : maremicanthine B glycoside ; C4 : kaemférol-3-O-β-D-glucopyranoside

Tableau 2: Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait brut et de l'ampicilline.

Souches bactériennes	Diamètres d'inhibition (mm)		
	Extrait brut éthanolique (FE)		Ampicilline
	C ₁ = 200 mg/mL	C ₂ = 100 mg/mL	10 µg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,09 ± 0,20	12,94 ± 0,80	31,08 ± 2,40
<i>Salmonella bongori</i>	15,57 ± 0,30	13,42 ± 0,30	25,05 ± 0,50
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	23,16 ± 1,50
<i>Escherichia coli</i>	9,50 ± 0,50	4,00 ± 1,50	28,34 ± 0,20

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés

Tableau 3: Valeurs des CMI, CMB et CMB/CMI de l'extrait brut éthanolique (FE).

Souches bactériennes	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25 ± 0,28	11,65 ± 1,88	1,8
<i>Salmonella bongori</i>	7,50 ± 0,81	7,50 ± 0,81	1,0

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés

Tableau 4: Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition, de CMI et de CMB des sous extraits.

Sous-extraits	Diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella bongori</i>	
	C ₁ = 10 mg/mL	C ₂ = 5 mg/mL	C ₁ = 10 mg/mL	C ₂ = 5 mg/mL
FEH	6,48 ± 0,74	5,17 ± 1,75	0	0
FED	16,40 ± 0,50	14,50 ± 1,60	13,50 ± 1,20	12,20 ± 0,80
FEB	9,70 ± 0,80	05,49 ± 0,45	9,77 ± 2,33	8,01 ± 0,42
FEA	15,20 ± 0,50	13,30 ± 1,70	17,10 ± 0,90	15,60 ± 0,15
FEAr	0	0	0	0

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés
 FEH : Sous-extrait hexanique ; FED : Sous-extrait chlorométhylénique ; FEA : Sous-extrait acétatique ;
 FEB : Sous-extrait butanolique ; FEAr : Résidu de contre-extraction.

Tableau 5: Valeurs des CMI, CMB (en mg/mL) et CMB/CMI des sous- extraits.

Sous-extraits	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Salmonella bongori</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
FEH	> 50	> 50	ND	> 50	> 50	ND
FED	8,50 ± 0,80	8,50 ± 0,80	1	10,00 ± 0,91	10,00 ± 0,91	1
FEB	> 50	> 50	ND	> 50	> 50	ND
FEA	7,00 ± 0,82	7,00 ± 0,82	1	8,50 ± 0,89	9,00 ± 0,89	1,06
FEAr	> 50	> 50	ND	> 50	> 50	ND

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés ; ND : Non déterminé ; FEH : Sous-extrait hexanique ; FED : Sous-extrait chlorométhylénique ;
 FEA : Sous-extrait acétatique ; FEB : Sous-extrait butanolique ; FEAr : Résidu de contre-extraction.

Tableau 6: Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition, de CMI et de CMB des composés isolés.

Composés	Diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella bongori</i>	
	C ₁ = 5 mg/mL	C ₂ = 2,5 mg/mL	C ₁ = 5 mg/mL	C ₂ = 2,5 mg/mL
C1	25,42 ± 1,05	21,00 ± 0,95	-	-
C2	12,48 ± 0,74	9,17 ± 1,75	-	-
C3	09,41 ± 0,46	8,28 ± 0,31	10,71 ± 1,01	11,06 ± 0,71
C4	23,73 ± 0,88	15,49 ± 0,45	14,77 ± 2,33	13,01 ± 0,42
Ampicilline (10 µg/ml)	31,085 ± 2,46		25,05 ± 0,52	

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés
 C1 : maremcranthine A ; C2 : maremcranthine A glycoside ; C3 : maremcranthine B glycoside ;

C4 : kaemférol-3-O-β-D-glucopyranoside

Tableau 7: Valeurs des CMI, CMB (en µg/mL) et CMB/CMI des composés isolés.

Composés	Souches bactériennes	CMI	CMB	CMB/CMI
C1	<i>Staphylococcus aureus</i>	320,0 ± 8,8	400,0 ± 12,1	1,25
C2, C3	<i>Salmonella bongori</i>	> 1000	> 1000	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i>			
C4	<i>Staphylococcus aureus</i>	650,0 ± 8,8	700,0 ± 18,9	1,08
	<i>Salmonella bongori</i>	730,0 ± 10,9	850,0 ± 12,3	1,16

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés ; ND : Non déterminé

DISCUSSION

Mareya micrantha est une plante qui est utilisée en médecine traditionnelle africaine contre les infections liées au transit intestinal. Dans notre récente étude, nous avons montré que les triterpénoïdes de type nor-curcubitacine étaient responsables de ses propriétés myoactives (Koffi et al., 2020). Dans la recherche continue de ses principes actifs, nous avons entrepris d'accéder à ses principes antibactériens. L'étude menée sur les feuilles de la plante a été réalisée sur *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella bongori* et *Staphylococcus aureus*, des bactéries couramment impliquées dans de nombreuses infections entériques (Sanogo et al., 2016). Au plan phytochimique, les résultats montrent que l'extrait brut éthanolique (FE) et ses sous-extraits (FEH, FED, FEA, FEB et FEAr) contiennent des phénoloïdes et des terpénoïdes. Ce qui corrobore les études de Doumbia et collaborateurs (Doumbia et al., 2014).

Les résultats du test de sensibilité obtenus des souches testées montrent la présence d'une activité antibactérienne de l'extrait brut éthanolique FE et de ses sous-extraits chlorométhylénique (FED) et acétatique (FEA) sur *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori*. Les valeurs de CMI et CMB mesurées montrent que ces extraits agissent sur ces bactéries par une action

bactéricide. La présence de phénoloïdes et de terpénoïdes dans ces extraits pourrait justifier cette action. En effet, les souches de *Staphylococcus aureus* sont plus particulièrement sensibles aux phénoloïdes comme le montrent les travaux précédemment rapportés (Dorman et al., 2000 ; Khameneh et al., 2019). L'importante activité antibactérienne révélée pour ces sous-extraits (FED et FEA) a motivé leur fractionnement conduisant à l'obtention de quatre (4) composés, dont trois (3) de FED (C1, C2 et C3) et un (1) de FEA (C4). Les structures de ces composés ont été établies par comparaison de leurs données spectrales avec celles rapportées dans la littérature (Benmerache et al., 2016 ; Koffi et al., 2020 ; Douhoré et al., 2020).

Le test de sensibilité réalisés sur les souches de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori* montre que ces bactéries sont plus sensibles aux composés C1 et C4. Pour les composés C2 et C3, la différence d'activité pourrait être liée à la présence d'unités osidiques dans leurs structures qui semble contribuer à une perte de l'activité. Par ailleurs, la forte activité de C1 et C4 pourrait être due à la présence du noyau phénolique au sein de leur structure avec des OH totalement libres. En effet, les flavonoïdes en raison de leur richesse en groupements hydroxyles libres, sont capables de se fixer sur certaines

protéines et enzymes des bactéries, modifiant ainsi les équilibres enzymatiques (Donadio et al., 2021). Il est suggéré que les flavonoïdes agirait en interférant avec l'incorporation de métabolites et de nutriments dans les cellules bactériennes ou en affectant les acides nucléiques des MRSA (*Staphylococcus Aureus* Méricilline Résistants) (Cushnie et al., 2011 ; Donadio et al., 2021). Aussi, la présence de groupement hydroxyle libre en position C-2 des nor-curcubitacines à noyau A aromatique semble être primordiale pour une meilleure activité antibactérienne.

Conclusion

Cette étude a permis d'établir l'activité antibactérienne de l'extrait brut éthanolique des feuilles de *Mareya micrantha* sur *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori*, deux des principales bactéries impliquées dans les affections entériques. L'évaluation de ses sous-extraits a montré que les composés à polarité intermédiaire sont en partie responsables de cette activité des feuilles. La purification de ces composés a conduit à la mise en évidence de dérivés de nor-curcubitacine, à noyau A phénolique avec des OH totalement libres, et de kaempférol comme étant les principes antibactériens. Ces résultats sont en parfaits accord avec l'usage fait en médecine traditionnelle des feuilles de cette plante. Plus loin, les molécules actives comme les nor-curcubitacines seront évaluées sur d'autres bactéries pathogènes afin d'établir leur spectre d'action mais également leur mécanisme d'action.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

ATO, FNB et CNA ont conçu la recherche ; KLK, KNG et ASK ont réalisé les expériences. ATO, FNB, KLK et KNG ont analysé les données. ATO, FNB, KLK, ASK, KNG et CNA ont rédigé le manuscrit. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit final.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Professeur Pierre CHAMPY du Laboratoire de Pharmacognosie de l'UFR de Pharmacie de l'Université Paris-Saclay (France), pour l'enregistrement des spectres de RMN et SMIES-HR des composés isolés. Ils sont reconnaissants au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan-Côte d'Ivoire, pour l'authentification de la plante.

REFERENCES

- ARC (Antimicrobial Resistance Collaborators). 2022. Global burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *Lancet*, **399**: 629–655. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).
- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Tuck M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by Standardized Disc Diffusion Method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**: 493–496. DOI: https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493.
- Benmerache A, Alabdul Magid A, Berrehel D, Kabouche A, Voutquenne-Nazabadioko L, Messaili S, Abedini A, Harakat D, Kabouche Z. 2016. Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antityrosinase Activities of Glycosides from Aerial Parts of *Eryngium tricuspidatum* L. *Phytochem. Lett.*, **18**: 23–28. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.08.018>.
- Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. 2008. Prevalence and Spread of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.*, **14**(1): 144–53. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x>.
- Cassini A, Hogberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS. 2019. Attributable Deaths and Disability-Adjusted Life-Years Caused by

- Infections with Antibiotic-Resistant Bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a Population-Level Modelling Analysis. *Lancet Infect. Dis.*, **19**(1): 56–66. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4).
- Cushnie TPT, Lamb AJ. 2011. Recent Advances in Understanding the Antibacterial Properties of Flavonoids. *Inter. J. Antimicrobial. Agents*, **38**(2): 99–107. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014).
- Donadio G, Mensitieri F, Santoro V, Parisi V, Bellone ML, De Tommasi N, Izzo V, Dal Piaz F. 2021. Interactions with Microbial Proteins Driving the Antibacterial Activity of Flavonoids. *Pharmaceutics*, **13**: 1–23. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050660>.
- Dorman HJD, Deans SG. 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *J. Applied Microbiol.*, **88**: 308–316. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>.
- Dosso M, Méité S, Yéo D, Traoré F, Djaman AJ, N'Guessan JD. 2013. Cholinergic and Histaminergic Activities of the Aqueous Extract of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll Arg (Euphorbiaceae). *Asian J. Biochem.*, **8**(1): 24–32. DOI: [10.3923/ajb.2013.24.32](https://doi.org/10.3923/ajb.2013.24.32).
- Dosso M, Soro D, Koffi AE, Traoré F, N'Guessan JD. 2017. Isolement par partition bio guidé du Principe Actif Myostimulant de l'Extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Benth) Mull. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Appl. Biosci.*, **114**: 11336–11344. DOI: [10.4314/jab.v114i1.7](https://doi.org/10.4314/jab.v114i1.7).
- Douhoré GYT, Attioua KB, Yaya S, Kabran AF, Kablan ALC, Vedrenne M, Mathieu C, Vaca-Garcia C. 2020. Nor-cucurbitacins from the leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Fitoterapia*, **143**: 1–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104538>.
- Doumbia I, Ouattara K, Coulibaly AF, Yapi HF, N'guessan JD. 2014. Évaluation de l'effet Cardioprotecteur de l'Extrait Aqueux de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) chez le Lapin. *Phytotherapie*, **12**(2): 128–134. DOI: [10.1007/s10298-014-0844-8](https://doi.org/10.1007/s10298-014-0844-8).
- Giammanco GM, Pignato S, Mammina C, Grimont F, Grimont PA, Nastasi A, Giammanco G. 2002. Persistent endemicity of *Salmonella bongori* z35:-- in Southern Italy: Molecular Characterization of Human, Animal, and Environmental Isolates. *J. Clin. Microbiol.*, **40**(9): 3502–3505. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.40.9.3502-3505.2002>.
- Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Bazzaz BSF. 2019. Review on Plant Antimicrobials: a Mechanistic Viewpoint. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, **8**: 1–28. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>.
- Koffi KL, Bony FN, Okpekon AT, Bitty MLA, N'Guessan KJ, Séon-Méniel B, Le Pogam P, Amin NC, Aké M, Champy P. 2020. Compounds with Myorelaxant Activity from the Leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Pharm. Phytochem.*, **9**(4): 48–59. DOI: [10.22271/phyto.2020.v9.i4a.11732](https://doi.org/10.22271/phyto.2020.v9.i4a.11732).
- Konan FK, Guessennnd NK, Oussou KR, Bahi C, Coulibaly A, Djaman AJ, Dosso M. 2014. Effet Antibactérien de l'Extrait Aqueux de l'Ecorce de *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) sur la croissance in vitro des Entérobactéries Productrices De Bêta-Lactamases à Spectre Elargi

- (EBLSE). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **8**(3): 1192–1201. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i3.30>.
- Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S, Bingen E. 2016. Diagnostic Bactériologique Des Infections Gastro-Intestinales. In *Bactériologie Médicale*, Elsevier M (édn): Paris; 149–161.
- Ponce AG, Fritz R, Del Valle CE, Roura SI. 2003. Antimicrobial Activity of Essential Oils on the Native Microfora Of Organic Swiss chard. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **36**: 679–684. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4).
- Sanogo Y, Guessend NK, Tra Bi HF, Kouadio J, Konan FK, Bamba M, Danho N, Bakayoko A, Yao K, Dosso M. 2016. Evaluation Invitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (Combretaceae) sur des Bactéries Responsables de Maladies Courantes en Afrique et Criblage Phytochimique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(3): 1139–1152. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i3.19>.
- Shariffar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M. 2007. In vitro Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of Endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, **18**: 800–805. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.04.002>.
- Zirihi GN, Kra AKM, Soumahoro IA, Guede GF. 2006. Action du savon fait à partir des huiles de *Mitracarpus scaber* (Rubiaceae)-«misca», *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae)-«g243» et de *Cassia alata* (Caesalpiniaceae) sur la croissance in vitro de *Candida albicans* et *Trichophyton mentagrophytes*. *J. Sci. Pharm. Biol.*, **7**(1): 28–30. URL: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/afr-190852>