

# RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Année Universitaire

2017-2018

*Union-Discipline-Travail*

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique



UFR Sciences de la Nature

## THÈSE

Pour l'obtention du Titre de Docteur en Sciences Biologiques de  
l'Université Nangui Abrogoua

Spécialité : Botanique et Phytothérapie

### THÈME:

Numéro d'ordre

444/2018

**Valorisation de *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex  
Lam. (Araliaceae): enquête de connaissance, activités  
biologiques et composition chimique des extraits et  
de l'huile essentielle des feuilles**

Présentée par

**MONYN Ebalah Delphine**

Soutenue publiquement le jeudi 25 octobre 2018 devant le jury composé de :

|                            |                               |                     |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------|
| M. TIHO Seydou             | Professeur Titulaire U.N.A,   | <b>Président</b>    |
| M. BAKAYOKO Adama          | Professeur Titulaire U.N.A,   | <b>Co-Directeur</b> |
| M. KONE Mamidou Witabouna  | Professeur Titulaire U.N.A,   | <b>Co-Directeur</b> |
| M. KOUAKOU Kouakou Léandre | Maître de Conférences U.N. A, | <b>Rapporteur</b>   |
| M. ZIRIHI Guédé Noël       | Professeur Titulaire U.F.H.B, | <b>Examineur</b>    |
| M. BOUA Boua Benson        | Maître de Conférences U.N. A, | <b>Examineur</b>    |

## TABLE DES MATIERES

|                                                                                           |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TABLE DES MATIERES.....                                                                   | i    |
| AVANT PROPOS .....                                                                        | ix   |
| REMERCIEMENTS .....                                                                       | x    |
| DEDICACES.....                                                                            | xiii |
| LISTE DES SIGLES ET ACRONYMES .....                                                       | xiv  |
| LISTE DES ABREVIATIONS .....                                                              | xiv  |
| LISTE DES FIGURES .....                                                                   | xvi  |
| LISTE DES TABLEAUX .....                                                                  | xix  |
| INTRODUCTION .....                                                                        | 1    |
| PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....                                              | 4    |
| CHAPITRE 1 : Généralités sur le District Autonome d’Abidjan .....                         | 5    |
| 1.1. Présentation du District d’Abidjan et des communes visitées.....                     | 5    |
| 1.2. Climat .....                                                                         | 6    |
| 1.2.1. Pluviométrie .....                                                                 | 6    |
| 1.2.2. Température.....                                                                   | 7    |
| 1.3. Géologie .....                                                                       | 7    |
| 1.4. Pédologie .....                                                                      | 7    |
| 1.5. Végétation.....                                                                      | 10   |
| 1.6. Hydrographie .....                                                                   | 12   |
| 1.7. Données démographiques et socio-économiques .....                                    | 12   |
| CHAPITRE 2 : Généralités sur <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Comm. ex Lam. ....            | 15   |
| 2.1. Aperçu sur les <i>Hydrocotyles</i> .....                                             | 15   |
| 2.2. Position systématique de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Comm. ex Lam. (APG IV) ..... | 16   |
| 2.3. Description botanique.....                                                           | 16   |
| 2.4. Répartition géographique .....                                                       | 18   |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 2.5. Usages traditionnels et alimentaires .....                | 18 |
| 2.6. Propriétés biologiques .....                              | 19 |
| 2.7. Etudes chimiques.....                                     | 20 |
| CHAPITRE 3: Généralités sur les huiles essentielles .....      | 21 |
| 3.1. Historique .....                                          | 21 |
| 3.2. Définition.....                                           | 21 |
| 3.3. Localisation .....                                        | 21 |
| 3.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....       | 22 |
| 3.4.1. Méthodes à la vapeur d'eau saturée.....                 | 22 |
| 3.4.1.1. Hydrodistillation.....                                | 23 |
| 3.4.1.2. Hydrodiffusion .....                                  | 23 |
| 3.4.1.3. Entraînement à la vapeur d'eau .....                  | 23 |
| 3.4.2. Autres procédés d'extraction .....                      | 23 |
| 3.4.2.1. Extraction par CO <sub>2</sub> supercritique.....     | 24 |
| 3.4.2.2. Extraction assistée par micro-onde.....               | 24 |
| 3.4.2.3. Expression à froid.....                               | 24 |
| 3.4.2.4. Extraction par enfleurage .....                       | 25 |
| 3.4.2.5. Extraction par solvants volatils.....                 | 25 |
| 3.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles..... | 25 |
| 3.6. Composition chimique des huiles essentielles .....        | 26 |
| 3.7. Conservation des huiles essentielles.....                 | 26 |
| 3.8. Toxicité des huiles essentielles.....                     | 29 |
| 3.9. Utilisations des huiles essentielles.....                 | 29 |
| 3.9.1. Aromathérapie .....                                     | 29 |
| 3.9.2. Utilisation en aéro-ionisation.....                     | 30 |
| 3.9.3. Autres utilisations des huiles essentielles.....        | 30 |
| CHAPITRE 4. Généralités sur le stress oxydant.....             | 32 |

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1. Définitions .....                                                                    | 32 |
| 4.2. Différents types de radicaux libres .....                                            | 32 |
| 4.3. Origine du stress oxydatif.....                                                      | 32 |
| 4.4. Maladies liées au stress oxydant.....                                                | 33 |
| 4.4.1. Stress oxydant et cancer .....                                                     | 33 |
| 4.4.2. Autres pathologies impliquant le stress oxydant .....                              | 34 |
| 4.5. Antioxydants.....                                                                    | 34 |
| 4.5.1. Définitions .....                                                                  | 34 |
| 4.5.2. Mécanisme d'action des antioxydants .....                                          | 35 |
| 4.5.3. Différents types d'antioxydants .....                                              | 35 |
| 4.5.3.1. Antioxydants naturels .....                                                      | 35 |
| 4.5.3.2. Antioxydants de synthèse .....                                                   | 36 |
| 4.5.4. Importance des antioxydants .....                                                  | 36 |
| 4.6. Méthode d'évaluation de la capacité antioxydante par des tests <i>in vitro</i> ..... | 37 |
| 4.6.1. Test DPPH .....                                                                    | 37 |
| 4.6.2. Test TEAC (ou ABTS).....                                                           | 38 |
| 4.6.3. Test ORAC .....                                                                    | 38 |
| CHAPITRE 5: Généralités sur les microorganismes étudiés .....                             | 40 |
| 5. 1. Souches bactériennes utilisées.....                                                 | 40 |
| 5.1.1. <i>Escherichia coli</i> .....                                                      | 40 |
| 5.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                                | 40 |
| 5.1.3. <i>Salmonella typhimurium</i> .....                                                | 40 |
| 5.1.4. <i>Proteus mirabilis</i> .....                                                     | 41 |
| 5.1.5. <i>Klebsiella pneumoneae</i> .....                                                 | 41 |
| 5.1.6. <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                 | 41 |
| 5.1.7. <i>Bacillus subtilis</i> .....                                                     | 41 |
| 5.2. Souches fongiques utilisées .....                                                    | 41 |

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 5.2.1. <i>Candida albicans</i> .....                                  | 42 |
| 5.2.2. <i>Candida tropicalis</i> .....                                | 42 |
| 5.2.3. <i>Candida glabrata</i> .....                                  | 42 |
| 5.3. Activités antimicrobiennes et huiles essentielles.....           | 43 |
| CHAPITRE 6 : Généralités sur le cancer de la vulve.....               | 44 |
| 6.1. Notion de cancer.....                                            | 44 |
| 6.2. Cancer de la vulve .....                                         | 44 |
| 6.3. Symptômes et conséquences du cancer de la vulve .....            | 44 |
| 6.4. Types et physiopathologie du cancer de la vulve .....            | 45 |
| 6.5. Epidémiologie du cancer de la vulve.....                         | 46 |
| 6.6. Facteurs de risque .....                                         | 46 |
| 6.7. Moyens thérapeutiques .....                                      | 47 |
| 6.8. Cancer et huiles essentielles .....                              | 47 |
| 6.9. Antioxydants et prévention du cancer .....                       | 47 |
| CHAPITRE 7: Généralités sur quelques plantes et sur les minéraux..... | 49 |
| 7.1. Quelques plantes alimentaires et médicinales .....               | 49 |
| 7.2. Minéraux.....                                                    | 50 |
| 7.2.1. Calcium.....                                                   | 50 |
| 7.2.2. Magnésium .....                                                | 51 |
| 7.2.3. Fer.....                                                       | 51 |
| 7.2.4. Cuivre .....                                                   | 51 |
| 7.2.5. Zinc.....                                                      | 51 |
| DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES .....                          | 52 |
| CHAPITRE 8 : Matériel .....                                           | 53 |
| 8.1. Matériel d'étude botanique.....                                  | 53 |
| 8.2. Matériel d'étude pharmacologique.....                            | 53 |
| 8.2.1. Souches bactériennes.....                                      | 53 |

|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8.2.2. Souches de levures .....                                                                                                                       | 53 |
| 8.2.3. Souches de cellules cancéreuses.....                                                                                                           | 53 |
| 8.2.4. Milieux de culture.....                                                                                                                        | 53 |
| 8.2.5. Produits chimiques .....                                                                                                                       | 54 |
| 8.3. Matériel d'étude phytochimique.....                                                                                                              | 54 |
| 8.4. Matériel pour le dosage des nutriments et des minéraux.....                                                                                      | 54 |
| 8.5. Autres matériels et appareillages .....                                                                                                          | 54 |
| CHAPITRE 9. Méthodes.....                                                                                                                             | 56 |
| 9.1. Enquêtes ethnobotaniques .....                                                                                                                   | 56 |
| 9.1.1. Sélection de la plante.....                                                                                                                    | 56 |
| 9.1.2. Choix des sites d'enquêtes.....                                                                                                                | 56 |
| 9.1.3. Echantillonnage .....                                                                                                                          | 56 |
| 9.1.4. Enquêtes dans les ménages.....                                                                                                                 | 57 |
| 9.1.5. Détermination du niveau de connaissance et de consommation de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                             | 57 |
| 9.1.5.1. Pourcentage de connaissance.....                                                                                                             | 57 |
| 9.1.5.2. Indice de consensus .....                                                                                                                    | 57 |
| 9.1.5.3. Pourcentage de consommation .....                                                                                                            | 57 |
| 9.2. Préparation des extraits bruts.....                                                                                                              | 58 |
| 9.2.1. Extraction simple.....                                                                                                                         | 58 |
| 9.2.2. Extraction successive avec des solvants de polarité croissante .....                                                                           | 58 |
| 9.2.3. Calcul des rendements des extraits bruts.....                                                                                                  | 60 |
| 9.3. Obtention de l'huile essentielle .....                                                                                                           | 60 |
| 9.3.1. Extraction par hydrodistillation .....                                                                                                         | 60 |
| 9.3.2. Calcul du rendement de l'huile extraite.....                                                                                                   | 60 |
| 9.4. Evaluation des activités biologiques et biochimiques des extraits et de l'huile essentielle des feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ..... | 62 |
| 9.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante .....                                                                                                    | 62 |

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 9.4.1.1. Test au DPPH• .....                                                                                                          | 62 |
| 9.4.1.2. Test à l'ABTS.....                                                                                                           | 63 |
| 9.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne .....                                                                                 | 64 |
| 9.4.2.1. Activité antibactérienne .....                                                                                               | 64 |
| 9.4.2.1.1. Préparation des <i>inocula</i> .....                                                                                       | 64 |
| 9.4.2.1.2. Protocole expérimental .....                                                                                               | 64 |
| 9.4.2.1.3. Caractérisation du pouvoir antibactérien des extraits.....                                                                 | 65 |
| 9.4.2.2. Evaluation de l'activité antifongique.....                                                                                   | 69 |
| 9.4.2.2.1. Protocole expérimental .....                                                                                               | 69 |
| 9.4.2.2.2. Caractérisation du pouvoir antifongique .....                                                                              | 69 |
| 9.4.3. Evaluation de l'activité anticancéreuse .....                                                                                  | 70 |
| 9.4.3.1. Cultures cellulaires .....                                                                                                   | 70 |
| 9.4.3.2. Test de cytotoxicité.....                                                                                                    | 70 |
| 9.5. Analyse phytochimique qualitative et quantitative des extraits et de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ..... | 73 |
| 9.5.1. Analyse phytochimique qualitative .....                                                                                        | 73 |
| 9.5.1.1. Criblage phytochimique des extraits par CCM .....                                                                            | 73 |
| 9.5.1.2. Caractérisation chimique de l'huile essentielle .....                                                                        | 75 |
| 9.5.2. Analyse quantitative .....                                                                                                     | 75 |
| 9.5.2.1. Teneurs en polyphénols totaux .....                                                                                          | 75 |
| 9.5.2.2. Dosage des protéines totales par la méthode de Kjeldahl .....                                                                | 76 |
| 9.5.2.2.1. Principe.....                                                                                                              | 76 |
| 9.5.2.2.2. Protocole.....                                                                                                             | 76 |
| 9.5.2.2.3. Calcul de la teneur en protéines.....                                                                                      | 76 |
| 9.5.2.3. Dosage des fibres brutes .....                                                                                               | 77 |
| 9.5.2.3.1. Principe.....                                                                                                              | 77 |
| 9.5.2.3.2. Protocole.....                                                                                                             | 77 |
| 9.5.2.3.3. Calcul de la teneur en fibres brutes .....                                                                                 | 77 |

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 9.5.2.4. Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité .....                                             | 77 |
| 9.5.2.5. Détermination de la teneur en cendres totales .....                                                       | 78 |
| 9.5.2.6. Détermination de la teneur en minéraux.....                                                               | 78 |
| 9.5.2.6.1. Principe.....                                                                                           | 78 |
| 9.5.2.6.2. Minéralisation.....                                                                                     | 79 |
| 9.5.2.6.3. Dosage .....                                                                                            | 79 |
| 9.6. Analyses statistiques.....                                                                                    | 81 |
| TROISIEME PARTIE : RESULTATS .....                                                                                 | 82 |
| CHAPITRE 10: Connaissance et usages de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                        | 83 |
| 10.1. Caractéristiques sociodémographiques des ménages interrogés .....                                            | 83 |
| 10.1.1. Niveaux de connaissance et d'utilisation de <i>H. bonariensis</i> par commune .....                        | 85 |
| 10.1.2. Niveaux de connaissance et d'utilisation de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par groupe ethnique .....       | 85 |
| 10.1.3. Niveau de consommation de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par commune et par groupe ethnique .....          | 85 |
| 10.1.4. Niveau d'instruction des ménages interrogés et consommation de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....        | 89 |
| 10.2. Usages médicaux et indice de consensus .....                                                                 | 89 |
| 10.3. Usages alimentaires et indice de consensus .....                                                             | 89 |
| CHAPITRE 11 : Activités biologiques et biochimiques des extraits et de l'huile essentielle .....                   | 91 |
| 11.1. Rendement des extraits préparés et de l'huile essentielle.....                                               | 91 |
| 11.2. Activité antioxydante des extraits préparés et de l'huile essentielle .....                                  | 91 |
| 11.2.1. Activité antioxydante des extraits bruts préparés .....                                                    | 91 |
| 11.2.1.1. Activité antiradicalaire DPPH .....                                                                      | 91 |
| 11.2.1.2. Activité antiradicalaire ABTS .....                                                                      | 95 |
| 11.2.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle extraite des feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ..... | 99 |
| 11.2.2.1. Activité antiradicalaire DPPH .....                                                                      | 99 |



|                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 11.2.2.2. Activité antiradicalaire ABTS .....                                                               | 99  |
| 11.3. Activités antibactérienne, antifongique et anticancéreuse de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....     | 102 |
| 11.3.1. Activité antibactérienne .....                                                                      | 102 |
| 11.3.2. Activité antifongique .....                                                                         | 105 |
| 11.3.3. Activité anticancéreuse <i>in vitro</i> de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .. | 105 |
| CHAPITRE 12 : Composition phytochimique qualitative et quantitative .....                                   | 109 |
| 12.1. Composition phytochimique qualitative.....                                                            | 109 |
| 12.1.1. Composition phytochimique des extraits préparés .....                                               | 109 |
| 12.1.1.1. Quelques caractéristiques des extraits bruts .....                                                | 109 |
| 12.1.1.2. Criblage phytochimique des extraits bruts au moyen de la CCM .....                                | 109 |
| 12.1.1.2.1. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait hexanique.....                                    | 109 |
| 12.1.1.2.2. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait chloroformique .....                              | 113 |
| 12.1.1.2.3. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait éthylacétatique .....                             | 116 |
| 12.1.1.2.4. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait méthanolique .....                                | 119 |
| 12.1.2. Composés phytochimiques de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....              | 122 |
| 12.1.2.1. Quelques caractéristiques de l'huile essentielle extraite .....                                   | 122 |
| 12.1.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....               | 122 |
| 12.2. Composition phytochimique quantitative des extraits bruts étudiés .....                               | 128 |
| 12.2.1. Teneurs en polyphénols totaux .....                                                                 | 128 |
| 12.2.2. Teneurs en matière sèche, cendres, protéines totales et fibres brutes,.....                         | 128 |
| 12.2.3. Composition en oligoéléments .....                                                                  | 128 |
| QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION .....                                                                         | 131 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....                                                                            | 141 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....                                                                           | 144 |
| ANNEXES .....                                                                                               | 175 |
| PUBLICATION ISSUE DE LA THESE .....                                                                         | 222 |

## AVANT PROPOS

La présente thèse a été réalisée sous la Co-direction de Monsieur **KONE Mamidou Witabouna** et de Monsieur **BAKAYOKO Adama**, Professeurs Titulaires à l'Unité de Formation et de Recherche Sciences de la Nature (UFR-SN) de l'Université Nangui Abrogoua (UNA).

Les tests antioxydants et l'étude de l'activité antimicrobienne ont été réalisés au Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS). La composition en oligoéléments a été réalisée au Laboratoire des Substances Naturelles Bio-Actives de l'Institut National Polytechnique de Yamoussoukro.

L'extraction de l'huile essentielle et les analyses chromatographiques sur couche mince ont été effectuées au Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) de l'Université Nangui Abrogoua.

L'analyse chimique de l'huile essentielle a été réalisée au Laboratoire d'Architecture Moléculaire et Matériaux Nanostructurés (AM2N) de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM) en France, au sein de l'équipe du Professeur **PIRAT Jean-Luc**.

Enfin, le test anticancéreux de l'huile, a été mené par l'équipe de Chimie Bio-organique et Structurale du Professeur **LECOUVEY Marc** de l'Université Paris 13 (France).

## REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer de prime abord ma gratitude à Monsieur **TANO Yao**, Professeur Titulaire et Président de l'Université Nangui Abrogoua, pour avoir accepté mon inscription en thèse afin que ce travail puisse se réaliser.

Je dis également merci à Monsieur **TIHO Seydou**, Professeur Titulaire et Doyen de l'UFR Sciences de la Nature (SN) de l'Université Nangui Abrogoua, pour m'avoir accepté dans son UFR et pour la formation dont j'ai bénéficié tout au long de mon parcours universitaire. Malgré vos nombreuses occupations, vous avez accepté de présider le jury de cette thèse. Merci de l'honneur que vous nous faites en acceptant cette charge.

Je remercie chaleureusement, Monsieur **KONE Mamidou Witabouna**, Professeur Titulaire à l'UFR SN de l'Université Nangui Abrogoua, et lui exprime ma profonde gratitude. Je tiens également à le remercier pour ses précieux conseils au début de ma thèse. C'est à la fois un privilège et une expérience exceptionnelle d'avoir pu bénéficier de ses conseils dans l'élaboration et la conception de ce mémoire. En lui je trouve plus qu'un encadreur, et ne lui dirai jamais assez merci.

A Monsieur **BAKAYOKO Adama**, Professeur Titulaire à l'UFR SN de l'Université Nangui Abrogoua, à qui je suis également redevable de l'essentiel de ma formation, qui m'a soutenu de par ses conseils et ses encouragements. Malgré ses multiples occupations, il n'a ménagé aucun effort pour la co-direction de ce travail avec la gentillesse qui le caractérise.

Ma reconnaissance et gratitude à Monsieur **KOUAKOU Kouakou Léandre**, Maître de conférences, pour avoir accepté d'instruire cette thèse et pour avoir bien voulu siéger dans ce jury. Merci pour vos remarques et suggestions qui ont été d'un apport considérable dans la finalisation de ce mémoire.

Au Professeur **KOUSSEMON Marina**, Professeur Titulaire, je dis un grand merci pour avoir également accepté d'instruire cette thèse. Vos observations et amendements ont permis d'améliorer la qualité de ce mémoire de thèse.

Merci au Professeur **N'GUESSAN Jean-David**, Professeur Titulaire, qui a contribué en tant que rapporteur dans la finalisation de ce document. Les échanges fructueux que nous avons eus ont permis d'améliorer la qualité de ce document de thèse.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de Monsieur **ZIRIHI Guédé Noël**, Professeur Titulaire pour avoir accepté de prendre part à ce jury de thèse en tant qu'examineur. Merci de l'honneur que vous nous faites.

A Monsieur **BOUA Boua Benson**, Maître de Conférences, à qui j'exprime mes vifs remerciements pour ses conseils et son aide tout au long de ce travail. Aujourd'hui encore, vous avez accepté de prendre part à ce jury de cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et gratitude.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur **TRA Bi Fézan Honora**, Professeur Titulaire, à l'UFR SN de l'Université Nangui Abrogoua, pour son aide tout au long de mon cursus universitaire. Il a guidé mes premiers pas dans la recherche ; qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements, mon profond respect et sincère considération pour ses orientations, encouragements et soutiens. Merci aussi de la part de tous les académiciens.

Je voudrais remercier avec une mention spéciale, Monsieur **KOUAME Bosson Antoine**, Maître de Conférences à l'UFR SFA de l'Université Nangui Abrogoua. Son amour pour les arômes et ses précieux conseils m'ont guidé et ont conduit à ce travail. Je tiens aussi à le remercier pour son soutien moral et financier, sa patience et son amour.

J'adresse ma profonde et sincère gratitude à Monsieur **BEKRO Yves Alain**, Professeur Titulaire et Directeur du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LBCOSN) de l'Université Nangui Abrogoua, ainsi qu'à Madame **MAMYRBEKOVA Janat Akhanovna épouse BEKRO**, Professeur Titulaire et Directrice du pôle de recherche de la Pharmacopée Africaine et des Substances Naturelles de l'Université Nangui Abrogoua (UNA) pour m'avoir permis d'effectuer les tests chimiques dans le laboratoire.

J'aimerais aussi remercier tout particulièrement le Docteur **YAO Konan** de l'Université Felix Houphouët Boigny de Cocody (Abidjan). Veuillez trouver ici mes remerciements pour le temps que vous m'avez accordé dans la réalisation des analyses statistiques et votre disponibilité tout au long de ce travail.

Un grand merci à l'équipe du Laboratoire des Substances Naturelles Bio-Actives de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny de Yamoussoukro pour l'analyse de la composition minérale de la plante étudiée.

Mes remerciements à l'endroit de Monsieur **TOURE Sadikou**, Responsable du Laboratoire de Chimie du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire pour son aide précieuse lors de l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique.

J'adresse un merci particulier à tous nos aînés, les Docteurs **N'DRI Konan, BAMBA Souleymane, KOUAME Kouassi Bernadin, PIBA Serge et AZOKOU Alain** pour leurs soutiens, leurs expériences et leurs conseils.

Une pensée pour tous mes ami(e)s qui m'ont soutenu durant toutes ces années d'études, principalement à **KOUAME Gervaise, AKPO Prisca, DIOMANDE Awa, LAGOU Stéphanie, MOUSSA Bamba, KOUAME Anicet, KOFFI Mesmin, KANDE Brahim, KOUAKOU Donthy, DADIE Elvis, KOUASSI Aubin, TCHOKO Bi Evrard, EHOUMAN Evans, MOYABI Georges et MIEZAN Elisabeth.**

Merci également aux doctorants **KOUAO Toffé Alexis** et **AKISSI Zachée** du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LBCOSN) de l'Université Nangui Abrogoua pour leur sollicitude et leur participation à ce travail.

Je remercie la famille **MONYN**, ma mère, tous mes frères et sœurs pour leur soutien, particulièrement mes nièces **Nadia, Christabelle, Israëlla et Cécile.**

Merci aussi à la famille **KOUADIO** à Daloa, ma tante **Monique** et son époux.

Mes remerciements vont également à l'endroit des populations du District d'Abidjan pour avoir autorisé l'accès à leurs domiciles et leur accueil lors de l'enquête ethnobotanique.

A l'endroit de tous ceux que j'ai omis de citer dans ce document, qu'ils trouvent, ici, l'expression de ma gratitude.

## DEDICACES

A l'Eternel Dieu, que la gloire lui revienne

A feu mon père, **MONYN Amouzou Lucien,**

A feu ma sœur aînée **MONYN Akédè Nathalie,**

Trop tôt partie, tu as vu en moi une grande destinée, tu resteras toujours dans mon cœur.

A mon Amour **KOUAME Bosson Antoine**

A ma princesse **KOUAME Ebah Marie Bosson Dominique**

## LISTE DES SIGLES ET ACRONYMES

**CSRS:** Centre Suisse de Recherches Scientifiques

**SFA:** Sciences Fondamentales et Appliquées

**SN:** Sciences de la Nature

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ABTS:** acide 2,2-azinobis (3-éthyl-benzothiazoline-6- sulfonique)

**CCM:** Chromatographie sur Couche Mince

**CI<sub>50</sub>:** Concentration Inhibitrice 50 %

**CMB:** Concentration Minimale Bactéricide

**CMF:** Concentration Minimale Fongicide

**CMI:** Concentration Minimale Inhibitrice

**CPG:** Chromatographie en Phase Gazeuse

**DL<sub>50</sub>:** Dose Létale 50

**DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**E. coli:** *Escherichia coli*

**ERO:** Espèces réactives Oxygénées

**GSHPX:** Glutathion Péroxydase Plasmatique

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxyde d'hydrogène

**HE:** Huile Essentielle

**IRC:** Insuffisants Rénaux Chroniques

**Mn-SOD:** Superoxyde dismutase à manganèse

**MTT:** 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide

**NO:** Monoxyde d'azote

**O<sub>2</sub>:** Oxygène singulet

**OH:** Radical hydroxyle

**ONOOH:** Nitroperoxyde

**ORAC:** Oxygen Radical Absorbance Capacity

**RL:** Radicaux Libres

**RO:** Radical alkoxyle

**RONS:** Reactive Oxygen and Nitrogen Species

**ROO:** Radical peroxyde

**ROS:** Reactive Oxygen Species

**TEAC:** Trolox Equivalent Antioxydant Capacity

**UFC:** Unité Formant Colonie

**UV:** Ultraviolet



## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 : Carte de localisation des sites d'étude dans le District d'Abidjan.....                                                          | 8  |
| Figure 2: Diagramme ombrothermique de la ville d'Abidjan de 2007 à 2017.....                                                                | 9  |
| Figure 3 : Carte de la végétation du District Autonome d'Abidjan.....                                                                       | 14 |
| Figure 4 : Peuplement de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                                                               | 17 |
| Figure 5 : Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles.....                                           | 28 |
| Figure 6: Schéma réactionnel de la réduction du DPPH .....                                                                                  | 39 |
| Figure 7: Schéma réactionnel du test à l'ABTS .....                                                                                         | 39 |
| Figure 8 : Schéma synoptique de l'extraction successive des extraits bruts de la poudre de feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ..... | 59 |
| Figure 9 : Dispositif d'extraction de l'huile essentielle.....                                                                              | 61 |
| Figure 10 : Schéma résumant la méthode de détermination de la CMI des extraits testés.....                                                  | 67 |
| Figure 11 : Schéma résumant la méthode de détermination de la CMB des extraits testés .....                                                 | 68 |
| Figure 12 : Réaction de transformation du MTT en formazan.....                                                                              | 72 |
| Figure 13 : Illustration du test colorimétrique MTT réalisé sur une plaque 96 de puits ...                                                  | 72 |
| Figure 14 : Schéma d'un profil chromatographique sur couche mince.....                                                                      | 74 |
| Figure 15 : Schéma du principe de fonctionnement du spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme. ....                                  | 80 |
| Figure 16 : Diagrammes montrant le niveau de connaissance de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par commune .....                               | 86 |
| Figure 17 : Diagrammes montrant le niveau d'utilisation de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par commune .....                                 | 86 |
| Figure 18 : Diagramme montrant le niveau de connaissance de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par groupe ethnique .....                        | 87 |
| Figure 19 : Diagramme montrant le niveau d'utilisation de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par groupe ethnique .....                          | 87 |
| Figure 20 : Diagramme montrant le nombre de ménages consommant <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par commune.....                              | 88 |

|                                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 21 : Diagramme montrant le nombre de ménages consommant <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par groupe ethnique.....                                                                                | 88  |
| Figure 22 : Spectre montrant le niveau d’instruction des ménages interrogés.....                                                                                                                      | 90  |
| Figure 23 : Inhibition du DPPH• en fonction de la concentration des extraits bruts de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C.....                                                         | 92  |
| Figure 24: Courbes de corrélation des pourcentages d’inhibition du DPPH des extraits bruts de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C en fonction de la concentration ....                 | 93  |
| Figure 25 : Inhibition de l’ABTS en fonction de la concentration des extraits bruts de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C.....                                                        | 96  |
| Figure 26 : Courbes de corrélation des pourcentages d’inhibition de l’ABTS des extraits bruts de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C en fonction de la concentration ....              | 97  |
| Figure 27 : Inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l’huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C.....                                                      | 100 |
| Figure 28 : Courbes de corrélation des pourcentages d’inhibition du DPPH de l’huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C en fonction de la concentration .....           | 100 |
| Figure 29 : Inhibition de l’ABTS en fonction de la concentration de l’huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C.....                                                    | 101 |
| Figure 30 : Courbes de corrélation des pourcentages d’inhibition de l’ABTS de l’huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la vitamine C en fonction de la concentration .....         | 101 |
| Figure 31 : Activités des extraits testés et de la gentamycine sur les bactéries sur gélose Mueller-Hinton .....                                                                                      | 103 |
| Figure 32 : Diamètres d’inhibition des bactéries par les extraits d’huile essentielle et du décocté de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par rapport à la gentamicine à 1mg/mL .....                     | 103 |
| Figure 33 : Activités des extraits d’huile essentielle et du décocté de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> sur les souches de <i>Candida</i> utilisées.....                                               | 106 |
| Figure 34 : Diamètres d’inhibition des souches de <i>Candida</i> par les extraits d’huile essentielle et le décocté de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> par rapport à l’Amphotéricine B à 1 mg/mL ..... | 106 |
| Figure 35 : Diagramme montrant les pourcentages de viabilité des cellules cancéreuses étudiées en fonction de la concentration de l’huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....         | 108 |

|                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 36 : Structure des composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ..... | 126 |
| Figure 37 : Fragmentations en spectrométrie de masse de l' $\alpha$ -pinène .....                              | 126 |
| Figure 38 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ...                  | 127 |
| Figure 39 : Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits étudiés ( $\mu\text{g/g}$ ) .....              | 129 |
| Figure 40 : Spectre des éléments minéraux contenus dans les feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....   | 129 |

## LISTE DES TABLEAUX

|                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tableau I : Caractéristiques sociodémographiques des ménages interrogés .....                                                                                      | 84  |
| Tableau II : Indices de consensus d'utilisation médicinale des feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                                    | 90  |
| Tableau III : Indices de consensus d'utilisation alimentaire des feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                                  | 90  |
| Tableau IV : Rendement des extraits bruts.....                                                                                                                     | 94  |
| Tableau V : Potentiel à piéger le radical DPPH et concentrations inhibitrices 50 (CI <sub>50</sub> ) des extraits bruts et de la Vitamine C .....                  | 94  |
| Tableau VI : Potentiel à piéger le radical ABTS et concentrations inhibitrices 50 (CI <sub>50</sub> ) des extraits bruts et de la Vitamine C .....                 | 98  |
| Tableau VII : CMI et CMB des extraits d'huile essentielle, du décocté de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de la gentamicine .....                                 | 104 |
| Tableau VIII : Rapports CMB/CMI et pouvoir antibactérien des extraits d'huile essentielle, du décocté et de la gentamicine .....                                   | 104 |
| Tableau IX : CMI et CMF des extraits d'huile essentielle, du décocté de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> et de l'amphotéricine B.....                                | 107 |
| Tableau X : Rapports CMF/CMI et pouvoir antifongique des extraits d'huile essentielle, du décocté et de la gentamicine .....                                       | 107 |
| Tableau XI : Composés identifiés par CCM dans l'extrait hexanique révélés avec les réactifs de Godin et de Libermann-Buchard.....                                  | 111 |
| Tableau XII : Composés identifiés par CCM dans l'extrait hexanique révélés avec l'acétate de Plomb et le KOH .....                                                 | 112 |
| Tableau XIII : Composés identifiés par CCM dans l'extrait chloroformique révélés avec les réactifs de Libermann-Buchard, Dragendorff et de FeCl <sub>3</sub> ..... | 114 |
| Tableau XIV : Composés identifiés par CCM dans l'extrait chloroformique révélés avec le réactif AlCl <sub>3</sub> .....                                            | 115 |
| Tableau XV : Composés identifiés par CCM dans l'extrait éthylacétatique révélés avec le réactif de Godin et le KOH.....                                            | 117 |
| Tableau XVI : Composés identifiés par CCM dans l'extrait éthylacétatique révélés avec AlCl <sub>3</sub> et FeCl <sub>3</sub> .....                                 | 118 |

|                                                                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tableau XVII : Composés identifiés par CCM dans l'extrait méthanolique révélés avec les réactifs de Godin et de KOH .....                            | 120 |
| Tableau XVIII : Composés identifiés par CCM dans l'extrait méthanolique révélés avec les réactifs de FeCl <sub>3</sub> et de AlCl <sub>3</sub> ..... | 121 |
| Tableau XIX : Caractéristiques de l'huile essentielle extraite des feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                  | 124 |
| Tableau XX : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                                     | 124 |
| Tableau XXI : Teneurs en minéraux des feuilles de <i>Hydrocotyle bonariensis</i> .....                                                               | 130 |

## INTRODUCTION

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme remonte à plusieurs millénaires. Les vertus thérapeutiques de ces plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses utilisations se sont transmises oralement de génération en génération ou consignées dans les écrits. Les populations africaines ont toujours eu recours à ces plantes médicinales et à des espèces alimentaires cultivées ou spontanées pour couvrir leurs besoins sanitaires et nutritionnels (**Gautier-Béguin, 1992 ; Pousset, 1994 ; N'Guessan *et al.*, 2009**). Selon l'Organisation mondiale de la santé (**OMS, 2002**), près de 80% des populations des pays en développement se tournent vers la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire.

Dans les pays tropicaux, particulièrement en Afrique sub-saharienne, l'intérêt des espèces végétales dans l'alimentation et la santé des populations est très largement reconnu (**Bergeret, 1986; Ambé, 2001; Betti, 2004**). Ces populations accordent une importance particulière aux produits végétaux sauvages (**Diarra *et al.*, 2016**) à cause des fonctionnalités tels que le goût, la saveur et surtout les bénéfices en santé (**Herzog, 1992; Biloso, 2008 ; Yao *et al.*, 2015**). En effet, les plantes médicinales contiennent des composés biologiquement actifs pouvant améliorer la santé ou réduire le risque de maladies (**Potterat, 1997, N'gaman *et al.*, 2009**). Il s'agit des minéraux, des vitamines, des fibres alimentaires (**Ndir *et al.*, 2000, N'Guessan *et al.*, 2009; Guarrera & Savo, 2016**) et d'autres phytocomposés tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les composés volatils des huiles essentielles (HE) des plantes dites "plantes aromatiques". Ces HE occupent une place importante dans les pays développés alors qu'elles restent encore peu exploitées dans de nombreux pays africains comme la Côte d'Ivoire. Elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux à cause de leurs diverses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, anti-infectieuses, antitoxiques, insecticides et insectifuges, tonifiantes, stimulantes, calmantes, etc. (**Mishara & Dubey, 1994; Touré, 2015; Muther, 2015; Bencheikh, 2017**). Ces dernières années, on leur reconnaît même des propriétés anticancéreuses (**Rashid *et al.*, 2013; Yousefzadi *et al.*, 2014; Kpoviessi *et al.*, 2014; Autard, 2017**). De plus, les HE sont également utilisées dans l'industrie alimentaire (**Sacchetti *et al.*, 2011**). Leur rôle d'agents naturels dans l'agro-alimentaire (**Viuda-Martos *et al.*, 2009; Miguel, 2010; Ali, 2011**) est très bénéfique pour la santé de l'homme.

Récemment, une étude réalisée en Côte d'Ivoire a montré qu'elle connaît un problème du double fardeau de la malnutrition. Les facteurs sont en autres : la sous nutrition (retard de croissance, malnutrition aiguë, insuffisance pondérale, et carences en micronutriments) ;

l'émergence de la surnutrition (surpoids et obésité) et de maladies chroniques non transmissibles liées à la nutrition. Plus de 20,5% de la population en 2014 présentaient un régime alimentaire peu diversifié dans tous les groupes d'âges (**RCI, 2015**). Le régime alimentaire étant généralement peu diversifié, essentiellement basé sur les tubercules, les racines et les céréales qui contribuent à plus de 65% aux apports énergétiques alimentaires journaliers (**INS, 2015**). En ce qui concerne les carences en micronutriments, il n'existe pas de données nationales récentes. Cependant la prévalence de l'anémie a été estimée en 2012 à 75% chez les enfants de moins de 5 ans, à 54% chez les femmes en âge de procréer, et à 29% chez les hommes âgés de 15 à 49 ans. Ceci suggère, au regard de la prévalence de l'anémie, que la carence en fer est très répandue en Côte d'Ivoire, en particulier chez les enfants et les femmes. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que les carences en vitamine A et certains micronutriments comme le fer et le zinc sont parmi les dix premières causes de décès par maladie dans les pays en développement (**FAO, 2016**).

L'évaluation des compositions en nutriments et anti-nutriments des plantes spontanées comestibles pourrait aider à identifier des aliments riches en minéraux et acquérir une connaissance des méthodes appropriées de préparation pour améliorer la biodisponibilité de ces nutriments dans l'organisme (**Hailu & Addis, 2016**).

En Côte d'Ivoire, bien que les populations aient recours à des plantes médicinales et/ou alimentaires cultivées ou spontanées, **N'Guessan et al., 2009; Kouamé et al., 2015** et **Atchibri et al. (2012)** rapportent que les légumes feuilles n'occupent pas une place de choix dans le régime alimentaire. Par contre, plusieurs auteurs ont montré que les légumes feuilles issus des plantes spontanées augmentent la qualité nutritionnelle des mets en fournissant des minéraux, des fibres, des vitamines et des acides gras essentiels (**Adeniyi et al., 2012; Volpe et al., 2015; Guarrera & Savo, 2016; Petropoulos et al., 2017**). Ces légumes feuilles verts encore sous utilisés sont donc de bonnes sources de nombreux nutriments comme le fer, le calcium, l'acide ascorbique et le  $\beta$ -carotène. Selon **Sanclemente et al. (2011)**, leurs richesses en oligoéléments, vitamines et phytoconstitués sont une aubaine dans les pays en développement.

Dans ce cadre, différents travaux menés sur quelques plantes alimentaires de Côte d'Ivoire ont porté sur leurs valeurs nutritionnelles et diététiques (**Soro et al., 2012; Atchibri et al., 2012; Acho et al., 2014**). Plusieurs de ces travaux ont été effectués sur les plantes médicinales et alimentaires de Côte d'Ivoire. Mais la majorité de ces études s'est focalisée sur les inventaires (**Aké Assi, 1984; Kouamé et al., 2008; Piba et al., 2015**). Quelques investigations sur les aspects biologiques, pharmacologiques et phytochimiques ont été

menées sur certaines de ces plantes (**Koné et al., 2004, 2012; Zirihi et al., 2005; Soro et al., 2010; Kipré et al., 2017**). Cependant, leur importance et leur rôle dans l'alimentation des populations urbaines restent encore insuffisamment documentés. La valeur de nombreuses espèces pour les populations, éventuellement celles utilisées pour des applications médicales et nutritionnelles, est encore très peu valorisée. En effet, très peu de ces travaux ont été consacrés aux fonctionnalités recherchées (goût, bénéfice en santé) par les populations lors de l'utilisation des espèces médicinales et alimentaires. Les huiles essentielles de nombreuses plantes sont également moins investiguées malgré leur popularité.

Une de ces plantes est *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam. de la Famille des Araliaceae. Cette plante est très répandue dans certaines zones du District d'Abidjan au Sud de la Côte d'Ivoire. Plusieurs travaux indiquent qu'elle est couramment utilisée dans la médecine populaire indienne et américaine (**Fiaschi, 2010, Andrea, 2010**). Cependant, après plusieurs recherches bibliographiques, il ressort que les études des activités nutritionnelles de *Hydrocotyle bonariensis* sont rares. Aussi, *H. bonariensis* n'a pas encore fait l'objet d'étude en Côte d'Ivoire.

Ce travail a donc été entrepris en vue de contribuer à une meilleure connaissance de cette plante aromatique médicinale et alimentaire pour sa valorisation.

Pour se faire, les objectifs spécifiques suivants ont été définis :

- identifier les catégories d'usage de *Hydrocotyle bonariensis* dans le District d'Abidjan ;
- évaluer les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique des extraits bruts et de l'huile essentielle de cette espèce végétale ;
- évaluer l'activité cytotoxique de l'huile essentielle de *H. bonariensis*;
- mener une analyse biochimique et phytochimique qualitative et quantitative de cette plante.

Le présent mémoire se subdivise en quatre parties. La première partie est consacrée aux généralités. La deuxième partie porte sur le matériel et les méthodes d'analyses. La troisième partie, présente les résultats. Dans la quatrième partie, les résultats sont discutés au regard de la littérature disponible.

Le document s'achève enfin par une conclusion qui résume les résultats obtenus, et dégage des perspectives.



**PREMIERE PARTIE :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE 1 : Généralités sur le District Autonome d'Abidjan

### 1.1. Présentation du District d'Abidjan et des communes visitées

Le District Autonome d'Abidjan, zone de notre investigation ethnobotanique, est situé au Sud de la Côte d'Ivoire, au bord de l'Océan Atlantique. Il est compris entre 5°10' et 5°38' de latitude Nord et entre 3°45' et 4°21' de longitude Ouest. Autrefois, ville d'Abidjan, elle a été érigée depuis 2001 en District Autonome par la loi n°2001-478 du 09 août 2001 portant statut du District Autonome d'Abidjan. Sur une superficie de 2.119 km<sup>2</sup>, le District d'Abidjan est traversé par les lagunes Ebrié, Aghien et Potou. Il est limité au Nord par les Départements d'Agboville (Région de l'Agnéby-Tiassa) et d'Adzopé (Région de la Mé), au Sud par l'Océan Atlantique, à l'Ouest par les Départements de Dabou et de Jacqueville (Région des Grands Ponts) et à l'Est par les Départements d'Alépé (Région de la Mé) et de Grand –Bassam (Région du Sud-Comoé) (**Bnetd, 2015**). Il comporte dix Communes et quatre Sous-Préfectures à savoir Songon, Anyama et Bingerville et Brofodoumé (**RGPH, 2014**). Il est subdivisé en deux parties, Abidjan Nord et Abidjan Sud, situées de part et d'autre de la lagune Ebrié. Abidjan Nord est composée de six Communes (Abobo, Adjamé, Yopougon, Plateau, Attiécoubé et Cocody) ainsi que des quatre Sous-Préfectures (Anyama, Bingerville, Songon et Brofodoumé). Quant à Abidjan Sud, elle comporte quatre Communes : Koumassi, Marcory, Port-Bouët et Treichville.

L'étude a été menée dans les communes de Yopougon, Port-Bouët, Cocody, Abobo, Anyama et Bingerville (**Figure 1**).

✓ Avec 11 725 hectares, la Commune de Yopougon est la plus étendue du District d'Abidjan avec une population estimée à 1 071 543 d'habitants (**RGPH, 2014**). Elle est subdivisée en plusieurs sous-quartiers regroupés en dix secteurs principaux avec à son actif 22 marchés. L'habitat en maisons individuelles est important avec 80 % en individuels groupés avec des quartiers précaires disséminés dans la commune.

✓ La Commune de Port-Bouët est située dans la partie Sud de l'agglomération sur une superficie de 4441 hectares, ce qui représente 12,3 % de l'agglomération d'Abidjan. Sa population est estimée à 419 033 habitants (**RGPH, 2014**).

✓ La Commune de Cocody s'étend sur 7476 hectares soit 20,8 % de l'agglomération abidjanaise. Cocody est structurée de manière concentrique autour du noyau constitué par le quartier Cocody qui a donné son nom à la commune, situé au Sud-Ouest de celle-ci. L'habitat occupe 15,7 % de la surface de la commune. Les trois quarts (73,4 %) sont constitués de

maisons individuelles de standing économique, et surtout de moyen et de bon standing avec une population de 447 055 habitants (**RGPH, 2014**).

✓ Abobo est la Commune de l'agglomération qui se situe le plus au Nord. L'habitat représente 11,2 % de la superficie, en majorité de l'habitat sur cour (85 %), ce qui indique qu'Abobo est un des lieux privilégiés d'implantation de l'habitat traditionnel. C'est l'une des communes les plus peuplées du district (environ 1 500 000 habitants) sur une superficie de 10 000 ha (100 km<sup>2</sup>); soit une densité de 167 habitants à l'hectare (**Anonyme 1, 2017**).

✓ La Commune d'Anyama est située à 25 km, au Nord de l'agglomération d'Abidjan. Sa population est estimée à 148 962 habitants. Anyama est un nœud ferroviaire et routier surimposé par les circonstances en milieu rural. La majeure partie de la population de la commune d'Anyama, soit plus de 79 % réside en zone urbaine. Le reste de cette population (21 %) réside en zone rurale (**BNETD, 2018**).

✓ La Commune de Bingerville est située à près de 12 km du centre d'Abidjan. C'est une zone où l'on pratique de manière intense des cultures industrielles (palmiers à huile, café, cacao, hévéa). Sur une superficie de 10 200 hectares, 3500 sont urbanisés. Sa population est estimée à 90 000 habitants (**Anonyme 2, 2017**).

## **1.2. Climat**

### **1.2.1. Pluviométrie**

Le climat du District d'Abidjan est très humide avec des précipitations annuelles qui varient de 1.500 mm à 2.400 mm (**Sodexam, 2015**). Ce climat est de type équatorial de transition (climat attéen chaud et humide) avec quatre saisons : une grande et une petite saison des pluies alternant avec une petite et une grande saison sèche. Ces saisons se répartissent sur les dix dernières années, de 2007 à 2017, comme suit (**Figure 1**) :

- une grande saison sèche de 2 mois, de janvier à Février, avec un minimum de précipitation en Janvier ;
- une grande saison de pluie de 5 mois, de Mars à Juillet, avec un maximum de pluie en Juin ;
- une petite saison sèche en Août ;
- et une petite saison pluvieuse de 4 mois, de Septembre à Décembre.

### 1.2.2. Température

La température moyenne annuelle sur ces dix dernières années est de 27,2°C. Elle présente de faibles variations d'un mois à un autre (**Figure 1**). La plus basse température est enregistrée dans le mois d'Août avec 24,7°C et la plus haute température est enregistrée dans les mois de Mars et Avril avec 28,5°C. (**Sodexam, 2018**).

### 1.3. Géologie

La géologie du District Autonome d'Abidjan est caractérisée par des formations sédimentaires du quaternaire, du tertiaire et du secondaire. Le bassin sédimentaire correspond à une fosse subsidence formée à partir du crétacé et s'approfondissant progressivement en direction de l'Océan Atlantique. Ce bassin est constitué d'argiles et d'argiles sableuses, de sables et de grès, de conglomérats, de sables glauconieux et de marnes (**Anghui et Biémi, 1984**).

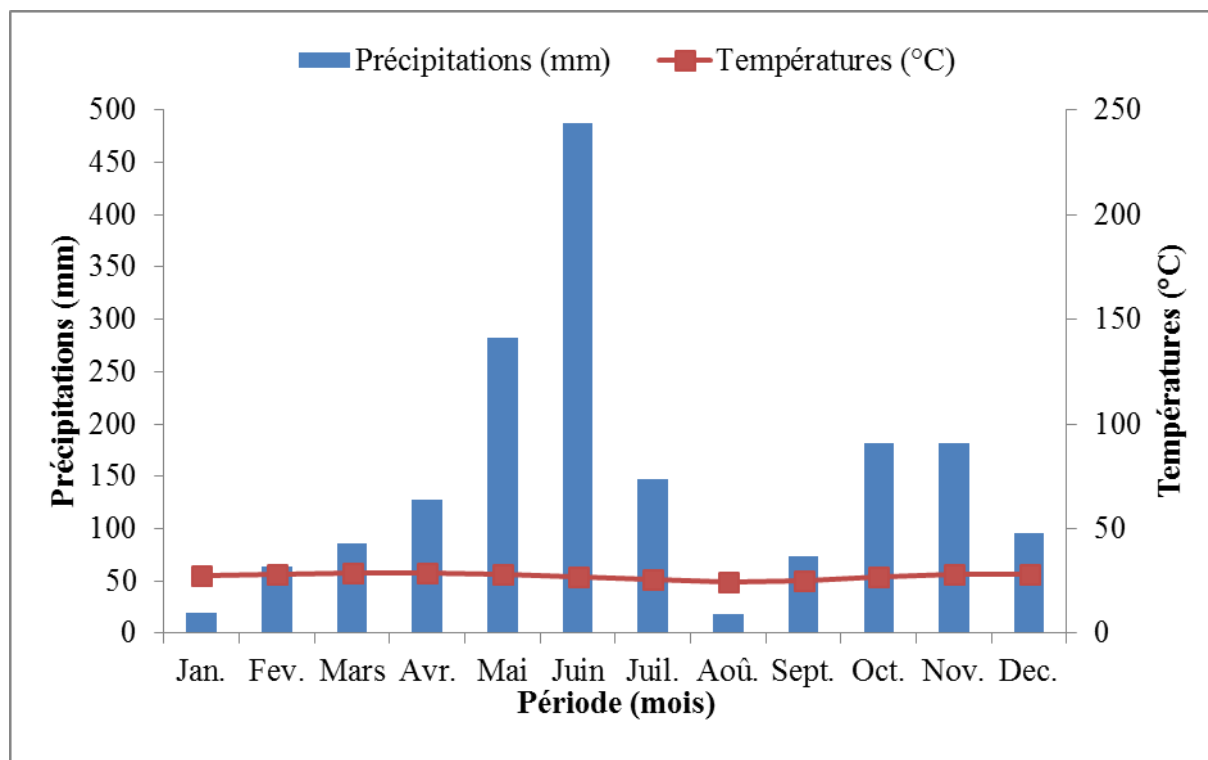
### 1.4. Pédologie

Les sols rencontrés sur le territoire du District Autonome d'Abidjan sont les sols ferralitiques fortement désaturés et les sols hydromorphes ou sols littoraux (**Aghui et Biémi, 1984**). Les sols ferralitiques fortement désaturés sont caractérisés par la présence d'un horizon humifère peu épais et un horizon gravillonnaire peu développé. Quant aux sols hydromorphes, ils sont liés à un excès d'eau par suite d'un engorgement temporaire de surface, de profondeur, ou par suite de la présence ou de la remontée d'une nappe phréatique.



**Figure 1 :** Carte de localisation des sites d'étude dans le District d'Abidjan

(Source: BNETD/CCT, 2015)



**Figure 2:** Diagramme ombrothermique de la ville d'Abidjan de 2007 à 2017

(Source des données : **Sodexam, 2018**)

## 1.5. Végétation

Le District d'Abidjan fait partie de la zone forestière de la Côte d'Ivoire, précisément au secteur ombrophile. A l'origine, on retrouvait dans cette zone plusieurs paysages végétaux tels que la forêt dense humide sempervirente, les savanes pré-lagunaires, les mangroves et les forêts marécageuses. Toutes ces formations végétales ont été détruites au fil des ans du fait de l'urbanisation et de l'agriculture. Par contre, il existe encore quelques reliques de formations végétales que l'on retrouve dans la zone d'Abidjan et dans ses environs. Il ne reste aujourd'hui, qu'environ quelques hectares de cette forêt abidjanaise, représentée principalement par la forêt du Parc National du Banco (3.750 hectares) et par la forêt classée d'Anguédédou (5.700 hectares) (**Figure 3**).

La forêt du Parc National du Banco (PNB) est une forêt sempervirente dont on distingue quatre types de formations naturelles. La plus importante de ces formations est la forêt de terre ferme psammohygrophile à *Turraeanthus africanus* (Welw. ex DC.) Pellegr et *Heisteria parvifolia* Sm. Les arbres dominants des strates supérieures sont *Synsepalum afzelii* (Engl.) T.D.Penn., *Berlinia confusa* Hoyle, *Blighia welwitschii* (Hiern) Radlk., *Coula edulis* Baill., *Dacryodes klaineana* (Pierre) H.J.Lam, *Petersianthus macrocarpus* (P.Beauv.) Liben, *Piptadeniastrum africanum* (Hook.F.) Brenam. Les strates dominantes sont marquées par l'abondance de *Chrysophyllum subnudum* Baker, *Drypetes chevalieri* Beille, *Eriocoelum pungens* Radlk. ex Engl., *Monodora myristica* Dunal, *Tabernaemontana crassa* Plum. ex L. et *Xylopia acutiflora* (Dunal) A.Rich. L'une des formations naturelles est la forêt marécageuse à *Mitragyna ledermannii* (K. Krause) Ridsdale, *Uapaca paludosa* Aubrev. & Leandri et *Symphonia globulifera* L.F., qui présente une canopée assez ouverte et un sous-bois dense où les palmiers (*Raphia*, *Laccosperma*) sont abondants (**Lauginie et al., 1996**). Les arbres *Hymenostegia afzelii* (Oliv.) Harms, *Sacoglottis gabonensis* (Baill.) Urb., *Parkia bicolor* A. Chev. et *Coelocaryon oxycarpum* Staph sont typiques de la formation de forêt périodiquement inondée du parc. Une autre formation naturelle est la forêt ripicole localisée sur le cours supérieur de la rivière et dominée par *Cynometra ananta* Hutch. & Dalziel qui forme d'importants peuplements. On y trouve aussi de vieilles plantations forestières d'espèces autochtones (Acajou Bassam *Khaya ivorensis* A. Chev., Azobé *Lophira alata* Banks ex P.Gaertn.) ou allochtones (Niangon *Tarrietia utilis*, Okoumé *Aucoumea klaineana*). Les seuls milieux non forestiers du PNB sont les étangs de la ferme piscicole et leurs abords, quelques clairières autour du village et sur les lisières du parc, et les marais herbacés à *Cyrtosperma senegalense* (Schott) Engl. qui bordent localement la rivière Banco.

Située au Nord-Ouest du PNB, la Forêt Classée d'Anguédédou (FCA) est majoritairement occupée par des plantations industrielles d'hévéas *Hevea brasiliensis* (Wild. ex A. Juss.) Müll.Arg. La surface restante est une mosaïque de forêt naturelle, de forêt dégradée, de plantations de reboisement et de clairières. Les formations forestières du PNB se retrouvent dans la FCA, mais sous un état beaucoup plus secondarisé, marqué par l'abondance d'arbres et arbustes héliophiles [*Cleistopholis patens* (Benth.) Engl. & Diels, *Discoglyprena caloneura*(Pax) Prain, *Harungana madagascariensis* Lam. Ex Poir., *Macaranga* sp. R. Br., *Musanga cecropioides* R. Br., *Pycnanthus angolensis* (Welw.) Warb. et *Tetrorchidium didymostemon* (Baill.) Pax & K. Hoffm.)] (Lauginie et al., 1996). La majorité de la surface boisée est cependant occupée par des plantations forestières. Les essences les plus plantées sont le Framiré *Terminalia ivorensis* A. Chev., le Fraké *T. superba* Engl. et Diels et le Samba *Triplochiton scleroxylon* K. Schum, quatre espèces autochtones, et des essences allochtones comme le Sao *Hopea odorata* Roxb, divers *Eucalyptus*, le Pin caraïbe *Pinus caribaea* Morelet et *Acacia mangium* Wild. Les clairières sont nombreuses et souvent envahies par *Panicum maximum* Jacq. et *Chromolaena odorata* (L.) King et H. Robins. On y trouve également quelques plantations d'agrumes, de cacaoyers et de bananiers.

En plus de ces deux formations forestières, l'on retrouve également dans la zone d'Abidjan quelques petits lambeaux forestiers comme la forêt d'Adiopodoumé (130 hectares) qui abrite encore quelques taxons tels que *Anthonota macrophylla* P. Beauv, *Daniella thurifera* Benn, *Hannoa klaineana* Pierre et Engl, *Canarium schweinfurthii* Engl, *Plagiosyphon emarginatus* Hutch et Dalz, *Spondianthus preussii* Engl et *Entada gigas* L. (Zein et al., 2005). La forêt du zoo, la forêt de l'université Nangui Abrogoua, la forêt du Centre National Floristique de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody et le jardin botanique de Bingerville, sont aussi quelques lambeaux forestiers retrouvés dans le District d'Abidjan. Les espèces les plus caractéristiques de ces formations forestières sont *Trichilia monadelpha* (Thonn) J.J. De Wilde, *Psydrax subcordata* (DC.) Bridson, *Petersianthus africanus* (Welw. ex Benth. & Hook. f.) Merr. Search. Dans le sous bois de ces forêts il est possible de trouver des espèces comme *Angylocalyx oligophyllus* (Baker) Baker f., *Geophila obvallata* (Schumach.) Didr., *Chassalia kolly* (Schumach.) Hepper. Ces reliques de formations forestières sont constamment détruites pour la culture de certains produits vivriers en l'occurrence le manioc (*Manihot esculenta*), la banane (*Musa paradisiaca*), le gombo (*Abelmoschus* sp), le piment (*Capsicum anium*, *C. frutescens*), la tomate (*Lycopersicum* sp), l'aubergine (*Solanum silo*, *S. macrocarpon*) et certains produits industriels comme le palmier à huile (*Elaeis guineensis*), le cocotier (*Cocos nucifera*), le cacaoyer (*Theobroma cacao*).



La végétation du District d'Abidjan est aussi composée de nombreuses zones anthropisées constituées d'un ensemble de pelouse et de jardin dont les espèces les plus importantes sont *Cymbopogon aciculatus* (DC.) Stapf, *Diodia rubricosa* Hiern, *Mariscus alternifolius* Vahl. Les espèces ornementales les plus répandues sont *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Bougainvillea glabra* Choisy, *Ixora coccinea* L., *Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson. L'on retrouve également, par moments, de vastes espaces recouverts de mauvaises herbes telles que : *Tridax procumbens* L., *Phyllanthus amarus* Schumacher & Thonning, *Synedrella nodiflora* Gaertn., *Oryza barthii* A. Chev...

## 1.6. Hydrographie

L'agglomération du District d'Abidjan est bordée par la lagune Ebrié qui s'allonge sur une superficie de 566 km<sup>2</sup> ; celle-ci étant reliée à la mer par le canal de Vridi dans la Commune de Port-Bouët. Cette agglomération est alimentée en eau par les bassins versants de l'Agnéby, du Comoé, de la Mé et par quelques petites rivières côtières (Anguédédou, Gougbo, Banco). Le régime hydrologique est de type équatorial de transition. Il présente deux pointes de crues annuelles. La première, la plus importante, se situe en juin et la seconde en octobre. Deux périodes de basses eaux sont identifiables, la première de août à septembre et la seconde, la plus marquée, de décembre à mars.

## 1.7. Données démographiques et socio-économiques

Le recensement de la population du pays qui a eu lieu en 2006, a indiqué 5.189.431 habitants pour le District Autonome d'Abidjan. En 2014, avec un taux de décroissance (5.189.431 habitants à 4.707.404 d'habitants) de 9,28 %, la population du District Autonome d'Abidjan a été estimée à 4.707.404 d'habitants, dont 93,37 % au sein des 10 communes d'Abidjan ville, le reste étant réparti entre les quatre Sous-préfectures (Anyama, Bingerville, Songon, Brofodoumé) (**RGPH, 2014**). Cette diminution de la population abidjanaise pourrait être principalement liée à la forte crise post-électorale de 2011 qu'a connue la Côte d'Ivoire. Cette crise a fortement secoué la capitale économique du pays et a occasionné un déplacement massif de la population abidjanaise vers l'intérieur du pays et vers l'étranger. Cette population est cosmopolite. On relève 161 nationalités vivant sur le territoire du District Autonome d'Abidjan. Parmi cette population, nous avons des Akan, des Mandé, des Krou, des Gour, des ressortissants des pays CEDEAO (Burkinabé, Maliens, Ghanéens, Nigériens, Nigérians, Guinéens, etc.) et des non africains (**District d'Abidjan, 2006 ; RGPH, 2014**).

Véritable poumon économique, le District d'Abidjan abrite l'essentiel des entreprises de tous les secteurs d'activité. Le district d'Abidjan représente à lui seul 40 % du PIB de la Côte

d'Ivoire soit 12,42 milliards de dollars soit plus que le PIB du Burkina Faso, du Mali, de la Guinée ou du Bénin. L'économie, de par le poids de son industrie et de ses services, rayonne sur toute la Côte d'Ivoire et au-delà des frontières de la Côte d'Ivoire. En 1988, Abidjan générait 90 % de la valeur ajoutée du commerce du pays (sans compter le secteur informel) et assurait 80 % de la production industrielle, avec 70 % des unités et 60 % des emplois de ce secteur. Les produits issus de l'agriculture sont essentiellement le palmiste (113.761 tonnes par an), le caoutchouc (47.751 tonnes par an), le café (20.302 tonnes par an), le cacao (87.730 tonnes par an), les produits vivriers et maraîchers (**District d'Abidjan, 2006**).



## CHAPITRE 2 : Généralités sur *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam.

### 2.1. Aperçu sur les *Hydrocotyles*

Le genre *Hydrocotyle* décrit par **Linné en 1753** et autrefois classé parmi les Apiaceae (Ombellifères), est représenté par environ 130 espèces aquatiques ou semi-aquatiques distribuées dans le monde entier (surtout tropical). Il a été récemment rattaché aux Araliaceae sur la base de travaux de génétique (**Nicolas & Plunkett, 2009**). Les Araliaceae renferment de nombreuses plantes alimentaires et aromatiques (**Spichiger et al., 2004**) dont certaines sont utilisées comme additifs naturels dans l'industrie alimentaire (**Doneanu & Anitescu, 1998; Olle & Bender, 2010**). Celles-ci sont riches en métabolites secondaires notamment des coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques. Elles sont aussi caractérisées par une richesse en huiles essentielles, présentant des intérêts économiques et médicaux. La famille doit son importance économique au ginseng (*Panax quiquefolia* L.) dont l'extrait issu des racines possède des propriétés stimulantes (**Botineau, 2010**). Elle vit principalement dans les régions subtropicales et tropicales d'Asie et d'Amérique. Cette famille renferme divers genres répartis entre les différents continents (**Pimenov & Leonov, 1993**).

De nombreux *Hydrocotyles* introduites hors de leur aire naturelle de répartition sont considérées comme localement invasives; c'est le cas de l'hydrocotyle fausse-renoncule (*Hydrocotyle ranunculoides* L.f.), introduite d'Amérique du Nord en Europe occidentale, qui est en train de coloniser de manière très dense certaines portions de cours d'eau. Quelques espèces dont *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam. ont fait l'objet de cultures pour l'aquariophilie ou sont utilisées comme plantes ornementales de bassins. D'autres *Hydrocotyles* (*Hydrocotyle umbellata* L., *Hydrocotyle verticillata* Thunb., *Hydrocotyle moschata* G. Forst., *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.) sont commercialisées. Bien qu'appartenant à des espèces différentes, elles pourraient être mal étiquetées (**Dortel et al., 2011**). Plusieurs d'entre elles présentent des activités antioxydante et antitumorale (**Jayashree et al., 2003; Yu et al., 2007**) ainsi que des effets thérapeutiques sur l'ulcère, les plaies et les eczémas (**Malhotra et al., 1961**). Des études chimiques sur les extraits de différentes espèces du genre ont permis l'isolement de quelques oléane-triterpéneglycosides polyoxygénés (**Della et al., 1994; Matsushita et al., 2004**).

## 2.2. Position systématique de *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam. (APG IV)

Selon la nomenclature APG IV, *Hydrocotyle bonariensis* peut être classifié comme suit :

**Clade 1 :** Mesangiospermes

**Clade 2:** Dicotylédones vraies

**Clade 3 :** Superasteridae

**Clade 4:** Asteridae

**Clade 5 :** Campanulidae

**Ordre :** Apiales

**Famille:** Araliaceae

**Genre:** *Hydrocotyle*

**Nom scientifique:** *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam.

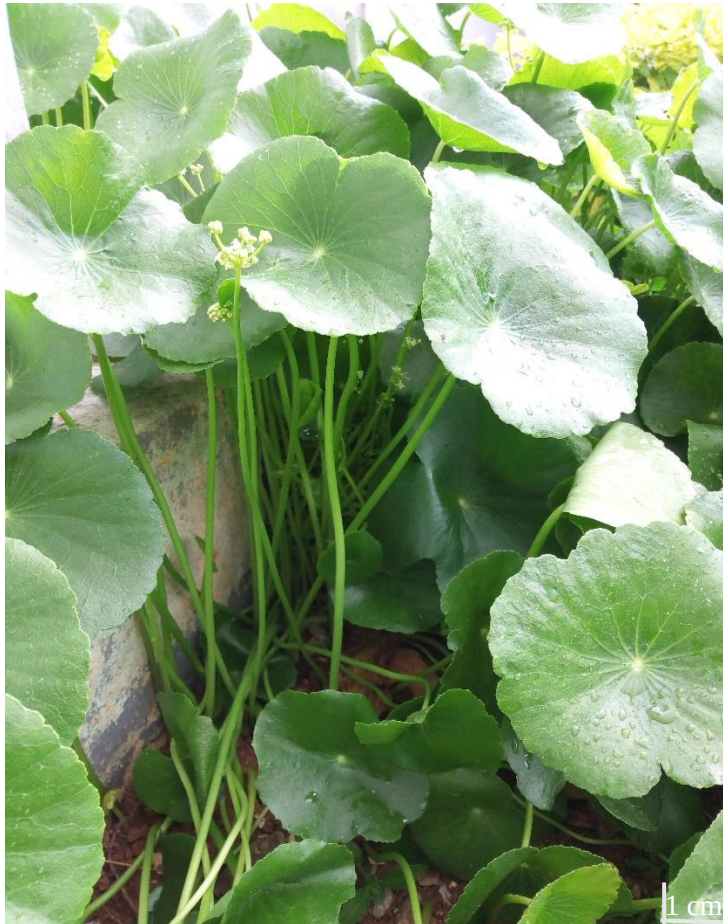
**Synonymes:** *H. bonariensis* var. *multiflora* (Lam.) Don  
*H. bonariensis* var. *texana* J.M. Coult. & Rose  
*H. multiflora* Ruiz & Pav.  
*H. polystachya* var. *quinqueradiata* Thouars ex A. Rich.  
*H. umbellata* var. *bonariensis* (Comm. ex Lam.) Spreng.  
*H. verticillata* var. *bonariensis* (Lam.) Urb. *H. yucatanensis* Millsp.

**Noms communs:** Herbe tam-tam

Herbe bol

## 2.3. Description botanique

*Hydrocotyle bonariensis* est une plante herbacée (**Figure 4**) de la Famille des Araliaceae. Elle est vivace, rampante, s'enracinant aux nœuds et se développant en tache dense. De son pivot principal robuste, elle se propage par des racines pivotantes adventives qui naissent à chaque nœud en contact avec le sol. Sa tige est partiellement rhizomateuse souterraine ou stolonifère. Elle est cylindrique, pleine, charnue et glabre. Les feuilles glabres, sont simples et alternes, portées par un pétiole grêle, dressé pouvant atteindre plus de 30 cm de long. Le pétiole s'insère dans le limbe pratiquement en son centre.



(Photo Monyn, Avril, 2017)

**Figure 4 :** Peuplement de *Hydrocotyle bonariensis*

De ce point d'insertion formant une marque blanche sur le dessus de la feuille, partent entre 12 à 20 nervures palmées. Le limbe disposé horizontalement est circulaire à largement elliptique pouvant atteindre 12 cm de diamètre. La marge est plus ou moins crénelée à parfois profondément lobée. L'inflorescence est une ombelle composée au sommet d'un pédoncule grêle et habituellement plus long que les feuilles. L'ombelle principale comprend cinq à sept rayons. Au sommet de chaque rayon se trouve un verticille de fleurs. La fleur est portée par un pédicelle de 1 à 2 cm de long, le calice est réduit à de petites dents collées à l'ovaire infère, la corolle est formée de cinq pétales ovales, étalés au-dessus de l'ovaire, de couleur blanche à verdâtre et de 2 à 2,5 mm de diamètre. Cinq étamines sont fixées en alternance avec les pétales. Le fruit est une capsule longue de 1 à 2 mm, large de 2 à 4 mm, émarginée à la base et au sommet (**Fiaschi, 2010**).

#### 2.4. Répartition géographique

*Hydrocotyle bonariensis* est assimilée comme indigène et se trouve surtout dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Elle est aussi commune aux îles barrières des États-Unis du Sud. Elle se rencontre au bord des rivières et de canaux d'irrigation, dans les bas-fonds humides, dans les zones sablonneuses, dans les terres sèches qui sont parfois inondées et comme elle est tolérante à une certaine salinité, elle peut se développer à proximité des lagunes (**Fiaschi, 2010**).

#### 2.5. Usages traditionnels et alimentaires

*Hydrocotyle bonariensis* est utilisée pour traiter diverses maladies comme la tuberculose, soulager la douleur du rhumatisme et de l'arthrite, augmenter la capacité du cerveau et la longévité (**Masoumian et al., 2011**). Pendant de nombreuses années, elle a été utilisée en médecine populaire en Amérique du Sud principalement contre l'érythème cutané, pour guérir les plaies et autres inflammations de la peau (**Ouviña et al., 2009**). En outre les infusions préparées avec les feuilles, les fleurs et les tiges sont utilisées pour leurs propriétés stimulantes, emménagogues et antiseptiques (**Toursarkissian, 1980; Marzocca, 1997**). Une étude antérieure a aussi rapporté que cette herbe est utilisée en médecine traditionnelle comme émétique, diurétique et laxatif (**Ajani et al., 2009**). Outre cela, cette plante gagne rapidement en popularité chez certains habitants du Nigeria occidental parce qu'elle peut traiter divers symptômes de maladies ophtalmiques (**Ajani et al., 2009**). *H. bonariensis*, de plus en plus, est utilisée comme légume en Inde et aux

Etats-Unis. En tant que plante alimentaire, elle se distingue par des niveaux élevés de phosphore, soufre et bore. Les feuilles sont savoureuses et aromatiques, consommées (en petites quantités) brutes ou dans les ragoûts et aussi dans la préparation du pain (**Fiaschi, 2010**).

En Côte d'Ivoire, cette espèce végétale est aussi consommée dans des ménages. Toutefois très peu de données sont disponibles sur ses usages et sa connaissance.

## **2.6. Propriétés biologiques**

*H. bonariensis* présente un effet fongicide. Elle a induit une activité antifongique marquée (CI<sub>50</sub> de 31,63 pg/mL) contre *Candida krusei* résistante au fluconazole (FCZ). Elle a également présenté une activité contre *Leishmania amazonensis* (CI<sub>50</sub> de 302,5 pg/mL), ainsi que contre des promastigotes de *Leishmania chagasi* (CI<sub>50</sub> de 235,0 pg/mL), dans laquelle 100 % des parasites ont été tués à 500 µg/mL (**Tempone et al., 2008**).

L'extrait méthanolique a montré une activité contre *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) (souche nosocomiale), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Pseudomonas aeruginosa* isolé des infections nosocomiales et *Candida albicans* (ATCC 44548). L'extrait dichlorométhanolique de *H. bonariensis* a manifesté une activité contre *Bacillus subtilis* (**Vivot et al., 2006**). Les parties aériennes de *H. bonariensis* et les racines n'ont montré aucun effet mutagène sur les souches TA 98 et TA 100 de *Salmonella typhimurium* (**Florinsiah et al., 2013**).

*H. bonariensis* a fait également l'objet de nombreuses études sur son utilisation pour le traitement des eaux usées riches en nutriments (**Reddy & DeBusk, 1985; Reddy et al., 1990; Sooknah & Wilkie, 2004; Mendoza et al., 2015**). Il a été montré qu'elle peut être utilisée pour l'élimination des métaux lourds dans l'eau (**Prasad & Freitas, 2003; Yongpisanphop et al., 2005; Panyakhan et al., 2006**).

Deux composés isolés des racines de *H. bonariensis* ont exercé une toxicité sur les lignées cancéreuses HT-29 et HCT 116 du colorectal humain dont les CI<sub>50</sub> sont respectivement 24,1 et 83,6 µM (**Tabopda et al., 2012**).

L'huile essentielle de la tige feuillée obtenue par distillation à la vapeur a montré une activité cytotoxique *in vitro* sur les cellules cancéreuses RD des muscles et Hep-G2 du foie humain avec des valeurs CI<sub>50</sub> de 16,1 et 19,9 µg/mL, respectivement (**Lien, 2009**).



## 2.7. Etudes chimiques

Malgré sa grande utilisation dans la médecine populaire, peu de travaux chimiques ont été réalisés sur *Hydrocotyle bonariensis*. Une étude réalisée au Vietnam sur les parties aériennes de cette plante, a conduit à l'isolement de trois composés: un squalène triterpénique et un mélange de deux lignanes: hinokinine et  $\alpha$ -[3,4-méthylènedioxyphénylméthylidène]- $\beta$ -[3,4-méthylendioxyphénylméthyl]- $\gamma$ butyrolactone (Lien, 2009). La plante fraîche a été divisée en tige-feuilles et fleurs, et chaque partie a été distillée avec de la vapeur pour donner des huiles essentielles. Les principales composantes de la tige-feuilles sont: le (Z) -3-hexène-1-ol, le trans-caryophyllène, l' $\alpha$ -farnesène, le copaène tandis que celles de la fleur sont:  $\alpha$ -pinène, 2- $\beta$ -pinène,  $\beta$ -myrcène, limonène,  $\alpha$ -caryophyllène et épibicyclosesquiphellandrène (Lien, 2009).

Les travaux de Adakarlény (2011) ont permis d'isoler quatre nouvelles saponines à partir de l'extrait butanolique des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*. Il s'agit du 3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-3 $\beta$ ,22 $\beta$ -dihydroxyoléan-12-én-28-oate de  $\beta$ -D-glucopyranosyle, du 3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-oléanolicoate de  $\beta$ -D-glucopyranosyle, du 3-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-11-O-( $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-26-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-ergosta-5,24(28)-diéno-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,26-triol et du 3-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-11-O-( $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-26-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)ergosta-5,24(28)-diéno-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,21,26-tétrol.

D'autres travaux réalisés au Camérout ont conduit à l'isolement et l'élucidation de la structure de cinq nouvelles saponines triterpénoïdes ester, Bonarienosides A-E (1-5) et une saponine connue, saniculoside-R1 à partir de l'extrait aqueux à 70% de méthanol des racines de *H. bonariensis* (Tabopda et al., 2012). Une autre étude basée sur la méthode spectrophotométrique pour la détermination de la teneur en polyphénols dans les extraits aqueux de *H. bonariensis* a montré que le contenu total de polyphénols, exprimé en acide tannique, était de 2 % (Marino et al., 2009).

## CHAPITRE 3: Généralités sur les huiles essentielles

### 3.1. Historique

Depuis des temps immémoriaux, les peuples indigènes de toutes les civilisations du monde ont utilisé les plantes pour se soigner. En cela, les extraits aromatiques étaient déjà connus et utilisés par les Egyptiens, les Romains et les Grecs pour leurs propriétés odorantes et médicinales (**Franchomme et al., 2001**).

Vers le XVIII<sup>ème</sup> siècle, la création de l'eau de Cologne et la mode des parfums anglais donnent un nouvel essor à l'art de la parfumerie et à l'industrie des essences. Avec les progrès de la chimie, l'extraction des essences devient plus rationnelle et dès le XIX<sup>ème</sup> siècle, l'industrie proprement dite des arômes à usage alimentaire voit le jour. Elle connaît un essor remarquable parallèlement à celui des parfums, bénéficiant des nombreux progrès techniques qui se développent (**Figueredo, 2007**). Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, la grande révolution industrielle s'est axée sur l'essor de la chimie de synthèse, laissant à ce moment les substances végétales phyto-aromatiques dans leur starting block. Aujourd'hui, un grand nombre de médicaments usuels trouvent leur origine dans la matière végétale sans que la synthèse chimique puisse copier parfaitement la perfection de la nature. Les médecines alternatives confirment leur succès et la phyto-aromathérapie explique scientifiquement sa remarquable efficacité.

### 3.2. Définition

Une huile essentielle se décrit communément comme un mélange de composés aromatiques extraits d'une plante. Elle se définit aussi comme un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de l'extraction (**Bruneton, 1999**). Ce sont surtout des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement forte. Cependant selon la norme **AFNOR (2008)**, une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage.

### 3.3. Localisation

L'huile essentielle est la sécrétion naturelle des plantes. Elle est élaborée par les organes sécréteurs qui sont localisés dans les différentes parties des arbres aromatiques.

Selon les espèces, les organes sécréteurs d'essence peuvent se trouver dans les sommités fleuries, les graines, les fruits, les feuilles, les rhizomes, les racines, le bois et l'écorce ou encore l'oléorésine (**Chassaing, 2006**). Le règne végétal offre une grande diversité qui a permis d'obtenir, à ce jour, 3 000 huiles essentielles parmi lesquelles environ 300 sont importantes d'un point de vue commercial (**INSA, 2015**).

### **3.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

Divers procédés sont utilisés pour l'extraction des huiles essentielles. Ce sont les méthodes de distillation, d'enfleurage, d'expression, par solvant ou autres méthodes (**Bernadet, 2000, Santoyo et al., 2005, Kimbaris et al., 2006**). L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

#### **3.4.1. Méthodes à la vapeur d'eau saturée**

Les huiles essentielles sont contenues dans les plantes aromatiques et sont responsables des différentes senteurs qu'elles dégagent. Elles sont généralement obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1 %) ce qui en fait des substances rares, et précieuses. Ainsi, les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est de loin la plus utilisée à l'heure actuelle. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures (**Franchomme et al., 2001**).

Il existe précisément trois différents procédés utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau: l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau. Beaucoup de confusions règnent autour de l'utilisation de ces trois termes.

#### **3.4.1.1. Hydrodistillation**

L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales (**Burt, 2004**). Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat.

#### **3.4.1.2. Hydrodiffusion**

Cette technique relativement récente est particulière. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas (per descendum) et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils, ce qui lui vaut une appellation spéciale: « essence de percolation » (**Abderrahim, 2011**).

#### **3.4.1.3. Entraînement à la vapeur d'eau**

Les métabolites secondaires sont extraits des plantes par un entraînement à la vapeur d'eau. L'entraînement à la vapeur constitue la technique la plus rentable, l'investissement matériel étant relativement peu important par rapport à celui des autres techniques. Elle peut être utilisée au laboratoire avec un appareil de type Clevenger tout autant qu'à grande échelle (« procédé en continu », « cuve mobile »). Le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme et al., 2001; Fleurentin, 2016**).

#### **3.4.2. Autres procédés d'extraction**

Les huiles essentielles peuvent aussi être obtenues par expression à froid, comme pour les agrumes. De nouvelles techniques, permettant d'augmenter le rendement de

production, ont été développées. Il s'agit de l'extraction par les gaz supercritiques comme le dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (**Santoyo et al., 2005**) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbaris et al., 2006**).

#### **3.4.2.1. Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique**

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour passer à l'état gazeux. Il est ensuite conduit vers un séparateur où l'extraît et le solvant seront séparés. L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente (**Abderrahim, 2011**).

#### **3.4.2.2. Extraction assistée par micro-onde**

La technique d'extraction assistée par micro-onde a été développée au cours de ces dernières décennies pour des fins analytiques. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes la matière végétale broyée en présence d'un solvant. On utilise un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol), pour l'extraction de composés polaires ou bien un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane), pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extraît (**Mompon, 1994; Abderrahim, 2011**).

#### **3.4.2.3. Expression à froid**

L'expression à froid est simple mais aussi le plus limité puisqu'il n'est valable que pour extraire l'essence contenue dans les zestes frais d'agrumes (citron, mandarine, limette, pamplemousse, orange douce). Cela consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe. L'huile essentielle est également présente dans les cellules du jus de fruit en quantité beaucoup moins importante et avec une composition qui peut être différente de celle contenue dans les cellules du mésocarpe. Le procédé consiste d'abord à amener et fixer le

fruit sur une coupe équipée de lames. Une seconde coupe, équivalente à la première, vient alors se fixer au fruit de manière à l'enfermer. Au même moment, un couteau circulaire creuse un trou à la base du fruit. Cette technique présente l'avantage de pouvoir être couplée avec la production du jus de fruit qui constitue le produit commercial le plus important **(Kimball, 1999; Autard, 2017)**.

#### **3.4.2.4. Extraction par enfleurage**

L'enfleurage est une méthode qui n'est plus utilisée (coût, travail, rendement moindre). Il s'agit de placer les fleurs sur un corps gras purifié et de laisser les arômes pénétrer le corps gras. Une fois l'arôme des fleurs "pompé", on les retire et on remet des fleurs fraîches, jusqu'à saturation du corps gras. La pommade ainsi obtenue est nettoyée, puis on y ajoute de l'alcool. L'alcool est ensuite évaporé et il reste une absolue. Au bout de 24 heures, le corps gras et les HE sont séparés. Il ne reste plus qu'à recueillir la précieuse HE. L'enfleurage est une technique qui date de l'antiquité égyptienne et peut se faire à chaud ou à froid **(Brian, 1995)**.

#### **3.4.2.5. Extraction par solvants volatils**

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Il faut noter que l'emploi de solvants chlorés est en très forte régression au profit souvent de l'acétate d'éthyle qui présente des propriétés d'extraction assez voisines. La mise en œuvre de cette technique est indispensable lorsque les composés ne sont pas extractibles par entraînement à la vapeur en raison de leur faible volatilité ou que le rendement de celui-ci est trop faible. L'extraction permet non-seulement la récupération des composés présents dans l'huile essentielle mais également celle de composés « lourds » qui présentent un intérêt spécifique en fonction de leur structure moléculaire (flavonoïdes, triterpènes, etc.). L'industrie cosmétique et agro-alimentaire différencie les extraits selon le type de solvant utilisé, le type de matière première, etc. **(Bruneton, 1993)**.

### **3.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

Les HE forment un groupe très homogène, qui a des propriétés communes **(Rakotonanahary, 2012; Ouibrahim, 2015)** représentées dans les points suivants:

- ✓ les HE sont généralement liquides à température ambiante et volatiles ;
- ✓ les HE sont généralement incolores ou jaunes pâles à l'état liquide ;

- ✓ elles peuvent conférer leur odeur à l'eau ;
- ✓ leur densité est en général inférieure à celle de l'eau;
- ✓ Elles sont entraînables par la vapeur d'eau, solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes mais insolubles dans l'eau ;
- ✓ Leur indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont très élevés ;
- ✓ Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation.

### 3.6. Composition chimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de constituants qui peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse: les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes. La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Ceux-ci, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C<sub>5</sub>), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes. Ainsi, les monoterpénoïdes (C<sub>10</sub>) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesquiterpénoïdes (C<sub>15</sub>) sont formés par l'association de trois isoprènes. Les mono et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles.

Quant aux phénylpropanoïdes, ils sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont beaucoup moins que les monoterpènes et les sesquiterpènes, et sont en majorité des dérivés du phénylpropane. Biogénétiquement, ils sont issus du métabolisme de l'acide shikimique (**Figueredo, 2007**).

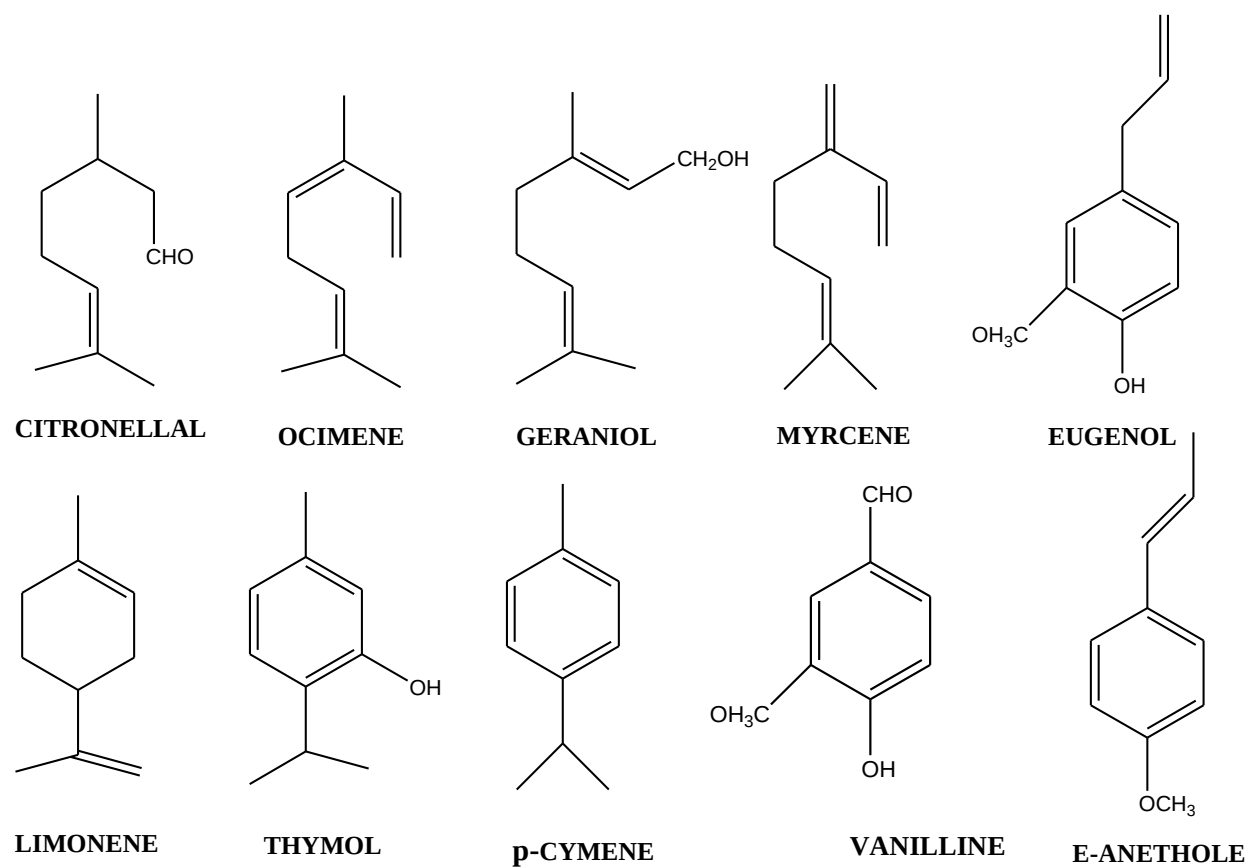
On rencontre dans les HE les composés en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> comme la vanilline extraite du vanillier, des dérivés du propénylphénol (composés en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) caractéristiques des HE des Apiaceae tels que l'anéthole extrait de l'anis, du badiane ou du fenouil, de la myristicine extrait de la noix de muscade et du persil et enfin de l'eugénol, extrait du clou de girofle (**Bruneton, 1999**). Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. La **figure 1** présente les structures moléculaires de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).

### 3.7. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être conservées pendant plusieurs années. Il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les

protéger de la lumière. Il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air. Il faut bien refermer les flacons après usage car les arômes s'évaporent dans l'atmosphère. Les flacons doivent être stockés en position verticale. En position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile car les huiles ont une action corrosive sur le plastique (**Bechaalany, 2005 ; Mayer, 2012**).





**Figure 5 :** Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles

(Source : Bruneton, 1999)

### 3.8. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL<sub>50</sub> supérieures à 5 g/kg. Chez l'Homme, des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, le plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles (**Ouibrahim, 2015**). D'autres HE sont à éviter durant la grossesse, ou interdites aux personnes souffrant d'épilepsie, d'hypertension ou d'affections dermatologiques (**Bremness, 1996**). En ce qui concerne leur cancérogénicité, il faut noter que la présence de constituants "allyl-et propénylphénols" de certaines huiles sont capables d'induire l'apparition de cancers (chez les rongeurs). Mais actuellement, l'apiol, le dillapiol, l'eugénol et la myristicine ne sont pas considérés comme cancérogènes. Ainsi, le cinnamaldéhyde n'induit pas l'apparition de tumeurs, dans certaines conditions (**Bruneton, 1999**). Certaines huiles essentielles peuvent être convulsivantes et abortives suite à une utilisation prolongée. C'est le cas des huiles essentielles à thuyones (Thuya, Absinthe, Sauge officinale) qui sont neurotoxiques (**Franchomme et al., 2001; Couic-Marinier & Lobstein, 2013**).

### 3.9. Utilisations des huiles essentielles

Les HE constituent une matière première destinée à divers secteurs d'activités. Leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années. Elles sont utilisées en aromathérapie pour leurs valeurs thérapeutiques, en cosmétologie, en pharmacie, en gastronomie et, aussi, comme pesticides biologiques (**Huang & Ho, 1998; Liu & Ho, 1999; Ayvaz et al., 2010**).

#### 3.9.1. Aromathérapie

L'aromathérapie consiste en l'utilisation des HE pour prévenir ou traiter les maladies ainsi qu'à améliorer la santé et le bien-être (**Belaiche, 1979**). C'est une thérapie naturelle d'une remarquable efficacité, qui repose sur la relation existant entre les principes actifs contenus dans les HE et les propriétés thérapeutiques qui en découlent (**Wilson, 2002; Zhiri, 2006; Girad, 2010**). Les HE peuvent être utilisées en usage externe (inhalations, compresses, massage, bains aromatisés, soins des cheveux, diffusion d'arôme, etc.) ou interne (infusions, sirops, pastilles, etc.).

### 3.9.2. Utilisation en aéro-ionisation

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'HE. Il se forme ainsi des aérosols vrais aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère. Elles donnent aussi une odeur agréable aux locaux (**Autard, 2017**).

### 3.9.3. Autres utilisations des huiles essentielles

Les huiles essentielles commercialisées dans le monde sont destinées aux secteurs industriels suivants:

#### ✓ Secteur de la médecine

Dans leur grande majorité, elles sont utilisées pour la préparation d'infusions (mélisse, menthe, etc.) et sous forme de préparations galéniques simples. Un petit nombre peut être également utilisé pour des intérêts médicamenteux (**Bruneton, 1999**). En effet, ce marché a donné naissance à une industrie des produits naturels comme les produits homéopathiques. De plus, les produits naturels avec effets thérapeutiques ont attiré l'attention des divers groupes pharmaceutiques. Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues comme telles en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles et de bonbons. Ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalants pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge.

#### ✓ Secteur de la parfumerie/cosmétique:

L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfums constitue le plus gros consommateur d'huiles essentielles (**Balandrin et al., 1985; Shahi et al., 2009**). Il représente 60 % de la demande totale en substances naturelles, selon le National Research Development Corporation (**NRDC, 2015**). Ce secteur se caractérise par une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés. Les huiles essentielles sont utilisées comme matière première de base dans la fabrication des parfums et d'autres produits cosmétiques (**Fernandez & Chemat, 2012; Muyima et al., 2002**). La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également très consommateurs d'HE. Les marques de cosmétiques naturelles contiennent des HE pour leurs propriétés conservatrices et pour remplacer les parfums de synthèse. Dans diverses industries chimiques, on utilise des substances isolées des HE comme matières premières

pour la synthèse des principes actifs médicamenteux de vitamines et de substances odorantes (**Bruneton, 1999**).

✓ **Secteur de l'agro-alimentaire**

Les huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer (**Beniamino, 1957; Blaquièrre et al., 2006 ; Sacchetti et al., 2011**) et aussi dans la conservation des denrées alimentaires (**Burt, 2004; Lee et al., 2005; Shan et al., 2005; Oussalah et al., 2007**). Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros consommateur d'HE. Aussi, les fabricants d'aliments préparés en utilisent de plus en plus parce que le nombre de produits augmente et le consommateur recherche davantage les produits avec des ingrédients naturels. Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé (**Viuda-Martos et al., 2009; Miguel, 2010; Ali, 2011**). Dans ce secteur, les volumes d'huiles essentielles peuvent être très importants.

## CHAPITRE 4. Généralités sur le stress oxydant

### 4.1. Définitions

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais les cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques que sont les radicaux libres organiques.

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou groupes d'atomes) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électrons non appariés) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (**Halliwell & Gutteridge, 1992 ; 1999**). Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme un déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène (une perturbation du statut oxydatif intracellulaire) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Migdal & Serres, 2011**).

Ce déséquilibre a pour origine de nombreux facteurs, notamment la pollution, le contact avec des agents cancérogènes (amiante), le tabagisme, la prise de médicaments, la pratique trop intensive ou mal gérée du sport, la consommation excessive d'alcool, une alimentation déséquilibrée (carences en vitamines et oligo-éléments) ou encore les situations cliniques comme la chirurgie, la transplantation (**Sergent et al., 2001**).

### 4.2. Différents types de radicaux libres

On distingue deux grands groupes de radicaux libres que sont les radicaux primaires et les radicaux secondaires (**Favier, 2006**).

Parmi les radicaux primaires, on peut citer l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le radical hydroxyle (OH), le monoxyde d'azote ( $NO\bullet$ ), le radical peroxyde ( $ROO\bullet$ ), et le radical alkoxy ( $RO\bullet$ ). Ces radicaux se forment par réaction sur les composés biochimiques de la cellule pour donner les radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet ( $O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ).

### 4.3. Origine du stress oxydatif

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour notre organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que

ce soit par un déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énormes de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé << stress oxydant >> (**Boyd & Ford, 2003**). Ces substances chimiques sont très réactives car elles sont à la recherche permanente d'électrons pour réappairier leur électron célibataire; ce qui entraîne la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical. Il se produit des réactions en chaîne qui peuvent aboutir à la dénaturation ou la destruction cellulaire (**Gardes *et al.*, 2003**). Il faut noter que l'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs s'appellent espèces réactives oxygénées (ERO) et espèces réactives azotées (ERN) (**Boyd & Ford, 2003**). On peut citer l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) et l'ion nitrate ( $NO_3^-$ ) ....

A cela, s'ajoutent d'autres facteurs qui peuvent contribuer à la formation des radicaux libres. Les rayonnements UV (capables de générer des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet), les rayons X (capables de scinder la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants) (**Hideg, 2002**) et les poussières d'amiante ou de silice sont aussi des sources des ROS (**Favier, 2006; Wang *et al.*, 2009**). Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont également des paramètres à ne pas écarter (**Pincemail *et al.*, 2001, 2002; Pincemail & Defraigne, 2004**). Des infections bactériennes ou virales provoquent, elles aussi selon **Aurousseau (2002)**, des phénomènes radicalaires à caractère exponentiel après augmentation de la population des macrophages impliqués dans leur élimination.

#### **4.4. Maladies liées au stress oxydant**

En raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, les ERO sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques. Ceux-ci sont responsables de l'altération de l'ADN, du vieillissement cellulaire qui est à la base de certaines maladies comme l'athérosclérose, le cancer, la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (**Marfak, 2003**).

##### **4.4.1. Stress oxydant et cancer**

De nombreuses études démontrent la place prépondérante du stress oxydant dans le développement des cancers. Dans le sang et dans les tissus des malades cancéreuses, les dérivés d'oxydation de l'ADN signent un stress oxydant (**Malins & Haimanot, 1991**). De nombreux aldéhydes sont retrouvés en quantité importante dans le sang des enfants cancéreux; c'est le cas du malondialdéhyde, un marqueur essentiel du stress oxydant

(Yazdanpanah *et al.*, 1997). L'augmentation de la peroxydation lipidique est même observée au stade précancéreux chez des femmes atteintes de dysplasie mammaire ou cervicale (Boyd & Guire, 1991). L'activité de l'enzyme Mn-SOD est augmentée dans la muqueuse des malades atteints d'adénocarcinome de l'estomac sans doute liée à la présence excessive des ERO (Janssen *et al.*, 2000).

#### 4.4.2. Autres pathologies impliquant le stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. On peut citer la cataracte, la maladie d'Alzheimer (Delcourt *et al.*, 1999; Finkel & Holbrook, 2000 ; Sultana *et al.*, 2006), la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré (Favier, 2006), la maladie de Parkinson et l'ulcère (Atawodi, 2005). Dans bien d'autres maladies, le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs. On citera par exemple, les stérilités masculines, le rhumatisme, l'asthme et l'insuffisance respiratoire (Favier, 2006). L'implication des radicaux libres dans l'hypertension artérielle (HTA) est largement documentée (Touyz & Schiffrin, 2003; Touyz, 2005 a, 2005 b ; Favier, 2006). Le stress oxydant semble être étroitement associé au syndrome métabolique caractérisé par la présence d'une insulino-résistance. Il est aussi caractérisé chez les patients IRC (avec insuffisance rénale chronique) par sa forte intensité et la prédominance de sa composante chlorée des produits d'oxydation (Nguyen-Khoa *et al.*, 2003).

#### 4.5. Antioxydants

##### 4.5.1. Définitions

Comme leur nom l'indique, les antioxydants protègent l'organisme de l'oxydation. Ce sont des substances qui sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation au stade de l'initiation ou de la propagation (Velioglu *et al.*, 1998; Klein & Kurilich, 2000; Pszczola, 2001). Les antioxydants sont aussi définis comme des substances présentes dans les aliments et qui agissent sur les fonctions physiologiques de l'Homme. De ce fait, ils diminuent de façon significative les effets néfastes des ERO, des espèces oxygénées azotées, ou des ERN (Food and Nutrition Board of the National Academy of Science, 1998). Shahidi (2002) les définit comme des composés possédant des fonctions capables de complexer les radicaux libres (RL). Ils agissent en leur donnant un électron ou un atome d'hydrogène ou en désactivant les ions métalliques et l'oxygène

singulet, empêchant ainsi leur action pro-oxydante. Les antioxydants sont également considérés comme des substances dont le rôle premier est de prévenir la dégradation induite par la réaction des RL (**Morello et al., 2002**). Ils sont aussi perçus comme des substances capables de retarder l'oxydation des lipides afin de prolonger la durée de conservation de certains aliments (**Nyegue, 2006**).

#### **4.5.2. Mécanisme d'action des antioxydants**

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention. Ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. Certains antioxydants, en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, réagissent rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. D'autres, par contre absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Hellal, 2011**). Les antioxydants de type phénolique réagissent en cédant formellement un radical hydrogène pour donner un intermédiaire radical stabilisé de par ses structures mésomères conjuguées (**Sherwin, 1976**).

#### **4.5.3. Différents types d'antioxydants**

On distingue deux grands groupes : les antioxydants naturels et les antioxydants de synthèse.

##### **4.5.3.1. Antioxydants naturels**

Ils sont classés en trois types :

##### **✓ Antioxydants primaires**

Ce sont les enzymes qui participent à la neutralisation des radicaux libres. Des exemples sont: l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase (GSHPX), certaines protéines de transport comme la ferritine et la ceruplasmine.

##### **✓ Antioxydants secondaires**

Ils sont apportés par les aliments. Il s'agit entre autres, des vitamines (vitamine C ou acide ascorbique et vitamine E ou  $\alpha$ -tocophérol); des composés phénoliques dont les plus connus sont les polyphénols comme les flavonoïdes (catéchines, flavonols, anthocyanidols) et des tanins que l'on retrouve dans le vin. Le thé est aussi une source de



composés phénoliques (**Gardes-Albert et al., 2003**). On peut également citer les caroténoïdes ( $\beta$ -carotène et  $\alpha$ -carotène) et les oligoéléments (cuivre, zinc et sélénium).

#### ✓ Antioxydants tertiaires

Ils comprennent les enzymes réparatrices de l'ADN et la méthionine superoxyde réductase.

#### 4.5.3.2. Antioxydants de synthèse

Ce sont des produits utilisés dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments. Il s'agit des gallates qui sont les plus efficaces pour retarder l'oxydation lipidique comme le butylhydroxytoluène (BHT) et le butylhydroxyanisole (BHA). Ces composés peuvent être toxiques (**Gardes-Albert, 2003**).

#### 4.5.4. Importance des antioxydants

Depuis plusieurs années, les recherches sur les antioxydants se sont multipliées et semblent être la panacée en matière de santé. Dans les circonstances où les défenses naturelles se trouvent débordées par l'attaque accrue des radicaux libres, l'organisme a besoin des antioxydants exogènes venant des aliments ou des agents thérapeutiques reconnus pour leur effet bénéfique sur la santé. Afin de maintenir l'équilibre entre antioxydant et pro-oxydant dans l'organisme, il est important de se procurer des antioxydants supplémentaires par l'alimentation (**Yu et al., 2002**). Plusieurs travaux *in vivo* ont mis en évidence le pouvoir antioxydant des composés naturels et synthétiques ou leurs effets sur le statut antioxydant des espèces biologiques (**Niki & Noguchi, 2000**). C'est dans l'optique pour la plante d'assurer sa défense que ces constituants sont produits, et deviennent par conséquent bénéfiques pour ceux qui les consomment (**Reidl et al., 2002**). Il a été démontré qu'une alimentation riche en composés phénoliques est corrélée à une espérance de vie plus longue (**Hertog & Hollman, 1996**). Ces composés possèdent plusieurs propriétés bénéfiques pour la santé à l'instar des activités anticancéreuses, antivirales et anti-inflammatoires (**Benavente-Garcia et al., 1997**). L'importance des constituants antioxydants est de préserver la santé par la prévention des maladies cardiovasculaires et du cancer, la conservation des aliments manufacturés, et de ce fait, la protection des consommateurs (**Velioglu et al., 1998; Robards et al., 1999**). Hormis la bonne connaissance et l'utilisation traditionnelle des antioxydants naturels du thé, du vin rouge, des fruits, des légumes et des épices (**Madisen & Bertelsen, 1995; Velioglu et al., 1998; Cao et al., 1996; Fogliano et al., 1999**), d'autres antioxydants

naturels ont été retrouvés dans de nombreuses espèces de plantes (**Economou et al., 1991; Kim et al., 1994**).

Par ailleurs, beaucoup d'antioxydants naturels sont déjà exploités commercialement comme additifs alimentaires ou comme suppléments nutritionnels (**Schuler, 1990**). Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus antivieillissements et leurs implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif ont été prouvées (**Mates & Sanchez-Jimenez, 1999; Favier, 2006**). Les résultats de nombreuses études montrent que les sources d'antioxydants naturels sont nombreuses et variées: extraits d'herbes, poudre de miel, extraits de fruits, de légumes, de thé, extraits d'épices (**Agbor et al., 2005 ; Sharififar et al., 2007; Laguerre et al., 2007; Kyung et al., 2008; Elzbiéta et al., 2008**). Au cours de ces dernières années, de nombreuses études épidémiologiques, ont montré très clairement que la consommation régulière de fruits et légumes riches en antioxydants permet de diminuer l'incidence de l'apparition des maladies cardiovasculaires et des cancers (**Pelli & Lyly, 2003**).

#### **4.6. Méthode d'évaluation de la capacité antioxydante par des tests *in vitro***

Les antioxydants peuvent réduire les radicaux par deux mécanismes: par transfert d'un électron singulet (Méthodes DPPH et TEAC ou ABTS) ou par transfert d'atome d'hydrogène (méthode ORAC). Les méthodes ABTS et DPPH sont couramment utilisés pour analyser les extraits de plantes et de fruits.

##### **4.6.1. Test DPPH**

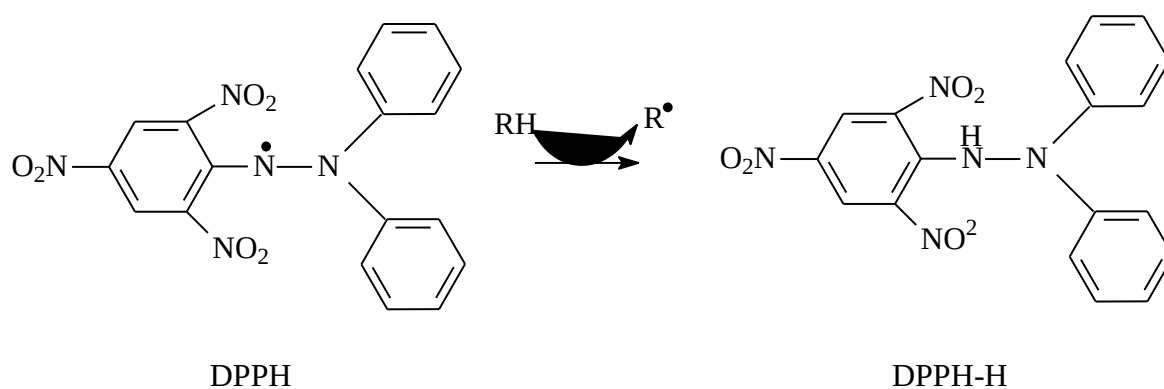
Ce test est basé sur la dégradation du radical DPPH (1,1-Diphényl-2-Picryl-Hydrazyl). Le radical DPPH est un radical libre stable. Il est caractérisé par une couleur violette (**Dangles et al., 1999**) et présente un maximum d'absorption à 517 nm dans une solution de méthanol ou d'éthanol. La stabilité de la molécule est assurée par la délocalisation des électrons sur l'ensemble de la molécule, ce qui la rend non dimérisable. La réduction du DPPH par un donneur d'atome H (RH) conduit à la forme non radicalaire de couleur jaune (DPPH<sup>•</sup>-H) et au radical R (**Figure 5**). En effet, plus le composé à analyser a la tendance de donner son hydrogène au radical DPPH<sup>•</sup>, plus son activité est jugée élevée (**Goupy et al., 2003; Roche et al., 2005**). Le passage de la forme DPPH<sup>•</sup> vers la forme DPPH-H, est accompagné d'une diminution de l'absorbance.

#### 4.6.2. Test TEAC (ou ABTS)

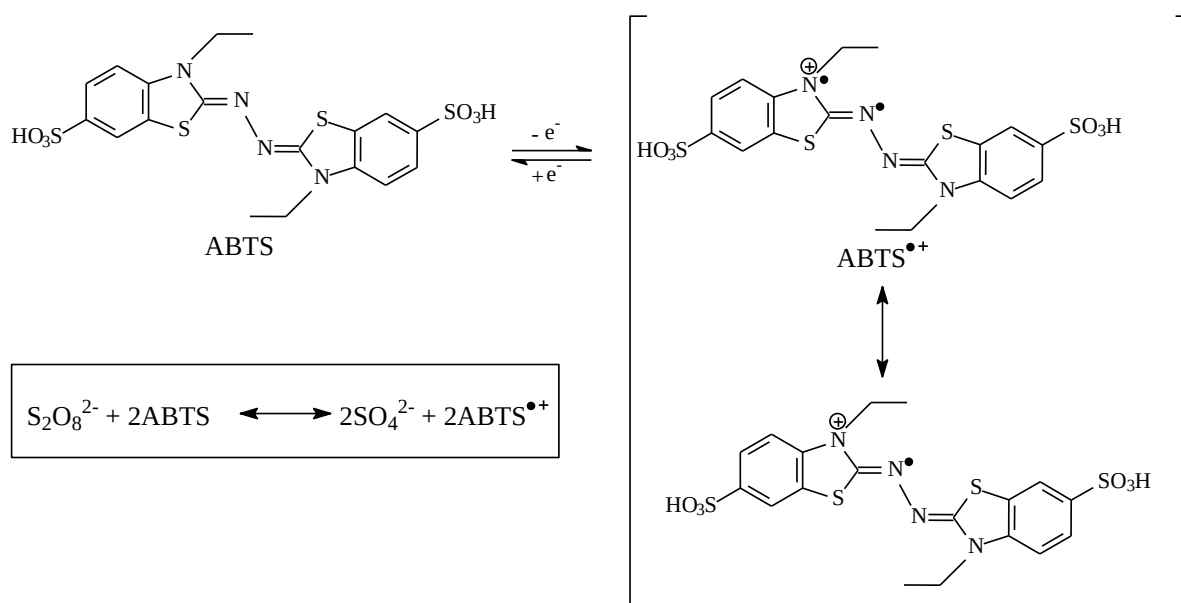
Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique  $ABTS^{\bullet+}$  de coloration bleu-verte en le transformant en  $ABTS^+$  incolore, par piégeage d'un proton. Le radical est formé par oxydation de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis (3-éthyl-benzothiazoline-6- sulfonique)) incolore avec différents composés, comme le peroxyde d'oxygène (**Cano et al, 2002**). Le composé à tester est ajouté au radical pré-formé et, une minute après, l'absorbance résiduelle du radical  $ABTS^+$  est mesurée à 734 nm. L'activité des composés est alors exprimée par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la concentration de Trolox (analogue hydrophile de la vitamine E) donnant la même capacité antioxydante qu'une concentration de 1 mM du composé testé. Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (**Schlesier et al., 2002**).

#### 4.6.3. Test ORAC

La méthode ORAC est basée sur la décroissance de fluorescence de la fluorescéine en présence d'un oxydant chimique le 2,2'-azabis-(2-amidinopropane) dihydrochlorure (AAPH) qui est un radical peroxy libre stable. Si, le produit à tester est capable de protéger la fluorescéine et de réduire la dégradation de la fluorescence, alors il possède un pouvoir antioxydant. La particularité de ce test est de mesurer séparément à partir d'une même solution biologique la capacité anti-oxydante des composés hydrophiles et lipophiles qui la composent. Les deux types d'antioxydants de l'échantillon aqueux sont séparés par une extraction à l'hexane. Puis les antioxydants hydrophiles et lipophiles sont analysés en utilisant le même générateur de radicaux peroxy l'AAPH à 37 °C. Les composés sont évalués pour leur capacité à empêcher l'oxydation de la fluorescéine par les radicaux peroxy pendant 30 min. La lecture de la fluorescence de la solution est faite toutes les minutes et permet d'obtenir une cinétique de dégradation de la fluorescéine en fonction du temps qui sera stoppée (temps de latence) ou juste ralentie par les antioxydants présents (**Roginsky & Lissi, 2005**). Ce test est applicable aux solutions biologiques comme le plasma sanguin et aux extraits de fruits et légumes.



**Figure 6:** Schéma réactionnel de la réduction du DPPH



**Figure 7:** Schéma réactionnel du test à l'ABTS

## CHAPITRE 5: Généralités sur les microorganismes étudiés

### 5. 1. Souches bactériennes utilisées

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classées parmi les procaryotes car elles ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Aussi distingue-t-on les bactéries proprement dites (*Bacteria*) des bactéries primitives (*Archaea*). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux *Bacteria* (**Flandrois et al., 1997**).

#### 5.1.1. *Escherichia coli*

*E. coli* est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal. Elle est de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles. C'est la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire. Elle provoque les diarrhées d'été, diarrhées infantiles et les intoxications alimentaires (**Percival, 2004**).

#### 5.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, non sporulée, aérobie et mobile grâce à la présence de un à deux flagelles. Ce type de bactérie synthétise deux types principaux de pigments, la pyocyanine (bleue phénazine) et la pyoverdine (jaune vert). Il s'agit de bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques (**Percival., 2004**). *P. aeruginosa* est responsable de 16 % des cas de pneumonie nosocomiale, 12 % des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (**Driscoll et al., 2012**).

#### 5.1.3. *Salmonella typhimurium*

Les salmonelles (*Salmonella*) forment un genre de protéobactéries appartenant à la famille des entérobactéries. Elles mesurent 0,7 à 1,5 µm de diamètre, pour 2 à 5 µm de longueur avec un flagelle. Elles provoquent chez l'espèce humaine des maladies telles que la fièvre typhoïde, la fièvre paratyphoïde et la salmonellose, une des principales causes de toxi-infection alimentaire collective (TIAC). Les infections à *S. typhimurium* constituent un problème de taille pour l'industrie porcine et la santé publique car le porc est un réservoir pour les infections chez l'homme (**Bergeron, 2009**).

#### 5.1.4. *Proteus mirabilis*

*P. mirabilis* fait partie de la flore intestinale normale chez l'humain, mais susceptible de causer des infections quand elle quitte l'intestin. Elle est souvent en cause dans les infections des voies urinaires, qu'elles soient nosocomiales ou non (**Habibi et al, 2018**).

#### 5.1.5. *Klebsiella pneumoneae*

*K. pneumoneae* est un bacille à Gram négatif, fréquemment rencontré en pathologie humaine. Il cause des infections nosocomiales. Il peut aussi être à l'origine des infections communautaires, surtout chez les patients présentant des facteurs de comorbidité telle que la bronchite chronique, la cirrhose hépatique et le diabète sucré (**Méric et al., 2007**).

#### 5.1.6. *Staphylococcus aureus*

Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est la souche de staphylocoque la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine et vétérinaire. *S. aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë (**Dworkin & Falkow, 2006**). *S. aureus* est également en tête des bactéries responsables d'intoxications alimentaires (**Le Loir & Gautier, 2010**).

#### 5.1.7. *Bacillus subtilis*

*B. subtilis* est une bactérie à Gram positif avec une forme cellulaire des bâtonnets droits à bouts arrondis. Cette bactérie n'est pas considérée comme pathogène pour l'Homme, mais peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire (**Bridier et al., 2011**).

### 5.2. Souches fongiques utilisées

Les levures du genre *Candida* sont la cause de pathologies graves dont la fréquence reste constante (**Pfaller & Diekema, 2007**) malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques. Ce constat est surtout observé chez des patients immunodéprimés (**Benedict & Colagrecó, 1994**). Les candidoses sont les plus fréquentes des levuroses. Elles causent de nombreuses infections dont 54,3 % sont dues à *C. albicans*, 16,4 % à *C. glabrata*, 8,2 % à *C. tropicalis* (**Pfaller et al., 2000**). Ce sont les affections cosmopolites atteignant la peau, les ongles, les cavités naturelles (**Moulinier, 2002**), habituellement rencontrées chez l'homme (**Kiyoura & Tamai, 2015**).

### 5.2.1. *Candida albicans*

*C. albicans* est une levure qui produit un pseudo mycélium dans les cultures. On la rencontre habituellement à l'état saprophytique dans le tube digestif de l'homme. Elle peut être retrouvée par contiguité au niveau de la muqueuse vulvo-vaginale (ou de la bouche). Mais on ne retrouve qu'exceptionnellement *C. albicans* au niveau de la peau. Parmi les candidoses, l'infection par *C. albicans* est la plus commune et représente plus de 60 % des levures isolées chez l'homme. Cette espèce est responsable d'infections qui, par leur fréquence et leur gravité, se situent au premier rang des infections fongiques (**Hage et al., 2002; Martino & Subira, 2002**). *C. albicans* peut également provoquer une candidose systémique, qui est associée à une mortalité élevée (**Bassetti et al., 2017**).

### 5.2.2. *Candida tropicalis*

*C. tropicalis* est fréquemment isolée dans la nature, le sol, les végétaux et l'eau. Elle provoque chez l'homme des infections superficielles cutanéomuqueuses, des onyxis ainsi que des infections pulmonaires et septicémiques. Certaines études ont montré que *C. tropicalis* est encore plus invasive que *C. albicans* dans l'intestin humain (**Wingard et al., 1979; Walsh & Merz, 1986**). *C. tropicalis* est aussi l'une des principales causes des infections des voies urinaires chez l'homme (**Falahati et al., 2016**).

### 5.2.3. *Candida glabrata*

*C. glabrata* est une levure qui fait partie de la flore microbienne normale de la bouche, du tractus gastro-intestinal, de la peau, du vagin et des selles. La mortalité due aux infections à *C. glabrata* est très élevée avec des taux allant jusqu'à 50 % (**Ruan et al., 2008**). L'utilisation excessive de médicaments immunosuppresseurs et antifongiques a conduit à une augmentation du nombre d'infections causées par *C. glabrata* (**Sobel, 1988; Quindós, 2014**). Ces infections peuvent affecter les personnes de tout âge. *C. glabrata* se trouve dans l'environnement, en particulier sur les feuilles, les fleurs, dans l'eau et le sol. Cette espèce est un pathogène opportuniste du tractus urogénital et provoque des infections des muqueuses et de la circulation sanguine, en particulier chez les patients immunodéprimés (**Perlin et al., 2017**).

### 5.3. Activités antimicrobiennes et huiles essentielles

Les huiles essentielles sont considérées comme des agents antimicrobiens à large spectre (**Bouhdid et al., 2006; Bachiri et al., 2017**). L'usage excessif des médicaments de synthèse et la résistance des bactéries aux antibiotiques (**Cavallo et al., 2000; Minchella et al., 2010**) ont conduit à reconsidérer favorablement l'utilisation des HE en pratiques médicinales. Les HE d'agrumes, de lavande, de menthe, de genévrier, de l'arbre à thé, de thym et d'eucalyptus sont actives sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (**Billerbeck, 2008**). Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles provenant du thym, de la citronnelle, de la cannelle et de l'arbre à thé ont été décrites (**Burt, 2004**). L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima* (**Barel et al., 1991**), *A. terrefolia* (**Unlu et al., 2002**) et *A. millefolium* (**Candan et al., 2003**), contre la levure pathogène *Candida albicans* résistante aux azolés (**Tobudic, 2011**), a également été mise en évidence. **Oussou (2009)** a étudié les propriétés antibactériennes des huiles essentielles issues de *Ocimum gratissimum* L, *O. canum* L, *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich, *Citrus aurantifolia* (Chrism.), *Lippia multiflora* Moldenke et *Monanthes caepea* (E.G. Camus & A. Camus). Ces plantes, issues de la pharmacopée traditionnelle ivoirienne renferment des huiles essentielles qui se sont révélées efficaces contre des bactéries multirésistantes. Il s'agit notamment de *E. coli* résistant aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3GR), les souches de *E. coli* productrices de betalactamases à spectre élargi (BLSE) et de staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM).



## **CHAPITRE 6 : Généralités sur le cancer de la vulve**

### **6.1. Notion de cancer**

Le mot cancer désigne une tumeur maligne caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme conduisant à l'envahissement des tissus voisins par une croissance illimitée, l'invasion et la métastase des cellules **(Condeelis & Segall, 2003; Takahashi *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2010;)**. Dans les pays en développement, 25 millions de personnes vivent avec le cancer et ce nombre pourrait s'augmenter de 50% dans ces pays d'ici à 2020 **(Globocan, 2008; Ferlay *et al.*, 2015)**. Selon le type de tissu atteint, on distingue trois catégories de cancer. Ce sont les carcinomes (cancers de cellules épithéliales), les sarcomes (cancers de tissus conjonctifs ou de cellules musculaires) et les leucémies (cancers affectant les cellules hématopoïétiques). On peut également classer les cancers selon les organes touchés. C'est le cas du cancer du sein, du cancer du foie, du cancer de l'œsophage, du cancer de la vulve, etc. **(Alberts *et al.*, 2002)**. Dans ce travail, un intérêt a été accordé au cancer de la vulve.

### **6.2. Cancer de la vulve**

Les cancers vulvaires sont des proliférations tumorales malignes rares, qui se développent sur l'ensemble des formations génitales externes de la femme aux dépens de tissus de revêtement, comme la peau ou la muqueuse. Son diagnostic est souvent tardif en raison de l'intimité de cette région. Il touche le plus souvent la femme âgée dans un terrain d'hypo-oestrogénie, mais son incidence est en augmentation chez la jeune femme **(Leblanc *et al.*, 2007; Mauro *et al.*, 2009)**.

### **6.3. Symptômes et conséquences du cancer de la vulve**

Les symptômes du cancer vulvaire sont représentés essentiellement par le prurit et la tuméfaction. Ils sont souvent négligés par pudeur et ignorance des malades ou par erreur diagnostique. Malgré les recherches entreprises par plusieurs laboratoires, l'on ne connaît pas encore la cause exacte de cette pathologie; ce qui fait d'elle l'une des premières cause de mortalité chez la femme dans le monde **(Globocan, 2008)**. L'évolution est souvent lente et se fait par étapes. Une meilleure connaissance des lésions précancéreuses ou débutantes pourrait réduire leur fréquence et leur gravité.

Deux conséquences directes de la migration des cellules cancéreuses sont l'angiogénèse, nécessitant un recrutement de cellules endothéliales et de vaisseaux sanguins pour irriguer la tumeur, et la formation de métastases **(Alyafi & Bentley, 2017)**. L'invasion tumorale implique plusieurs mécanismes hautement coordonnés à savoir, l'adhésion de la cellule aux composants de la matrice extracellulaire impliquant des modifications de la composition moléculaire de cette matrice; la motilité cellulaire impliquant la réorganisation du cytosquelette et l'invasion cellulaire impliquant la dégradation de la matrice extra- cellulaire par des enzymes protéolytiques sécrétés par la tumeur. La progression tumorale dépend du pouvoir prolifératif et du pouvoir métastasiant de la tumeur **(Blasi & Stoppelli, 1999; Fidler, 2003; Roux-Dessarps et al., 2014)**.

#### **6.4. Types et physiopathologie du cancer de la vulve**

Selon la topographie des lésions vulvaires, on peut distinguer plusieurs types de cancers avec prédominance du carcinome épidermoïde dans 90 % des cas **(Monaghan, 1990; Sturgeon et al., 1992; Leblanc et al., 2007; Mauro et al., 2009)**. Près de 70 % des cancers vulvaires se développent sur les grandes lèvres ou les petites lèvres alors que 15 à 20 % des cas intéressent le clitoris ou le périnée. La tumeur est trop étendue pour déterminer son point de départ dans 10 % des cas et les lésions sont multifocales dans environ 20 % des cas **(Shimm et al., 1986)**. Le cancer de la vulve présente trois modes d'extension : l'extension directe par contiguïté vers un organe adjacent comme le vagin, l'urètre et l'anus (c'est le problème de la plurifocalité des lésions); l'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux et la dissémination hématogène à distance vers des organes comme le foie, les poumons, les os.

L'incidence globale des métastases ganglionnaires dans le cancer de la vulve est de 30 à 45 %. Elle augmente avec la taille de la tumeur primitive et la profondeur de l'invasion stromale. Les régions de la vulve (partie ventrale des petites lèvres, papille urétrale, clitoris) peuvent se drainer directement vers les plexus présymphysaires. Le flux lymphatique gagne alors directement les ganglions rétrocruraux internes, puis le réseau lymphatique sous symphysaire et, enfin les ganglions latéro-vésicaux et obturateurs. Ce qui explique que certaines patientes peuvent présenter des métastases ganglionnaires pelviennes alors que le curage inguino-fémoral était négatif **(Michael & Lancour, 1981)**.

## 6.5. Epidémiologie du cancer de la vulve

Représentant 7,6 millions de décès, le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde **(OMS, 2012)**. Environ 70 % des décès par cancer surviennent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. D'après les projections, ce nombre devrait augmenter pour atteindre, 13,1 millions en 2030 à l'échelle mondiale. Le cancer de la vulve représente 3-5 % des cancers gynécologiques et 1 % de l'ensemble des cancers de la femme. Son incidence est estimée à un ou deux cas pour 100.000 femmes/an **(Sturgeon et al., 1992; Sankaranarayanan & Ferlay, 2006)**.

Ce cancer touche le plus les femmes dont l'âge est compris entre 63 et 76 ans. Depuis quelques années, son incidence est en augmentation et concerne les femmes de 45 à 72 ans **(Morillon, 2015)**. Le type histologique le plus fréquent est le carcinome épidermoïde, responsable de plus de 90 % des cancers de cet organe, suivi par le mélanome (5-6 %). Le sarcome, le carcinome basocellulaire et la maladie de Paget vulvaire représentent moins de 2% des cas. Les grandes lèvres sont le site le plus souvent touché (52 %) suivi des petites lèvres (18 %), clitoris (10-15 %) et les glandes de Bartholin (1-3 %) **(Chhabra et al., 2014)**.

## 6.6. Facteurs de risque

Plusieurs facteurs de risque, notamment l'hypertension artérielle (HTA), le diabète, l'obésité, le tabagisme et le virus du papillome humain (HPV), associés à certaines lésions dystrophiques (LSV) et précancéreuses vulvaires (VIN 3 et condylomes) font le nid d'un développement tumoral malin incontestable. Actuellement, les intérêts se sont focalisés sur le rôle de l'HPV dans la genèse du cancer de la vulve. Le mécanisme de la cancérogénicité associé aux agents infectieux peut être direct, par exemple, par l'intermédiaire de protéines oncogènes produits par l'agent infectieux (cas du HPV) ou indirectement en entraînant une inflammation chronique avec nécrose des tissus.

Le diagnostic est généralement long, parfois prolongé de plusieurs mois ou années. La pudeur et l'ignorance des malades expliquent ce retard du diagnostic. Le pronostic dépend de plusieurs facteurs, entre autres la taille de la tumeur, l'apparition des ganglions. Le cancer vulvaire est l'une des tumeurs rares mais avec un pronostic souvent redoutable en raison de stade avancé auquel consultent les patientes. Un diagnostic précoce au stade de l'apparition des lésions précancéreuses peut améliorer le pronostic. **(Campaner et al., 2017)**.

### 6.7. Moyens thérapeutiques

Le traitement est avant tout chirurgical reposant sur la réalisation de vulvectomie. Les lymphadénectomies inguinales font partie du traitement. La morbidité de cette chirurgie inguinovulvaire est importante et laisse des séquelles parfois durables et invalidantes. La radio-chimiothérapie semble devenir le traitement de première intention pour les tumeurs localement avancées dans le but de permettre secondairement une chirurgie moins mutilante. Même si la chirurgie constitue la pierre angulaire du traitement et dépend essentiellement du stade de la tumeur, la radiothérapie et la chimiothérapie restent disponibles comme d'autres options thérapeutiques. Le traitement doit être personnalisé en fonction du stade clinique de la tumeur afin de diminuer les conséquences fonctionnelles et psychologiques du traitement qui reste essentiellement chirurgical (**Bennani., 2017**).

### 6.8. Cancer et huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent également, des propriétés cytotoxiques (**El-Readi et al., 2013; Fogang et al., 2014**). Elles sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle, isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées cellulaires tumorales. L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant les cellules leucémiques HL-60 et K562 (**Sousa et al., 2004**). Dans de nombreux travaux récents, on leur reconnaît des propriétés anticancéreuses très remarquables (**M'Barek et al., 2007; Walia et al., 2012; Rashid et al., 2013; Ferraz et al., 2013**).

### 6.9. Antioxydants et prévention du cancer

Les réactions d'oxydation de diverses origines peuvent causer des dommages à l'ADN, entre autres, la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (**Pincemail et al., 2002; Sorg, 2004; Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Ces dommages peuvent devenir irréversibles et entraîner l'apparition de plusieurs maladies dont le cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le vieillissement. Les antioxydants ont pour rôle de réparer ces dommages en empêchant les radicaux libres de prendre des électrons à d'autres molécules. Plusieurs travaux de recherche ont rapporté des risques mineurs de

cancers chez les individus qui mangent abondamment des fruits et des légumes, riches en antioxydants. Une supplémentation de l'organisme par des antioxydants exogènes s'avère très utile pour lutter contre les différentes pathologies provoquées par les radicaux libres **(Seifried, 2007)**.

## CHAPITRE 7: Généralités sur quelques plantes et sur les minéraux

### 7.1. Quelques plantes alimentaires et médicinales

A l'échelle mondiale, il est estimé, que les êtres humains ont utilisé plus de 10.000 espèces des plantes comestibles dont à peine 150 sont cultivées pour le moment. Actuellement, on considère qu'il pourrait exister 75.000 espèces végétales avec un bon potentiel alimentaire, essentiellement inféodées aux écosystèmes forestiers tropicaux.

Nous citerons quelques-unes dont les utilisations sont devenues courantes : c'est le cas de *Gnetum africanum* Welw, une espèce de liane gymnosperme sarmenteuse sciaphyte de forêts denses équatoriales et de jachères préforestières dont les feuilles comestibles se vendent, entre autres, sur de nombreux marchés de pays africains. On a aussi la famille des Dioscoreaceae, qui compte plusieurs espèces à tubercules comestibles qui sont des ignames sauvages, souvent vendues sur de nombreux marchés. *Piper umbellatum* est une espèce intéressante pour ses grandes feuilles qui se consomment couramment **(Onyamboko & Tchatchambe, 1988)**. Une autre espèce spontanée, *Canavalia gladiata* (Jacq.) DC., qui aujourd'hui se retrouve déjà à l'état cultivé dans toutes les régions tropicales, est comestible et parfois utilisée comme condiment **(Robyns, 1954)**.

En Côte d'Ivoire, de nombreuses plantes sauvages constituent le premier recours dans l'alimentation des ménages. On peut citer *Adansonia digitata* et *Vitellaria paradoxa* largement consommées dans la zone soudanienne de la Côte d'Ivoire **(Tiébré et al., 2016)**. **Yao et al. (2015)** ont montré que de nombreuses espèces spontanées telles que *Hibiscus sabdariffa*, *Solanum scabrum*, *Solanum americanum* et *Vigna unguiculata*, sont utilisées comme légumes feuilles par les populations des zones urbaines de Côte d'Ivoire. De nombreuses études ethnobotaniques **(Kouamé et al., 2008; Kouamé, 2009; Dro et al., 2013; Sibirina et al., 2014)** ont aussi montré l'existence de la disponibilité des plantes comestibles dans la flore ivoirienne.

Par ailleurs, certaines espèces spontanées sont comestibles à cause de leur disponibilité, leur goût et la facilité de cuisson **(Avallone et al., 2007; Dansi et al., 2008)**. D'autres par contre, comme *Corchorus olitorius* et *C. tridens* sont comestibles et très prisés par les populations africaines en raison de leur caractère gluant. *Ficus exasperata*, *Capsicum frutescens*, *Vernonia amygdalina* et *Ocimum gratissimum* ne sont consommées qu'à cause de leurs propriétés médicinales, celles-ci étant connues pour soigner diverses maladies telles que le paludisme, les parasitoses, les infections, etc **(Chweya &**

**Eyzaguirre, 1999).** On a également *Ipomoea batatas*, *Hibiscus sabdariffa*, *Corchorus spp.*, *Solanum scabrum*, *Solanum americanum*, *Amaranthus hybridus* et *Basella alba* qui sont consommés en raison de leur caractère bénéfique pour la santé (**Yao et al., 2015**). Elles pourraient être une source importante d'antioxydants, de phytostérols ou de fibres alimentaires connus pour leur effet positif sur l'hypertension artérielle, le diabète, les problèmes cardiaques et l'hypercholestérolémie (**Fondio et al., 2013; Acho et al., 2014**).

Ces caractères "bénéfice santé" sont aussi liés à la présence de minéraux présents dans ces plantes comestibles. Ces espèces végétales fournissent aux populations des minéraux nécessaires à leur équilibre alimentaire. Citons *Adansonia digitata* L. (**Toury, 1967**); *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L., *Zizyphus lotus* L. (**Boudraa et al., 2010**) et *Cassia occidentalis* L. (**Daniyan, 2011**).

## **7.2. Minéraux**

Indispensables à la santé et à la croissance, les minéraux sont divisés en deux groupes: les macro-éléments comme, le calcium, le potassium, le phosphore, le magnésium, etc. et les oligo-éléments comme le fer, le cuivre, le zinc, etc. Ces derniers doivent être apportés en de très faibles proportions à l'organisme mais restent toutefois indispensables au bon fonctionnement de celui-ci qui ne les synthétise pas. Ils agissent dans la plupart des systèmes enzymatiques, des métabolismes et de la construction cellulaire (**Burdin, 2014**). Leurs carences auront alors des conséquences biologiques et cliniques le plus souvent chez les personnes vulnérables tels que les enfants, les femmes enceintes et les vieillards (**Chappuis, 1991; Douart, 1994**). Ces carences en un ou plusieurs oligoéléments constituent donc un véritable problème de santé publique surtout dans les pays en développement (**FAO, 2016**).

### **7.2.1. Calcium**

Le calcium entre dans le bon fonctionnement des systèmes cardiovasculaire et nerveux en régulant le rythme cardiaque, la coagulation du sang et la gestion du sommeil. Il intervient dans la protection de la peau et agirait contre le risque de cancer du colon ou du rectum (cancer colorectal). Il a un effet sur la santé des os en termes de protection (**Park & Weaver, 2012**).

### 7.2.2. Magnésium

Le magnésium est utile dans la production d'énergie, dans la synthèse de protéines, dans la contraction musculaire, dans la transmission de l'influx nerveux. Il bloque l'entrée du calcium à l'intérieur de la cellule. Au niveau du système nerveux central, un déficit en magnésium est responsable d'une hyperexcitabilité neuronale. Il peut faire baisser la tension artérielle, le taux du cholestérol et est impliqué dans les systèmes de défenses naturelles contre les agressions de toute sorte; il est très important pour la femme enceinte (**Sidor et al., 2016**).

### 7.2.3. Fer

Le fer a un rôle essentiel dans le métabolisme des globules rouges (hémoglobine), dans la fonction musculaire. L'anémie par carence en fer est la plus fréquente chez les nourrissons et les enfants en Afrique subsaharienne (**Paganini et al., 2016**).

### 7.2.4. Cuivre

Le cuivre est un oligo-élément essentiel qui joue un rôle anti-infectieux et anti-inflammatoire. Il est impliqué dans la lutte contre les radicaux libres. Ce minéral est indispensable à la synthèse de l'hémoglobine et à l'utilisation du fer. Il entre aussi dans la composition de plusieurs enzymes impliquées dans la respiration cellulaire, dans la défense cellulaire, l'activité du système nerveux, et la formation de la mélanine. Le cuivre est un cofacteur de la lysyl-oxydase, responsable de la synthèse de l'élastine et du collagène, et de la dopamine bêta-hydroxylase, pour la synthèse des catécholamines (**Douart, 1994; Lorient, 2001**).

### 7.2.5. Zinc

Le zinc est l'un des plus importants éléments impliqués dans le métabolisme chez l'Homme. Il agit comme cofacteur enzymatique dans de nombreux processus métaboliques de l'être humain. Le zinc est un puissant antioxydant. Son déficit peut être un facteur de risque de pathologies comme les cancers, les maladies cardio-vasculaires et le diabète de type 2 (**Roussel, 2009**). Il joue un rôle dans les fonctions reproductrices et dans le maintien du matériel génétique (**Rahman et al., 2016**). Le zinc intervient dans le métabolisme de la testostérone et permet la synthèse de la dihydrotestostérone (**Douart, 1994 ; Lorient, 2001**). Il est l'oligo-élément le plus sensible au déficit, du fait des nombreuses interférences alimentaires (**Seve & Favier, 2002 ; Roussel et al., 2007**).



**DEUXIEME PARTIE :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## **CHAPITRE 8 : Matériel**

### **8.1. Matériel d'étude botanique**

Le matériel était essentiellement composé de feuilles de *Hydrocotyle bonariensis* (**Figure 4**). Ces organes ont été récoltés dans la période d'Août à Septembre 2015 à l'Université Nangui Abrogoua. L'identification a été réalisée en comparant la plante aux échantillons de la base de données de l'herbier du CSRS. Il s'agit des échantillons n° 5099 de Adjanohoun E. récolté dans la forêt littorale d'Assinie ; n° 10628 de Aké-Assi L. récolté dans la mangrove d'Azuretti et n° 174 de Guillaumet J-L. récolté dans la région de Grand-Bassam.

### **8.2. Matériel d'étude pharmacologique**

#### **8.2.1. Souches bactériennes**

Pour l'étude de l'activité antibactérienne, sept souches bactériennes ont été utilisées. Ces microorganismes ont été fournis par le Laboratoire de Microbiologie du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS). Les bactéries à GRAM (-) utilisées sont *Escherichia coli* CIP 54127 AP, *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13983. Les bactéries à GRAM (+) sont *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

#### **8.2.2. Souches de levures**

Les levures sont des souches cliniques du genre *Candida* fournies par le laboratoire de microbiologie du CSRS. Ce sont des souches pathogènes impliquées dans les candidoses. Il s'agit de *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 13803 et de *Candida glabrata* ATCC 15126.

#### **8.2.3. Souches de cellules cancéreuses**

La souche cellulaire cancéreuse CA 431 (Carcinome épidermoïde vulvaire) utilisée a été fournie par l'équipe de recherche de Chimie BioOrganique et Structurale de l'Université Paris 13 de France.

#### **8.2.4. Milieux de culture**

Les milieux de culture ont été préparés à partir des extraits de cœur cerveau de bœuf, des hydrolysats de caséine, de la gélose Mueller Hinton, du bouillon Mueller

Hinton, de la gélose Sabouraud maltose, du bouillon Sabouraud maltose, du milieu «Eagle » modifié par Dulbecco (DMEM), de l'amidon et du sérum de veau fœtal.

### **8.2.5. Produits chimiques**

Les produits chimiques utilisés pour les études pharmacologiques sont constitués de solvants, de réactifs et d'antibiotiques.

Les solvants et réactifs ayant servi aux différents tests pharmacologiques sont l'eau distillée stérile, la trypsine (0,05%, m/v), le sel de tétrazolium (MTT) et le diméthylsulfoxyde (DMSO).

Les antibiotiques utilisés sont la pénicilline G sodium (life technologies) et la streptomycine (life technologies) pour traiter les bouillons nutritifs utilisés pour les tests anticancéreux. La L- glutamine (acide aminé) a été utilisée pour compléter ces milieux de culture. La gentamicine (Fulka Biochemika), l'amphotéricine B (Sigma Aldrich) ont été utilisées comme témoins positifs dans le cas des tests antimicrobiens.

### **8.3. Matériel d'étude phytochimique**

Les solvants utilisés sont l'hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le méthanol l'éthanol et l'eau distillée stérile. Plusieurs réactifs ont servi aux tests chimiques. Ce sont l'acide acétique, le réactif de Neu, le réactif de Liebermann-Bürchard, le chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ), l'acétate de plomb basique ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb}$ ), le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), le réactif de Dragendorff, l'hydroxyde de potassium et le réactif de Godin.

### **8.4. Matériel pour le dosage des nutriments et des minéraux**

Les produits chimiques utilisés pour doser les nutriments et les minéraux sont l'acide sulfurique, le bicarbonate de sodium, l'acétate de sodium, l'acide oxalique, l'hydroxyde de sodium, l'acide borique, le tartrate de potassium et de sodium, le sulfate de potassium, le sélénium, le rouge de méthyle, le vert de bromocérol, la soude, le phénol, le 3,5 dinitrosalicylate (DNS), le phénolphthaléine, le glucose, le fructose, le fer, le zinc, le cuivre, l'acide acétique, le trihydrate d'acétate de sodium et l'acide formique.

### **8.5. Autres matériels et appareillages**

D'autres matériels et appareillages ont été utilisés dans cette étude. Ce sont des micropipettes, des flasques de culture cellulaire, un incubateur, une microplaque de 96 puits, un lecteur de microplaque de Labosystems Multiscan, une balance AG204 Delta

Range, une étuve Jouan EB170, un distillateur GFL 2102, une plaque chauffante Ikamag RH S3, un vortex Bender Et Hobein AG K-550-GE, une hotte à flux laminaire Cytair, un bain-marie Salvis AG 6015 SBK 25D, un autoclave hiclave HV-50L, des boîtes de Pétri, des tubes à hémolyse stériles, des pipettes Pasteur stériles, un étalon de Mac Farland n° 0.5 ( $1.10^8$  UFC/ml), un évaporateur rotatif de marque Büchi Waterbath B-480/B-171 Vacobox, un agitateur magnétique de marque Stuart Scientific, un lyophilisateur de marque Christ Alpha 1-2, une lampe UV (254 et 366 nm), un spectrophotomètre (Hach DR 2400), un bain-marie Salvis AG 6015, un séchoir, des erlenmeyers, des piluliers, un distillateur de type clevenger, des plaques chromatographiques de gel de silice 60 F254 sur support aluminium (Merck), une étuve Memmert U4 500, un spectromètre de masse (GC/MS) Shimadzu modèle QP2010SE, un four à moufle, un soxhlet, un distillateur d'azote de Kjedadhl, un matras de Kjedadhl, un chauffe ballon et de la verrerie.

## CHAPITRE 9. Méthodes

### 9.1. Enquêtes ethnobotaniques

#### 9.1.1. Sélection de la plante

La sélection de *Hydrocotyle bonariensis* s'est faite selon les critères suivants :

- utilisation des feuilles de cette plante sous forme de salade ;
- utilisation fréquente de la plante par les personnes âgées ;
- présence d'huile essentielle dans cette plante ;
- forte présence de la plante dans certaines zones du sud de la Côte d'Ivoire.

#### 9.1.2. Choix des sites d'enquêtes

Les enquêtes ont été menées dans le district d'Abidjan. Pour cette étude, six communes du district ont été choisies. Les Communes d'Anyama, Bingerville et Port-Bouët ont été sélectionnés en raison d'une forte présence de la plante dans ces zones. Ensuite, une pré-enquête a été réalisée auprès de plusieurs résidents et a révélé que ceux-ci utilisent *Hydrocotyle bonariensis* pour divers besoins. Ce qui a orienté d'une part le choix des Communes d'Abobo, Yopougon et Cocody. D'autre part, ces trois dernières communes ont aussi été choisies par rapport au niveau de vie (faible ou élevé) de leur population.

#### 9.1.3. Echantillonnage

L'unité d'échantillonnage est le ménage. La taille de l'échantillon (nombre de ménages à enquêter) a été calculée selon la méthode décrite par **OMS (1991)**.

$$n = t^2 \times p(1-p)/m^2 \quad (1)$$

avec: **n** = taille d'échantillon requise, **t** = 1,96 à un niveau de confiance de 95%, **m** = marge d'erreur à 4,14%.

Dans ce travail, une valeur de **p** = 50% a été choisie afin d'obtenir un échantillon maximal (**Bouvet & Grimont, 2001**), le niveau de connaissance de *H. bonariensis* étant indéterminé. Ainsi, un échantillon de 800 ménages à enquêter a été obtenu et reparti proportionnellement à la taille de chacune des six communes choisies (150 à Abobo, 150 à Anyama, 150 à Yopougon, 150 à Port-Bouët, 150 à Bingerville et 50 à Cocody).

#### 9.1.4. Enquêtes dans les ménages

Des séries d'enquêtes ethnobotanique et alimentaire ont été menées dans les six communes choisies. Ces enquêtes semi structurées ont été conduites durant la période allant de Décembre 2014 à Mars 2016 à l'aide d'une fiche d'enquête. Les ménages ont été tirés de manière aléatoire. L'enquête a consisté à interroger la maîtresse ou l'homme de la maison. Les grandes lignes de l'interview concernaient les informations sur la plante, son utilisation alimentaire, dans les soins de santé, le mode de préparation et sur d'autres usages de *Hydrocotyle bonariensis*. Les caractéristiques socio-démographiques ont été prises en compte dans l'enquête (**Annexe 1**). Les langues de communication étaient le français et les langues locales comme le malinké et le Baoulé.

#### 9.1.5. Détermination du niveau de connaissance et de consommation de *Hydrocotyle bonariensis*

##### 9.1.5.1. Pourcentage de connaissance

Le pourcentage de connaissance (**NC**) a été calculé par le rapport du nombre de ménages connaissant la plante (**N**) sur le nombre total de ménages interrogés (**Nt**) selon la formule suivante:

$$NC = N/Nt \times 100 \quad (2)$$

##### 9.1.5.2. Indice de consensus

Afin d'apprécier les accords des informateurs sur l'utilisation médicinale de la plante contre les affections énumérées sur le plan médical, un facteur (degré) de consensus d'utilisation (**IC**) a été calculé selon la formule suivante:

$$IC = Na/Nt \quad (3)$$

où **Na** est le nombre d'informateurs ayant cité une pathologie et **Nt** le nombre total d'informateurs.

L'IC varie entre [0-1]. Une valeur faible, proche de 0, indique que les informateurs sont en désaccord sur les thérapies proposées. Une valeur élevée, proche de 1, indique un consensus élevé ou total autour de l'usage de la plante (**Ilumbe et al., 2014**).

##### 9.1.5.3. Pourcentage de consommation

Les pourcentages de consommation (**PC**) dans les six communes du district d'Abidjan ont été calculés selon la méthode d'**Ambé (2001)**. Ce pourcentage a été calculé par le rapport du nombre de ménages consommant la plante (**n**) sur le nombre total de ménages connaissant la plante (**N**) selon la formule suivante:  $PC = n/N \times 100$  (4)

## **9.2. Préparation des extraits bruts**

Les feuilles récoltées ont été séchées sous climatisation permanente à une température de 18 °C pendant deux semaines. Elles ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique (Marque RETSCH, type SM 100) aux fins d'obtenir des poudres qui ont servi à réaliser les différentes extractions. Des extractions simple et successive ont été réalisées.

### **9.2.1. Extraction simple**

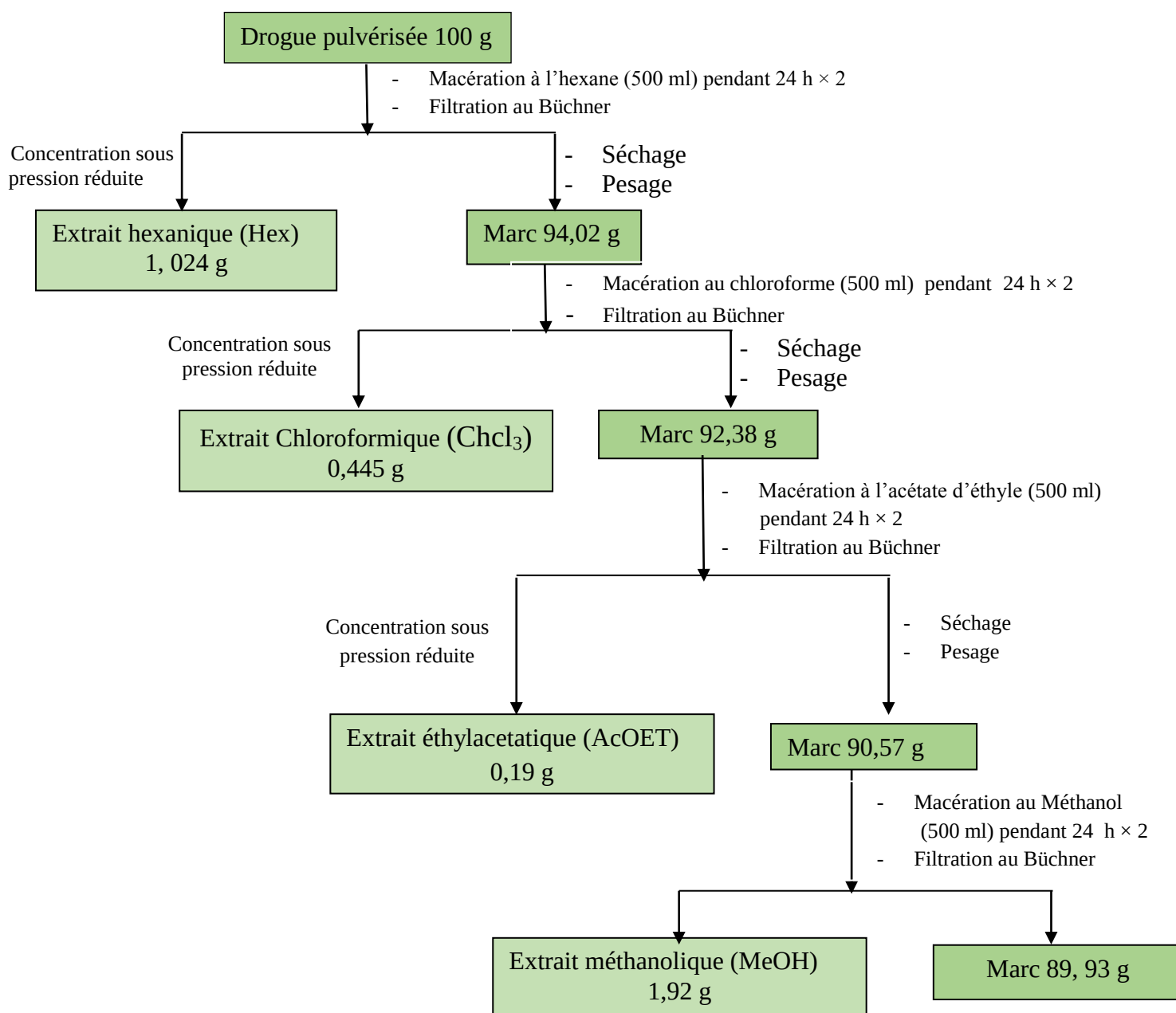
Une macération aqueuse a été effectuée avec 100 g de poudre mélangés dans 500 mL d'eau distillée. Le mélange est placé sous agitation mécanique pendant 24 heures. Après filtration au Büchner, le filtrat obtenu est concentré à l'étuve à 35 °C pendant 72 heures pour donner l'extrait brut du macéré aqueux (Mac Aq). La même procédure est effectuée avec 500 mL de méthanol 80 % afin d'obtenir l'extrait brut hydroalcoolique (Mac Alc).

Une décoction a également été réalisée. Pour ce faire, 100 g de poudre mélangés à 500 mL d'eau sont portés à ébullition pendant 15 min. Après refroidissement, la solution est filtrée et le filtrat obtenu est mis à sécher à l'étuve à 35 °C pendant 72 heures pour donner l'extrait brut du décocté (Déc).

### **9.2.2. Extraction successive avec des solvants de polarité croissante**

Une macération a été effectuée avec 100 g de poudre mélangés à 500 mL d'hexane et l'ensemble est placé sous agitation mécanique pendant 24 h. L'opération est répétée deux fois avec renouvellement du solvant. Après filtration au Buchner, le marc est séché à l'étuve pour évaporer le solvant. Le marc est pesé et l'extraction est reprise successivement avec le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol selon le schéma synoptique présenté à la **figure 8**. Les extraits sont concentrés suivant la température d'ébullition des solvants d'extraction pour donner des extraits secs.

Après obtention des différents extraits bruts, leurs couleurs et les différentes senteurs ont été notées.



**Figure 8** : Schéma synoptique de l'extraction successive des extraits bruts de la poudre de feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*



### 9.2.3. Calcul des rendements des extraits bruts

Le rendement des différents extraits bruts a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait brut sec (g)}}{\text{Masse de la poudre avant extraction (g)}} \times 100 \quad (5)$$

Ainsi pour l'extraction à l'hexane, c'est la masse de la drogue pulvérisée qui a été utilisée pour le calcul. Quant aux autres solvants, ce sont les masses des marcs ayant servis pour l'extraction qui ont été utilisés.

## 9.3. Obtention de l'huile essentielle

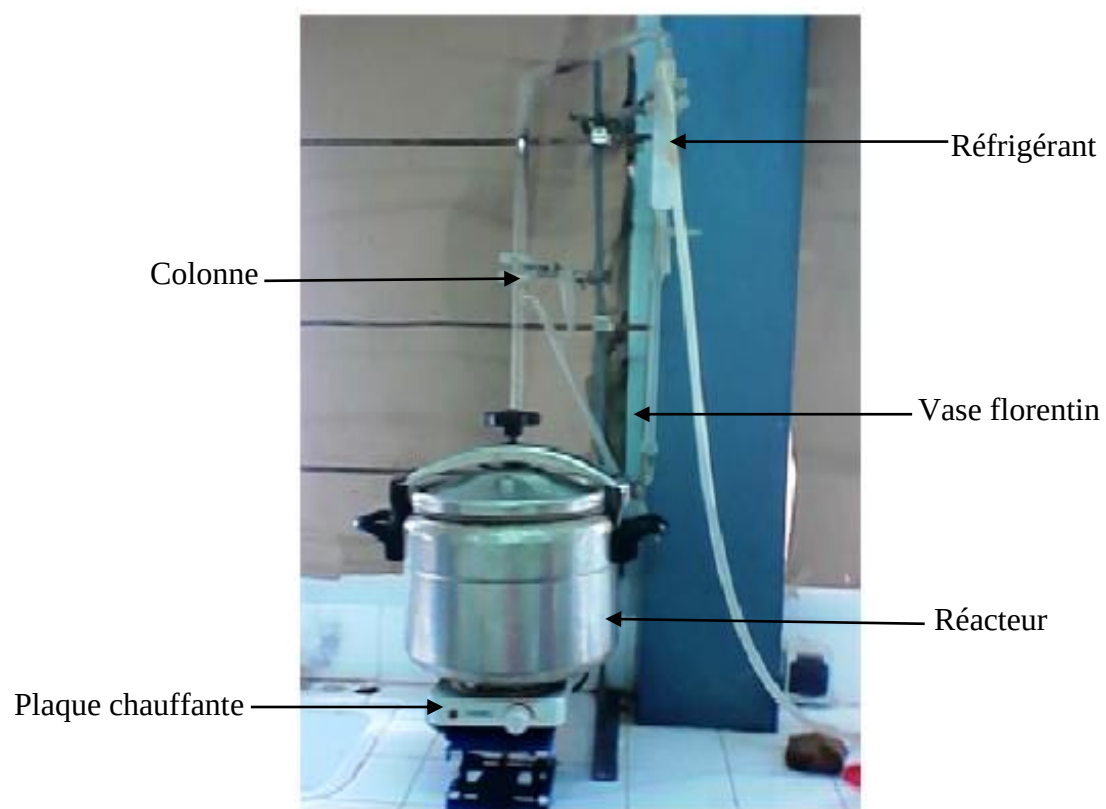
### 9.3.1. Extraction par hydrodistillation

Les feuilles récoltées ont été séchées sous climatisation permanente à une température de 18 °C pendant trois jours. L'extraction de l'huile essentielle a été faite à l'aide d'un dispositif de type Clevenger, associé à un réacteur de capacité 10 L (cocote minute) dans lequel sont introduits le matériel végétal (1615,36 g) et l'eau distillée (2 L) séparés par une grille. Le mélange (matériel végétal et l'eau) contenu dans le réacteur est porté à ébullition sur une plaque chauffante. Une colonne en verre placée au dessus du réacteur recueille les vapeurs traversant le matériel végétal. Les vapeurs vont se condenser au niveau du réfrigérant (**Figure 9**). L'huile essentielle obtenue est séparée par gravité à la surface de l'eau après une durée de 3h 30 min de chauffage dans une vase. Elle est séchée sur du sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>) anhydre puis conservée dans un pilulier au réfrigérateur.

### 9.3.2. Calcul du rendement de l'huile extraite

Le rendement a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'huile extraite (g)}}{\text{Masse des feuilles utilisées (g)}} \times 100 \quad (6)$$



**Figure 9 :** Dispositif d'extraction de l'huile essentielle

## 9.4. Evaluation des activités biologiques et biochimiques des extraits et de l'huile essentielle des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*

### 9.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 9.4.1.1. Test au DPPH•

L'activité antiradicalaire a été évaluée par la méthode du 1,1-Diphényl-2- Picryl-Hydrazyl (DPPH) selon la méthode initiée par **Blois (1958)** et reprise par **Ahoua et al. (2012; 2015)**. Cette méthode est basée sur la décoloration de la solution de DPPH• par l'extrait. Pour ce faire, le DPPH• est solubilisé dans du méthanol pour avoir une solution mère de 0,4 mg/mL (soit 0,04 g dans 100 mL de méthanol). Les concentrations des différents extraits en µg/mL (500; 250; 125; 62,5 et 31,25) ont été obtenues à partir d'une solution mère à 26 mg/mL dans du méthanol. Dans les tubes à hémolyse secs, ont été mis 100 µL de chaque extrait et 2,5 mL de la solution méthanolique de DPPH•. Après agitation, les tubes sont incubés pendant 30 minutes à l'abri de la lumière, puis l'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm. L'absorbance du blanc composé de méthanol pur est mesurée dans les mêmes conditions.

Trois essais ont été réalisés pour chaque concentration, puis la moyenne des mesures a été calculée. Les courbes d'étalonnage (**Annexe 2**) ont été réalisées avec le trolox (T) et l'acide ascorbique (vitamine C) à des concentrations comprises entre 25 et 800 mM. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition puis les capacités antioxydantes (mg ET/g de MS) des extraits ont été déterminées suivant les formules ci-dessous :

$$\% \text{ Inhibition du DPPH} = 1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (7)$$

Avec A0 l'absorbance du contrôle et A1 l'absorbance de l'extrait ou du standard à une concentration donnée après 30 minutes d'incubation

$$\text{Capacité antioxydante DPPH} = \frac{[(SA - SB) / (\text{Pente})] [VT/VU]}{[P] [1000]} \times R \quad (8)$$

(mg ET/g MS)

Avec: ET= Equivalent Trolox ; SA= Absorbance du contrôle ; SB= Absorbance de l'extrait ; Pente= Pente de la courbe du standard; VT= Volume total de l'extrait (mL);

VU= Volume utilisé de l'extrait (mL); P= Poids utilisé de l'échantillon (g) et 1000= Facteur de conversion (µg en mg); R = Rendement de l'extrait.

#### 9.4.1.2. Test à l'ABTS

Pour déterminer le pouvoir de piégeage du radical ABTS, la méthode de **Re et al. (1999)** a été adoptée. Le cation radical ABTS•+ a été généré en mélangeant une solution d'ABTS (7,0 mM) et le persulfate de potassium (2,6 mM). Le mélange a été laissé au repos pendant 12 h à la température ambiante à l'abri de la lumière. Le rapport de mélange était de 1:1, v/v. Ensuite, un volume de 1 mL de la solution obtenue a été mélangé avec du méthanol (1 à 4 mL) afin d'obtenir une valeur d'absorbance comprise entre 1,0 et 1,5 à 734 nm. Pour chaque essai, une solution fraîche a été préparée. Un volume de 100 µL de chaque extrait à différentes concentrations a été incubé avec 2500 µL de la solution ABTS•+ pendant 7 min à l'obscurité puis les absorbances ont été mesurées au spectrophotomètre à 734 nm. Trois essais ont été faits. Les courbes d'étalonnage (**Annexe 3**) ont été réalisées avec le trolox (T) et l'acide ascorbique à des concentrations comprises entre 25 et 800 mM de trolox. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition puis les capacités antioxydantes (mg ET/g MS) des extraits ont été déterminées suivant les formules ci-dessous :

$$\% \text{ Inhibition de l'ABTS} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (9)$$

Avec A0 l'absorbance du contrôle et A1 l'absorbance de l'extrait ou du standard à une concentration donnée, après 7 min d'incubation.

$$\text{Capacité antioxydante ABTS} = \frac{[(SA - SB) / (\text{Pente})] [VT/VU]}{[P] [1000]} \times R \quad (10)$$

(mg ET/g MS)

Avec ET= Equivalent de Trolox; SA = Absorbance du contrôle; SB = Absorbance de l'extrait; Pente = Pente de la courbe du standard; VT = Volume total de l'extrait (mL); VU = Volume utilisé de l'extrait (mL); P = Poids utilisé de l'échantillon (g) et 1000 = Facteur de conversion (µg en mg); R = Rendement de l'extrait

## 9.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les activités antimicrobiennes des extraits aqueux (macéré aqueux et décocté) et de l'HE ont été évaluées.

### 9.4.2.1. Activité antibactérienne

#### 9.4.2.1.1. Préparation des *inocula*

Les souches utilisées pour les études préliminaires de sensibilité vis-à-vis de ces deux extraits sont des souches de référence du laboratoire du CSRS.

Avant la réalisation des tests antibactériens, deux ensemencements consécutifs sont effectués pour chaque souche. En premier lieu, elles ont été inoculées dans du bouillon Mueller Hinton et incubées pendant 24 h à  $37 \pm 1$  °C. Le deuxième repiquage est effectué sur un milieu solide (gélose nutritive) la veille de la réalisation des tests antibactériens. L'ensemble a été incubé à  $37 \pm 1$  °C pendant 18 h pour avoir des cellules bactériennes à leur phase exponentielle de croissance. A partir de ces cultures fraîches, quelques colonies sont prélevées et mélangées avec de l'eau distillée stérile. Pour la standardisation de la charge de l'inoculum de départ, la méthode de comparaison de la densité bactérienne à celle d'un tube de référence de la solution 0,5 Mac Farland a été employée. La charge de cette densité est supposée être  $10^5$  UFC/mL.

#### 9.4.2.1.2. Protocole expérimental

L'activité antibactérienne des différents extraits à différentes concentrations a été déterminée pour chaque souche par la méthode de **Berghe & Vlietinck (1991)**. A partir d'une culture de 18 à 20 h ( $10^5$ - $10^6$  UFC/mL), l'ensemencement de 1 mL d'inoculum est réalisé en surface sur un milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Des puits ont été creusés à l'aide de pipettes Pasteur par l'extrémité épaisse de 6 mm de diamètre. Ensuite, 50 µL de l'échantillon à tester (extrait ou huile essentielle) à différentes dilutions et de gentamycine (référence) sont distribués dans chaque puits. Après une prédiffusion (15 min), les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h. Après cette incubation, les zones d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied de coulisse. L'activité est considérée nulle pour un diamètre d'inhibition (d.i.) inférieur ou égal à 8 mm; faible pour d.i. compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour d.i. compris entre 14 et 20 mm; forte pour d.i. supérieur ou égal à 20 mm (**Berghe & Vlietinck, 1991**).

#### 9.4.2.1.3. Caractérisation du pouvoir antibactérien des extraits

Afin de préciser le pouvoir bactériostatique ou bactéricide des extraits sur les souches bactériennes, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été déterminées en milieu liquide. La CMI est la plus petite concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne, visible à l'oeil. Plus elle est petite, plus l'extrait est efficace. La CMB est la plus petite concentration d'un extrait capable de tuer 99,99% des bactéries.

Les rapports CMB/CMI ont été calculés. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'extrait est considéré comme bactéricide. Lorsqu'il est supérieur ou égal à 4, l'extrait est considéré comme bactériostatique (Guinoiseau, 2010).

##### ✓ Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Les extraits ayant montré une zone d'inhibition de diamètre supérieur ou égal à 10 mm, sont sélectionnés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de **Mims et al. (1993)**. Ainsi, ce sont le décocté et l'HE qui ont été sélectionnés pour la suite des tests. Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentrations décroissantes en extrait. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne après 18 à 24 h de contact.

La macrométhode de dilution en milieu liquide décrite par **Delarras et al. (1988)** et modifiée par **Ouattara et al. (2007)** a été utilisée. Ainsi, une gamme de concentrations des extraits allant de 60 à 0,23 mg/mL a été préparée par la technique de la double dilution puis stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min. Pour ce faire, une série de 10 tubes à hémolyse stériles est utilisée. A l'aide d'une pipette graduée stérile, sont introduits 1 mL du bouillon MH-tween 80 dans le premier tube et 1 mL du même bouillon dans les autres tubes. Puis un volume de 1 mL de l'extrait à tester est ajouté dans le premier tube contenant 1 mL de milieu BMH (Tube 1 60 mg/mL), supplémenté en Tween 80 (0,01 %, v/v). Le tube est homogénéisé au vortex. On prélève 1 mL du volume du tube 1 qu'on ajoute au tube 2 ainsi de suite jusqu'à la dilution de 0,23 mg/mL. On obtient donc une gamme de concentrations comprise entre 60 et 0,23 mg/mL. Les tubes témoin positifs et témoin négatifs contiennent respectivement 1 mL de bouillon MH. Enfin 13 µL d'un inoculum bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland ( $10^5$  UFC/mL),

sont déposés dans chacun des tubes de la gamme de dilutions. Un témoin de la croissance bactérienne pour lequel 13  $\mu$ L de l'inoculum standardisé ont été déposés dans du milieu BMH-Tween 80 (0,01 %, v/v), est également réalisé dans le tube témoin 2 (Témoin positif). L'inoculum n'est pas mis dans le tube témoin 1, car servant de témoin négatif. Ces tubes sont ensuite placés à 37 °C sous agitation pendant 24 h. **(Figure 10).**

✓ **Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide**

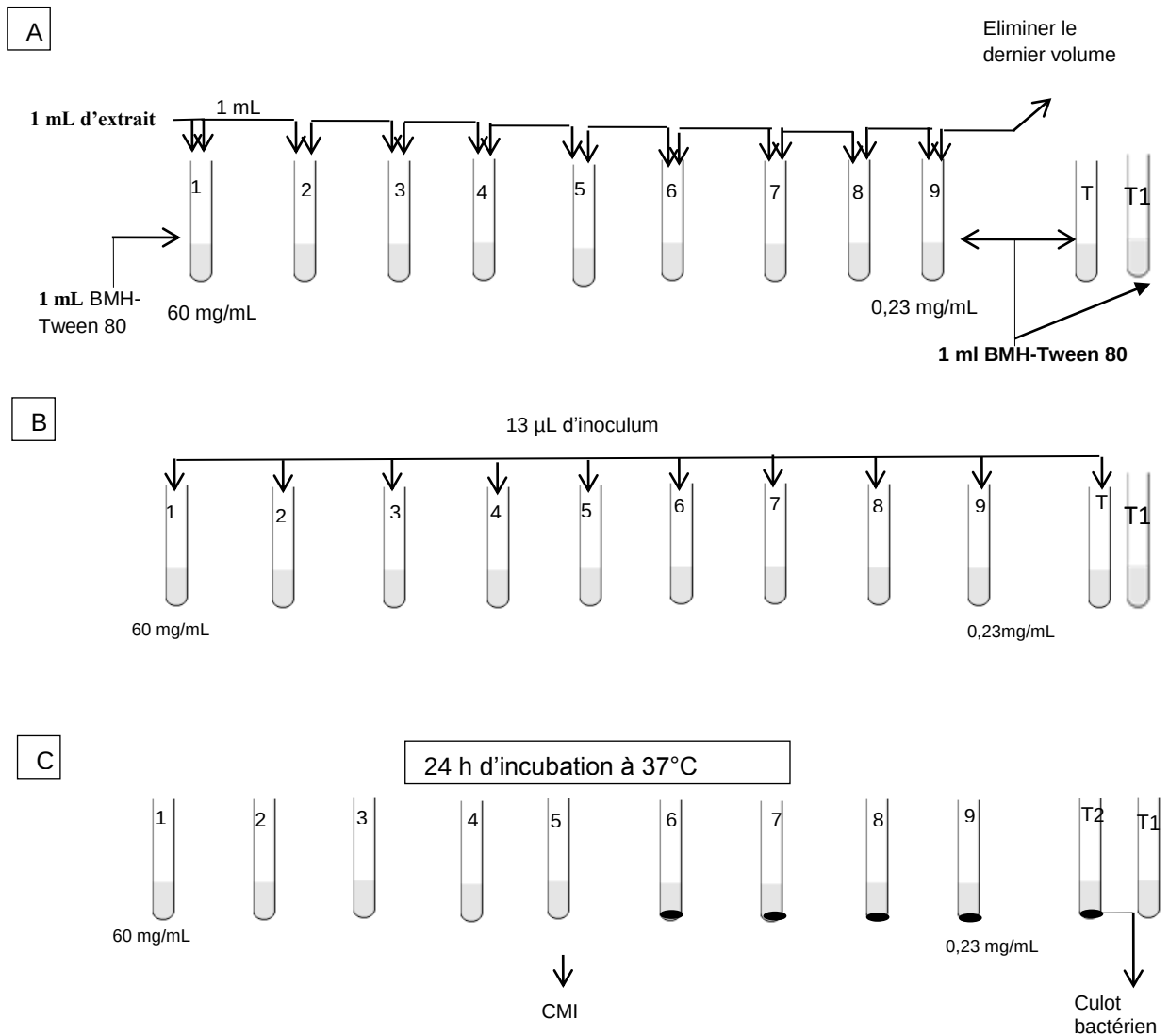
La détermination de la CMB se fait selon les étapes suivantes :

Jour 1 (jour de réalisation du test) : l'inoculum est dilué au 1/10 pour obtenir une gamme de  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ . Ces dilutions sontensemencées sur du Mueller Hinton en stries de 5 cm, puis les boîtes sont incubées 24 h à 37 °C.

Jour 2 : Après la détermination de la CMI comme précédemment décrit, le contenu de tous les tubes dans lesquels aucune croissance visible à l'œil nu n'a été observée estensemencé en stries de 5 cm. Les boîtes sont incubées dans les mêmes conditions que le jour 1.

La comparaison des boîtes du jour 1 et celles du jour 2 a permis de déterminer la CMB qui correspond à la plus petite concentration (jour 2) qui laisse un taux de survivance de 0,01% **(Figure 11).**

Les CMI et CMB ont été réalisées avec un antibiotique de référence selon les mêmes étapes. Pour ce faire, l'extrait végétal a été remplacé par la gentamycine.



A : Préparation des solutions

B : Distribution des souches bactériennes dans les solutions diluées

C : Détermination de la CMI après de 24 h d'incubation à 37 °C

CMI : Concentration minimale inhibitrice

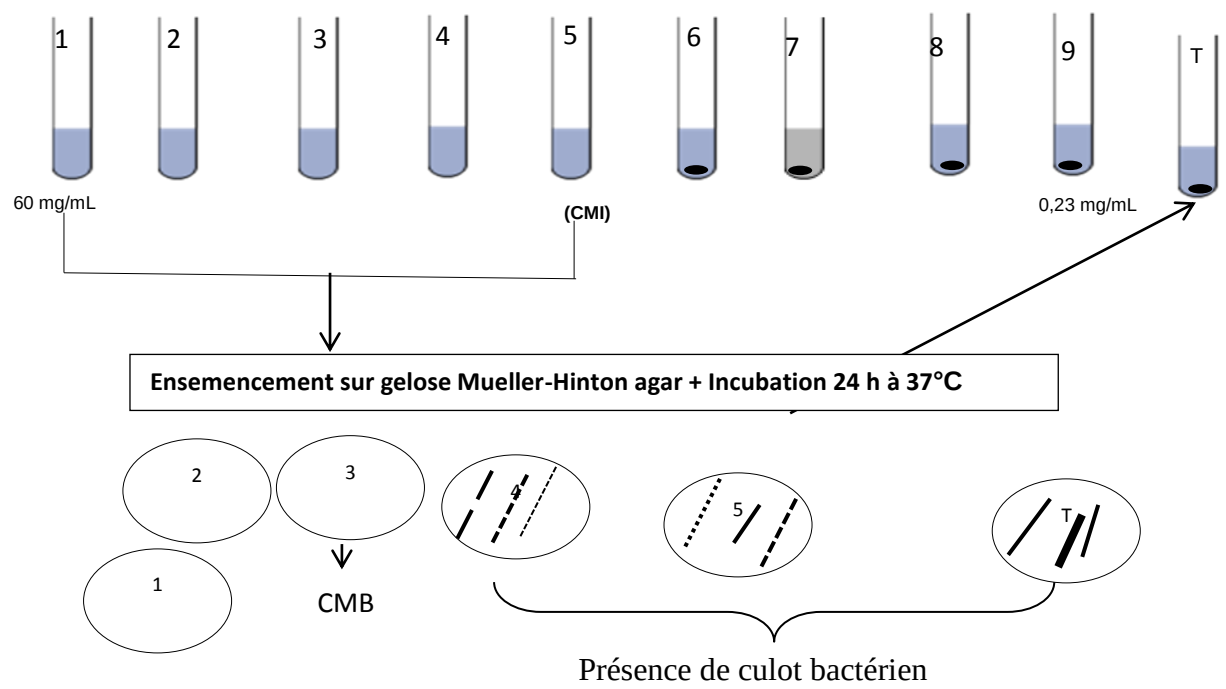
BM-H : Bouillon Mueller Hinton

T 1: Témoin négatif (absence d'inoculum bactérien)

T2 : Témoin positif (présence d'inoculum bactérien)

**Figure 10 :** Schéma résumant la méthode de détermination de la CMI des extraits testés





CMB: concentration minimale bactéricide; T: Témoin

**Figure 11 :** Schéma résumant la méthode de détermination de la CMB des extraits testés

#### 9.4.2.2. Evaluation de l'activité antifongique

##### 9.4.2.2.1. Protocole expérimental

Des suspensions à partir de colonies bien isolées sur du milieu Sabouraud d'une culture pure de levures de 48 à 72 h sont préparées dans 10 mL d'eau distillée afin d'avoir une solution opaque de levure. La gélose Sabouraud maltose (18 mL) préalablement coulée dans les boîtes de Pétri, a été inondée avec 2 à 4 mL de l'inoculum. Le surplus est aspiré et les boîtes de Pétri sont séchées pendant 15 min à 30 °C.

Après séchage, des puits de 6 mm sont creusés dans l'agar à l'aide de l'extrémité ouverte d'une pipette Pasteur. Un volume de 50 µL de l'extrait végétal est déposé dans les puits. Les boîtes sont laissées à la température ambiante du laboratoire (37 °C) pendant 15 à 30 min pour une pré-diffusion des solutions, puis incubées à 30 °C pendant 48 à 72 h. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. Les essais ont été répétés deux fois. Le même procédé a été réalisé avec un antifongique de référence (Amphotéricine B).

##### 9.4.2.2.2. Caractérisation du pouvoir antifongique

Les extraits ayant montré une zone d'inhibition de diamètre supérieur ou égal à 10 mm, sont sélectionnés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de **Mims et al. (1993)**. Ici également, ce sont le décocté et l'HE qui ont été sélectionnés pour la suite des tests. Pour ces extraits, des dilutions sont effectuées dans des tubes stériles pour obtenir une gamme de concentrations allant de 60 et 0,23 mg/mL. La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) correspondant à la plus petite concentration d'un extrait capable de tuer 99,99% de levures ont été déterminées selon les mêmes étapes que celles indiquées aux **figure 10 et 11**. Dans le cas des levures, les ensemencements ont été effectués sur du milieu Sabouraud.

Les rapports CMF/CMI ont été calculés. Lorsque ce rapport **est inférieur à 4**, l'extrait est considéré comme fongicide. Lorsqu'il est **supérieur ou égal à 4**, l'extrait est considéré comme fongistatique (**Guinoiseau, 2010**).

Les CMI et CMB de l'antifongique de référence ont été également réalisées selon les mêmes étapes ; l'extrait végétal ayant été remplacé par l'Amphotéricine B.

#### 9.4.3. Evaluation de l'activité anticancéreuse

Le test de cytotoxicité permet la recherche d'un effet toxique sur un type cellulaire par une méthode évaluant un paramètre donné (croissance cellulaire, intégrité cellulaire, activité fonctionnelle cellulaire). Son but est de déterminer la concentration inhibitrice 50% (CI<sub>50</sub>) qui est la concentration qui inhibe de moitié la croissance des cellules cancéreuses.

La recherche de l'activité anticancéreuse a été réalisée avec l'huile essentielle. Cette huile a été préparée à différentes gammes de concentrations allant de 0,0005 à 0,5 µg/mL. La lignée cellulaire du carcinome épidermoïde vulvaire CA 431 a été utilisée pour ce test.

##### 9.4.3.1. Cultures cellulaires

La lignée cellulaire CA 431 a été cultivée dans des flasques de culture cellulaire contenant un milieu «Eagle » modifié par Dulbecco (DMEM) (Sigma) supplémenté par 10 % (v/v) de sérum de veau fœtal (SVF), 2 mM de L-glutamine et 1 % (v/v) de Pénicilline/Streptomycine à 37 °C dans une atmosphère humidifiée à 5 % de CO<sub>2</sub>. Lorsque les cellules sont arrivées à confluence, elles sont lavées avec du tampon phosphate PBS (9,6 g/L, pH=7,2) et détachées par trypsinisation (2 mL de solution de trypsine à 0,5%) pendant 5 à 10 min dans un incubateur (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>). L'action de la trypsine est stoppée par un ajout de milieu de culture, les cellules se retrouvent alors en solution et sont récupérées par centrifugation à 800 tours/min pendant 5 min. Elles sont comptées à l'aide d'une cellule de Mallassez, qui permet de déterminer le nombre de cellules contenues dans le milieu. Les cellules sont alors réparties sur une microplaque Nunc de 96 puits (8x12) à fond plat à raison de  $50 \times 10^3$  cellules dans 100 µL de milieu de culture/puits.

##### 9.4.3.2. Test de cytotoxicité

L'évaluation de l'activité cytotoxique a été faite par le test colorimétrique au sel de Tétrazolium (MTT). Ce test a été décrit par **Mosmann (1983)**. Il est basé sur la mesure du nombre de cellules vivantes, métaboliquement actives et capables de réduire le MTT jaune (Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltétrazolium) par le succinate déshydrogénase mitochondrial en cristaux de Formazan bleu violet (**Figure 12**). L'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes et est quantifiée par spectrophotométrie à 570 nm. Pour ce faire, après 24 h d'incubation, un

tapis cellulaire adhérent est obtenu. Le milieu de culture est ensuite décanté et remplacé délicatement par les différentes concentrations de l'extrait de l'huile essentielle (0,5 mg/mL à 0,0005 mg/mL). La première colonne (R) de la microplaque sert de référence (milieu sans cellules), la deuxième colonne (T) sert de témoin (sans ajout d'extrait végétal à tester). Les autres colonnes (C1, C2, C3 et C4) sont utilisées pour mesurer l'effet des différentes concentrations d'extraits végétaux à tester (**Figure 13**). Après 72 h, les puits sont vidés, les cellules sont ensuite lavées au tampon PBS, puis 100 µL de DMEM + 50 µL de MTT (2 mg/mL) sont ajoutés. La plaque est incubée pendant 4 h à 37 °C et 5 % de CO<sub>2</sub>. Après incubation, les puits sont vidés à nouveau, lavés au PBS et les cristaux de formazan formés sont solubilisés dans 100 µL de DMSO. L'intensité de la coloration obtenue reflète le nombre relatif de cellules vivantes. Celle-ci est mesurée à 570 nm en utilisant un lecteur de microplaques (Labosystems Multiscan)

La mesure de l'activité mitochondriale des cellules après traitement par la dose choisie de l'extrait végétal par rapport à l'activité mitochondriale des cellules non traitées, permet d'évaluer indirectement la cytotoxicité des différents extraits.

Le pourcentage de viabilité a été calculé d'après l'équation suivante :

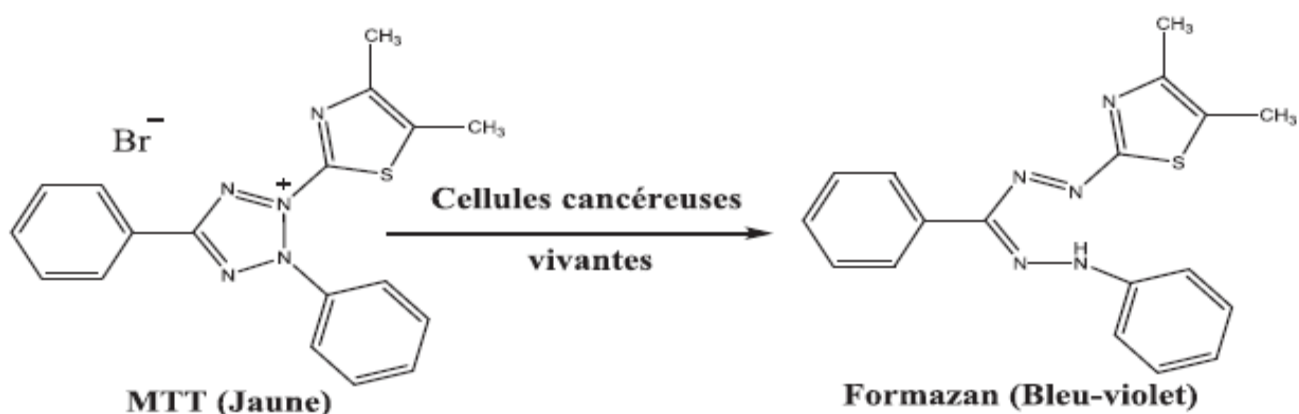
$$\% \text{ de viabilité cellulaire} = \frac{\text{Abs Essai}}{\text{Abs Témoin}} \times 100 \quad (11)$$

Avec Abs Essai= absorbance de l'essai traité par les extraits et Abs Témoin: absorbance de l'essai non traité par les extraits.

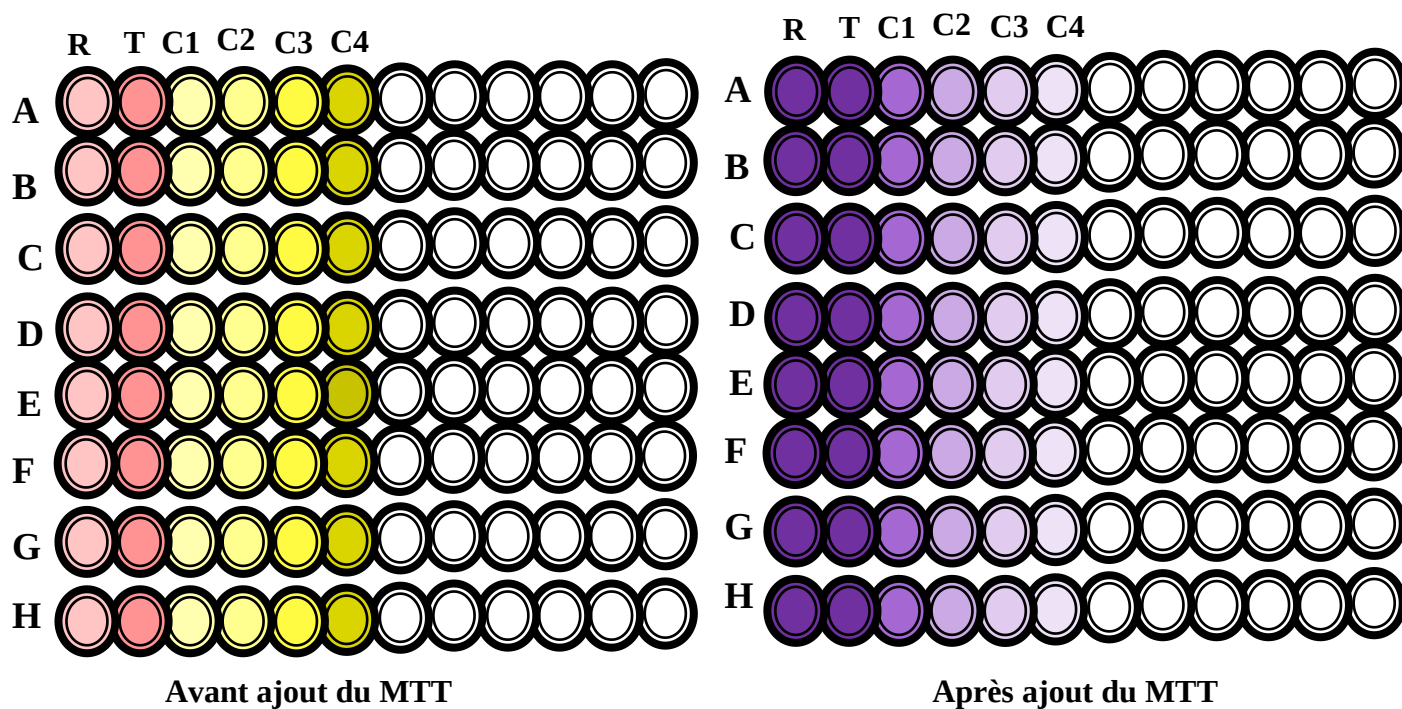
La concentration à laquelle l'extrait d'huile essentielle est capable de diminuer de moitié le nombre de cellules vivantes (CI<sub>50</sub>) a été calculée par extrapolation à travers un graphe. En effet, selon les recommandations publiées par le « National Cancer Institute » (NCI) un extrait ayant une CI<sub>50</sub> inférieure à 30 µg/mL lors de tests de cytotoxicité peut être considéré comme une source potentielle de molécules cytotoxiques (**Jokhadze et al., 2007**). Ainsi un composé dont la CI<sub>50</sub> est:

- inférieure à 10 µg/ml est potentiellement très toxique;
- comprise entre 10-100 µg/ml est potentiellement toxique;
- comprise entre 100-1000 µg/ml est potentiellement nocif
- supérieure à 1000 µg/ml est potentiellement non-toxique

En d'autres termes, un composé dont la CI<sub>50</sub> est inférieure à 20 µg/ml *in vitro* est active (**Gad-Shayne, 1999; Boik, 2001**).



**Figure 12 :** Réaction de transformation du MTT en formazan



Les lettres A, B, C, D, E, F, G et H sont les indications sur la microplaque  
 Colonne R (Référence)= Milieu de culture sans cellules (100  $\mu$ L)  
 Colonne T (Témoin)= Milieu de culture + cellules cancéreuses ( $5 \cdot 10^3$  cellules)  
 Colonne C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, = Milieu de culture + cellules cancéreuses + extrait d'huile essentielle  
 Avec C<sub>1</sub>=  $5 \cdot 10^{-4}$ ; C<sub>2</sub>=  $5 \cdot 10^{-3}$ ; C<sub>3</sub>=  $5 \cdot 10^{-2}$ ; C<sub>4</sub>=  $5 \cdot 10^{-1}$   
 C= Concentration (mg/mL)  
 Décoloration du violet = diminution de cellules viables

**Figure 13 :** Illustration du test colorimétrique MTT réalisé sur une plaque 96 de puits

## 9.5. Analyse phytochimique qualitative et quantitative des extraits et de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

### 9.5.1. Analyse phytochimique qualitative

Pour le criblage phytochimique, les méthodologies décrites dans les travaux de Dohou *et al* (2003), Békro *et al.* (2007), Koffi *et al.* (2008), Mamyrbékova-Békro *et al.*, 2008, N'gaman *et al.* (2009) ont été utilisées.

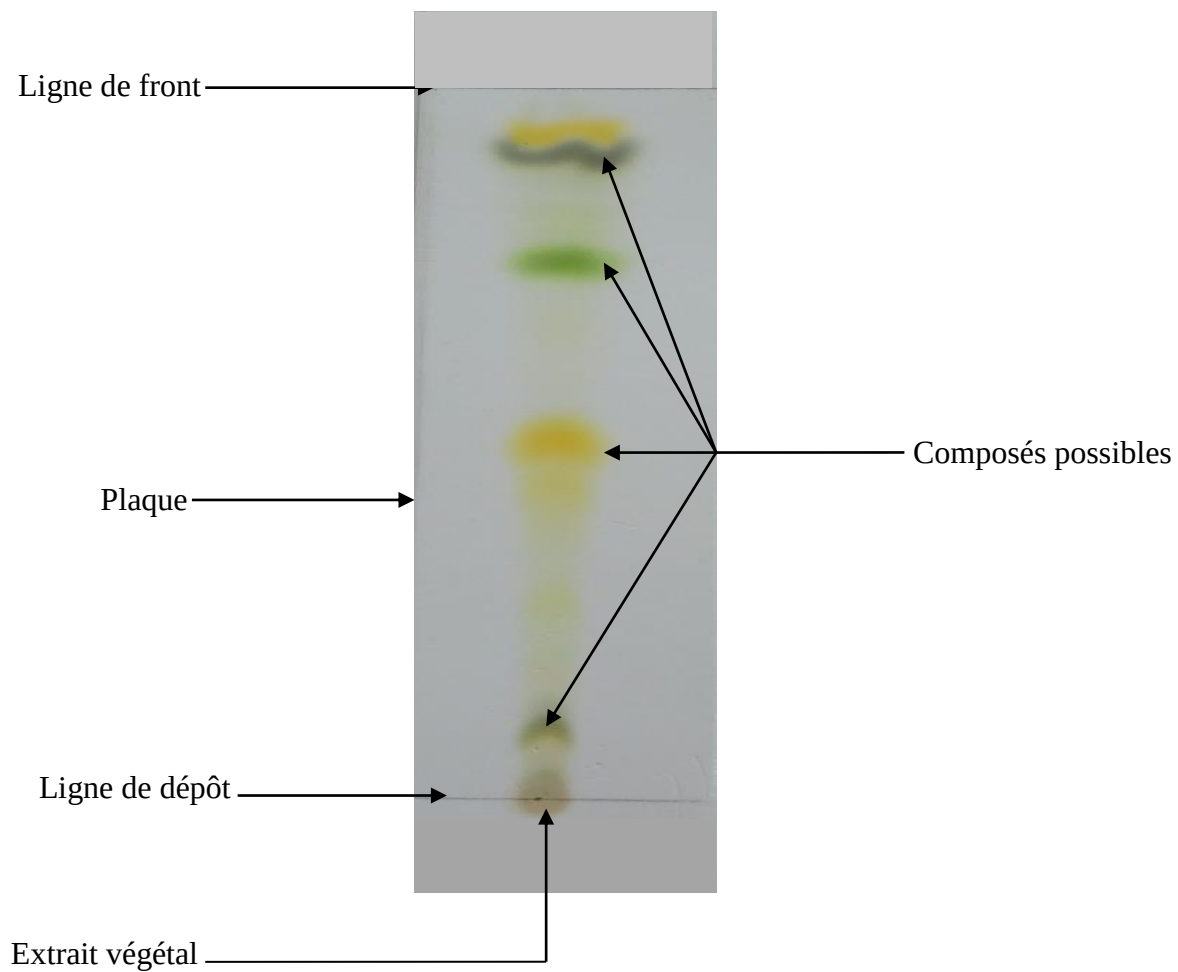
#### 9.5.1.1. Criblage phytochimique des extraits par CCM

Les analyses par chromatographie sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques chromatoplaques (Silicagel 60 F<sub>254</sub> sur support aluminium). Pour ce faire, 10 µL de chaque extrait sont déposées sur la plaque, laquelle est introduite dans une cuve à chromatographier préalablement saturée avec l'éluant. Comme développants, les systèmes suivants ont été utilisés :

- cyclohexane/acétate d'éthyle (8:2; v/v) pour l'extrait hexanique ;
- chloroforme/acétate d'éthyle/hexane (8:2:1; v/v/v) pour l'extrait chloroformique ;
- chloroforme/acétate d'éthyle (6:3 ; v/v) pour l'extrait éthylacétatique ;
- hexane/ acétate d'éthyle /Méthanol (6 :4 :1 ; v/v/v) pour l'extrait méthanolique.

Après développement, les chromatogrammes ont été séchés et visualisés avec ou sans révélateur soit dans le visible, soit sous lumière UV à 366 nm. Les colorations apparaissant (**figure 13**) sont notées et les rapports frontaux (Rf) calculés (**formule 12**). Les révélateurs sont employés en fonction des composés recherchés comme mentionné dans le **tableau I**.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par un composé}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}} \quad (12)$$



**Figure 14 :** Schéma d'un profil chromatographique sur couche mince

#### 9.5.1.2. Caractérisation chimique de l'huile essentielle

L'HE (1 mg) est reprise dans 2 mL d'hexane, puis analysée au moyen de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS). L'appareil possède une colonne Zebron ZB-5ms de 20 m de long, d'un diamètre intérieur de 0,18 mm et d'une épaisseur de film de la phase stationnaire de 0,18 µm. L'hélium a été utilisé comme gaz porteur avec une vitesse linéaire de 0,9 mL/s. Le programme de température du four a été de 50-280 °C pendant 2 min, de 280-300 °C pendant 5 min et maintenu à 300 °C pendant 18 min. La température de l'injecteur a été fixée à 250 °C et celle du détecteur à 280 °C. L'injection a été réalisée en mode splitless. Les paramètres du spectromètre de masse pour le mode d'impact électronique sont la température de source d'ionisation (230 °C), l'énergie d'électron (70 eV), la vitesse de scan (50 scans/s) et la vitesse d'acquisition (10.000 u.m.a/s). L'identification des composés a été obtenue en comparant les temps de rétention avec ceux des données spectrométriques obtenues à partir des bibliothèques Wiley et NIST. Chaque détermination a été effectuée en double exemplaire.

#### 9.5.2. Analyse quantitative

##### 9.5.2.1. Teneurs en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits a été déterminée par la méthode de **Singleton & Rossi (1965)**, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Un volume de 2500 µL de Folin-Ciocalteu (dilué au 1/10<sup>ème</sup>) est ajouté à 500 µL d'extrait à 1000 µg/mL et l'ensemble est incubé pendant deux minutes à température ambiante. Puis 2000 µL de bicarbonate de sodium à 75g/L y sont ajoutés, suivi immédiatement d'une incubation à 50 °C dans un bain-marie pendant 15 min. Après le refroidissement rapide des tubes dans de l'eau glacée, l'absorbance est mesurée à 760 nm au spectrophotomètre. La quantité de composés phénoliques totaux (en µg/g d'équivalent d'acide gallique) a été déterminée par la courbe d'étalonnage réalisée avec les concentrations comprises entre 6,25 et 200 µg/mL (**Annexe 4**). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g de MS) en utilisant la formule ci-dessous (**Boizot et Charpentier, 2006**) :

$$\text{Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g MS)} = \frac{(\text{SB} - \text{SA}) / (\text{Pente}) [\text{VT/VU}]}{[\text{P}] [\text{1000}] } \times \text{R} \quad (13)$$



Avec SA = Absorbance du contrôle; SB = Absorbance de l'extrait; Pente = Pente de la courbe du standard; VT = Volume total de l'extrait ; VU= Volume utilisé de l'extrait; P= Poids utilisé de l'échantillon ; 1000 = Facteur de conversion (µg en mg); R= Rendement de l'extrait

L'équation de la droite de régression linéaire est:  $y = 0,0602x + 0,0945$  (14)

y représente la densité optique du composé et x correspond à la concentration du composé.

### 9.5.2.2. Dosage des protéines totales par la méthode de Kjeldahl

#### 9.5.2.2.1. Principe

L'échantillon est minéralisé en milieu acide (acide sulfurique), en présence de cuivre et d'un catalyseur (sulfate de potassium). Dans les conditions de minéralisation, l'azote organique est retrouvé sous forme ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). L'addition d'une base forte (hydroxyde de sodium) permet de libérer l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) qui est alors entraîné par de la vapeur d'eau puis ensuite piégé dans une solution d'acide borique. L'ammoniaque est alors dosé par une solution d'acide sulfurique de titre connu. Le point d'équivalence est repéré par le changement de coloration d'un indicateur (AOAC, 1990).

#### 9.5.2.2.2. Protocole

Un gramme (1 g) d'échantillon de poudre séchée (me) a été minéralisé dans un matras de Kjeldahl à 400 °C pendant deux heures dans 20 mL d'acide sulfurique concentré en présence d'une pincée de catalyseur de minéralisation (sulfate de potassium). Le minéralisât a été ensuite transvasé dans une fiole de 100 mL et complété avec de l'eau distillée. A 10 mL de ce mélange, précisément 10 mL de solution de NaOH 40 % (0,1 N) ont été ajoutés. Puis le tout a été distillé pendant 10 min en prenant soin de piéger le distillat dans un ballon contenant 20 mL d'acide borique additionné d'un indicateur mixte (rouge de méthyle + vert de bromocresol). Le distillat obtenu a été titré par une solution d'acide chlorhydrique 0,1 N jusqu'au virage du vert à l'orangé (V1). Un essai à blanc a été réalisé (V0). Les essais ont été réalisés trois fois.

#### 9.5.2.2.3. Calcul de la teneur en protéines

Les résultats ont été exprimés en fonction du taux d'azote total qui se calcule comme suit :

$$\text{Azote total (p.c)} = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times 14 \times 0,001}{\text{me}} \quad (15)$$

$$\text{Protéines totales (g/100 g)} = 6,25 \times \text{Azote total (p.c.)} \quad (16)$$

Avec :  $V_1$  = Volume d'acide chlorhydrique exigé par l'échantillon ;  $V_0$  = Volume d'acide chlorhydrique exigé par le blanc ;  $N$  = Normalité de la solution d'acide chlorhydrique (0,1 N) ; 14 = Masse molaire de l'azote ; 0,001 : Facteur de conversion de mL en L ; 6,25 = facteur de conversion de l'azote en protéines.

### 9.5.2.3. Dosage des fibres brutes

#### 9.5.2.3.1. Principe

La teneur en fibres brutes des extraits végétaux a été déterminée par la méthode de Weende (**Wolf, 1968**). Cette méthode consiste à traiter les extraits végétaux par l'acide sulfurique et ensuite par la soude. Le résidu obtenu est séché puis calciné et pesé.

#### 9.5.2.3.2. Protocole

Un (1) gramme d'échantillon séché à l'étuve et broyé ( $m_e$ ) est pesé dans un ballon. La masse pesée est homogénéisée dans 50 mL d'acide sulfurique 0,25 N et le tout est porté à ébullition pendant 30 mn sous réfrigérant à reflux. On ajoute ensuite 50 mL de soude 0,3 N au contenu et le tout est porté à l'ébullition pendant 30 mn sous réfrigérant à reflux. L'extrait obtenu est filtré sur un creuset filtrant en verre et le résidu est lavé plusieurs fois à l'eau chaude jusqu'à l'élimination complète des alcalis. Le résidu obtenu est séché à l'étuve à 105 °C pendant 8 h et refroidi au dessiccateur puis pesé ( $m_1$ ). Après l'incinération au four à 550 °C pendant 3 h, le résidu obtenu est refroidi au dessiccateur puis pesé ( $m_2$ ).

#### 9.5.2.3.3. Calcul de la teneur en fibres brutes

La teneur en fibres brutes se calcule comme suit :

$$\text{Fibres brutes (g/100 g)} = \frac{m_1 - m_2}{m_e} \times 100 \quad (17)$$

#### 9.5.2.4. Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité

Une quantité de 5 g d'échantillon a été pesée dans une capsule en verre (propre et sèche) de masse connue ( $m_0$ ). La capsule contenant l'échantillon ( $m_1$ ) a été placée à l'étuve réglée à  $105 \pm 2$  °C, pendant une durée de 24 h. La capsule a été retirée de l'étuve et refroidie dans un dessiccateur. L'ensemble (capsule et échantillon après séchage) a été

pesé ( $m_2$ ). Les essais ont été réalisés en triplicata. La teneur en matière sèche (MS) est calculée en pourcentage de masse d'échantillon humide selon la formule ci-dessous (AOAC, 1990) :

$$\text{Matière sèche (g/100 g)} = 100 - \text{Humidité} \quad (18)$$

$$\text{Humidité} = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100 \quad (19)$$

#### 9.5.2.5. Détermination de la teneur en cendres totales

Une quantité de 5 g d'échantillon de poudre séchée à l'étuve a été pesée dans une capsule d'incinération propre et sèche (porcelaine) de masse connue ( $m_0$ ). La capsule contenant l'échantillon ( $m_1$ ) a été placée dans un four à moufle puis incinérée à  $550 \pm 15$  °C pendant une durée de 12 h. La capsule a été retirée du four à moufle et refroidie dans un dessiccateur. L'ensemble (capsule et échantillon après incinération) a été pesé, soit  $m_2$  cette masse. La teneur en cendres totales est calculée en pourcentage de masse d'échantillon sec selon la formule ci-après (AOAC, 1990):

$$\text{Cendres totales (p.c.)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (20)$$

#### 9.5.2.6. Détermination de la teneur en minéraux

La détermination des minéraux a été effectuée au Centre d'Analyses et de Recherche (CAR) de l'Institut National polytechnique Houphouët Boigny (INPHB) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

##### 9.5.2.6.1. Principe

L'analyse se base sur l'absorption de photons par des atomes à l'état fondamental. Les photons absorbés étant caractéristiques des éléments absorbants, et leur quantité étant proportionnelle au nombre d'atomes d'élément absorbant, l'absorption permet de mesurer les concentrations des éléments dosés. Dans le cas de l'absorption, on envoie donc sur les atomes à doser un faisceau monochromatique d'intensité connue, de longueur d'onde caractéristique de l'élément à doser. La mesure de l'intensité transmise permet de déduire le nombre d'atomes absorbants présents dans la flamme (**Figure 14**). Cette détermination est basée sur la loi de Beer-Lambert :

$$ABS = \text{Log} \frac{I_0}{I} = \epsilon . l . c \quad (21)$$

Avec :  $\epsilon$  = Constante qui dépend de l'atome absorbant ;  $l$  = Longueur de la flamme.

$\text{Log} \frac{I_0}{I}$  = Absorbance ou densité optique ;  $c$  = Concentration de la solution en élément absorbant.

#### 9.5.2.6.2. Minéralisation

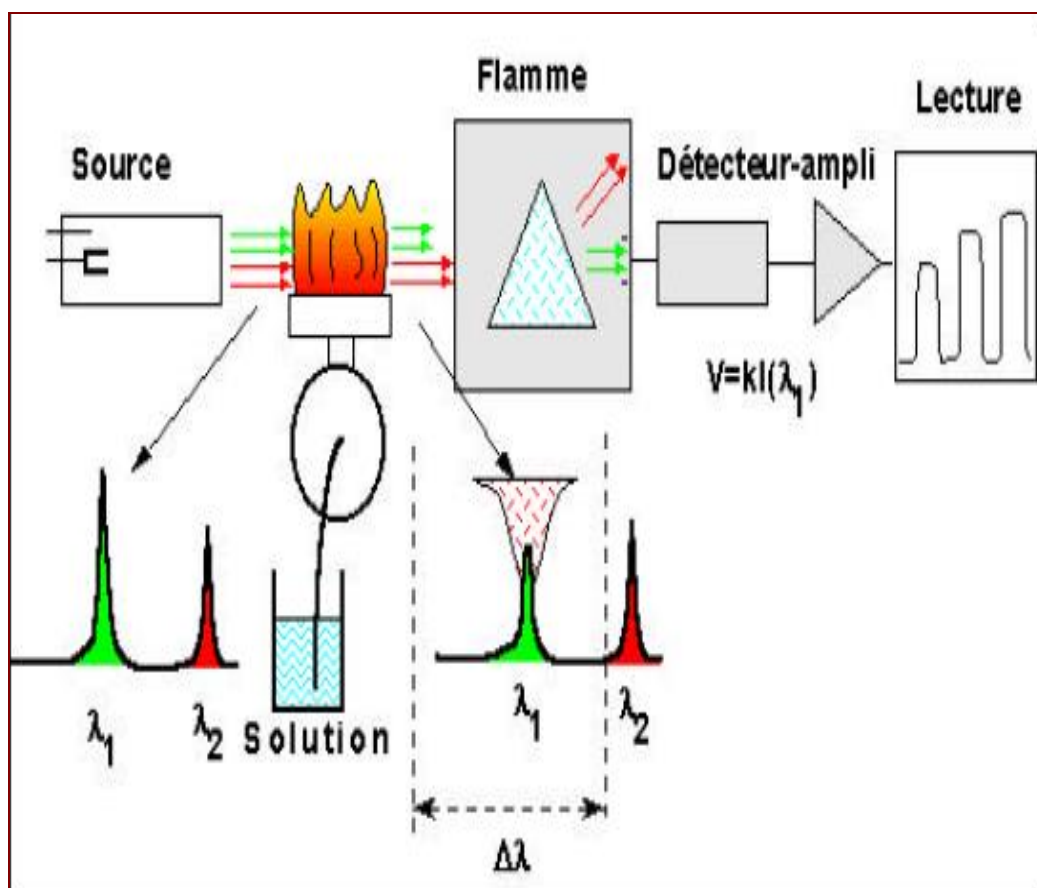
Une quantité de 0,3 g d'échantillon broyé a été pesée dans un creuset en porcelaine puis mise dans un four à moufle (PROLABO) à 650 °C pendant 5 h. Après refroidissement, 5 mL d'acide nitrique (1 mol/L) ont été ajoutés à la cendre obtenue puis le tout est porté à évaporation totale sur un bain de sable. Au résidu ont été ajoutés 5 mL d'acide chlorhydrique (0,1 mol/L); le tout a été remis au four à 400 °C pendant 30 min. Le résidu final a été récupéré avec 10 mL d'acide chlorhydrique (1 mol/L) puis versé dans une fiole de 50 mL. Le creuset a été rincé deux fois avec 10 mL de l'acide chlorhydrique. La fiole a été complétée à 50 mL avec l'acide chlorhydrique. Dans les mêmes conditions, un essai à blanc a été réalisé (IITA, 1981 ; AOAC, 1990).

#### 9.5.2.6.3. Dosage

Les minéraux recherchés étaient le calcium, le cuivre, le fer, le magnésium, le phosphore et le zinc. Après la minéralisation, des gammes de concentrations (0; 0,5; 1; 1,5 et 2 mg/L) de chaque minéral ont été préparées selon les méthodes de références pour la détermination quantitative des éléments chimiques dans les végétaux (IITA, 1981). Les dosages ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre d'adsorption atomique à flamme air-acétylène de type VARIAN AAS 20. Les longueurs d'ondes des éléments à analyser étant définies sur l'appareil (AOAC, 1990; Kouassi *et al.*, 2013). Les essais ont été réalisés en triplica. Les valeurs sont exprimées en mg/L puis converties en mg/100 g selon le calcul suivant :

$$\text{Teneur} = \frac{(\text{Cech} - \text{Cblanc}) \times V}{m} \quad (22)$$

avec Cech= Concentration de l'échantillon en mg/L, Cblanc= Concentration du blanc en mg/L, V= Volume utilisé pour récupérer le produit après digestion (mL) et m = Masse de l'échantillon.



**Figure 15 :** Schéma du principe de fonctionnement du spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme.

## 9.6. Analyses statistiques

Pour les enquêtes ethnobotaniques, la saisie des données a été réalisée avec le logiciel Epidata 3.1 et transférée sur le logiciel SPSS 20.0 pour la mise en place de la base de données. Le test de Khi-deux ( $\chi^2$ ) a été utilisé pour établir, s'il existe, une relation entre le niveau de connaissance, d'utilisation et de consommation de *Hydrocotyle bonariensis* et des paramètres tels que le lieu d'habitation et le groupe culturel, à l'aide du logiciel SPSS 20.0. Lorsqu'une relation existe au seuil de 0,05%, le test de Khi-deux est complété par la procédure de Marascuilo (**Marascuilo & Serlin, 1979**) à l'aide du logiciel XLStat version 2014. Cette procédure consiste à effectuer des tests de comparaison deux à deux pour tous les couples de proportions, ce qui permet d'identifier les proportions responsables de l'existence de liaison. La plus petite différence significative a été fixée au seuil de 0,05 (**Vessereau, 1992**).

Pour l'analyse des données des tests antioxydants, antimicrobiens et des dosages, le logiciel STATISTICA 7.1 a été utilisé. Pour la saisie des données, le logiciel Microsoft Access 2007 a été utilisé. Les résultats ont ensuite été exportés sur Microsoft Excel 2007 pour leur traitement. L'analyse de la variance à un critère (ANOVA 1) a été utilisée pour comparer les moyennes des valeurs des extraits. La différence significative entre les moyennes des extraits est déterminée en comparant la probabilité P associée à la statistique du test F de Fisher au seuil théorique  $\alpha = 5 \%$  (**Dagnelie, 1999**). La plus petite différence significative (ppds) entre les moyennes des extraits a été effectuée en utilisant le test HDS de Tukey. Ainsi, lorsque  $P \geq 5 \%$ , on conclut qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes et lorsque  $P \leq 5 \%$ , il y a une différence significative entre les moyennes. Les corrélations entre les activités étudiées sont données par l'analyse de régression.  $R^2 \geq 0,90$  a été prise comme fortement corrélé (**Prabhjit et al., 2008**). Les valeurs de  $CI_{50}$  (concentration inhibitrice 50 %) sont déterminées graphiquement à partir des courbes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations. Il s'agit de la concentration d'extrait qui inhibe 50 % du DPPH ou de l'ABTS après le temps d'incubation. Plus cette valeur est faible, plus l'activité antioxydante est importante. Les histogrammes et les courbes de régression ont été construits à l'aide du logiciel Excel.

Pour l'analyse des données du test anticancéreux, les résultats ont été exportés sur Microsoft Excel, ce qui a permis de tracer la courbe dose-réponse.

**TROISIEME PARTIE :**

**RESULTATS**

## **CHAPITRE 10: Connaissance et usages de *Hydrocotyle bonariensis***

### **10.1. Caractéristiques sociodémographiques des ménages interrogés**

Au total, 800 ménages dont environ 25 % hommes et 75 % femmes, ont été interviewés. Les ménages n'ayant aucun niveau de scolarisation sont les plus nombreux (47,75 %) surtout dans les communes d'Abobo (22,77 %) et de Bingerville (21,72 %). Trois classes d'âge se dégagent à savoir 18-30 ans avec une faible proportion (4,38 %); 31-45 ans (43,88 %) et supérieure ou égale à 46 ans avec une forte représentation (51,75 %). Les groupes ethniques sont marqués par la prépondérance des Akan du Centre (17,13 %) et des Krou (17,38 %), ces deux groupes étant beaucoup représentés à Yopougon (20 %) et à Port-Bouët (19,33 %). Quant à la situation sociale, les commerçants (43,76 %) et les ménagères (41,62 %) sont les plus nombreux, avec Bingerville ayant compté plus de ménagères (22,52 %). Ces résultats sont consignés dans le **tableau I**.



**Tableau I :** Caractéristiques sociodémographiques des ménages interrogés

| Paramètres             | Zone d'étude |        |          |            |             |        | Total | Pourcentage<br>moyen (%) |
|------------------------|--------------|--------|----------|------------|-------------|--------|-------|--------------------------|
|                        | Abobo        | Anyama | Yopougon | Port-Bouët | Bingerville | Cocody |       |                          |
|                        | N            | N      | n        | n          | n           | n      |       |                          |
| Niveau d'étude         |              |        |          |            |             |        |       |                          |
| Aucun                  | 87           | 72     | 61       | 58         | 83          | 21     | 382   | 47,75                    |
| Primaire               | 31           | 32     | 37       | 38         | 38          | 4      | 180   | 22,50                    |
| Secondaire             | 18           | 25     | 37       | 44         | 23          | 14     | 161   | 20,13                    |
| Supérieur              | 5            | 16     | 15       | 9          | 6           | 10     | 61    | 7,62                     |
| Coranique              | 9            | 5      | 0        | 1          | 0           | 1      | 16    | 2,00                     |
| Groupes ethniques      |              |        |          |            |             |        |       |                          |
| Akan Sud               | 14           | 16     | 25       | 21         | 33          | 5      | 114   | 14,25                    |
| Akan Est               | 14           | 19     | 15       | 21         | 20          | 9      | 98    | 12,25                    |
| Akan Centre            | 24           | 19     | 30       | 29         | 25          | 10     | 137   | 17,13                    |
| Mandé Sud              | 8            | 6      | 26       | 10         | 15          | 3      | 68    | 8,50                     |
| Mandé Nord             | 29           | 38     | 9        | 10         | 9           | 5      | 100   | 12,50                    |
| Krou                   | 22           | 21     | 27       | 35         | 23          | 11     | 139   | 17,38                    |
| Gour                   | 12           | 16     | 7        | 5          | 3           | 2      | 45    | 5,62                     |
| Autres                 | 27           | 15     | 11       | 19         | 22          | 5      | 99    | 12,37                    |
| Classes d'âge (années) |              |        |          |            |             |        |       |                          |
| [18-30]                | 18           | 11     | 2        | 1          | 2           | 1      | 35    | 4,38                     |
| ]30-45]                | 62           | 64     | 68       | 71         | 64          | 22     | 351   | 43,87                    |
| > 45                   | 70           | 75     | 80       | 78         | 84          | 27     | 414   | 51,75                    |
| Situation sociale      |              |        |          |            |             |        |       |                          |
| Commerçant             | 74           | 74     | 69       | 60         | 52          | 21     | 350   | 43,76                    |
| Etudiant               | 3            | 2      | 2        | 4          | 0           | 1      | 12    | 1,50                     |
| Fonctionnaire          | 14           | 15     | 16       | 20         | 21          | 8      | 94    | 11,75                    |
| Menagère               | 58           | 58     | 58       | 64         | 75          | 20     | 333   | 41,62                    |
| Sans emploi            | 1            | 1      | 5        | 2          | 2           | 0      | 11    | 1,37                     |
| Sexe                   |              |        |          |            |             |        |       |                          |
| Féminin                | 108          | 100    | 127      | 107        | 119         | 36     | 597   | 74,62                    |
| Masculin               | 42           | 50     | 23       | 43         | 31          | 14     | 203   | 25,38                    |

#### **10.1.1. Niveaux de connaissance et d'utilisation de *H. bonariensis* par commune**

Sur l'ensemble des ménages interrogés, 64 % connaissent la plante et 36 % ne la connaissent pas. Le test de Khi-deux montre une différence significative entre ces pourcentages. Le taux de connaissance étant élevé ; ce résultat indique que cette plante est connue des populations enquêtées dans le District d'Abidjan. Pour les communes d'Abobo, d'Anyama et de Cocody, le niveau de connaissance est le même mais moins élevé que celui de Yopougon, Port-Bouët et Bingerville. Il y a donc une différence significative entre ces deux groupes de communes (**Figure 16**). Dans les ménages connaissant la plante, 52 % l'utilisent. On constate ici que la connaissance est liée à l'utilisation car les deux groupes de communes qui ont été identifiés, sont statistiquement les mêmes. A Abobo, Anyama et Cocody, la plante est faiblement utilisée par rapport à Yopougon, Port-Bouët et Bingerville. Par contre, Bingerville montre un niveau d'utilisation plus élevée que dans les communes de Yopougon et Port-Bouët (**Figure 17**).

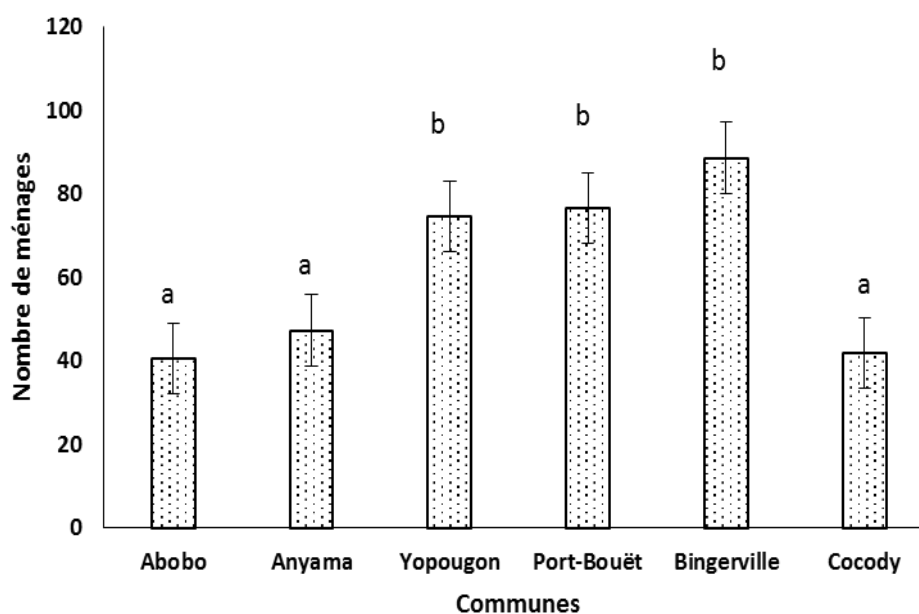
#### **10.1.2. Niveaux de connaissance et d'utilisation de *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique**

Au niveau de la connaissance de cette plante, les Mandé du Nord représentent une faible proportion (**Figure 18**). Il n'y a pas de différence significative entre les autres groupes culturels. A l'exception donc des mandés du Nord, il y a une similarité entre le niveau de connaissance de la plante et le groupe culturel de l'individu interrogé.

Deux classes se dégagent quant à l'utilisation de la plante (**Figure 19**). Ce sont la classe des groupes culturels à forte utilisation (Akan du centre et ressortissants des pays CEDEAO) et la classe des groupes à faible utilisation (Mandé du Nord, ceux du Sud, les Akan du Sud, ceux de l'Est, les Gour et les Krou).

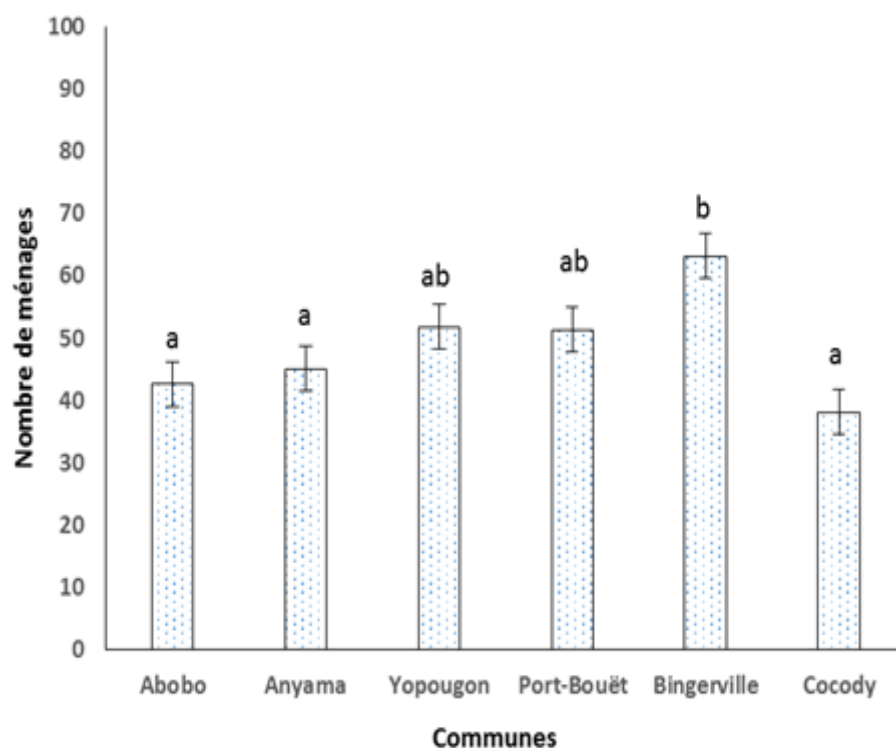
#### **10.1.3. Niveau de consommation de *Hydrocotyle bonariensis* par commune et par groupe ethnique**

Sur l'ensemble des ménages qui utilisent cette plante, 48% en font un usage médicinal, 44% un usage alimentaire et 8% de ménages y ont recours à la fois comme aliment et comme médicament. Au niveau des communes, Bingerville est celle qui montre le plus haut niveau de consommation, suivie d'Abobo et Cocody avec un niveau moyen de consommation. Dans les communes de Port-Bouët, d'Anyama et de Yopougon le niveau de consommation est faible (**Figure 20**). Sur le plan culturel, les huit groupes ethniques consomment cette plante mais ce sont surtout les Akan du Centre qui la consomment davantage (**Figure 21**).



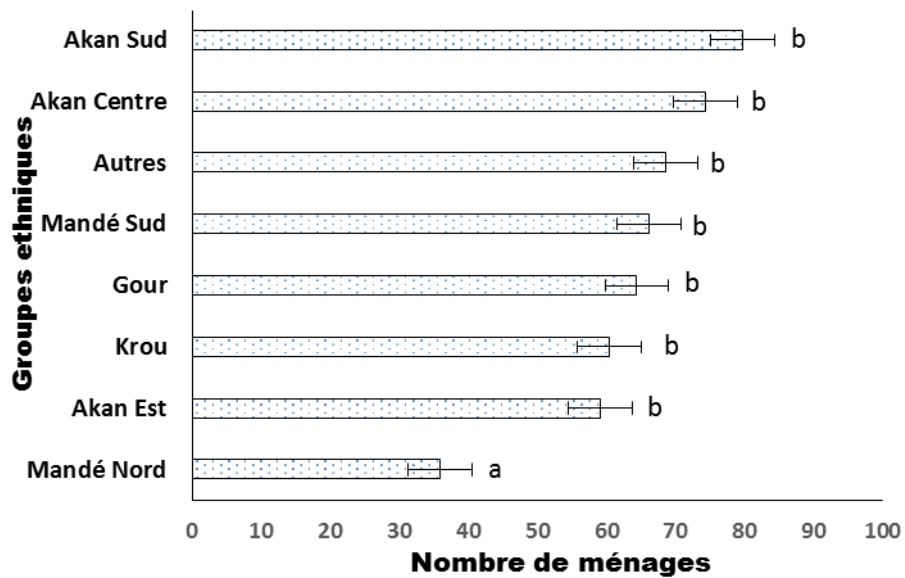
Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )

**Figure 16 :** Diagrammes montrant le niveau de connaissance de *Hydrocotyle bonariensis* par commune



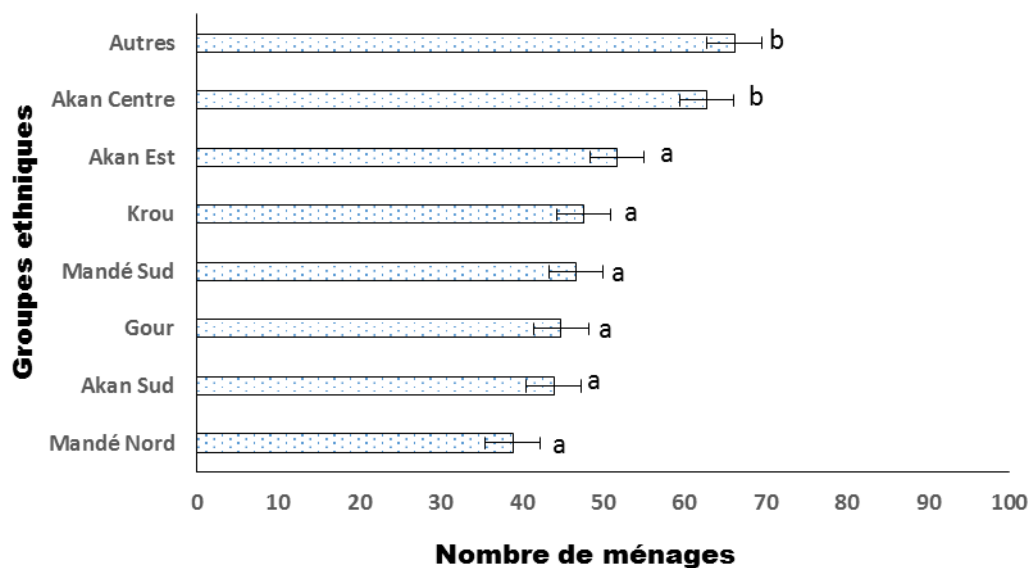
Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )

**Figure 17 :** Diagrammes montrant le niveau d'utilisation de *Hydrocotyle bonariensis* par commune



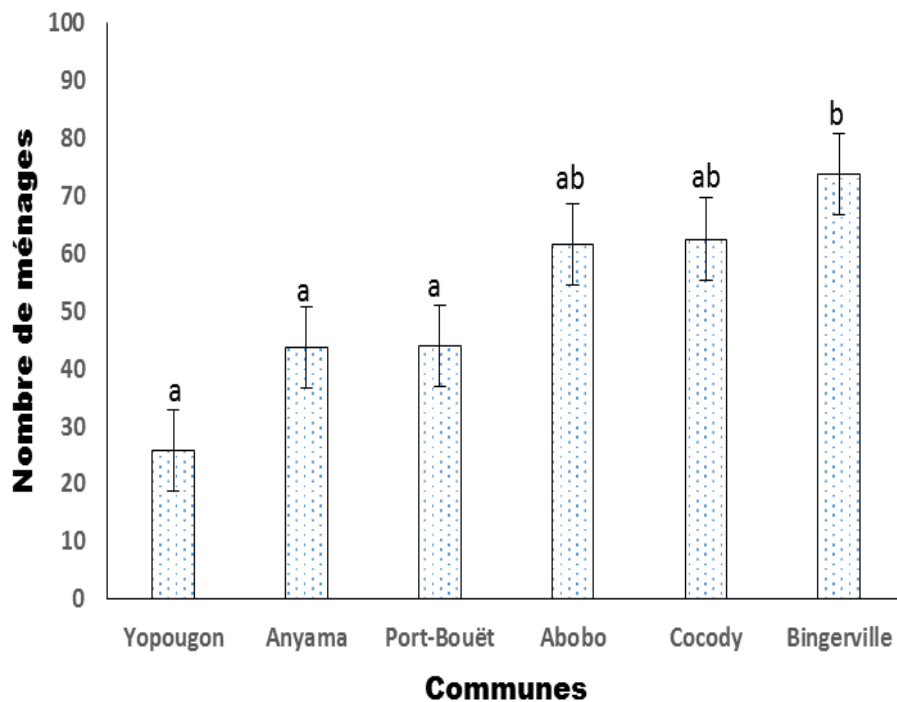
Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )  
**Autres:** ressortissants des pays CEDEAO

**Figure 18 :** Diagramme montrant le niveau de connaissance de *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique



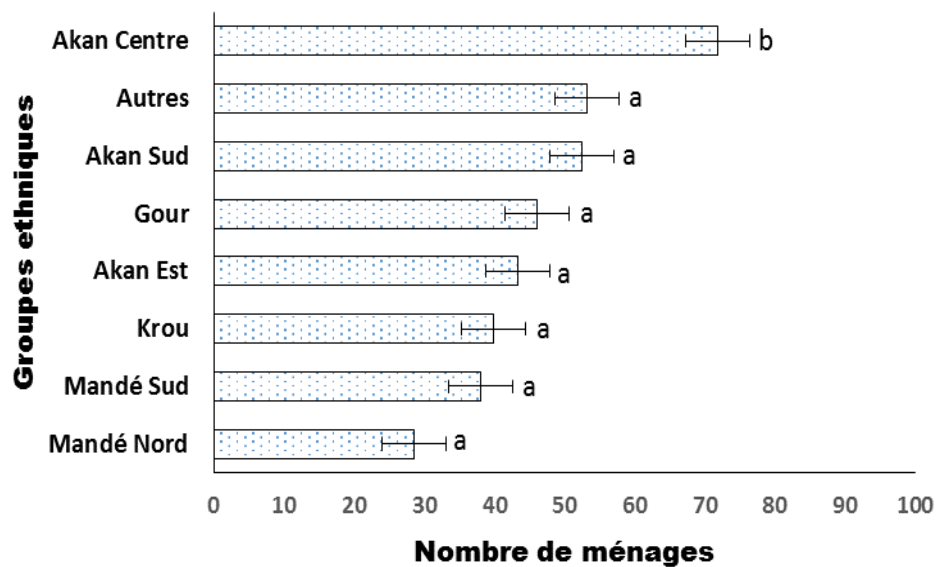
Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ ),  
**Autres:** ressortissants des pays CEDEAO

**Figure 19 :** Diagramme montrant le niveau d'utilisation de *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique



Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )

**Figure 20 :** Diagramme montrant le nombre de ménages consommant *Hydrocotyle bonariensis* par commune



Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )

**Figure 21 :** Diagramme montrant le nombre de ménages consommant *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique

#### **10.1.4. Niveau d'instruction des ménages interrogés et consommation de *Hydrocotyle bonariensis***

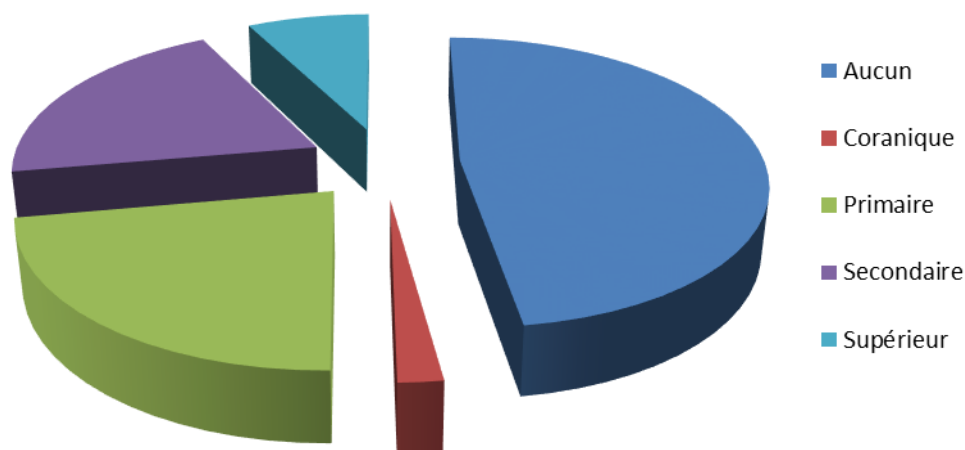
Le niveau d'instruction a une influence significative sur le niveau de consommation (relativement faible de 27%) des feuilles de *H. bonariensis* dans les différents ménages (**Figure 22**). En effet, les ménages sans aucun niveau d'instruction représentent la plus forte proportion de consommateurs (47,75%), suivis des niveaux primaire (22,5%), secondaire (20,12%) et supérieur (7,625%). Quant au niveau coranique, il représente la plus faible proportion (2%).

#### **10.2. Usages médicaux et indice de consensus**

A l'issue de cette enquête, il ressort que *Hydrocotyle bonariensis* rentre dans le renforcement ou le rehaussement du système immunitaire et dans le traitement de nombreuses maladies parmi lesquelles on peut citer le diabète, l'hypertension, les maladies du système digestif, les troubles liés à la reproduction,... (**Tableau II**). Les indices de consensus calculés donnent de faibles valeurs allant de 0,006 à 0,27. Aucun indice n'a atteint une valeur moyenne de consensus (0,5). Les valeurs de consensus les plus élevées ont été obtenues pour les maladies immunitaires (IC = 0,27), les maladies du système digestif (IC = 0,17) et l'hypertension (IC = 0,12).

#### **10.3. Usages alimentaires et indice de consensus**

Sur le plan alimentaire, trois formes sont utilisées dans les ménages (**Tableau III**). La consommation des feuilles sous forme de crudités est la plus utilisée avec un IC de 0,88. Cette valeur élevée indique qu'il y a un accord plus important pour cette forme de consommation que les autres.



**Figure 22 :** Spectre montrant le niveau d'instruction des ménages interrogés

**Tableau II :** Indices de consensus d'utilisation médicinale des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*

| Pathologies                                | Indice de consensus (IC) |
|--------------------------------------------|--------------------------|
| Diabète                                    | 0,01                     |
| <b>Hypertension</b>                        | <b>0,12</b>              |
| <b>Effondrement du système immunitaire</b> | <b>0,27</b>              |
| Croissance                                 | 0,04                     |
| Maladies nutritionnelles                   | 0,01                     |
| Maladies de la peau                        | 0,006                    |
| Maladie dégénératives                      | 0,07                     |
| Maladies du système nerveux                | 0,08                     |
| Maladies neurologiques                     | 0,04                     |
| Maladies liées à la reproduction           | 0,08                     |
| Maladies du système circulatoire           | 0,03                     |
| <b>Maladies du système digestif</b>        | <b>0,17</b>              |
| Maladies infectieuses                      | 0,02                     |
| Maladies du système respiratoire           | 0,06                     |

**Tableau III :** Indices de consensus d'utilisation alimentaire des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*

| Formes de Consommation          | Indice de consensus |
|---------------------------------|---------------------|
| Crudités                        | 0,88                |
| Thé                             | 0,006               |
| Légumes (ajout dans les sauces) | 0,26                |

## **CHAPITRE 11 : Activités biologiques et biochimiques des extraits et de l'huile essentielle**

### **11.1. Rendement des extraits préparés et de l'huile essentielle**

Au total, huit (08) extraits bruts ont été obtenus. Les rendements calculés varient de 0,051 % à 2,122 %. Le rendement le plus élevé est celui de l'extrait méthanolique. Le **tableau IV** donne la masse et le rendement des différents extraits après séchage.

Quant à l'huile essentielle, elle a été obtenue avec un rendement de 0,125 %.

### **11.2. Activité antioxydante des extraits préparés et de l'huile essentielle**

#### **11.2.1. Activité antioxydante des extraits bruts préparés**

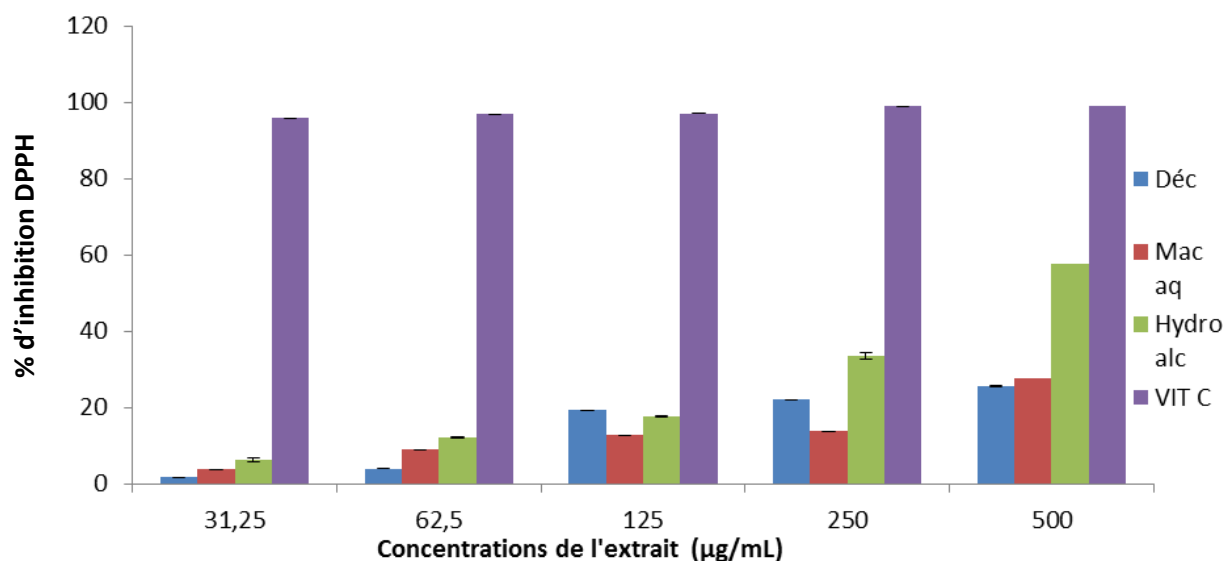
##### **11.2.1.1. Activité antiradicalaire DPPH**

Tous les extraits bruts ont présenté une inhibition du DPPH relativement faible par rapport à celle de la vitamine C (**Figure 23**). La **Figure 24** montre qu'il existe une forte corrélation entre le pourcentage d'inhibition et la concentration de l'extrait ( $R^2 > 0,9$ ).

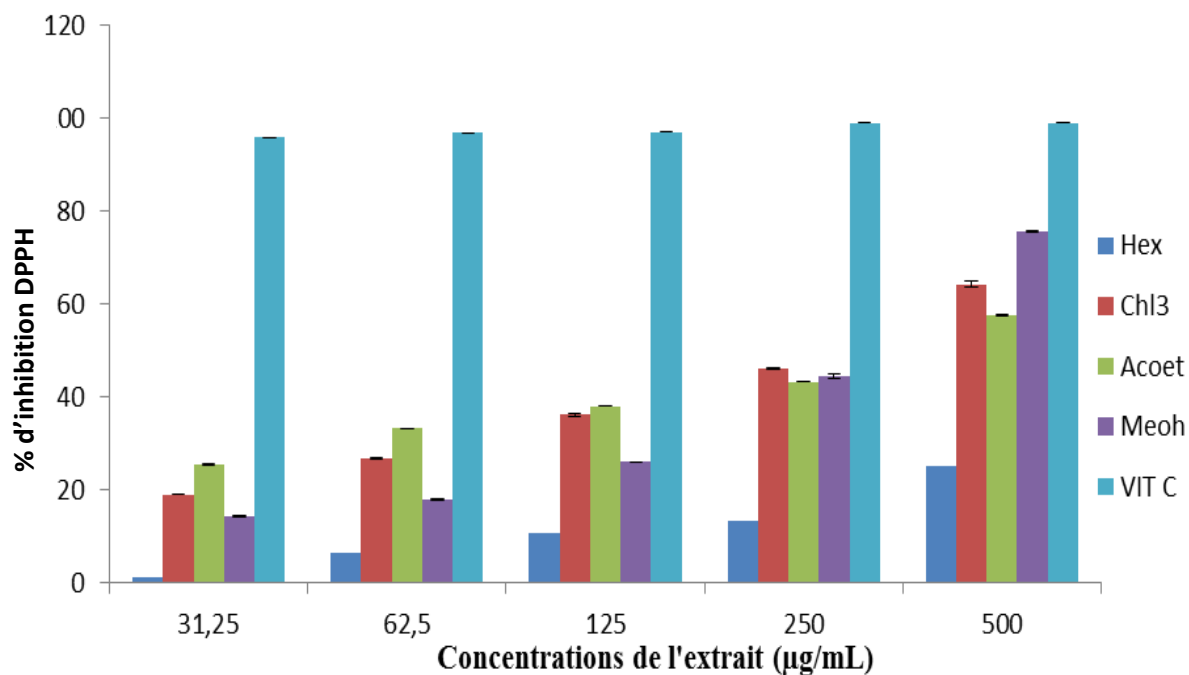
Les  $CI_{50}$  déterminées vont de 294 à 500  $\mu\text{g/mL}$  et plus alors que la vitamine C prise comme référence a présenté une  $CI_{50}$  de 16,4  $\mu\text{g/mL}$ . L'extrait méthanolique possède la plus petite  $CI_{50}$  (294  $\mu\text{g/mL}$ ), elle possède donc l'activité antiradicalaire la plus importante. Ensuite vient l'extrait chloroformique ( $CI_{50} = 296,4 \mu\text{g/mL}$ ), puis l'extrait éthylacétatique ( $CI_{50} = 367,2 \mu\text{g/mL}$ ). A l'exception donc de l'extrait hexanique ( $CI_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ ), les extraits bruts issus de l'extraction successive ont présenté des activités supérieures à ceux obtenus avec l'extraction simple. Il ressort aussi que l'extrait hydroalcoolique avec une  $CI_{50} = 421,2 \mu\text{g/mL}$  a montré une meilleure inhibition du DPPH que le décocté ( $CI_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ ) et le macéré aqueux ( $CI_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ ). Le potentiel antioxydant qui est calculé en fonction du rendement révèle un meilleur potentiel avec l'extrait méthanolique qui est de  $21,67 \pm 14,40 \text{ mg ET/g d'extrait sec}$ . Les extraits chloroformique, éthylacétatique et hexanique ont montré une faible capacité antioxydante au radical DPPH. Quant aux extraits issus de l'extraction simple, les résultats indiquent que le potentiel observé avec l'extrait hydroalcoolique est supérieur à ceux des extraits décocté et macéré aqueux (**tableau V**).



**A**



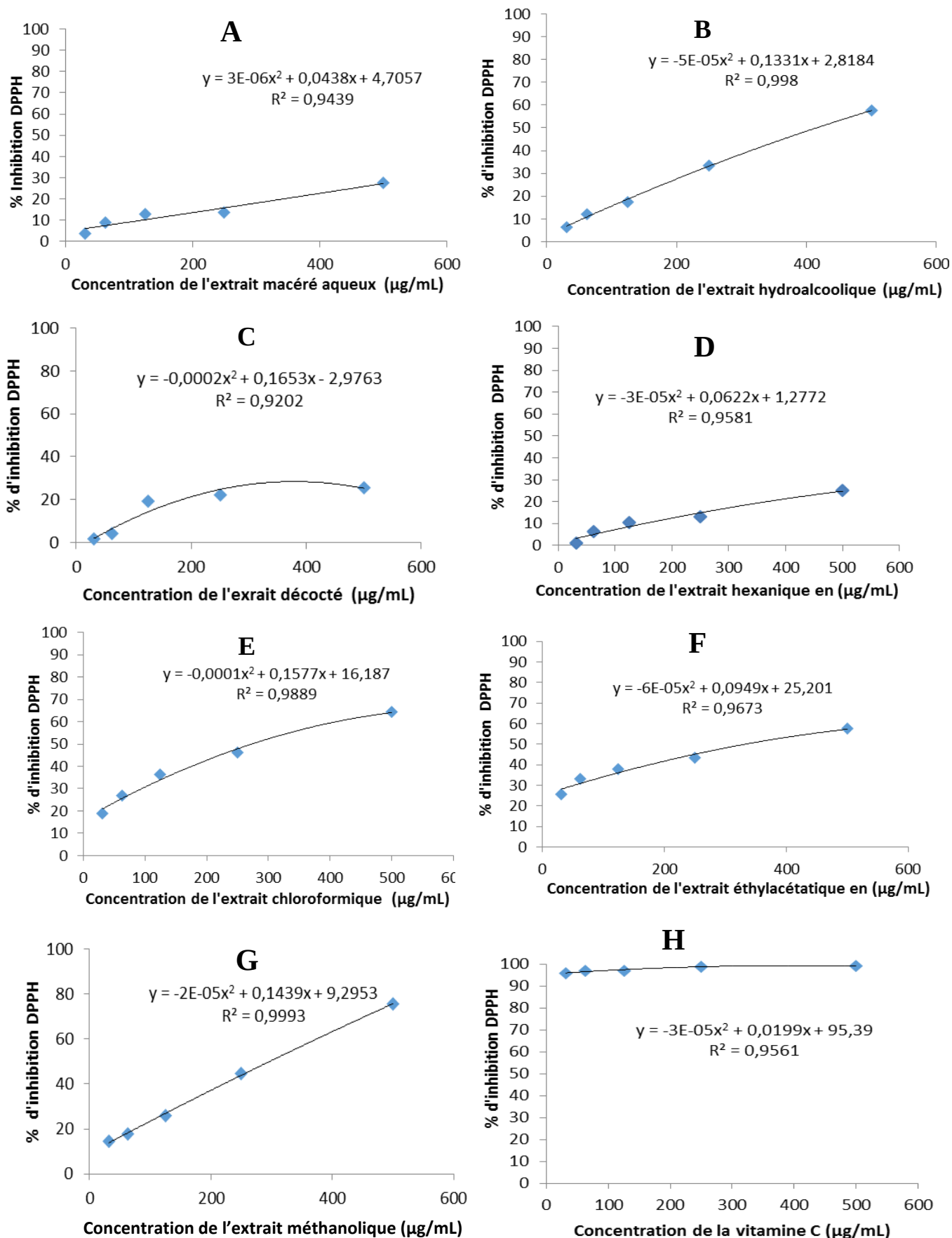
VIT C= Vitamine C, Déc= Décoction, Mac aq.= macération aqueux, Hydro alc= hydroalocoolique



VIT C= Vitamine C, Hex= Hex, Chl3.= chloroformique, ACoet= Ethylacétatique, MeOH= Méthanolique,

**A=** Extraits aqueux, hydroalocoolique et vitamine C ; **B=** Extraits bruts de polarité croissante et vitamine C

**Figure 23 :** Inhibition du DPPH• en fonction de la concentration des extraits bruts de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C



A= extrait macéré aqueux; B= extrait hydroalcoolique (méthanol 80 %) ; C= extrait décocté; D= extrait hexanique; E=extrait chloroformique; F=extrait éthylacétatique; G=extrait méthanolique; H= vitamine C

Figure 24: Courbes de corrélation des pourcentages d'inhibition du DPPH des extraits bruts de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C en fonction de la concentration

**Tableau IV :** Rendement des extraits bruts

|                                  |                                     | Masse de<br>poudre séchée | Masse<br>d'extrait sec | Rendement |
|----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------------|-----------|
| <b>Extraction<br/>simple</b>     | Macéré aqueux (Mac aq)              | 100                       | 0,051                  | 0,051     |
|                                  | Hydroalcoolique (Hydro Alc)         | 100                       | 2,008                  | 2,008     |
|                                  | Décoction (Déc)                     | 100                       | 0,144                  | 0,144     |
| <b>Extraction<br/>successive</b> | Hexanique (Hex)                     | 100                       | 1,024                  | 1,024     |
|                                  | Chloroformique (CHCl <sub>3</sub> ) | 94,02                     | 0,445                  | 0,474     |
|                                  | Ethylacétatique (AcOET)             | 92,38                     | 0,19                   | 0,206     |
|                                  | Méthanolique (MeOH)                 | 90,57                     | 1,92                   | 2,122     |

**Tableau V :** Potentiel à piéger le radical DPPH et concentrations inhibitrices 50 (CI<sub>50</sub>) des extraits bruts et de la Vitamine C

| Standard et extraits            | Rendement | Capacité antioxydante<br>(mg ET/g MS) | CI <sub>50</sub> (µg/mL) |
|---------------------------------|-----------|---------------------------------------|--------------------------|
| Vitamine C                      | nd        | nd                                    | 16,4                     |
| Macéré aqueux                   | 0,051     | 0,19 ± 0,12 <sup>d</sup>              | > 500                    |
| Hydroalcoolique                 | 2,008     | 4,59 ± 11,12 <sup>b</sup>             | 421,2                    |
| Décocté                         | 0,144     | 0,59 ± 0,42 <sup>e</sup>              | > 500                    |
| Hexanique                       | 1,024     | 3,28 ± 2,46 <sup>c</sup>              | > 500                    |
| Chloroformique                  | 0,474     | 5,23 ± 2,27 <sup>b</sup>              | 298,8                    |
| Ethylacétatique                 | 0,206     | 2,33 ± 0,67 <sup>d</sup>              | 361,2                    |
| Méthanolique                    | 2,122     | 21,67 ± 14,40 <sup>a</sup>            | 294                      |
| Paramètres statistiques d'ANOVA |           |                                       |                          |
|                                 | DI        | 7                                     |                          |
|                                 | F         | 8810,21                               |                          |
|                                 | P         | < 0001                                |                          |

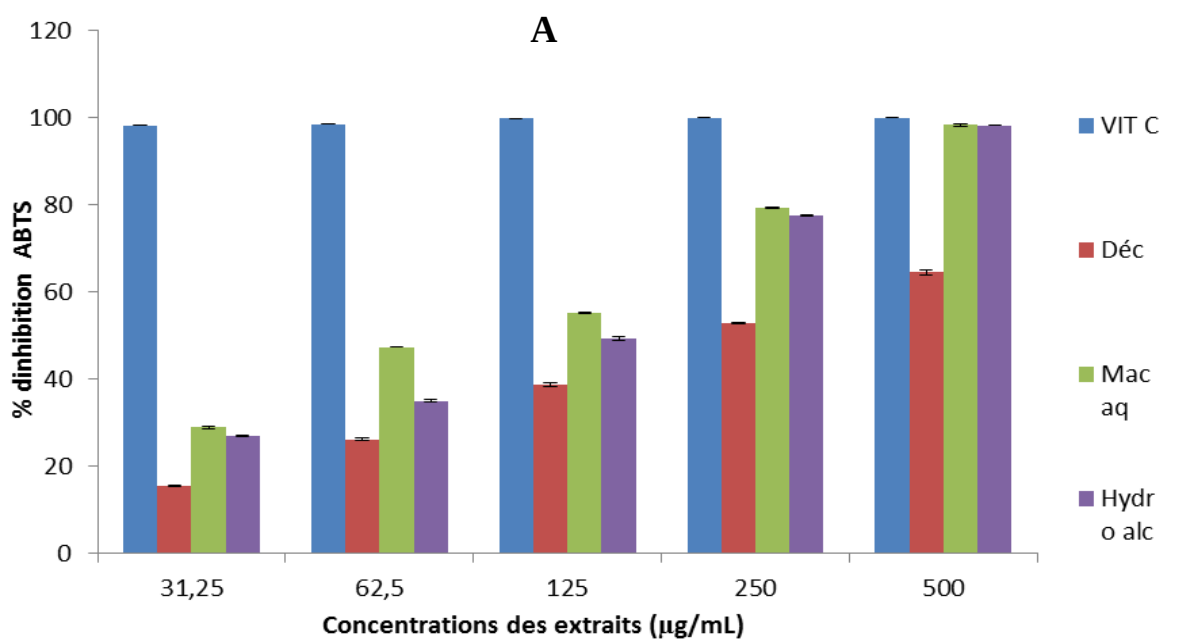
nd= non déterminé ; ET= Equivalent Trolox

Les valeurs portant les mêmes ne sont pas significativement différentes (P=0,0001)

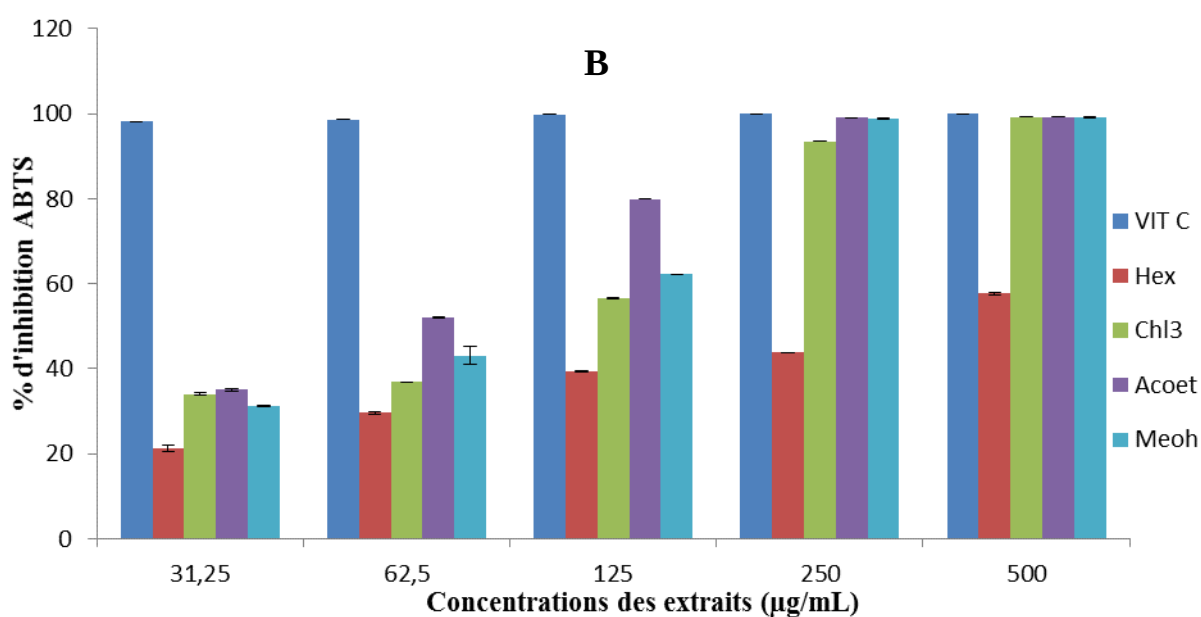
### 11.2.1.2. Activité antiradicalaire ABTS

Les extraits obtenus aussi bien avec l'extraction simple qu'avec l'extraction successive ont tous montré une bonne activité antiradicalaire contre l'ABTS. Les extraits éthylacétatique, méthanolique (**Figure 25 A**) et macéré aqueux (**Figure 25 B**) ont présenté une inhibition plus élevée que tous les autres extraits. L'extrait hexanique a montré une très faible réduction de l'ABTS. Les courbes de corrélation (**Figure 26**) indiquent que l'inhibition est fortement corrélée avec la concentration ( $R^2 > 0,9$ ).

Les concentrations qui inhibent de moitié ( $CI_{50}$ ) l'ABTS déterminées graphiquement vont de 58,8 à 352,2  $\mu\text{g/mL}$ . Quant à la vitamine C, elle a présenté une  $CI_{50}$  de 15,7  $\mu\text{g/mL}$ . Avec l'ABTS, l'extrait éthylacétatique a donné la plus petite  $CI_{50}$  ( $CI_{50} = 58,8 \mu\text{g/mL}$ ). Ensuite, suivent les extraits méthanolique et macéré aqueux qui ont montré la même  $CI_{50}$  ( $CI_{50} = 86,4 \mu\text{g/mL}$ ). L'extrait hexanique a présenté la  $CI_{50}$  la plus élevée qui est de 358,8  $\mu\text{g/mL}$ . Même si l'extrait éthylacétatique a présenté la meilleure  $CI_{50}$ , le calcul du potentiel à neutraliser le DPPH faisant intervenir le rendement indique une faible valeur ( $5,37 \pm 1,99 \text{ mg ET/g d'extrait sec}$ ). Ce potentiel antioxydant est plus important avec l'extraction méthanolique ( $59,21 \pm 26,15 \text{ mg ET/g d'extrait sec}$ ). Il est aussi meilleur avec l'extrait Hydroalcoolique avec une valeur de  $41,14 \pm 20,22 \text{ mg ET/g d'extrait sec}$  (**Tableau VI**).



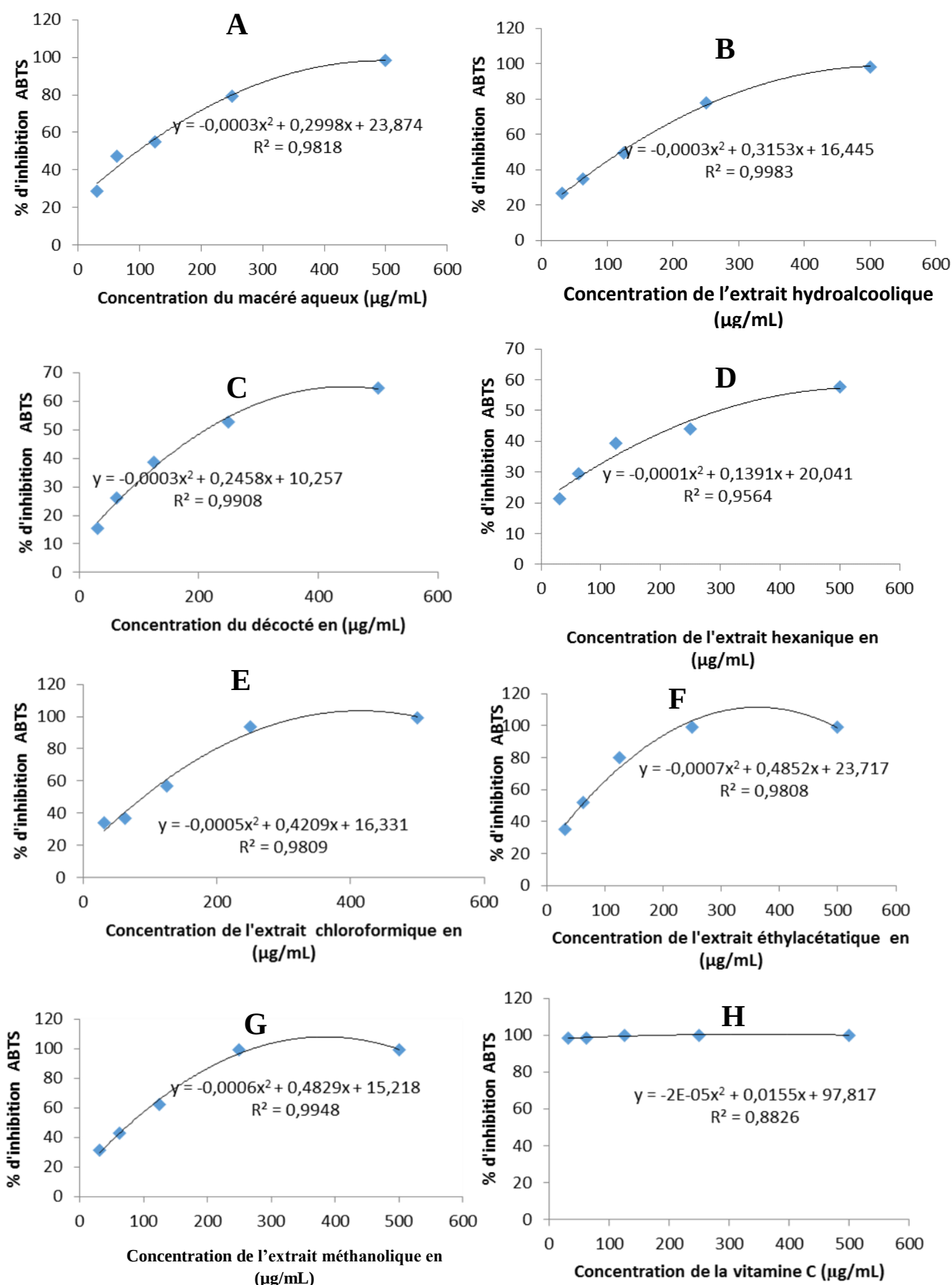
N.B : VIT C= Vitamine C, Déc= Décoction, Mac aq.= macération aqueux, Hydro alc= hydroalocoolique



N.B : VIT C= Vitamine C ; Hex= Hexane ; Chl3= Chloroforme ; ACoet= Acétate d'éthyle ; Meoh= Méthanol

**A**= Extraits aqueux, hydroalocoolique et la vitamine C ; **B**= Extraits bruts de polarité croissante et la vitamine C

**Figure 25:** Inhibition de l'ABTS en fonction de la concentration des extraits bruts de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C



A= macéré aqueux; B= extrait hydroalcoolique (méthanol 80 %) ; C= extrait du décocté; D= extrait hexanique; E=extrait chloroformique; F=extrait éthylacétatique; G=extrait méthanolique; H= vitamine C

**Figure 26 :** Courbes de corrélation des pourcentages d'inhibition de l'ABTS des extraits bruts de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C en fonction de la concentration

**Tableau VI :** Potentiel à piéger le radical ABTS et concentrations inhibitrices 50 (CI<sub>50</sub>) des extraits bruts et de la Vitamine C

| Standard et extraits            | Rendement | Capacité antioxydante<br>(mg ET/g MS) |                      | CI <sub>50</sub> (µg/mL) |
|---------------------------------|-----------|---------------------------------------|----------------------|--------------------------|
| Vitamine C                      | nd        | nd                                    |                      | 15,7                     |
| Macéré aqueux                   | 0,051     | 1,31                                  | ± 0,546 <sup>d</sup> | 58,8                     |
| Hydroalcoolique                 | 2,008     | 41,14                                 | ± 20,22 <sup>a</sup> | 86,4                     |
| Décocté                         | 0,144     | 2,03                                  | ± 0,95 <sup>d</sup>  | 86,4                     |
| Hexanique                       | 1,024     | 13,03                                 | ± 4,44 <sup>b</sup>  | 103,8                    |
| Chloroformique                  | 0,474     | 12,66                                 | ± 5,74 <sup>b</sup>  | 128,4                    |
| Ethylacétatique                 | 0,206     | 5,37                                  | ± 1,99 <sup>c</sup>  | 226,8                    |
| Méthanolique                    | 2,122     | 59,21                                 | ± 26,15 <sup>a</sup> | 358,8                    |
| Paramètres statistiques d'ANOVA |           |                                       |                      |                          |
|                                 | DI        |                                       | 7                    |                          |
|                                 | F         |                                       | 44992,5              |                          |
|                                 | P         |                                       | < 0001               |                          |

nd= non déterminé ; ET= Equivalent Trolox

Les valeurs portant les mêmes ne sont pas significativement différentes (P=0,0001)

### **11.2.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis***

#### **11.2.2.1. Activité antiradicalaire DPPH**

Les résultats montrent que l'huile essentielle a eu une activité antiradicalaire contre le DPPH (**Figure 27**). Cette activité est moins importante ( $CI_{50} = 139,2 \mu\text{g/mL}$ ) que celle de la vitamine C ( $CI_{50} = 16,4 \mu\text{g/mL}$ ). La **Figure 28** montre qu'il existe une corrélation entre l'activité antiradicalaire DPPH et la concentration en HE. L'inhibition du DPPH est plus importante lorsque la concentration de l'HE augmente. L'activité antioxydante de l'HE qui est 8 fois plus petite que celle de la vitamine C dépend donc de sa concentration.

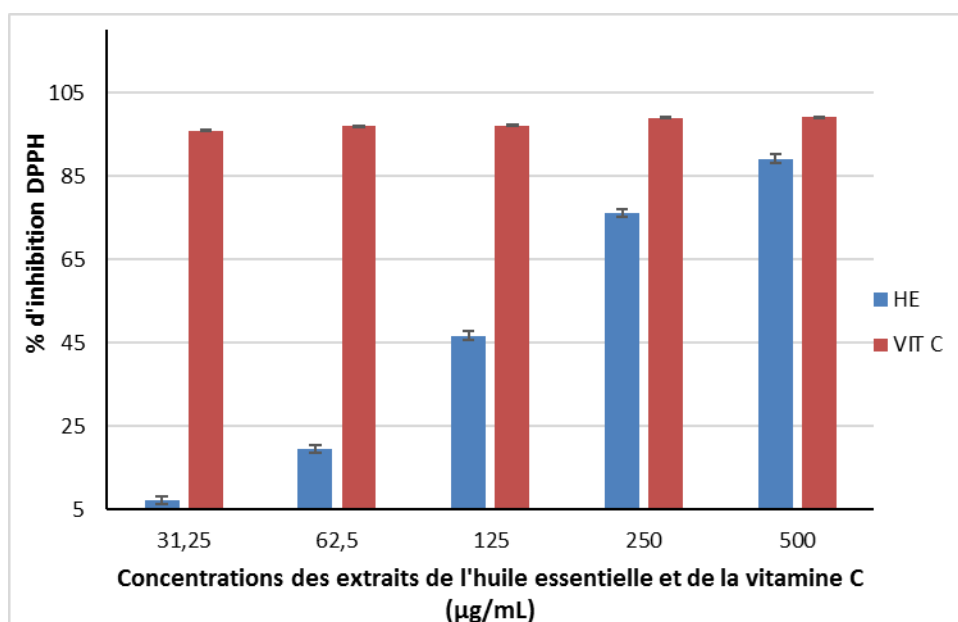
Le potentiel antioxydant au DPPH de l'HE observé est faible. Ce potentiel est de  $1,69 \pm 1,17 \text{ mg ET/g d'extrait sec}$ .

#### **11.2.2.2. Activité antiradicalaire ABTS**

Les résultats de l'activité de l'HE à inhiber le radical  $ABTS^+$  montrent que cette huile possède une importante activité contre le radical ABTS (**Figure 29**). Cette activité est d'autant plus importante lorsque la concentration de l'HE augmente, correspondant également à une action dose dépendante (**Figure 30**). La détermination des  $CI_{50}$  montre que celle de l'HE ( $CI_{50}=15,9 \mu\text{g/mL}$ ) est superposable à celle de la vitamine C ( $CI_{50}=15,7 \mu\text{g/mL}$ ).

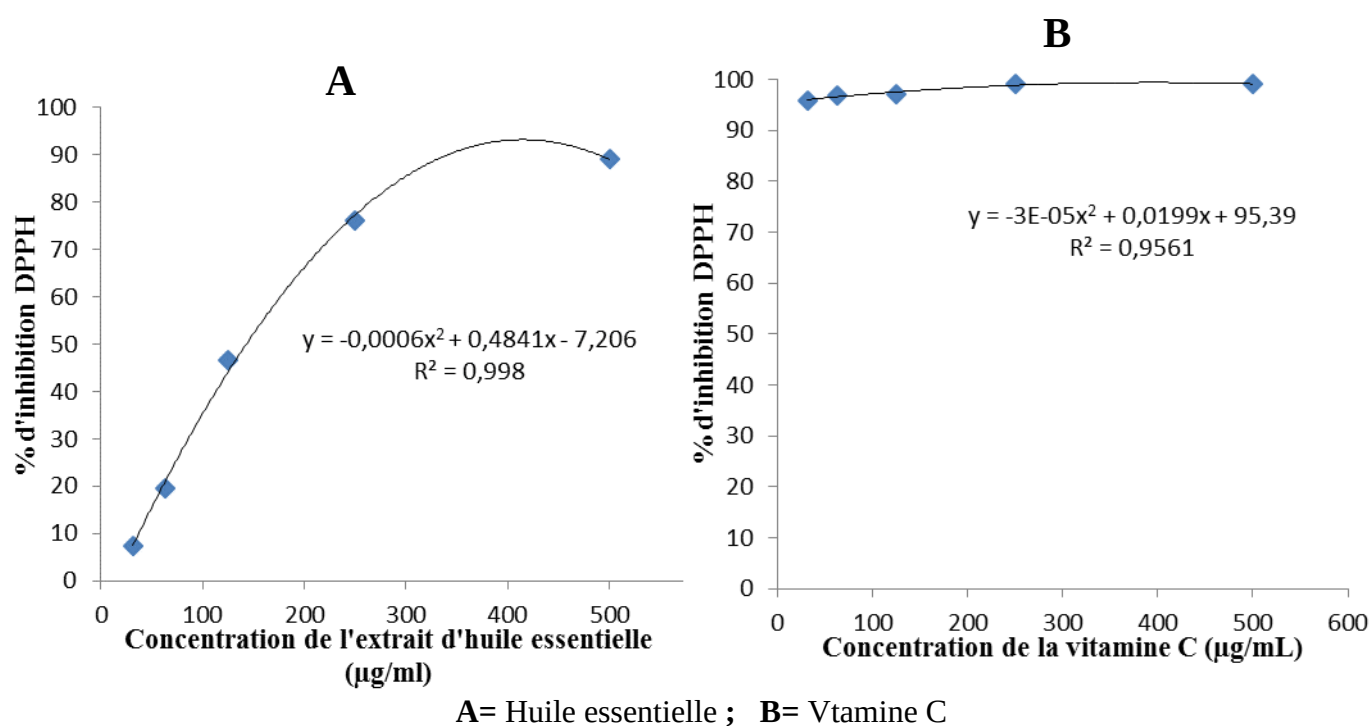
L'activité antiradicalaire de l'HE n'est pas en corrélation avec le potentiel antioxydant à l'ABTS. Cette capacité antioxydante est de  $4,38 \pm 0,03 \text{ ET/g d'extrait sec}$ .



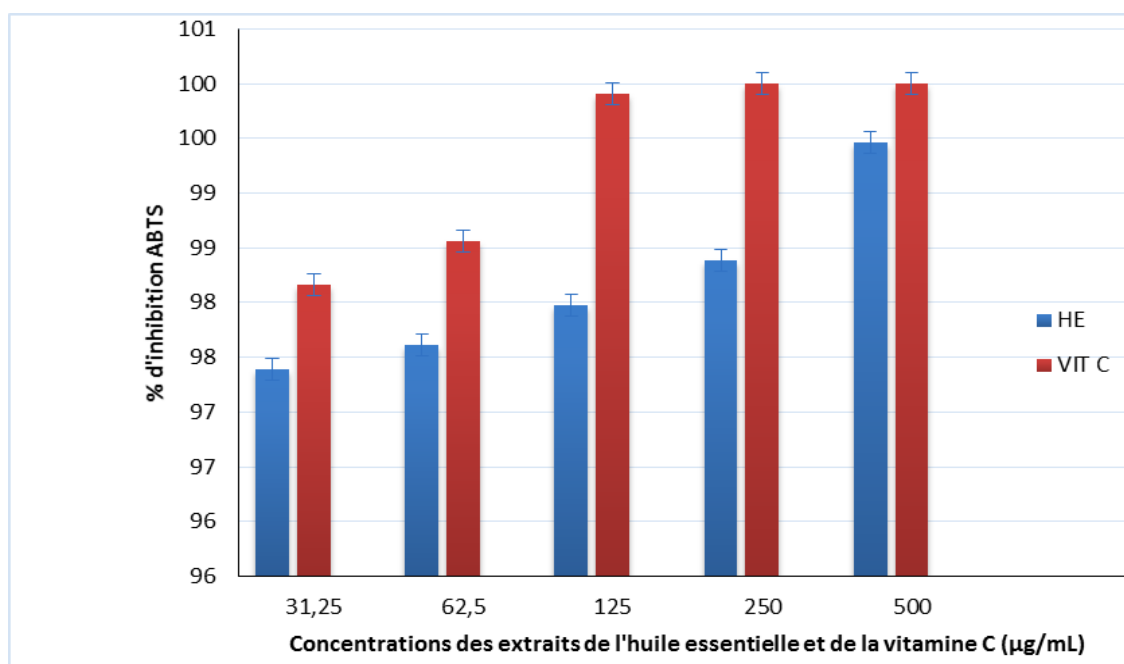


HE= Huile Essentielle ; Vit C= Vitamine C

**Figure 27 :** Inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C



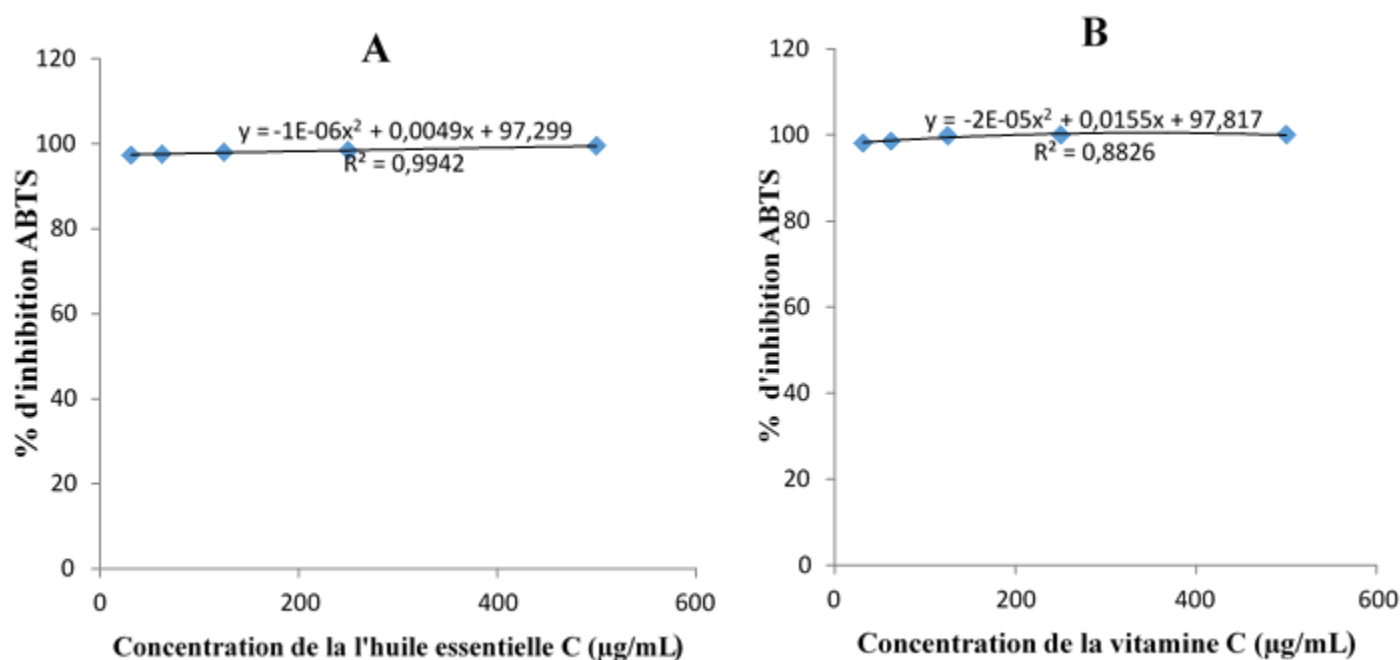
**Figure 28 :** Courbes de corrélation des pourcentages d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C en fonction de la concentration



HE= Huile Essentielle ; Vit C= Vitamine C

**Figure 29 :** Inhibition de l'ABTS en fonction de la concentration de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C

**A=** Huile essentielle ; **B=** Vitamine C



**Figure 30 :** Courbes de corrélation des pourcentages d'inhibition de l'ABTS de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* et de la vitamine C en fonction de la concentration

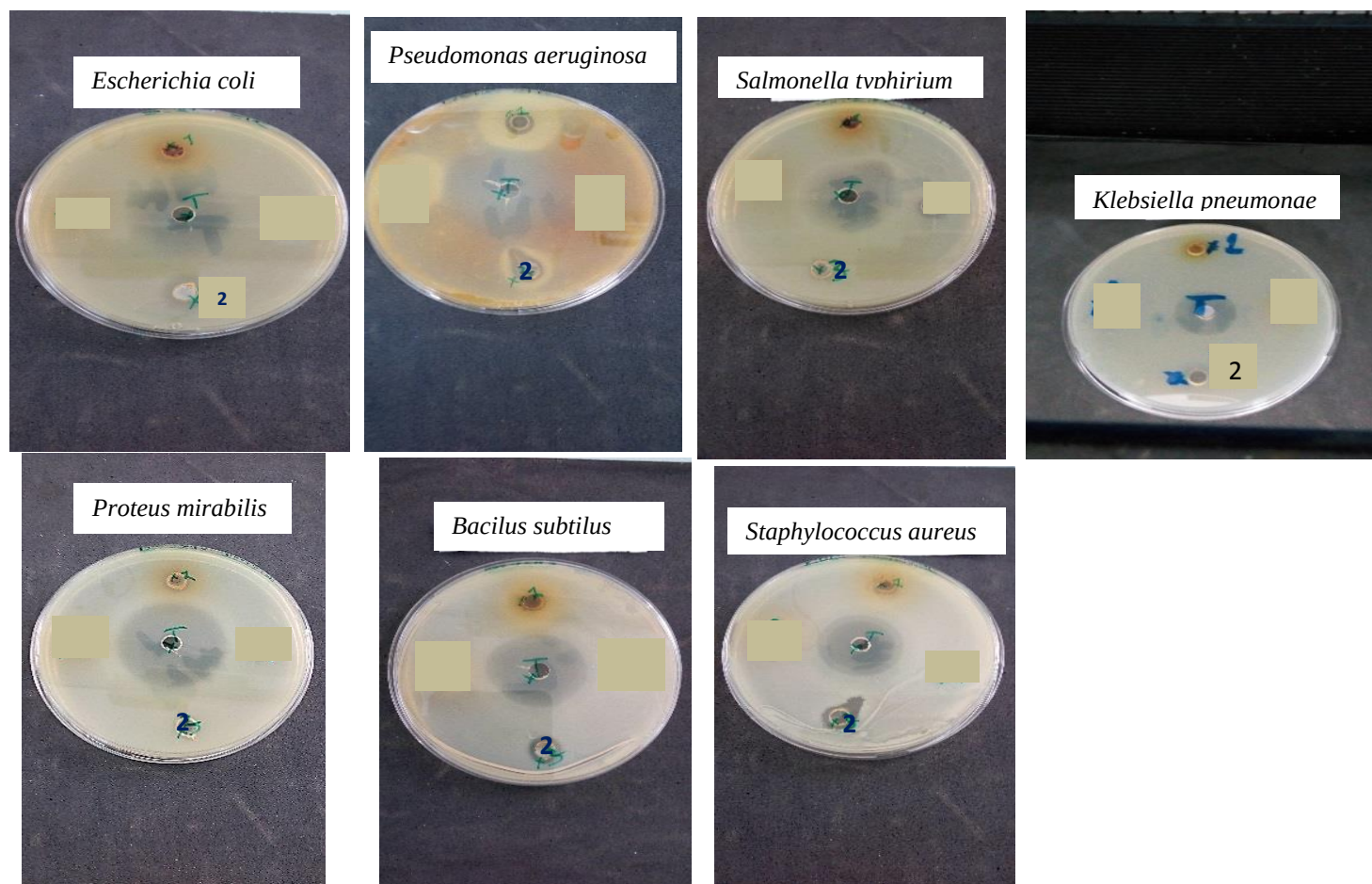
### 11.3. Activités antibactérienne, antifongique et anticancéreuse de *Hydrocotyle bonariensis*

Les activités antibactérienne et antifongique ont été réalisées sur l'HE et les extraits aqueux. Rappelons que l'extrait macéré aqueux n'a pas pu être sélectionné pour la suite des tests antimicrobiens ; ce sont le décocté et l'HE qui ont été testés. L'activité anticancéreuse n'a concerné que l'HE.

#### 11.3.1. Activité antibactérienne

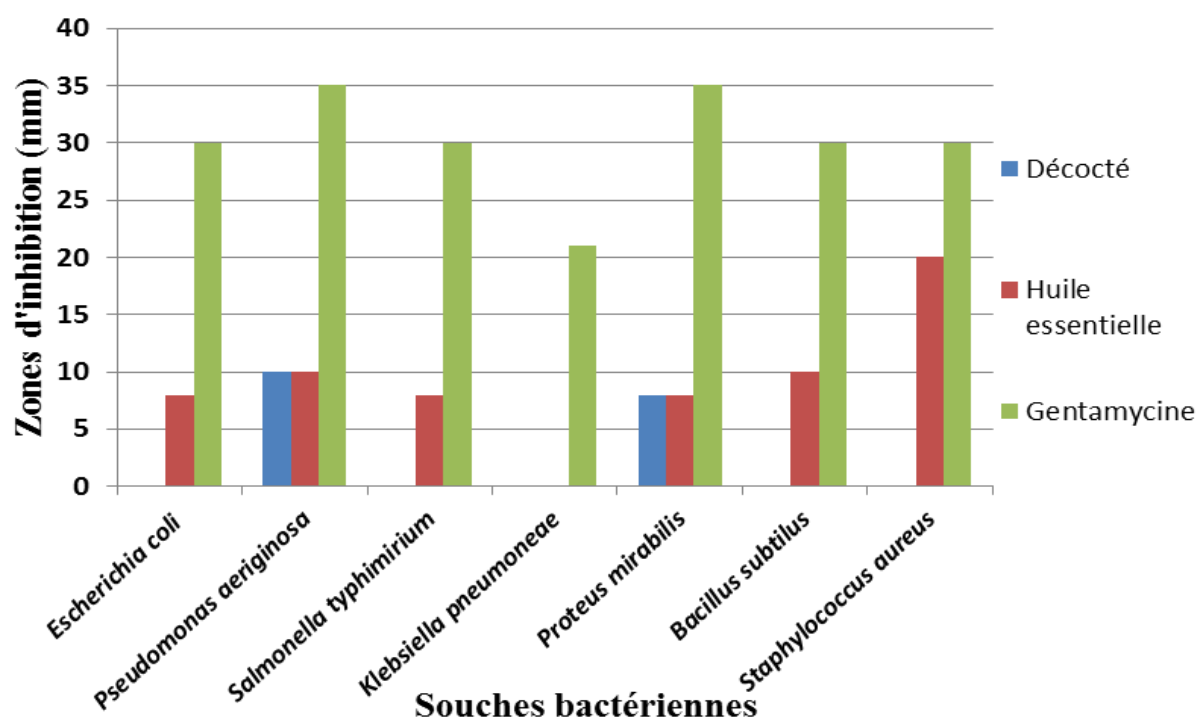
Les activités des extraits bruts sur les différentes bactéries sont représentées à la **Figure 31**. Ce criblage antibactérien a permis de déterminer les diamètres des zones d'inhibition de chaque extrait. Ces résultats montrent que parmi toutes les bactéries à Gram (-), seule *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 a été sensible à l'HE et l'extrait aqueux testés. Le diamètre d'inhibition (d.i.) est de 10 mm contre 35 mm pour l'antibiotique de référence (gentamycine). Ces extraits ont donc une faible activité contre *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 avec  $8 < \text{d.i.} < 14 \text{ mm}$ .

Sur les bactéries à Gram (+), l'extrait d'HE a été actif sur *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 et sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Les diamètres des zones d'inhibition sont respectivement de 10 et 20 mm. Il en découle que l'HE a une activité remarquable sur *S. aureus* CIP 483 car à la concentration de 1 mg/mL, elle présente une forte activité (d.i.= 20 mm) sur cette souche bactérienne. L'extrait aqueux est inactif sur les bactéries à Gram (+) testées (**Figure 32**). Les CMI et CMB déterminées (**Tableau VII**) et des rapports CMB/CMI calculés (**Tableau VIII**) ont indiqué le type du pouvoir antibactérien des extraits.



1= extrait brut aqueux; 2= Huile essentielle ; T= Témoin (Gentamycine)

**Figure 31 :** Activités des extraits testés et de la gentamycine sur les bactéries sur gélose Mueller-Hinton



**Figure 32 :** Diamètres d'inhibition des bactéries par les extraits d'huile essentielle et du décocté de *Hydrocotyle bonariensis* par rapport à la gentamicine à 1mg/mL

**Tableau VII :** CMI et CMB des extraits d'huile essentielle, du décocté de *Hydrocotyle bonariensis* et de la gentamicine

| Souches               |                                             |      |                                          |       |                                       |       |
|-----------------------|---------------------------------------------|------|------------------------------------------|-------|---------------------------------------|-------|
| Extraits et Référence | <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>CIP 103467 |      | <i>Staphylococcus aureus</i><br>CIP 4.83 |       | <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633 |       |
|                       | CMI                                         | CMB  | CMI                                      | CMB   | CMI                                   | CMB   |
| Décocté               | 3,75                                        | 30   | nd                                       | nd    | Nd                                    | nd    |
| HE                    | 3,75                                        | 30   | 3,75                                     | 15    | 3,75                                  | 30    |
| Gentamicine           | 0,005                                       | 0,01 | 0,0025                                   | 0,005 | 0,0025                                | 0,005 |

nd= non déterminé

**Tableau VIII :** Rapports CMB/CMI et pouvoir antibactérien des extraits d'huile essentielle, du décocté et de la gentamicine

|                               | Décocté        |                |                | Huile essentielle |                |                | Gentamycine     |                |                |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
|                               | <i>P. aeru</i> | <i>S. aur.</i> | <i>B. sub.</i> | <i>P. aeru.</i>   | <i>S. aur.</i> | <i>B. sub.</i> | <i>P. aeru.</i> | <i>S. aur.</i> | <i>B. sub.</i> |
| Rapports CMB/CMI              | 8              | -              | -              | 8                 | 15             | 8              | 2               | 2              | 2              |
| Type de pouvoir antibactérien | Bst.           | -              | -              | Bst.              | Bactéricide    | Bst.           | Bactéricide     | Bactéricide    | Bactéricide    |

*P. aeru* = *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aur.* = *staphylococcus aureus*, *B. sub* = *Bacillus subtilis*,  
Bst.= Bactériostatique

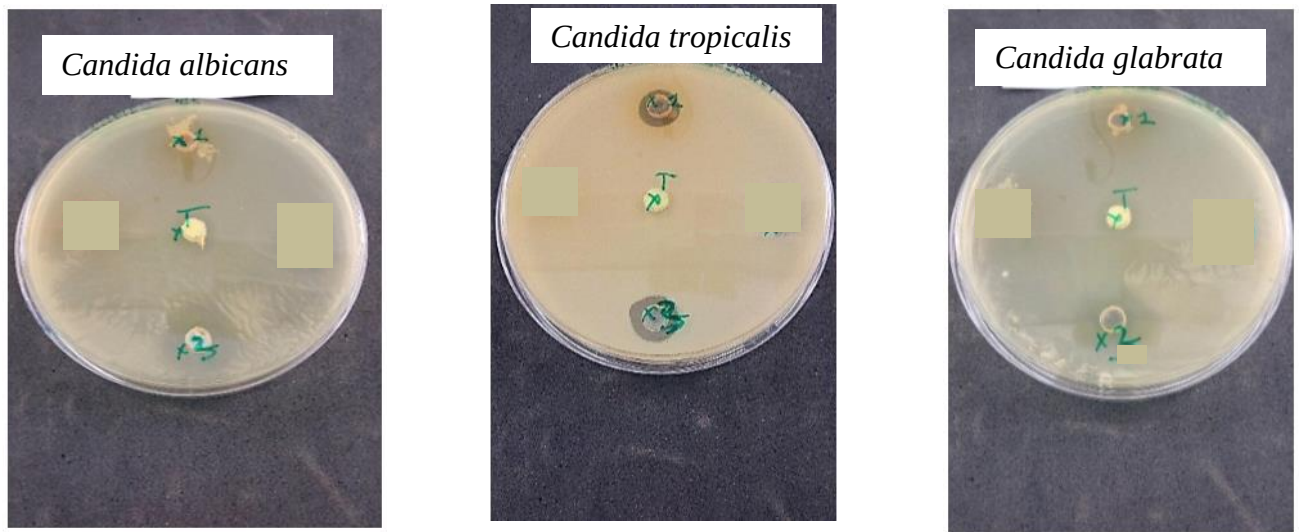
### 11.3.2. Activité antifongique

La **figure 33** met en exergue les activités des extraits sur les espèces du genre *Candida* testées. Les diamètres des zones d'inhibition sont présentés à la **figure 34**. Ces figures montrent que l'HE a une action inhibitrice sur ces trois espèces du genre *Candida* alors que le décocté n'a eu d'effet que sur *Candida tropicalis* ATCC 13803.

La détermination des CMI et CMF (**Tableau IX**) et les rapports CMF/CMI (**Tableau X**) a permis de connaître le pouvoir fongicide ou fongistatique de chaque extrait sur les souches testées. On note que sur *C. tropicalis* ATCC 13803, les deux extraits ont un effet fongicide (CMF/CMI = 4). Quant à *C. albicans* ATCC 10231 et *C. glabrata* ATCC 15126, seul l'HE a montré une action fongistatique (CMF/CMI = 8). L'amphotéricine B (antibiotique de référence) a montré une activité fongicide sur ces souches de *candida* utilisées.

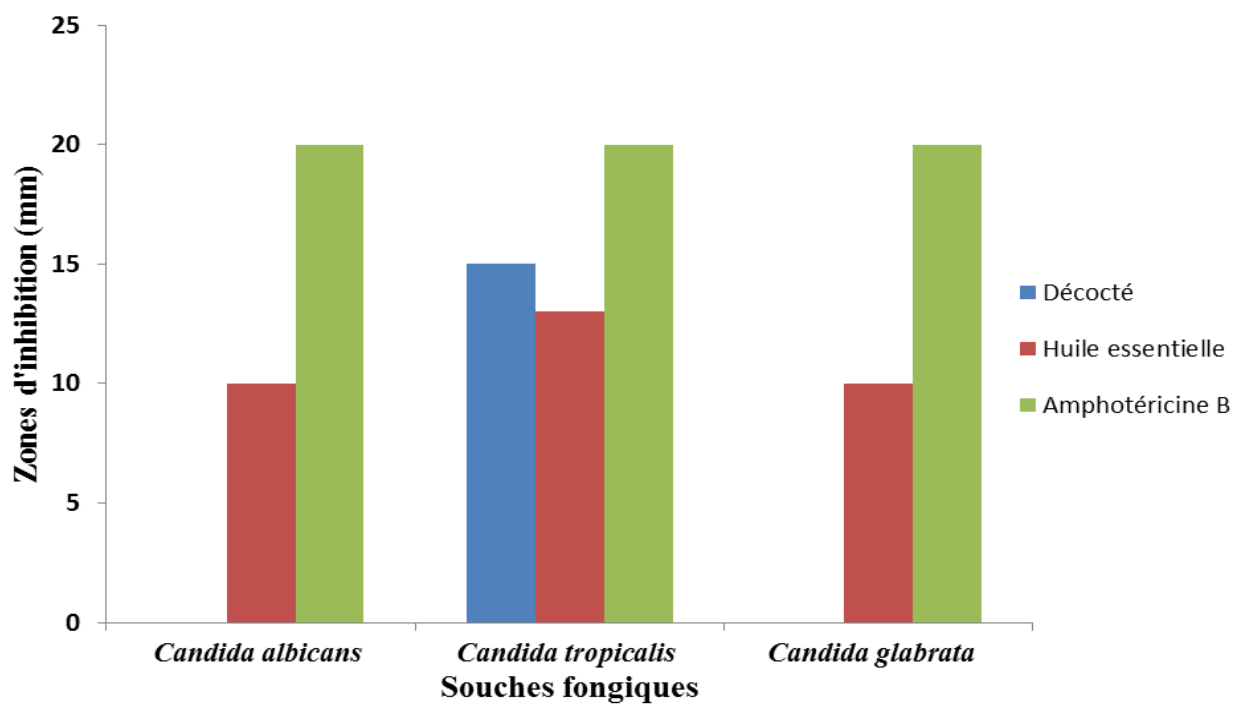
### 11.3.3. Activité anticancéreuse *in vitro* de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

La détermination de la viabilité des cellules CA 431 (lignée cancéreuse humaine de la vulve) dans les puits de culture a permis de relever que l'HE des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis* a un effet antiprolifératif sur ces cellules. La  $CI_{50}$  déterminée est de 9,45 µg/mL. A 0,05 mg/mL, l'huile a une toxicité considérable sur les cellules cancéreuses qui présentent une faible viabilité qui est de 21 %. En deçà de la dose de 0,005 mg/mL, la viabilité des cellules est supérieure à 50 % (**Figure 35**).



1= extrait brut du décocté ; 2= Extrait brut d'huile essentielle ; T= Témoin (Amphotéricine B)

**Figure 33 :** Activités des extraits d'huile essentielle et du décocté de *Hydrocotyle bonariensis* sur les souches de *Candida* utilisées



**Figure 34 :** Diamètres d'inhibition des souches de *Candida* par les extraits d'huile essentielle et le décocté de *Hydrocotyle bonariensis* par rapport à l'Amphotéricine B à 1 mg/mL

**Tableau IX :** CMI et CMF des extraits d'huile essentielle, du décocté de *Hydrocotyle bonariensis* et de l'amphotéricine B

|                       |    | Souches                               |      |                                         |       |                                       |       |
|-----------------------|----|---------------------------------------|------|-----------------------------------------|-------|---------------------------------------|-------|
|                       |    | <i>Candida albicans</i><br>ATCC 10231 |      | <i>Candida tropicalis</i><br>ATCC 13803 |       | <i>Candida glabrata</i><br>ATCC 15126 |       |
| Extraits<br>Référence | et | CMI                                   | CMB  | CMI                                     | CMB   | CMI                                   | CMB   |
| Décocté               |    | nd                                    | Nd   | 3,75                                    | 15    | Nd                                    | nd    |
| Huile essentielle     |    | 3,75                                  | 30   | 3,75                                    | 15    | 3,75                                  | 30    |
| Amphotéricine B       |    | 0,005                                 | 0,01 | 0,0025                                  | 0,005 | 0,0025                                | 0,005 |

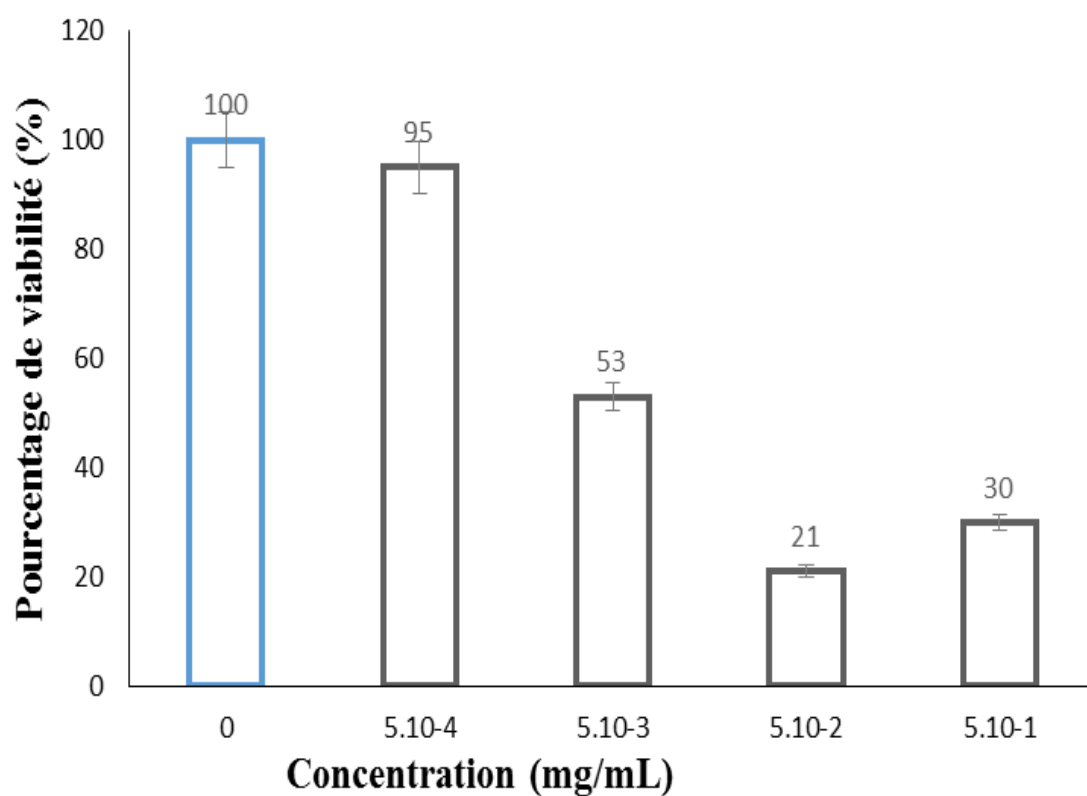
nd= non déterminé

**Tableau X :** Rapports CMF/CMI et pouvoir antifongique des extraits d'huile essentielle, du décocté et de la gentamycine

|                                    | Décocté         |                  |                 | Huile essentielle |                 |                  | Amphotéricine B |                  |                 |
|------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
|                                    | <i>C. albi.</i> | <i>C. tropi.</i> | <i>C.glabr.</i> | <i>C. Albi.</i>   | <i>C.tropi.</i> | <i>C. glabr.</i> | <i>C.albi.</i>  | <i>C. tropi.</i> | <i>C.glabr.</i> |
| Rapports<br>CMB/CMI                | -               | 4                | -               | 8                 | 4               | 8                | 2               | 2                | 2               |
| Type de<br>pouvoir<br>antifongique | Fongicide       | -                | -               | Fst               | Fongicide       | Fst              | Fongicide       | Fongicide        | Fongicide       |

*C. albi.* = *Candida albicans* ; *C. tropi.* = *Candida tropicalis* ; *C. glabr.* = *Candida glabrata*  
Fst= Fongistatique





**Figure 35 :** Diagramme montrant les pourcentages de viabilité des cellules cancéreuses étudiées en fonction de la concentration de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

## CHAPITRE 12 : Composition phytochimique qualitative et quantitative

### 12.1. Composition phytochimique qualitative

#### 12.1.1. Composition phytochimique des extraits préparés

##### 12.1.1.1. Quelques caractéristiques des extraits bruts

Les extraits obtenus présentent une coloration verte sauf les extraits hexanique, chloroformique et éthylacétatique. Ils sont tous d'aspect pâteux et sans aucune odeur caractéristique à l'exception des extraits aqueux qui ont une odeur aromatique.

##### 12.1.1.2. Criblage phytochimique des extraits bruts au moyen de la CCM

Le criblage phytochimique a été effectué sur les extraits hexanique, chloroformique, éthylacétatique et méthanolique. Les résultats ont permis d'identifier plusieurs composés dans les extraits bruts (**Tableaux XI-XVIII**). Les chromatogrammes visualisés sous UV à 366 nm (**Annexes 6-9**) présentent des taches de fluorescences diverses correspondant à plusieurs classes de métabolites secondaires.

##### 12.1.1.2.1. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait hexanique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait hexanique des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis* au moyen de la CCM avec l'éluant cyclohexane/éthylacétate (8:2, v/v) a donné les résultats consignés dans les **tableaux XI et XII** et présentés à l'**annexe 6**. Avant révélation dans le visible, cinq spots jaunes de  $R_f = 0,09; 0,16; 0,26; 0,42; 0,87$  et un spot vert de  $R_f = 0,52$  ont été observés. A l'UV 366 nm, ces taches apparaissent sous diverses couleurs jaune orangé, jaune et rouge. Plusieurs groupes de composés chimiques ont été observés après la révélation des chromatogrammes.

Les stérols avec 12 spots violets sont observés dans le visible et à 366 nm en présence du réactif de Godin. Ces taches ont des  $R_f = 0,04; 0,06; 0,14; 0,2; 0,35; 0,4; 0,43; 0,5; 0,56; 0,64; 0,85; \text{ et } 0,93$  et correspondent aux saponines ou iridoïdes. Avec le réactif de Liebermann-Büchard, trois autres spots sont apparus en vert et jaune dans le visible et ils s'intensifient en fluorescence jaune à 366 nm avec les  $R_f = 0,05; 0,51 \text{ et } 0,93$ .

Les terpènes apparaissent en rouge ( $R_f = 0,27$ ) à 366 nm sans révélation, mais sont révélés en vert clair ( $R_f = 0,25$ ) avec le réactif de Godin. Le réactif de Liebermann-Büchard les classifie en triterpènes de type oléane ou ursane si les taches ont une fluorescence rouge sous UV/366 nm comme observé au spot de  $R_f = 0,58$ .

Les coumarines sont apparues en jaune par le KOH dans le visible, puis leur couleur a changé et s'est intensifiée sous UV à 366 nm. Le changement de couleur

observée aux  $R_f = 0,06; 0,13; 0,25; 0,38; 0,44; 0,50; 0,83$  et  $0,94$  indique qu'elles sont de base structurale de la daphnétine. En plus de ces huit coumarines déjà révélées, l'acétate de plomb a permis d'identifier d'autres coumarines matérialisées par des spots de fluorescences jaunes avec des  $R_f = 0,04$  et  $0,9$  et bleu à  $R_f = 0,8$ .

On note donc que l'extrait hexanique renferme majoritairement des stérols et des triterpènes, mais aussi des coumarines.

**Tableau XI :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait hexanique révélés avec les réactifs de Godin et de Liebermann-Buchard

| Avant révélation |            |           |         |           |              | Couleurs après révélation |              |                                 |            |           |              |                                        |
|------------------|------------|-----------|---------|-----------|--------------|---------------------------|--------------|---------------------------------|------------|-----------|--------------|----------------------------------------|
| Visible          |            | UV 254 nm |         | UV 366 nm |              | Godin <sup>1</sup>        |              | Liebermann-buchard <sup>2</sup> |            |           |              | Composés possibles                     |
|                  |            |           |         |           |              | Rf                        | Couleur      | Visible                         |            | UV 366 nm |              |                                        |
| Rf               | Couleur    | Rf        | Couleur | Rf        | Couleur      |                           |              | Rf                              | Couleur    |           |              |                                        |
| 00               | Vert       | 00        | Gris    | 00        | Orange       | 00                        | Gris         | 00                              | Vert pale  | 00        | Orange       | Trit <sup>2</sup>                      |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,04                      | Violet       | 0,05                            | Vert pale  | -         | Jaune brun   | Stér <sup>1, 2</sup>                   |
| 0,09             | Jaune      | -         | -       | 0,1       | Jaune orange | 0,06                      | Violet       | -                               | -          | -         | -            | Stér <sup>1</sup>                      |
| 0,16             | Jaune      | 0,16      | Gris    | 0,17      | Jaune        | 0,14                      | Violet       | 0,16                            | Vert clair | 0,15      | Orange       | Stér <sup>1</sup> /Trit <sup>2</sup>   |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,2                       | Violet       | -                               | -          | 0,19      | Bleu violacé | Stér <sup>1</sup>                      |
| -                | -          | -         | -       | 0,21      | Rouge        | -                         | -            | -                               | -          | 0,22      | Orange       | -                                      |
| 0,26             | Jaune      | -         | -       | 0,27      | Rouge        | 0,25                      | Vert clair   | 0,28                            | Vert clair | 0,26      | Violet clair | Trit <sup>1</sup>                      |
| -                | -          | 0,32      | Gris    | -         | -            | -                         | -            | -                               | -          | 0,31      | Orange       | Tri <sup>2</sup>                       |
| 0,38             | Vert pâle  | -         | -       | 0,38      | Jaune Orange | 0,35                      | Violet clair | 0,38                            | Vert clair | 0,36      | Violet clair | Stér <sup>1</sup>                      |
| 0,42             | Jaune      | -         | -       | 0,42      | Rouge        | 0,4                       | Violet       | -                               | -          | 0,41      | Orange       | Stér <sup>1</sup> /Trit <sup>2</sup>   |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,43                      | Violet       | -                               | -          | 0,45      | Violet clair | Stér <sup>1</sup>                      |
| 0,52             | Vert       | 0,51      | Gris    | 0,51      | Rouge        | 0,5                       | Violet       | 0,5                             | Vert       | 0,51      | Jaune brun   | Stér <sup>1, 2</sup>                   |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,56                      | Violet       | -                               | -          | 0,58      | Rouge        | Stér <sup>1</sup> /Ol&urs <sup>2</sup> |
| -                | -          | 0,65      | Gris    | 0,62      | Rouge        | 0,64                      | Violet       | -                               | -          | -         | -            | Stér <sup>1</sup>                      |
| 0,69             | Jaune pâle | -         | -       | -         | -            | -                         | -            | -                               | -          | -         | -            | -                                      |
| 0,75             | Jaune pâle | -         | -       | 0,76      | Brun         | -                         | -            | -                               | -          | -         | -            | -                                      |
| 0,81             | Jaune      | -         | -       | -         | -            | 0,81                      | Jaune        | -                               | -          | -         | -            | -                                      |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,85                      | Violet       | 0,8                             | Brun       | 0,82      | Bleu violacé | Stér <sup>1</sup>                      |
| 0,87             | Jaune      | 0,87      | Gris    | 0,88      | Jaune        | 0,87                      | Jaune vert   | -                               | -          | -         | -            | -                                      |
|                  |            |           |         |           |              | 0,93                      | Violet       | 0,94                            | Jaune vert | 0,95      | Jaune        | Stér <sup>1, 2</sup>                   |

Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub>/Eluant : Cyclohexane / Ethylacétate 8 : 2

Trit= triterpènes ; Stér= Stérols ; Ol&urs= triterpènes de type oléane ou ursane ; <sup>1</sup>= Composés révélés avec le réactif de Godin ; <sup>2</sup>= Composés révélés avec le réactif de Liebermann-Büchard

**Tableau XII :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait hexanique révélés avec l'acétate de Plomb et le KOH

| Avant révélation |         |           |         | Couleurs après révélation     |              |         |                 |                  |            |         |            |        |         |       |         | Composés<br>possibles              |
|------------------|---------|-----------|---------|-------------------------------|--------------|---------|-----------------|------------------|------------|---------|------------|--------|---------|-------|---------|------------------------------------|
|                  |         |           |         | Acétate de Plomb <sup>3</sup> |              |         |                 | KOH <sup>4</sup> |            |         |            |        |         |       |         |                                    |
| Visible          |         | UV 254 nm |         | UV 366 nm                     |              | Visible |                 | UV 366 nm        |            | Visible |            | UV 254 |         | UV366 |         |                                    |
| Rf               | Couleur | Rf        | Couleur | Rf                            | Couleur      | Rf      | Couleur         | Rf               | Couleur    | Rf      | Couleur    | Rf     | couleur | Rf    | Couleur |                                    |
| 00               | Vert    | 00        | Gris    | 00                            | Orange       | 00      | Orange          | 00               | Orange     | 00      | Jaune      | 00     | Gris    | 00    | Orange  | -                                  |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | 004     | Jaune           | 0,04             | Vert cl.   | 0,07    | Jaune      | 0,05   | Gris    | -     | -       | Coum <sup>3</sup>                  |
| 0,09             | Jaune   |           |         | 0,1                           | Jaune orange | 0,10    | Orange          | 0,10             | Orange     | -       | -          | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| 0,16             | Jaune   | 0,16      | Gris    | 0,17                          | Jaune        | 0,14    | Orange          | 0,14             | Orange     | 0,13    | Jaune      | 0,13   | Gris    | 0,13  | Orange  |                                    |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | 0,2     | Orange          | 0,2              | Orange     | -       | -          | 0,19   | Gris    | -     | -       | -                                  |
| -                | -       | -         | -       | 0,21                          | Rouge        | -       | -               | -                | -          | -       | -          | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| 0,26             | Jaune   | -         | -       | 0,27                          | Rouge        | 0,25    | Violet<br>clair | 0,25             | Violet cl. | 0,25    | Jaune P    | 0,28   | Gris    | 0,29  | Orange  | -                                  |
| -                | -       | 0,32      | Gris    | -                             | -            | 0,3     | Rouge<br>pale   | 0,3              | Rouge pale | -       | -          | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| 0,38             | vert P  | -         | -       | 0,38                          | Jaune Orange | 0,36    | Rose cl.        | 0,36             | Rose cl.   | 0,36    | Jaune P    | 0,35   | Gris    | 0,38  | Orange  | -                                  |
| 0,42             | Jaune   | -         | -       | 0,42                          | Rouge        | 0,41    | Rouge P.        | 0,41             | Rouge P    | -       | -          | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | -       | -               | -                | -          | 0,44    | Jaune p    | 0,43   | Gris    | 0,44  | Orange  | -                                  |
| 0,52             | Vert    | 0,51      | Gris    | 0,51                          | Rouge        | 0,5     | Rouge<br>noir   | 0,5              | Rouge noir | 0,50    | Jaune brun | 0,5    | Gris    | 0,5   | Orange  | -                                  |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | 0,55    | Rouge           | 0,55             | Rouge      | -       | -          | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| -                | -       | 0,65      | Gris    | 0,62                          | Rouge        | 0,62    | Rose            | 0,62             | Rose       | 0,61    | Jaune P    | 0,6    | Gris    | 0,6   | Orange  | -                                  |
| 0,69             | Jaune P | -         | -       | -                             | -            | -       | -               | -                | -          | -       | -          | 0,69   | Gris    | -     | -       | -                                  |
| 0,75             | Jaune P | -         | -       | 0,76                          | Brun         | -       | -               | -                | -          | 0,73    | Jaune P    | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | -       | -               | -                | -          | 0,78    | Jaune P    | -      | -       | -     | -       | -                                  |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | 0,8     | Bleu cl.        | 0,8              | Bleu cl.   | -       | -          | -      | -       | 0,83  | Orange  | Coum <sup>3</sup> /Dh <sup>4</sup> |
| 0,87             | Jaune   | 0,87      | Gris    | 0,88                          | Jaune        | 0,9     | Jaune<br>brun   | 0,9              | Vert cl.   | -       | -          | 0,9    | Gris    | -     | -       | Coum <sup>3</sup> /Dh <sup>4</sup> |
| -                | -       | -         | -       | -                             | -            | -       | -               | -                | -          | 0,93    | Jaune      | -      | -       | 0,94  | Orange  |                                    |

Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub>/Eluant : Cyclohexane / Ethylacétate 8 : 2

Coum= Coum Dh= Comarines de base structurale de daphnéine ; Cl= clair ; P= pâle <sup>3</sup>= Composés révélés par l'Acétate de Plomb ; <sup>4</sup>=Composés révélés par KOH

#### 12.1.1.2.2. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait chloroformique

Les résultats obtenus par CCM avec l'extrait chloroformique sont donnés dans les **tableaux XIII et XIV**.

Les CCM révélés avec les réactifs de Liebermann-Bürchard puis visualisés sous UV à 366 nm certifient la présence de terpènes par les fluorescences de diverses couleurs (**Annexe 7**). Les spots rouges sous UV 366 nm de  $R_f = 0,10$ ; 0,39 et 0,71 sont des triterpènes de type oléanane ou ursanne, celui ( $R_f = 0,91$ ) de couleur jaune orange à 366 nm est de type lupane. Le spot violet à  $R_f = 0,04$  dans le visible, correspond à une génine triterpénique. Les alcaloïdes apparaissent en orange dans le visible avec le réactif de Dragendorff ( $R_f = 0,05$ ).

Les polyphénols sont apparus en présence du trichlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) en vert aux  $R_f = 0,1$ ; 0,28; 0,44; 0,56 et 0,92.

Les spots gris dans le visible en présence du  $\text{FeCl}_3$  aux  $R_f = 0,04$ ; 0,10; 0,12; 0,19; 0,56; 0,75 et 0,92 correspondent aux tanins.

Les flavonoïdes sont matérialisés par des spots jaune et vert dans le visible et diverses fluorescences jaune orangé, rouge, rose, jaune pâle et jaune vert sous UV à 366 nm. Les tâches jaunes ou vertes observées dans le visible correspondent à des flavonols avec un OH libre en C3, les flavanols avec OH libre en C3 ou sans OH libre en C5, les aurones, les chalcones et les quercétines. Ce sont les spots de  $R_f = 0,16$  ; 0,2; 0,41. Quant aux spots jaunes ou verts observés au visible et apparaissant oranges ou rouges sous UV à 366 nm ( $R_f = 0,09$ ; 0,28; 0,51; 0,72 et 0,92), ils indiquent les anthocyanidines-3-glycosides, les flavones, les xanthones et les chalcones.

En somme, l'extrait chloroformique contient des terpènes, des alcaloïdes, des polyphénols tels que les tanins, et les flavonoïdes.

**Tableau XIII :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait chloroformique révélés avec les réactifs de Libermann-Buchard, Dragendorff et de FeCl<sub>3</sub>

| Avant révélation |             |           |         |           |              | Couleurs après révélation      |             |      |             |                          |             |                                |           |                                                           |
|------------------|-------------|-----------|---------|-----------|--------------|--------------------------------|-------------|------|-------------|--------------------------|-------------|--------------------------------|-----------|-----------------------------------------------------------|
| Visible          |             | UV 254 nm |         | UV 366 nm |              | Libermann-Buchard <sup>1</sup> |             |      |             | Dragendorff <sup>2</sup> |             | FeCl <sub>3</sub> <sup>3</sup> |           | Composés possibles                                        |
| Rf               | Couleur     | Rf        | Couleur | Rf        | Couleur      | Visible                        | UV366       | Rf   | Couleur     | Visible                  | UV366       | Rf                             | Couleur   |                                                           |
| 00               | Brun        | 00        | Gris    | 00        | Jaune        | 00                             | Brun        | 00   | Brun        | 00                       | Orange      | 00                             | Gris      | Alc <sup>2</sup> /Tan <sup>3</sup>                        |
| -                | -           | -         | -       | 0,03      | Jaune orangé | 0,04                           | Violet pâle | -    | -           | 0,05                     | Orange      | 0,04                           | Gris      | Alc <sup>2</sup> /Tan <sup>3</sup> /G.tri <sup>1</sup>    |
| 0,09             | Vert foncé  | 0,1       | Gris    | 0,1       | Rouge noir   | 0,1                            | Vert        | 0,10 | Rouge       | -                        | -           | 0,1                            | Vert gris | Ol&urs <sup>1</sup> /Tan <sup>3</sup> / Poly <sup>3</sup> |
| -                | -           | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | 0,12                     | Vert        | 0,12                           | Gris      | Tan <sup>3</sup> /Poly <sup>3</sup>                       |
| 0,19             | Jaune clair | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | 0,19                     | Vert pâle   | 0,19                           | Gris      | Poly <sup>3</sup> /Tan <sup>3</sup>                       |
| 0,26             | Jaune clair | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |
| -                | -           | -         | -       | 0,28      | Jaune        | 0,31                           | Bleu        | -    | -           | -                        | -           | 0,28                           | Vert      | Poly <sup>3</sup>                                         |
| -                | -           | -         | -       | 0,36      | Rose         | -                              | -           | 0,39 | Rouge pale  | -                        | -           | -                              | -         | Ol&urs <sup>1</sup>                                       |
| 0,42             | Jaune       | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |
| -                | -           | 0,44      | Gris    | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | -                        | -           | 0,44                           | Vert pâle | Poly <sup>3</sup>                                         |
| 0,5              | Jaune       | 0,49      | Gris    | 0,49      | Jaune brun   | 0,48                           | Vert        | -    | -           | 0,49                     | Vert clair  | -                              | -         | -                                                         |
| -                | -           | 0,55      | Gris    | 0,56      | Rose         | 0,56                           | Vert        | 0,55 | Brun        | 0,55                     | vert foncé  | 0,56                           | Vert gris | Tan <sup>3</sup> /Poly <sup>3</sup>                       |
| -                | -           | 0,61      | Gris    | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |
| -                | -           | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | 0,68 | Bleu clair  | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |
| -                | -           | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | 0,71 | Rouge       | 0,72                     | Brun orangé | -                              | -         | Ol&urs <sup>1</sup>                                       |
| 0,75             | Vert        | 0,75      | Gris    | 0,75      | Rouge noir   | 0,74                           | Jaune vert  | -    | -           | -                        | -           | 0,75                           | Gris      | Tan <sup>3</sup>                                          |
| -                | -           | 0,81      | Gris    | 0,82      | Rouge        | -                              | -           | -    | -           | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |
| -                | -           | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | 0,91 | Jaune Rouge | 0,9                      | Brun        | 0,92                           | Vert gris | trit <sup>1</sup> /Tan <sup>3</sup> /Poly <sup>3</sup>    |
| 0,91             | Vert        | 0,91      | Gris    | 0,91      | Rouge noir   | 0,91                           | Jaune vert  | -    | -           | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |
| 0,94             | Jaune       | -         | -       | -         | -            | -                              | -           | -    | -           | -                        | -           | -                              | -         | -                                                         |

Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub> ; Eluant: chloroforme/Ethylacétate/hexane (8 :2 :1)

Alc= Alcaloïdes ; Tan= Tanins ; Tri= Triterpènes ; Poly= Polyphénols ; G.tri= Génines triterpéniques ; <sup>1</sup> = Composés révélés par Libermann-Buchard; <sup>2</sup> = Composés révélés par le réactif de Dragendorff ; <sup>3</sup> = Composés révélés par FeCl<sub>3</sub>

**Tableau XIV :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait chloroformique révélés avec le réactif  $\text{AlCl}_3$

| Avant révélation |             |        |         |        |              | Couleurs après révélation |            |                                |         |       |              |                    |
|------------------|-------------|--------|---------|--------|--------------|---------------------------|------------|--------------------------------|---------|-------|--------------|--------------------|
|                  |             |        |         |        |              |                           |            | AlCl <sub>3</sub> <sup>4</sup> |         |       |              | Composés possibles |
| Visible          |             | UV 254 |         | UV 366 |              | Visible                   |            | UV254                          |         | UV366 |              |                    |
| Rf               | Couleur     | Rf     | Couleur | Rf     | Couleur      | Rf                        | Couleur    | Rf                             | Couleur | Rf    | Couleur      |                    |
| 00               | Brun        | 00     | Gris    | 00     | Jaune        | 00                        | Jaune brun | 00                             | Gris    | 00    | Orange       | Flav <sup>4</sup>  |
|                  |             |        |         | 0,03   | Jaune orangé |                           |            |                                |         |       |              |                    |
| 0,09             | Vert foncé  | 0,1    | Gris    | 0,1    | Rouge noir   | 0,09                      | Vert brun  | 0,09                           | Gris    | 0,09  | Rouge noir   | Flav <sup>4</sup>  |
| 0,19             | Jaune clair | -      | -       | -      | -            | 0,16                      | Jaune pâle | 0,16                           | Gris    | -     | -            | Flav <sup>4</sup>  |
| -                | -           | -      | -       | -      | -            | 0,2                       | Jaune pâle | 0,2                            | Gris    | 0,2   | Jaune pâle   | Flav <sup>4</sup>  |
|                  |             |        |         |        |              |                           |            |                                |         |       |              | Flav <sup>4</sup>  |
| 0,26             | Jaune clair | -      | -       | -      | -            | -                         | -          | -                              | -       | -     | -            | -                  |
| -                | -           | -      | -       | 0,28   | Jaune        | 0,28                      | Jaune pâle | 0,28                           | Gris    | 0,28  | Rouge pâle   | Flav <sup>4</sup>  |
| -                | -           | -      | -       | 0,36   | Rose         |                           |            |                                |         |       |              |                    |
| 0,42             | Jaune       |        |         | -      | -            | 0,41                      | Jaune      | 0,41                           | Gris    | 0,41  | Jaune orangé | Flav <sup>4</sup>  |
|                  |             | 0,44   | Gris    |        |              |                           |            |                                |         |       |              |                    |
| 0,5              | Jaune       | 0,49   | Gris    | 0,49   | Jaune brun   | 0,51                      | Jaune      | 0,51                           | Gris    | 0,51  | Orange       | Flav <sup>4</sup>  |
| -                | -           | 0,55   | Gris    | 0,56   | Rose         | -                         | -          | -                              | -       | -     | -            | -                  |
| -                | -           | 0,61   | Gris    | -      | -            |                           |            |                                |         |       |              | -                  |
| -                | -           | -      | -       | -      | -            | 0,72                      | Vert       | 0,72                           | Gris    | 0,72  | Rouge        | Flav <sup>4</sup>  |
| 0,75             | Vert        | 0,75   | Gris    | 0,75   | Rouge noir   | -                         | -          | -                              | -       | -     | -            | -                  |
|                  |             | 0,81   | Gris    | 0,82   | Rouge        | -                         | -          | -                              | -       | -     | -            | -                  |
| 0,91             | Vert        | 0,91   | Gris    | 0,91   | Rouge noir   | 0,92                      | Jaune brun | 0,92                           | Gris    | 0,90  | Rouge noir   | Flav <sup>4</sup>  |
| 0,94             | Jaune       |        |         |        |              |                           |            |                                |         |       |              |                    |

Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub> ; Eluant : chloroforme/Ethylacétate/hexane (8 :2 :1)

Flav= Flavonoïdes ; <sup>4</sup>= Composés révélés par  $\text{AlCl}_3$



### 12.1.1.2.3. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait éthylacétatique

L'éthylacétate extrait les flavonoïdes (aglycones et monohétérosides), les tanins, les polyphénols, les coumarines et les saponines. Les résultats sont indiqués dans les **tableaux XV et XVI**. Les spots apparaissant sous diverses couleurs (**Annexe 9**) correspondraient à plusieurs groupes de composés.

Avant révélation, les taches jaunes et vertes observées dans le visible et apparaissant en jaune orangé, jaune vert et rouge sous UV 366 nm correspondent aux flavonoïdes. Le réactif de Godin les révèle en rose, orange et jaune avec des  $R_f = 0,46$  ;  $0,71$  et  $0,89$ . Ils sont matérialisés par les fluorescences jaunes avec le  $AlCl_3$  dans le visible, qui s'intensifient ou se diversifient en bleu au brun sous UV 366 nm. C'est le cas de la tâche sur la ligne de base et les  $R_f = 0,10$  et  $0,66$ .

Les spots jaunes ou rouges dans le visible avec la solution méthanolique de KOH attestent la présence de coumarines. Ils sont de type anthrone lorsque leur coloration jaune s'intensifie ou de type anthraquinone quand la coloration se diversifie ou persiste en rouge sous UV à 366 nm. Ces composés ont été observés respectivement aux  $R_f = 0,00$ ,  $0,57$ ;  $0,62$  et  $0,45$ ;  $0,82$ ;  $0,90$ .

Les spots gris dans le visible avec le  $FeCl_3$ , à la ligne de base et avec des  $R_f = 0,21$  et  $0,94$  correspondent aux tanins

Les polyphénols apparaissent en vert, gris vert et jaune vert avec le  $FeCl_3$  correspondant aux  $R_f = 0,42$ ;  $0,69$ ;  $0,88$  et  $0,94$ .

Les stérols sont observés en présence du réactif de Godin aux  $R_f = 0,00$ ;  $0,11$ ;  $0,25$ ;  $0,5$ ;  $0,65$ ;  $0,76$  et  $0,96$ .

L'extrait éthylacétatique contient donc des flavonoïdes, coumarines, tanins, polyphénols et les stérols.

**Tableau XV :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait éthylacétatique révélés avec le réactif de Godin et le KOH

| Avant révélation |            |           |         |           |              | Couleurs après révélation |              |         |            |                  |         |           |             |                                       |
|------------------|------------|-----------|---------|-----------|--------------|---------------------------|--------------|---------|------------|------------------|---------|-----------|-------------|---------------------------------------|
| Visible          |            | UV 254 nm |         | UV 366 nm |              | Godin <sup>1</sup>        |              | Visible |            | KOH <sup>2</sup> |         | UV 366 nm |             | Composés possibles                    |
| Rf               | Couleur    | Rf        | Couleur | Rf        | Couleur      | Rf                        | Couleur      | Rf      | Couleur    | Rf               | Couleur | Rf        | Couleur     |                                       |
| 00               | Jaune pâle | 00        | Gris    | 00        | Jaune        | 00                        | Violet       | 00      | Jaune pâle | 00               | Gris    | 00        | Jaune       | Ster <sup>1</sup> /Coum <sup>2</sup>  |
| -                | -          | -         | -       | 0,08      | Jaune orangé | -                         | -            | -       | -          | -                | -       | -         | -           | -                                     |
| 0,12             | Jaune pâle | -         | -       | -         | -            | 0,11                      | Violet       | -       | -          | -                | -       | -         | -           | Ster <sup>1</sup>                     |
| -                | -          | 0,18      | Gris    | 0,18      | Jaune orangé | -                         | -            | 0,19    | Jaune pâle | -                | -       | 0,19      | Orange pâle | -                                     |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,25                      | Violet       | -       | -          | -                | -       | -         | -           | Ster <sup>1</sup>                     |
| -                | -          | -         | -       | 0,41      | Rouge        | -                         | -            | -       | -          | -                | -       | -         | -           | -                                     |
| -                | -          | 0,44      | Gris    | -         | -            | 0,46                      | Rose pâle    | 0,46    | Vert       | -                | -       | 0,45      | Rouge noir  | Flav <sup>1</sup> / Coum <sup>2</sup> |
| 0,49             | Gris vert  | -         | -       | -         | -            | 0,5                       | Violet       | -       | -          | 0,48             | Gris    | -         | -           | Ster <sup>1</sup>                     |
| 0,56             | Jaune pâle | -         | -       | -         | -            | -                         | -            | 0,57    | Jaune pâle | -                | -       | 0,57      | Jaune pâle  | Coum <sup>2</sup>                     |
| 0,6              | Jaune      | -         | -       | 0,59      | Jaune vert   | -                         | -            | -       | -          | -                | -       | 0,62      | Jaune vert  | Coum <sup>2</sup>                     |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,65                      | Bleu violacé | 0,64    | Jaune      | -                | -       | -         | -           | Ster <sup>1</sup>                     |
| -                | -          | 0,7       | Gris    | 0,69      | Rouge pâle   | 0,71                      | Rose         | -       | -          | -                | -       | -         | -           | Flav <sup>1</sup>                     |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,76                      | Violet       | -       | -          | -                | -       | -         | -           | Ster <sup>1</sup>                     |
| 0,82             | Jaune vert | -         | -       | 0,81      | Rouge        | -                         | -            | -       | -          | -                | -       | 0,82      | Rouge       | Coum <sup>2</sup>                     |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | -                         | -            | 0,85    | Vert pâle  | -                | -       | -         | -           | -                                     |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,89                      | Jaune vert   | -       | -          | 0,88             | Gris    | -         | -           | Flav <sup>1</sup> /Trit <sup>1</sup>  |
| 0,91             | Jaune vert | 0,9       | Gris    | 0,91      | Rouge noir   | 0,92                      | Vert         | 0,91    | Jaune brun | -                | -       | 0,90      | Rouge noir  | Trit <sup>1</sup> /Coum <sup>2</sup>  |
| -                | -          | -         | -       | -         | -            | 0,96                      | Violet       | -       | -          | -                | -       | -         | -           | Ster <sup>1</sup>                     |

Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub> ; Eluant : (Chloroforme/ Ethylacétate (6/3 ; V/V).

Trit= Triterpènes ; Ster= Stéroïdes Flav= Flavonoïdes; Coum= Coumarines; <sup>1</sup> = Composés révélés par Godin ; <sup>2</sup> = Composés révélés par KOH

**Tableau XVI :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait éthylacétatique révélés avec AlCl<sub>3</sub> et FeCl<sub>3</sub>

| Avant révélation |            |          |                                |           |              | Couleurs après révélation |            |          |         |           |            |                                |            |                                    |
|------------------|------------|----------|--------------------------------|-----------|--------------|---------------------------|------------|----------|---------|-----------|------------|--------------------------------|------------|------------------------------------|
|                  |            |          | AlCl <sub>3</sub> <sup>3</sup> |           |              |                           |            |          |         |           |            | FeCl <sub>3</sub> <sup>4</sup> |            | Composés Possibles                 |
| Visible          | UV 254 nm  | UV366 nm | Visible                        | UV 254 nm | UV366 nm     | Visible                   | UV 254 nm  | UV366 nm | Visible | UV 254 nm | UV366 nm   | Visible                        |            |                                    |
| Rf               | Couleur    | Rf       | Couleur                        | Rf        | Couleur      | Rf                        | Couleur    | Rf       | Couleur | Rf        | Couleur    | Rf                             | Couleur    |                                    |
| 00               | Jaune pâle | 00       | Gris                           | 00        | Jaune        | 00                        | Jaune      | 00       | Gris    | 00        | Bleu Jaune | 00                             | gris       | Flav <sup>3</sup> Tan <sup>4</sup> |
| -                | -          | -        | -                              | 0,08      | Jaune orangé | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | -                              | -          | -                                  |
| 0,12             | Jaune pâle | -        | -                              | -         | -            | 0,1                       | Jaune pâle | 0,1      | Gris    | 0,1       | Jaune vert | -                              | -          | Flav <sup>3</sup>                  |
| -                | -          | 0,18     | Gris                           | 0,18      | Jaune orangé | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | -                              | -          | -                                  |
| -                | -          | -        | -                              | -         | -            | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | 0,21                           | Gris       | Tan <sup>4</sup>                   |
| -                | -          | -        | -                              | 0,41      | Rouge        | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | 0,42                           | Vert       | Poly <sup>4</sup>                  |
| -                | -          | 0,44     | Gris                           | -         | -            | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | -                              | -          | -                                  |
| 0,49             | Gris vert  | -        | -                              | -         | -            | 0,48                      | Vert brun  | 0,48     | Gris    | 0,47      | Rouge      | -                              | -          | -                                  |
| 0,56             | Jaune pâle | -        | -                              | -         | -            | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | -                              | -          | -                                  |
| 0,6              | Jaune      | -        | -                              | 0,59      | Jaune vert   | 0,59                      | Jaune pâle | -        | -       | -         | -          | -                              | -          | -                                  |
| -                | -          | -        | -                              | 0,66      | Jaune pâle   | 0,66                      | Jaune pâle | 0,66     | Gris    | 0,65      | Jaune      | -                              | -          | Flav <sup>3</sup>                  |
| -                | -          | 0,7      | Gris                           | 0,69      | Rouge pâle   | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | 0,69                           | Jaune Vert | Poly <sup>4</sup>                  |
| 0,82             | Jaune vert | -        | -                              | 0,81      | Rouge        | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | -                              | -          | -                                  |
| -                | -          | -        | -                              | -         | -            | 0,86                      | Vert pâle  | -        | -       | 0,85      | Rouge      | 0,88                           | Jaune vert | Poly <sup>4</sup>                  |
| 0,91             | Jaune vert | 0,9      | Gris                           | 0,91      | Rouge noir   | 0,91                      | Jaune brun | -        | -       | 0,91      | Rouge noir | -                              | -          | Flav <sup>3</sup>                  |
| -                | -          | -        | -                              | -         | -            | -                         | -          | -        | -       | -         | -          | 0,94                           | Vert gris  | Tan <sup>4</sup> Poly <sup>4</sup> |

Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub> ; Eluant : (Chloroforme/ Ethylacétate (6/3 ; V/V).

Flav= Flavonoïdes ;Poly= Polyphénols ; Tan= Tanins; <sup>3</sup> = Composés révélés par AlCl<sub>3</sub> ; <sup>4</sup> = Composés révélés par FeCl<sub>3</sub>

#### 12.1.1.2.4. Phytocomposés détectés au niveau de l'extrait méthanolique

Les résultats de la CCM de l'extrait méthanolique sont consignés dans les **tableaux XVII et XVIII**. La majorité des spots visualisés a mis en évidence plusieurs composés (**Annexe 9**)

Les terpènes: le spot vert ( $R_f = 0,96$ ) apparaissant en vert avec le réactif de Godin correspond à un triterpène.

Les coumarines: la solution méthanolique de KOH les fait apparaître en anthrones aux  $R_f = 0,19$ ;  $0,82$  et  $0,86$ ; en anthraquinones correspondant aux  $R_f = 0,54$ ;  $0,68$ ;  $0,94$  et deux autres spots de  $R_f = 0,08$  et  $0,24$  qui correspondent aussi à des coumarines.

Les flavonoïdes: huit spots jaune, rose et orange de  $R_f = 0,10$ ;  $0,19$ ;  $0,24$ ;  $0,45$ ;  $0,58$ ;  $0,71$ ;  $0,84$ ;  $0,90$  révélés avec le réactif de Godin attestent la présence de ces composés. En plus de ces huit composés, deux autres ont été révélés avec le  $AlCl_3$  avec des  $R_f = 0,08$  et  $0,82$ .

Les lactones sesquiterpéniques: les taches de diverses fluorescences observées à 366 nm avec le réactif de  $AlCl_3$  indiquent ces composés. Ce sont les  $R_f = 0,49$ ;  $0,51$ ;  $0,64$ ;  $0,76$ ;  $0,82$ ;  $0,85$ ;  $0,90$ ;  $0,94$ .

Les tanins: ils sont révélés avec le  $FeCl_3$  aux  $R_f = 0,09$  et  $0,91$ .

En somme, l'extrait méthanolique contient majoritairement des flavonoïdes, lactones sesquiterpéniques, coumarines mais aussi des stérols et terpènes.

**Tableau XVII :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait méthanolique révélés avec les réactifs de Godin et de KOH

| Avant révélation |            |           |         | Couleurs après révélation |            |                    |            |         |               |                  |         |           |            | Composés<br>possibles                   |
|------------------|------------|-----------|---------|---------------------------|------------|--------------------|------------|---------|---------------|------------------|---------|-----------|------------|-----------------------------------------|
| Visible          |            | UV 254 nm |         | UV 366 nm                 |            | Godin <sup>1</sup> |            | Visible |               | KOH <sup>2</sup> |         | UV 366 nm |            |                                         |
|                  |            |           |         |                           |            | Rf                 | Couleur    |         |               | Rf               | Couleur |           |            |                                         |
| Rf               | Couleur    | Rf        | Couleur | Rf                        | Orange     | Rf                 | Couleur    | Rf      | Couleur       | Rf               | Couleur | Rf        | Couleur    |                                         |
| 00               | Jaune pâle | 00        | Gris    | 00                        | Jaune vert | 00                 | Jaune pâle | 00      | Jaune         | 00               | Gris    | 00        | Jaune brun | Flav <sup>1</sup> /Anthr <sup>2</sup>   |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | 0,05               | Violet     | -       | -             | -                | -       | -         | -          | Stér <sup>1</sup>                       |
| 0,09             | Jaune pâle | 0,09      | Gris    | 0,08                      | Brun       |                    |            | 0,08    | Jaune         | 0,08             | Gris    | 0,08      | Jaune brun | Coum <sup>2</sup>                       |
| 0,12             | Jaune pâle | -         | -       | -                         | -          | 0,1                | Jaune      |         |               | -                | -       |           |            | Flav <sup>1</sup>                       |
| 0.19             | Jaune pâle | -         | -       | -                         | -          | 0.19               | Jaune pâle | 0,19    | Jaune<br>pâle | -                | -       | 0,19      | Jaune      | Flav <sup>1</sup> /Anthr <sup>2</sup>   |
| 0,24             | Rose pâle  | -         | -       | -                         | -          | 0,24               | Rose pâle  | -       | -             | -                | -       | 0,24      | Brun       | Flav <sup>1</sup> /Coum <sup>2</sup>    |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | 0,28               | Violet     | -       | -             | -                | -       |           |            | Stér <sup>1</sup>                       |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | -                  | -          | -       | -             | -                | -       | -         | -          | -                                       |
| -                | -          | 0,46      | Gris    | 0,45                      | Orange     | 0,45               | Orange     | -       | -             | -                | -       | -         | -          | Flav <sup>1</sup>                       |
| 0,48             | Jaune pâle | -         | -       | -                         | -          | -                  | -          | -       | -             | -                | -       | -         | -          | -                                       |
| 0,51             | Vert pâle  | 0,52      | Gris    | 0,51                      | Rouge      | -                  | -          | -       | -             | -                | -       | -         | -          | -                                       |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | 0,55               | Violet     | 0,55    | Jaune<br>pâle | -                | -       | 0,54      | Rouge brun | Stér <sup>1</sup> / Anthrq <sup>2</sup> |
| 0,58             | Vert pâle  | -         | -       | -                         | -          | 0,58               | Orange     | -       | -             | -                | -       | -         | -          | Flav <sup>1</sup>                       |
| 0,62             | Vert pâle  | -         | -       | 0,62                      | Rouge      | -                  | -          | 0,62    | Jaune<br>pâle | -                | -       | 0,64      | Rouge cl.  | Anthrq <sup>2</sup>                     |
| -                | -          | -         | -       | 0,67                      | Rouge      | -                  | -          | -       | -             | -                | -       | 0,68      | Rouge cl   | Anthrq <sup>2</sup>                     |
| -                | -          | -         | -       | 0,69                      | Rose pâle  | 0,71               | Rose pâle  | -       | -             | -                | -       |           |            | Flav <sup>1</sup>                       |
| 0,82             | Jaune pâle |           |         | 0,82                      | Orange     | 0,84               | Jaune      | -       | -             | -                | -       | 0,82      | Jaune bleu | Flav <sup>1</sup> /Anthr <sup>2</sup>   |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | 0,89               | Violet     | 0,86    | Jaune<br>pâle | -                | -       | 0,86      | Jaune      | Stér <sup>1</sup> /Anthr <sup>2</sup>   |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | 0,90               | Jaune      | -       | -             | 0,90             | Gris    | -         | -          | Flav <sup>1</sup>                       |
| -                | -          | -         | -       | -                         | -          | 0,96               | Vert       | 0,94    | Vert          | -                | -       | 0,94      | Rouge      | Trit <sup>1</sup> /Anthrq <sup>2</sup>  |

Support : Silicagel 60 F254 ; Eluant : (hexane/ Ethylacétate /méthanol : 6/4/1 ; V/V/V). Coum= Coumarines ; stér= stérols;Flav= Flavonïdes;Trit= Triterpènes; Antr= Anthrones; Anthrq= Antraquinones <sup>1</sup>=Composés révélés par Godin ; <sup>2</sup>=Composés révélés par KOH.

**Tableau XVIII :** Composés identifiés par CCM dans l'extrait méthanolique révélés avec les réactifs de FeCl<sub>3</sub> et de AlCl<sub>3</sub>

| Avant révélation |            |        |         |        |            | Couleurs après révélation      |           |         |            |       |         |       |            |                                                         |
|------------------|------------|--------|---------|--------|------------|--------------------------------|-----------|---------|------------|-------|---------|-------|------------|---------------------------------------------------------|
| Visible          |            | UV 254 |         | UV 366 |            | FeCl <sub>3</sub> <sup>3</sup> |           | Visible |            | UV254 |         | UV366 |            | Composés possibles                                      |
| RF               | Couleur    | RF     | Couleur | RF     | Couleur    | Rf                             | Couleur   | Rf      | Couleur    | Rf    | Couleur | Rf    | Couleur    |                                                         |
| 00               | Jaune pâle | 00     | Gris    | 00     | Jaune vert | 00                             | Gris vert | 00      | Jaune pâle | 00    | Gris    | 00    | Bleu clair | Tan <sup>3</sup> /Poly <sup>3</sup> /Flav <sup>4</sup>  |
| -                | -          | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| 0,209            | Jaune pâle | 0,09   | Gris    | 0,08   | Brun       | 0,09                           | Gris vert | 0,08    | Jaune pâle | 0,08  | Gris    | 0,08  | Brun       | Tan <sup>3</sup> / Poly <sup>3</sup> /Flav <sup>4</sup> |
| 0,12             | Jaune pâle | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| 0,19             | Jaune pâle | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| -                | -          | 0,46   | Gris    | 0,45   | Orange     | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| 0,48             | Jaune pâle | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | 0,49  | Orange     | Lact <sup>4</sup>                                       |
| 0,51             | Vert pâle  | 0,52   | Gris    | 0,51   | Rouge      |                                |           |         |            |       |         | 0,51  | Rouge      | Lact <sup>4</sup>                                       |
| -                | -          | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| 0,58             | Vert pâle  | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| 0,62             | Vert pâle  | -      | -       | 0,62   | Rouge      | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | 0,64  | Rouge      | Lact <sup>4</sup>                                       |
| -                | -          | -      | -       | 0,67   | Rouge      | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| -                | -          | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | -     | -          | -                                                       |
| -                | -          | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | 0,76  | Rouge      | Lact <sup>4</sup>                                       |
| 0,82             | Jaune pâle | -      | -       | 0,82   | Orange     | -                              | -         | -       | -          | -     | -       | 0,82  | Jaune vert | Flav <sup>4</sup> /Lact <sup>4</sup>                    |
| -                | -          | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | 0,85    | Jaune pâle | -     | -       | 0,85  | Brun       | Flav <sup>4</sup>                                       |
| 0,92             | Vert       | 0,90   | Gris    | 0,9    | Rouge      | 0,91                           | Vert pâle | -       | -          | 0,90  | Gris    | -     | -          | Poly <sup>3</sup> / Lact <sup>4</sup>                   |
| -                | -          | -      | -       | -      | -          | -                              | -         | 0,95    | Vert pâle  | -     | -       | 0,94  | Rouge      | Lact <sup>4</sup>                                       |

Support : Silicagel 60 F254 ; Eluant : (hexane/ Ethylacétate /méthanol : 6/4/1 ; V/V/V)

N.B : Coum= Coumarines ; stér= stérols ; Tan= Tanins ; Poly= Polyphénols; Lact= Lactones;Flav= Flavonides <sup>3</sup>=Composés révélés par FeCl<sub>3</sub>;

<sup>4</sup>=Composés révélés par AlCl<sub>3</sub>

## 12.1.2. Composés phytochimiques de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

### 12.1.2.1. Quelques caractéristiques de l'huile essentielle extraite

L'huile essentielle extraite des feuilles séchées de *H. bonariensis* par hydodistillation a présenté une odeur aromatique. Sa coloration était jaune. Rappelons que le rendement d'extraction était  $0,125 \pm 0.003$  %. Ces résultats sont indiqués dans le **tableau XIX**.

### 12.1.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

L'analyse du chromatogramme et des spectres de masse (**Annexes 10, 11 et 12**) de l'HE de *Hydrocotyle bonariensis*, a montré qu'elle contient plus de 62 composés. Parmi ces composés, 52 ont été identifiés et sont présentés dans le **tableau XX**.

L'identification des composés a été possible grâce à la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés de référence dans les banques de données. En prenant le premier spectre comme exemple (**Annexe 12**), l'analyse a conduit à l' $\alpha$ -pinène (**Tableau XX**), l'un des composés abondants. Il est représenté avec les fragmentations possibles à partir de la structure de la molécule (**Figure 36**). Les interprétations ci-après s'en dégagent de l'observation d'importants pics d'ions sur le spectre de l' $\alpha$ -pinène (**Annexe 12**) :

- le pic d'ion  $m/z$  136 est repéré comme le pic moléculaire ;
- le pic  $m/z$  121 correspond à  $[M-15]^{\circ+}$  et cette valeur 15 traduit l'élimination d'un fragment  $CH_3^{\circ}$  comme indiqué à la **figure 37 A** ;
- le pic  $m/z$  105 correspond à  $[M-31]^{\circ+}$  avec la valeur 31 qui traduit l'élimination de deux fragments  $CH_3^{\circ}$  et d'un H (**Figure 37 B**) ;
- le pic  $m/z$  77 correspondant à  $[M-59]^{\circ+}$  avec la valeur 59 qui traduit l'élimination de trois fragments  $CH_3^{\circ}$  et d'un fragment  $CH_2^{\circ}$  (**Figure 37 C**) ;
- pic  $m/z$  93 correspond à  $[M-43]^{\circ+}$  avec la valeur 43 qui traduit l'élimination d'un fragment  $C_3H_6^{\circ}$ , et d'un H (**Figure 37 D**) ;
- pic  $m/z$  67 correspond à  $[M-69]^{\circ+}$  avec la valeur 69 qui traduit l'élimination d'un fragment  $C_3H_6^{\circ}$  et  $C_2H_3^{\circ}$ , (**Figure 37 D**).

Plusieurs composés ont été ainsi identifiés et représentent un total de 99,71% des composés totaux contenus dans cette huile. Ces constituants sont des monoterpènes hydrocarbonés (71,21%) et oxygénés (1,54%), des sesquiterpènes hydrocarbonés (21,01%) et oxygénés (1,15%) et d'autres composés (4,8 %) (**Figure 38**). Les composés majoritaires dans le **tableau XX** sont le  $\beta$ -pinène (39,25%), l' $\alpha$ -pinène (31,41%), le

caryophyllène (8,61%), l'humulène (3,11%), le D-Germacrène (3,07) et l' $\alpha$ -farnesène (3,03%). Les structures de ces composés sont données à la **figure 36**.



**Tableau XIX :** Caractéristiques de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*

|                                       |               |
|---------------------------------------|---------------|
| <b>Masse des feuilles séchées (g)</b> | 1615,36       |
| <b>Masse de l'HE (g)</b>              | 2,02          |
| <b>Rendement (%)</b>                  | 0,125±0,003 % |
| <b>Volume (ml)</b>                    | 2,3           |
| <b>Couleur</b>                        | Jaune         |
| <b>Odeur</b>                          | Aromatique    |

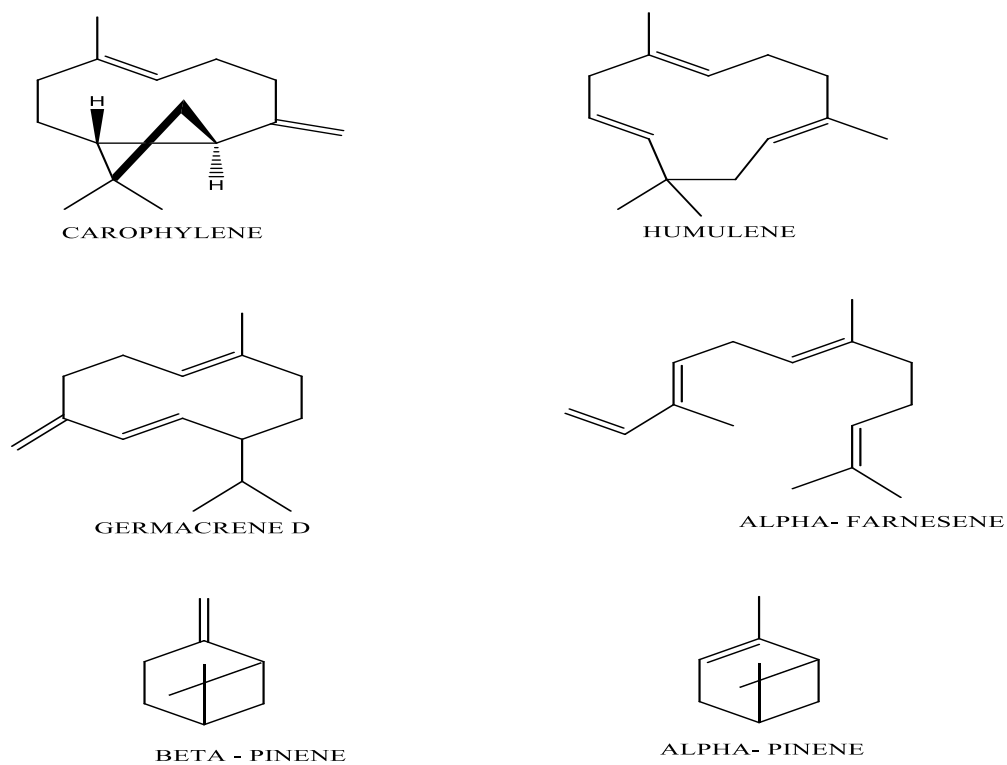
**Tableau XX :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

| N° | TR   | Composé                                                      | M/Z        | %            |
|----|------|--------------------------------------------------------------|------------|--------------|
| 1  | 4,29 | <b><math>\alpha</math>-pinène</b>                            | <b>136</b> | <b>31,41</b> |
| 2  | 4,52 | $\alpha$ -Terpinolène                                        | 136        | 0,09         |
| 3  | 4,73 | <b><math>\beta</math>-Pinène</b>                             | <b>136</b> | <b>39,25</b> |
| 4  | 4,93 | 2-ethenoxy-4,7,7-triméthyl-bicyclo[3.1.1]hept-3-ene          | 136        | 0,17         |
| 5  | 5,20 | $\beta$ -cis-Ocimène                                         | 136        | 0,21         |
| 6  | 5,43 | $\gamma$ -Terpinène                                          | 136        | 0,08         |
| 7  | 5,55 | m-Crésol                                                     | 142        | 0,06         |
| 8  | 5,70 | Terpinolène                                                  | 136        | 0,11         |
| 9  | 5,78 | $\beta$ -Linalool                                            | 150        | 0,35         |
| 10 | 6,01 | 2,6-Diméthyl-2,4,6-octatriene                                | 142        | 0,14         |
| 11 | 6,16 | (1R)-(+)-Nopinone                                            | 134        | 0,05         |
| 12 | 6,23 | 3-Isopropylidène-5-méthylhex-4-én-2-one                      | 152        | 0,04         |
| 13 | 6,28 | (E)-2-Nonenal                                                | 148        | 0,02         |
| 14 | 6,34 | Pinocarvone                                                  | 150        | 0,04         |
| 15 | 6,48 | L-4-terpinéol                                                | 175        | 0,28         |
| 16 | 6,60 | $\alpha$ -Terpinéol                                          | 136        | 0,23         |
| 17 | 6,78 | $\beta$ -Cyclocitral                                         | 152        | 0,04         |
| 18 | 7,06 | 2-[(2E)-2-Butén-1-yl]-1,3,5-triméthylbenzène                 | 174        | 0,04         |
| 19 | 7,23 | 2-Méthyl-4-hydroxyacétophenone                               | 150        | 0,11         |
| 20 | 7,53 | 2-Pinen-10-ol                                                | 134        | 0,04         |
| 21 | 7,61 | Elixène                                                      | 175        | 0,06         |
| 22 | 7,71 | $\alpha$ -Cubebene                                           | 204        | 0,24         |
| 23 | 7,80 | 5-Méthyl-3a,7a-dihydro-1H-indène-1,7(4H)-dione               | 204        | 0,04         |
| 24 | 7,86 | 4-Hexen-1-ol, 5-méthyl-2-(1-méthylethenyl)- acétate          | 136        | 0,02         |
| 25 | 7,93 | Copaène                                                      | 204        | 0,47         |
| 26 | 8,01 | 2-méthylène-5-(1-méthylvinyl)-8-méthylbicyclo[5.3.0]decane   | 204        | 0,23         |
| 27 | 8,12 | {[(2,6,6-Triméthyl-1-cyclohexén-1-yl)méthyl]sulfonyl}benzène | 204        | 0,04         |
| 28 | 8,18 | Ylangène                                                     | 204        | 0,04         |
| 29 | 8,28 | <b>Caryophyllène</b>                                         | <b>204</b> | <b>8,61</b>  |
| 30 | 8,31 | b-Cubebene                                                   | 204        | 0,22         |

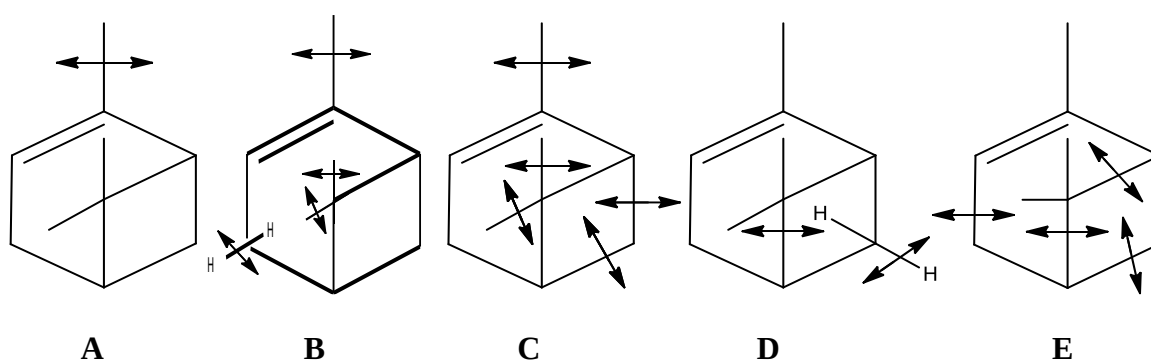
**Tableau XX** (suite et fin)

| N°           | TR          | Composé                                                      | M/Z        | %            |
|--------------|-------------|--------------------------------------------------------------|------------|--------------|
| 20           | 7,53        | 2-Pinen-10-ol                                                | 134        | 0,04         |
| 21           | 7,61        | Elixène                                                      | 175        | 0,06         |
| 22           | 7,71        | $\alpha$ -Cubebene                                           | 204        | 0,24         |
| 23           | 7,80        | 5-Méthyl-3a,7a-dihydro-1H-indène-1,7(4H)-dione               | 204        | 0,04         |
| 24           | 7,86        | 4-Hexen-1-ol, 5-méthyl-2-(1-méthylethenyl)- acétate          | 136        | 0,02         |
| 25           | 7,93        | Copaène                                                      | 204        | 0,47         |
| 26           | 8,01        | 2-méthylène-5-(1-méthylvinyl)-8-méthylbicyclo[5.3.0]decane   | 204        | 0,23         |
| 27           | 8,12        | {[(2,6,6-Triméthyl-1-cyclohexén-1-yl)méthyl]sulfonyl}benzène | 204        | 0,04         |
| 28           | 8,18        | Ylangène                                                     | 204        | 0,04         |
| <b>29</b>    | <b>8,28</b> | <b>Caryophyllène</b>                                         | <b>204</b> | <b>8,61</b>  |
| 30           | 8,31        | b-Cubebene                                                   | 204        | 0,22         |
| 31           | 8,38        | $\beta$ -Farnesène                                           | 204        | 0,20         |
| 32           | 8,46        | $\gamma$ -Cadinène                                           | 204        | 0,05         |
| <b>33</b>    | <b>8,50</b> | <b>Humulène</b>                                              | <b>204</b> | <b>3,11</b>  |
| <b>34</b>    | <b>8,66</b> | <b>D-Germacrène</b>                                          | <b>204</b> | <b>3,07</b>  |
| <b>35</b>    | <b>8,72</b> | <b><math>\alpha</math>-Farnesène</b>                         | <b>204</b> | <b>3,03</b>  |
| 36           | 8,79        | $\beta$ -Elemène                                             | 204        | 0,36         |
| 37           | 8,86        | $\delta$ -Cadinène                                           | 204        | 0,17         |
| 38           | 8,89        | L-calamenène                                                 | 202        | 1,12         |
| 39           | 8,96        | $\alpha$ -Funebrène                                          | 204        | 0,29         |
| 40           | 9,02        | $\alpha$ -Calacorène                                         | 200        | 0,03         |
| 41           | 9,11        | Nérolidol                                                    | 248        | 0,33         |
| 42           | 9,25        | Diéthylphthalate                                             | 222        | 0,28         |
| 43           | 9,29        | Caryophyllène oxide                                          | 220        | 0,66         |
| 44           | 9,47        | 3,5-Diméthylcyclohex-1-èn-4-carboxaldéhyde                   | 220        | 0,21         |
| 45           | 9,65        | 2-Diéthylamino-N-méthyl-2-phénylacétamide                    | 162        | 0,37         |
| 46           | 9,72        | 4-(2,2,6-Triméthylbicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-2-butanone        | 248        | 0,12         |
| 47           | 9,87        | Cubénol                                                      | 230        | 0,16         |
| 48           | 9,97        | 1-Heptatriacotanol                                           | 205        | 0,03         |
| 49           | 10,33       | Dehydronérolidol                                             | 218        | 0,02         |
| 50           | 10,62       | 3,7,11,15-Tétraméthyl-2-hexadecen-1-ol                       | 278        | 2,75         |
| 51           | 11,50       | Falcarinol                                                   | 197        | 0,13         |
| 52           | 18,67       | 1-[(E)-1-méthyl-2-(1-naphthyl)prop-1-enyl]naphthalène        | 355        | 0,04         |
|              |             | Monoterpènes hydrocarbonés                                   |            | 71,21        |
|              |             | Monoterpènes oxygénés                                        |            | 1,54         |
|              |             | Sesquiterpènes hydrocarbonés                                 |            | 21,01        |
|              |             | Sesquiterpènes oxygénés                                      |            | 1,15         |
|              |             | Autres                                                       |            | 4,8          |
| <b>Total</b> |             |                                                              |            | <b>99,71</b> |

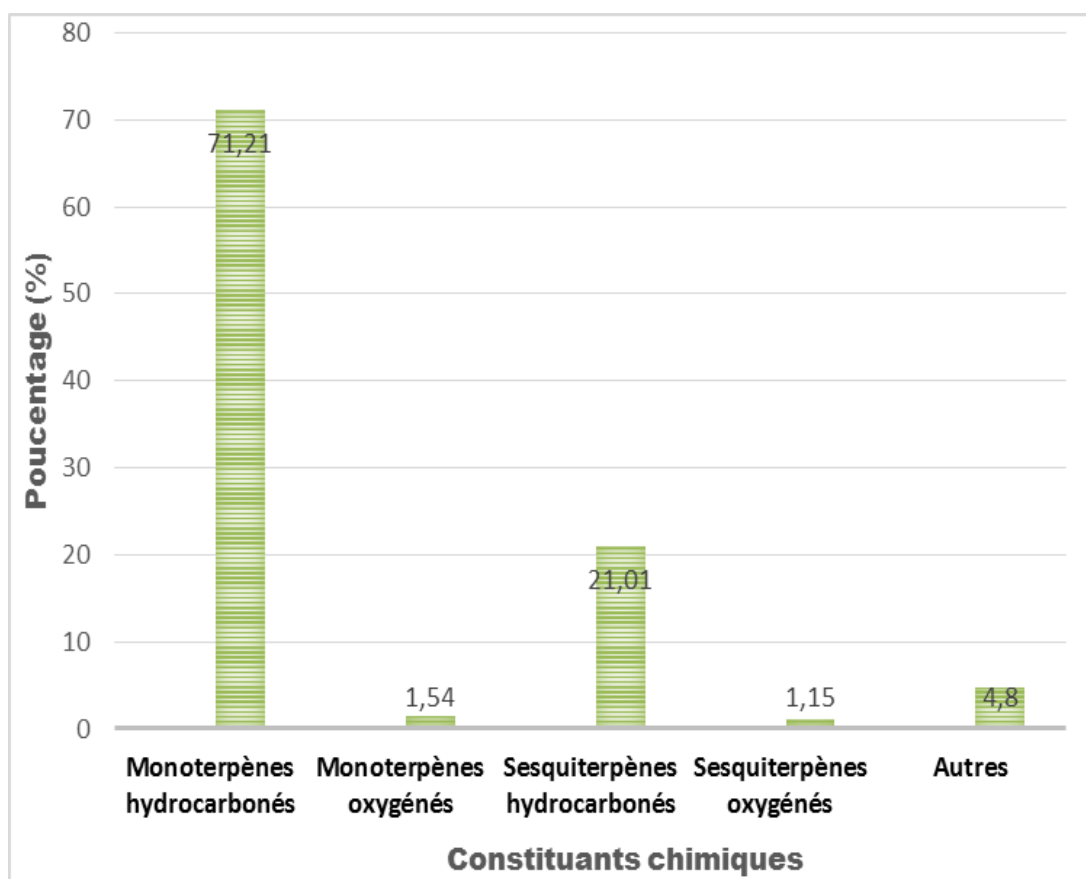
TR= Temps de Rétention en minutes; M= Masse relative de la particule en  $\mu\text{M}$  ; Z= Charge de l'électron



**Figure 36** : Structure des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Hyrcotyle bonariensis*



**Figure 37** : Fragmentations en spectrométrie de masse de l' $\alpha$ -pinène



**Figure 38 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis*

## 12.2. Composition phytochimique quantitative des extraits bruts étudiés

### 12.2.1. Teneurs en polyphénols totaux

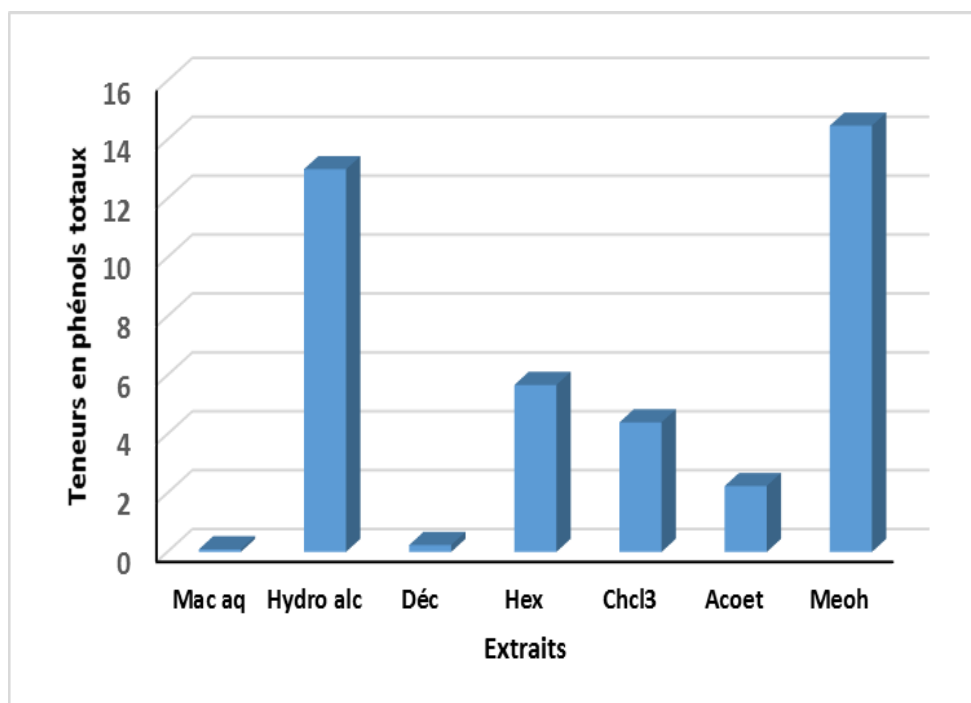
La détermination de la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits bruts a montré des quantités plus ou moins importantes. Les teneurs en composés phénoliques contenues dans l'extrait méthanolique (15,68 µg/g) sont supérieures à celles des autres extraits. L'extrait hydroalcoolique a également présenté une bonne teneur en polyphénols (13,67 µg/g). Les extraits les moins riches en ces composés sont les extraits macéré aqueux et décocté avec respectivement 0,09 et 0,23 µg/g (**Figure 39**).

### 12.2.2. Teneurs en matière sèche, cendres, protéines totales et fibres brutes,

La détermination de la matière sèche dans les feuilles a donné  $19,8 \pm 0,1$  g/100 g de MS, ce qui donne un taux d'humidité de  $80,19 \pm 0,1$  %. Ces feuilles contiennent une bonne teneur en cendres totales qui est de  $21,65 \pm 0,1$  %. Les résultats du dosage en matière azotée totale ont montré que la teneur en protéines totales des feuilles de *H. bonariensis* oscille autour de 7,70 g/100 g de matière sèche (MS). La teneur en fibres brutes est de  $145,58 \pm 0,1$  g/100 g de MS.

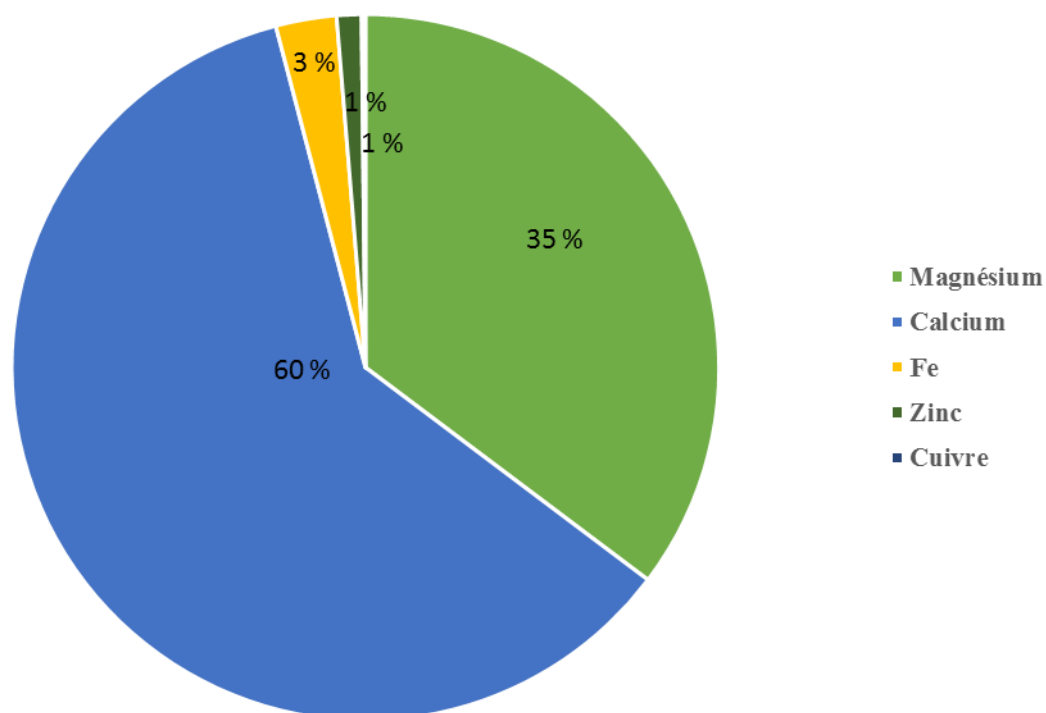
### 12.2.3. Composition en oligoéléments

L'analyse des minéraux a permis de montrer que *Hydrocotyle bonariensis* est riche en calcium (60 %) et en magnésium (35 %). De faibles quantités de fer (3 %), de zinc (1 %) et de cuivre (1 %) ont été détectées dans les feuilles de cette plante. Les résultats ont révélé l'absence de phosphore (**Figure 40**). Les teneurs observées pour chaque minéral sont consignées dans le **tableau XXI**.



Hex= Hexane ;  $\text{CHCl}_3$  = Chloroformique ; ACOET=Acétate d'éthylique ; MeOH= Méthanol ; Hydr alc= hydroalcoolique ; Mac aq= Macération aqueuse ; Déc= Décoction ; HE= Huile Essentielle

**Figure 39 :** Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits étudiés (µg/g)



**Figure 40 :** Spectre des éléments minéraux contenus dans les feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*

**Tableau XXI :** Teneurs en minéraux des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*

| Minéraux  | Quantité (mg/kg de matière sèche) |
|-----------|-----------------------------------|
| Calcium   | 3408,42                           |
| Magnésium | 1982,26                           |
| Fer       | 156,24                            |
| Zinc      | 63,65                             |
| Cuivre    | 9,69                              |
| Phosphore | 0                                 |

**QUATRIEME PARTIE :**  
**DISCUSSION**



Les enquêtes ethnobotaniques sur les usages de *Hydrocotyle bonariensis* menées dans les ménages de six communes du District d'Abidjan ont montré que 64% des ménages interviewés connaissent la plante. Plus de 52% l'utilisent soit à des fins médicinales, soit dans l'alimentation. Le niveau de connaissance et d'utilisation est statistiquement différent entre les communes. Dans les communes d'Abobo, d'Anyama et de Cocody, les niveaux de connaissance et d'utilisation sont faibles (entre 40 et 50%) par rapport à ceux observés dans les communes de Yopougon, de Port-Bouët et de Bingerville (entre 70 et 90%). Ces résultats suggèrent que la connaissance de la plante est liée à son utilisation mais aussi à la consommation. Cela pourrait être due à la forte présence de la plante dans certaines zones et au régime alimentaire des populations qui y résident. Par exemple, dans la commune de Bingerville le niveau de connaissance est le plus élevé (90 %). Il ressort aussi de l'enquête que les niveaux d'utilisation et de la consommation des feuilles de *H. Bonariensis* dans cette commune sont également très élevés (90 %). Ce constat serait dû à leur disponibilité dans cette localité ; mais au fait que selon **Séguéna et al. (2013)**, les populations de Bingerville en Côte d'Ivoire ont beaucoup recours aux plantes aussi bien alimentaires que médicinales dans leurs habitudes. Au niveau des groupes culturels par contre, les niveaux de connaissance sont approximativement égaux sauf pour le groupe des Mandé du Nord qui a une faible connaissance de cette plante (moins de 40%). Cette connaissance n'est pas liée à l'utilisation et à la consommation comme dans le cas des communes. Il ressort que ce sont les Akan du centre qui consomment davantage *H. bonariensis*. L'origine culturelle pourrait donc être un facteur de choix dans l'utilisation des feuilles de cette plante dans l'alimentation. Selon **Yao et al. (2015)**, l'utilisation des légumes feuilles dans l'alimentation des populations en zone urbaine de la Côte d'Ivoire est liée à plusieurs facteurs, entre autres le groupe culturel auquel appartient l'individu. Le pourcentage de consommation des feuilles de *H. bonariensis* dans l'ensemble des zones d'enquêtes, est relativement faible (27%). Ce résultat se comprend car **Atchibri et al. (2012)** ont rapporté que les légumes-feuilles n'occupent pas une place de choix dans les habitudes alimentaires en Côte d'Ivoire. Toutefois, à Bingerville, les feuilles de *H. bonariensis* sont très utilisées dans les ménages. La consommation des feuilles de *H. bonariensis* est inversement corrélée avec le niveau d'instruction et de vie. Les ménages à niveau d'instruction bas consomment plus cette plante que ceux à niveau élevé. Selon **Tchiégang & Kitikil (2004)**, ceci tient au fait que les personnes avec un niveau faible

d'instruction restent plus attachées à leurs valeurs culturelles tandis que celles à niveau élevé ont tendance à adopter des modes de vie occidentaux. L'âge de l'individu pourrait être un facteur influençant le niveau de connaissance; ce qui justifierait que les personnes ayant plus de 45 ans représentent la plus forte proportion ayant donné des informations sur la plante étudiée. Ceci est peut-être lié aux maladies traitées par *H. bonariensis* qui affectent souvent les personnes âgées. Le caractère "bénéfice santé" est également un facteur qui oriente beaucoup le choix des feuilles de *H. bonariensis* pour son utilisation dans ces ménages du district d'Abidjan. *H. bonariensis* est souvent utilisée pour soigner diverses maladies telles que l'hypertension, l'effondrement du système immunitaire, les maladies du système digestif ou comme tonifiant, etc. Cette plante est utilisée pour sensiblement les mêmes indications thérapeutiques dans la médecine populaire américaine (**Fiaschi, 2010**). La consommation régulière des feuilles de *H. bonariensis* est due au fait que cette plante contribue à l'amélioration de l'état de santé des consommateurs. La recherche des effets promoteurs de la santé est souvent ce qui guide les utilisateurs en zones urbaines (**Yao et al., 2015**). Selon ces auteurs, les populations urbaines introduisent les légumes feuilles comme complément de leur régime alimentaire en raison de leur bénéfice pour la santé. La consommation des feuilles sous forme de crudité est la plus utilisée avec un ICF de 0,88. La saveur savoureuse et aromatique pourrait expliquer le choix de ce mode de consommation comme l'ont indiqué **Andrea (2010) et Fiaschi (2010)**.

En vue de valider certaines des indications thérapeutiques de *Hydrocotyle bonariensis*, un dépistage de ses activités antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse a été réalisé à partir des extraits bruts et de l'huile essentielle (HE) préparés avec les feuilles.

Pour le pouvoir antioxydant, deux cibles que sont les radicaux DPPH et ABTS ont été utilisés. Les extraits bruts possèdent tous un pouvoir antioxydant plus ou moins important selon la cible employée. Parmi ceux-ci, l'extrait méthanolique a montré la plus petite  $CI_{50}$  et donc s'est révélé le plus actif ( $CI_{50} = 294 \mu\text{g/mL}$ ). L'extrait chloroformique avec une  $CI_{50}$  de  $296,4 \mu\text{g/mL}$  a exercé une inhibition élevée du DPPH comparativement aux autres extraits. La  $CI_{50}$  de la vitamine C ( $CI_{50} = 16,4 \mu\text{g/mL}$ ) est respectivement 17 à 25 fois plus importante que celles des extraits méthanolique ( $CI_{50} = 294 \mu\text{g/mL}$ ), chloroformique ( $CI_{50} = 296,4 \mu\text{g/mL}$ ), éthylacétatique ( $CI_{50} = 367,2 \mu\text{g/mL}$ ) et hydroalcoolique ( $CI_{50} = 421,2 \mu\text{g/mL}$ ) de *H. bonariensis*. Les extraits hexanique, décocté

et macéré aqueux ont montré une très faible capacité antiradicalaire ( $CI_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ ) par rapport à la vitamine C. Dans le cas de l'ABTS, la  $CI_{50}$  de la vitamine C ( $CI_{50} = 15,7 \mu\text{g/mL}$ ) est 3,7 fois plus grande que celle de l'extrait d'acétate d'éthyle ( $CI_{50}$  de  $58,8 \mu\text{g/mL}$ ) qui s'est révélé l'extrait le plus actif. Elle est également 5 fois plus grande que les extraits méthanolique et macéré aqueux. Les extraits chloroformique, hydroalcoolique, décocté et hexanique dont les  $CI_{50}$  sont respectivement 103,8; 128,4; 226,8 et  $358,8 \mu\text{g/mL}$  ont exercé une faible inhibition vis-à-vis de l'ABTS comparativement aux autres extraits. Toutefois, en tenant compte de la capacité antioxydante, l'extrait méthanolique a exprimé une meilleure activité ( $21,67 \pm 14,40$  et  $59,21 \pm 26,15 \text{ mg TE/g}$  d'extrait sec respectivement pour le DPPH et l'ABTS) sur les deux cibles étudiées. Les résultats ont aussi montré que l'extrait hydroalcoolique a indiqué un bon potentiel antioxydant aussi bien avec le DPPH qu'avec l'ABTS par rapport aux extraits aqueux. Ce fort potentiel de ces deux extraits s'expliquerait par le fait que ces types d'extraits ont la capacité d'extraire plus de composés. Ce qui se justifie d'ailleurs par leurs forts rendements d'extraction (2,122 et 2,008 respectivement pour les extraits méthanolique et hydroalcoolique). Et ces composés étant souvent des polyphénols tels que les flavonoïdes et les tanins qui sont connus pour leur fort potentiel antioxydant (**Bruneton, 1999; Thouri et al., 2017**). Quant à l'huile essentielle, elle a montré une faible activité antioxydante du DPPH, avec une  $CI_{50}$  de  $139,2 \mu\text{g/mL}$  comparée à la vitamine C qui est de  $16,4 \mu\text{g/mL}$ . Par contre, contre le radical ABTS, son activité antioxydante ( $CI_{50} = 15,9 \mu\text{g/mL}$ ) est superposable à celle de la vitamine C ( $CI_{50} = 15,7 \mu\text{g/mL}$ ). Le potentiel antioxydant de cette huile est très faible sur les deux cibles étudiées (capacité DPPH =  $1,69 \pm 1,17 \text{ mg TE/g}$  d'extrait sec et capacité ABTS =  $4,38 \pm 1,17 \text{ mg TE/g}$  d'extrait sec). Ce potentiel se traduit par son faible rendement d'extraction (0,125). Toutefois, elle a exprimé une très bonne inhibition de l'ABTS et cela pourrait avoir un lien avec sa composition chimique. En effet, les HE réagissent mieux avec l'ABTS que le DPPH et sont généralement dotées de pouvoir antioxydant lié à la présence de composés, en l'occurrence les terpènes (**Bruneton, 1999**). Au regard des résultats obtenus à l'issue des deux méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts et de l'HE des feuilles de cette plante, il ressort que le test à l'ABTS a montré une meilleure activité.

Les maladies infectieuses constituent aujourd'hui un véritable problème de santé dans le monde à cause des phénomènes de résistance. Le potentiel de *H. bonariensis* dans la prise en charge de ces maladies a été étudié dans ce travail. Dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne, l'huile essentielle des feuilles de *H. bonariensis* a montré un effet bactériostatique sur la souche de *Staphylococcus aureus* et sur *Bacillus subtilis*, une action fongicide sur *Candida tropicalis* et fongistatique sur *C. albicans* et *C. glabrata*. Ces activités antimicrobiennes peuvent se justifier par la présence de grandes familles de molécules aromatiques dans les HE, qui sont connues pour leur propriété antimicrobienne (**Randhawa & Alghamdi, 2011; Baser, 2015**). Les activités antimicrobiennes pourraient être dues aux molécules oxygénées qui entrent dans la composition des HE, généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées, et connues pour leurs pouvoirs antimicrobiens (**Kalemba & Kunicka, 2003**). Toutes les souches bactériennes à Gram (-) à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 n'ont présenté aucune sensibilité à l'HE. Ce résultat pourrait s'expliquer par la structure de leur membrane extérieure. En effet, les bactéries à Gram (-) ont une membrane riche en lipopolysaccharides qui leur confère une propriété hydrophilie. Ce caractère empêche les HE riches en terpènes hydrophobes d'y adhérer (**Christiani et al., 2007**) et de pénétrer dans la bactérie pour agir. Vu que les HE sont un mélange complexe de plusieurs composants, il est difficile d'attribuer leur activité biologique à un constituant particulier. Généralement, les composants majoritaires sont responsables du pouvoir antimicrobien (**Bakkali et al., 2008**). Toutefois, les composants minoritaires peuvent avoir un rôle crucial dans l'activité biologique des HE (**Koroch et al., 2007**). Le mécanisme d'action des HE reste controversé; certaines études avancent que ces composants peuvent pénétrer dans le micro-organisme et réagir avec les sites actifs d'enzymes et/ou interférer avec le métabolisme cellulaire. Plusieurs propositions penchent vers une perturbation des membranes cellulaires et des effets pro-oxydants cytotoxiques. Dans le cas particulier de l'activité antifongique, l'action des HE inclurait une pénétration à travers les parois cellulaires et un endommagement direct du cytoplasme et des membranes mitochondriales vu l'arrêt rapide du métabolisme conduisant à la fin à la mort des cellules (**Bakkali et al., 2008**). L'extrait aqueux (décocté) n'a été actif que sur *Pseudomonas aeruginosa* (action bactériostatique) et sur *C. tropicalis*, avec un effet fongicide. **Tempone et al, 2008** avait déjà rapporté cet effet fongicide de cette plante et n'ont pas observé d'activité fongistatique. L'absence d'activité sur d'autres

microorganismes testés tels que *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* CIP 54127, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, *Kebsiella pneumoneae* ATCC 13983, *Candida albicans* et *C. glabrata* étudiés dans ce travail, montre que le décocté de *H. bonariensis* a un spectre d'action antimicrobien très limité.

Les cancers, en particulier ceux qui affectent les femmes sont devenus une préoccupation en raison de leur prévalence croissante au sein de la population mondiale. Les pays africains sont les plus touchés. Face à ce problème, l'activité anticancéreuse de la plante a été évaluée. Le test de cytotoxicité *in vitro* effectué uniquement sur l'huile essentielle a montré qu'elle présente une toxicité sur les cellules cancéreuses CA 431 de la vulve féminine qui est d'autant plus importante avec la dose de l'huile. Ainsi, à 0,05 mg/mL, on note une faible viabilité des cellules cancéreuses avec un pourcentage de 21 %. Au-delà de cette concentration de l'huile, on note une petite résistance des cellules cancéreuses avec un taux de viabilité de 30 %. Les fortes doses de l'huile favoriseraient un environnement adéquat à la prolifération des cellules cancéreuses. Ce résultat pourrait aussi être dû à une perturbation du métabolisme biochimique des cellules cancéreuses. En effet, lorsque le métabolisme biochimique dans la tumeur cancéreuse est perturbé, les régulateurs hormonaux, les voies de signalisation deviennent alors favorables à la prolifération cancéreuse. Les mécanismes impliqués sont complexes et suscitent de plus en plus d'intérêt (Xu *et al.*, 2005; Vander *et al.*, 2009; Grüning *et al.*, 2010). Toutefois, cette inhibition sur la souche cancéreuse CA 431 a donné une CI<sub>50</sub> de 9,45 µg/mL. Ce résultat est intéressant dans la mesure où selon les recommandations publiées par le National Cancer Institute (NCI), lorsqu'un extrait testé sur une souche cancéreuse présente *in vitro* une CI<sub>50</sub> inférieure à 20 µg/mL, celui-ci peut être considéré comme ayant une activité cytotoxique (Gad-Shayne, 1999; Hussain *et al.*, 2010). Cet extrait pourrait de ce fait être utilisé dans le traitement du cancer (Boik, 2001). L'HE de *H. bonariensis*, avec une CI<sub>50</sub> 9,45 µg/mL signe donc une très bonne activité antiproliférative sur la souche cellulaire CA 431 du cancer de la vulve. Plusieurs composants de cette HE tels que les composés sesquiterpéniques et monoterpéniques pourraient être à la base de cette activité. En effet, les sesquiterpènes ont déjà montré une toxicité envers plusieurs lignées de cellules cancéreuses humaines (Kuo *et al.*, 2003). Quant aux monoterpènes, ils auraient un effet préventif en empêchant le processus de cancérogenèse lors de l'initiation et les étapes de promotion/progression (Gould, 1997). Cette action préventive devrait être démontrée dans le cas de *H. bonariensis*. L'action

cytotoxique de cette HE sur des cellules cancéreuses Hep-G2 a déjà été rapportée par **Tat (2004)**, avec des valeurs de  $CI_{50}$  entre 16,1 et 19,9  $\mu\text{g/mL}$ . L'activité contre la souche cellulaire CA 431 du cancer de la vulve vient élargir le spectre d'action de l'HE des feuilles de *H. bonariensis*.

L'étude des caractéristiques physico-chimiques de cette HE a révélé une couleur jaune, une odeur aromatique, avec un rendement de  $0,125 \pm 0,003$  %. Ce rendement en HE des feuilles de *H. bonariensis* se rapproche de celui (0,15 %) des normes **AFNOR (2008)**. Le rendement en HE de *H. bonariensis* n'a pas été décrit, à notre connaissance, à ce jour dans la littérature. Toutefois, le rendement obtenu est intéressant dans la mesure où de nombreuses huiles essentielles sont obtenues avec de faibles teneurs (**Bruneton, 1999**). Cette variabilité des rendements d'extraction des HE s'expliquerait par le fait que les quantités en HE varient en fonction de l'organe végétal, de la période de récolte, le lieu de récolte de l'espèce et de la technique d'extraction (**Svoboda & Hampson, 1999; Benabdelkader, 2014**). La composition chimique de cette huile montre 62 composés présents dans l'échantillon avec 52 de ces composés qui ont été caractérisés. Ces constituants sont des monoterpènes hydrocarbonés (71,21%) et oxygénés (1,54%), des sesquiterpènes hydrocarbonés (21,01%) et oxygénés (1,15%) et d'autres composés (4,8 %). L'analyse de cette huile essentielle montre que le  $\beta$ -pinène (39,25%), l' $\alpha$ -pinène (31,41%), le caryophyllène (8,61%), l'humulène (3,11%), le D-Germacrène (3,07) et l' $\alpha$ -farnesène (3,03%) en sont les composés majoritaires. La littérature rapporte une composition différente comparativement à celle obtenue dans ce travail. Les travaux de **Lien (2009)** ont montré que les principales composantes de l'HE des feuilles sont le (Z)-3-hexène-1-ol, le trans-caryophyllène, l' $\alpha$ -farnesène. Les facteurs écologiques, l'âge de la plante et le stade végétatif pourraient expliquer ces différences. Il est reconnu que la composition chimique des HE peut varier en fonction du biotope; ce qui permet de définir des chémotypes en fonction des origines de la matière première. Il s'agit d'un polymorphisme chimique: une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes. Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de la période de récolte, du site de récolte ou encore du cycle végétal sont nombreuses (**Tonzibo, 1998; Oussou, 2009; Kouamé, 2012; Deschepper, 2017**). La période de récolte est un facteur très important. A titre d'exemple, **Oussou (2008)** a montré que la composition chimique l'HE des fleurs de *Lippia multiflora* varie considérablement. Des études sur des cas de

chemotypes sont nombreuses. On peut citer le cas de l'HE de *Chromoleana odorata* qui présente divers chemotypes, ceux de la Côte d'Ivoire (**Bedi et al., 2001**), du Benin (**Avlessi et al., 2012**) de la Chine et du Cameroun. On peut citer aussi l'HE de *Ageratum conyzoides* qui présente trois chemotypes (**Nébié et al., 2004**). Ceci pourrait être le cas avec l'HE des feuilles de *H. bonariensis*. Des études doivent être menées dans ce sens. Il est donc difficile de comparer la composition chimique de l'HE de *H. bonariensis* avec celle de la littérature parce que plusieurs variables influent sur celle-ci, tels que les facteurs environnementaux de la plante. Cependant, la présence des monoterpènes et sesquiterpènes pourrait justifier les activités antibactérienne et antifongique de cette huile, car ils sont dotés de propriétés antimicrobiennes (**Philippe-Aubert, 2006; Fertout-Mouri et al., 2017**). Aussi, les composés majoritaires à savoir le  $\beta$ -pinène l' $\alpha$ -pinène, le caryophyllène, l'humulène, le D-Germacrène et l' $\alpha$ -farnesène pourraient en être également responsables. En effet, le caryophyllène et le D-germacrène sont connus pour leurs propriétés antibactériennes (**Juteau et al., 2002**). Il a été aussi démontré que l' $\alpha$ -pinène aurait une activité contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (**Martin et al., 2002**). On pourrait également attribuer cette activité antimicrobienne à certains composés présents en faible proportion. On peut citer le L-4-terpinéol, le  $\gamma$ -Terpinène et le  $\beta$ -linalool qui sont doués d'activité antibactérienne (**Carson & Riley, 1995**).

Quelques caractéristiques des extraits bruts ont été notées. Il ressort que ceux obtenus avec l'extraction simple présentent une coloration marron alors que ceux obtenus avec l'extraction successive vont du vert au vert clair sauf l'extrait méthanolique qui a présenté une coloration marron foncée. Les extraits macéré aqueux et décocté ont montré une odeur aromatique et les autres extraits n'ont présenté aucune odeur particulière. Tous ont montré un aspect pateux. Le criblage phytochimique des extraits hexanique, chloroformique, éthylacétatique et méthanolique a été effectué par CCM. Le tri phytochimique par CCM est plus fiable que les tests de caractérisation (réactions colorées) (**Boua et al., 2008**). En effet, il renseigne mieux sur la composition chimique des plantes à analyser. Ainsi, les métabolites secondaires ont été identifiés dans tous les extraits. L'analyse comparative des quatre profils chromatographiques relatifs aux quatre extraits de la même plante montre l'absence ou l'abondance de certains composés au niveau des différents extraits. Les profils chromatographiques des extraits sont variés. En effet, il y a des composés retrouvés uniquement au niveau de certains extraits. C'est le cas des alcaloïdes (spot orange de  $R_f = 0,05$ ) qui n'ont été mis en évidence que dans l'extrait

chloroformique. On remarque que les flavonoïdes ont été détectés dans tous les extraits sauf dans l'extrait hexanique. Les stérols et triterpènes sont majoritaires dans l'extrait hexanique, et en faible quantité dans l'extrait méthanolique. En somme, cette analyse phytochimique qualitative a montré la présence de stérols et terpènes, des coumarines, des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes dans cette espèce végétale. Tous ces composés pourraient expliquer l'utilisation traditionnelle de *H. bonariensis* dans le traitement des maladies citées par les personnes interrogées ou indiquées dans la littérature (Ouvina *et al.*, 2009 ; Masoumian *et al.*, 2011). Ces phytocomposés sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes (Husain *et al.*, 2010; Harborne & Williams, 2000; D'abrosca *et al.*, 2007), antispasmodiques, analgésiques, antisécréteurs, antidiarrhéiques (Di Carlo *et al.*, 1999), effets anti-inflammatoires, hypotensifs, préventifs contre le cancer (Bruneton, 1999; Mohammedi, 2006; Kabran, 2014). En effet, les flavonoïdes sont doués d'activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses (Middleton & Kardasnam, 1993). Les coumarines possèdent des propriétés biologiques très diverses : antifongique, anti-tumorale, anti-agrégation plaquettaire, inhibitrice de plusieurs enzymes, anti-virale, anti-inflammatoire, anti-coagulante, diurétique et analgésique (Reddy *et al.*, 2005). Elles sont utilisées comme antibactériens (Kong *et al.*, 2010), anticancéreux (Von *et al.*, 1994) et stimulants des phénomènes respiratoires (Gray & Waterman, 1978). Les tanins permettent de stopper les hémorragies, de lutter contre les maladies infectieuses (Leitao *et al.*, 2005), et de prévenir des risques d'affections cardiovasculaires (Yamanaka *et al.*, 1996; Cheruvanky, 2004). Ils ont aussi des propriétés anticancéreuses par l'induction d'apoptose des cellules HL-60 (cellules provoquant la leucémie) (Chen *et al.*, 2009). Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités anesthésiques, tumorales, parasitaires etc. Ils agissent également au niveau du système nerveux central, qu'ils soient déprimeurs ou stimulants. D'autres ont des propriétés anesthésiques locales, antitumorales, antipaludiques (Bruneton, 1999). Toutes ces propriétés expliqueraient les activités antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse décélées dans cette étude. Ainsi, *H. bonariensis* serait indiquée dans la prise en charge des maladies pré-citées.

L'enquête réalisée sur *H. bonariensis* dans le District d'Abidjan a montré que cette plante est utilisée pour sa valeur nutritionnelle. Les personnes, qui la consomment, y ont recours pour compenser les déficits en certains minéraux et oligoéléments indispensables



pour le bon fonctionnement de l'organisme. Les analyses biochimiques ont révélé que la teneur en composés phénoliques est importante dans l'extrait méthanolique (15,68 µg/g) que dans les autres extraits. Elle l'est aussi dans l'extrait hydroalcoolique (13,67 µg/g). Cette teneur est en accord avec la capacité antioxydante enregistrée pour ces extraits. Les tests ont aussi révélé que les feuilles de *H. bonariensis* contiennent des protéines totales (7,70 g/100 de MS) et des fibres brutes alimentaires (145,58± 0,1 g/100 g de MS). Selon le **Parlement Européen (PE) et Conseil (2011)**, les teneurs journalières recommandées pour l'homme sont 50 g pour les protéines totales et 40 g pour les fibres brutes alimentaires. Celles donc observées dans les feuilles de *H. bonariensis* sont respectivement inférieures pour les protéines et supérieures pour les fibres aux apports journaliers recommandés pour l'homme. Cependant, elles sont plus importantes que celles retrouvées dans plusieurs légumes feuilles consommés et prisés en Afrique (**Toury et al., 1963; Ndong et al., 2007**). Les feuilles de *H. bonariensis* sont riches en calcium (3408,42 mg/Kg) et en magnésium (1982,26 mg/Kg) et contiennent de faibles quantités de fer (156,24 mg/Kg), de zinc (63,65 mg/Kg) et de cuivre (9,69 mg/Kg). Les apports journaliers recommandés pour l'homme sont 14 mg pour le fer, 10 mg pour le Zinc, 1 mg pour le cuivre, 1600 mg pour le calcium et 340 mg pour le magnésium (**PE et Conseil., 2011**). Les teneurs de ces minéraux retrouvées dans les feuilles de *H. bonariensis* sont supérieures à celles recommandées pour l'homme et superposables à celles rapportées pour d'autres légumes consommés en Afrique (**Ndong et al., 2007**).

Aussi, cette variabilité observée au niveau des teneurs en nutriments pourrait être très bénéfique à l'organisme (**Seve & Favier, 2002 ; Park & Weaver, 2012**) favorisant ainsi un régime alimentaire équilibré suite à une consommation régulière des feuilles de *H. bonariensis*. Ces éléments jouent des rôles biologiques et physiologiques très importants dans l'organisme. Leur déficit peut être à l'origine de divers désordres néfastes pour l'Homme.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude a été réalisée dans le cadre de la valorisation de *Hydrocotyle bonariensis*, une plante aromatique alimentaire et médicinale de la Côte d'Ivoire. Pour ce faire, les travaux ont été consacrés à une enquête ethnobotanique, à l'évaluation des activités antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse et à l'étude phytochimique et biochimique des extraits et de l'huile essentielle de cette plante.

Des enquêtes menées auprès de 800 ménages ont permis d'avoir une vue d'ensemble de la connaissance et de l'utilisation médicinale et alimentaire de *H. bonariensis* dans six communes du district d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ces enquêtes ont révélé une forte proportion des ménages n'ayant aucun niveau d'instruction et de la classe d'âge supérieure à 45 ans. Les groupes ethniques utilisant *H. bonariensis* sont marqués par la prédominance des Akan du Centre et les Krou dont les plus nombreux sont des commerçants et les ménagères. Parmi les usages médicaux, les pathologies liées à l'effondrement du système immunitaire ont été les plus cités (ICF = 0,27). Sur le plan alimentaire, il y a un consensus plus important (ICF= 0,88) pour la consommation des feuilles sous forme de crudité. L'utilisation de cette plante est variable aussi bien pour l'alimentation qu'en santé.

Les tests antioxydants effectués sur les extraits bruts et l'HE ont révélé que tous possèdent une activité contre les radicaux DPPH et ABTS. Parmi les extraits bruts, ce sont les extraits méthanolique et éthylacétatique qui ont été les plus efficaces respectivement pour le DPPH et l'ABTS. En tenant compte de la capacité antioxydante, l'extrait méthanolique a exprimé le meilleur potentiel sur l'ensemble des deux cibles étudiées. Cette capacité est fortement corrélée avec la concentration en composés phénoliques de cet extrait. L'huile essentielle a exprimé une très bonne capacité antioxydante avec l'ABTS qu'avec le DPPH. Les tests antimicrobiens réalisés sur l'huile essentielle et l'extrait décocté contre diverses souches ont montré que l'HE présente une meilleure activité que le décocté des feuilles de *H. bonariensis*. Cette huile a exercé un effet bactériostatique sur *S. aureus* et sur *B. subtilis*, une action fongicide sur *C. tropicalis* et fongistatique sur *C. albicans* et *C. glabrata*. Le décocté n'a présenté qu'une action bactériostatique sur *P. aeruginosa* et fongicide sur *C. tropicalis*. L'activité anticancéreuse de cette huile a été évaluée sur la souche cellulaire CA 431 du cancer de la

vulve. Les résultats indiquent que l'HE possède un fort potentiel chimiocuratif dans le traitement des cancers, notamment celui de la vulve avec une  $CI_{50}$  de 9,45  $\mu\text{g/mL}$ .

L'étude de la composition phytochimique qualitative par CCM des extraits bruts (dont le meilleur rendement a été observé avec l'extrait méthanolique) a révélé que les feuilles de *H. bonariensis* contiennent majoritairement des stérols et des triterpènes, des tanins, des flavonoïdes, des coumarines et des alcaloïdes. La CPG/MS réalisée sur l'huile essentielle des feuilles obtenue avec un rendement  $0,125 \pm 0.003 \%$  a permis de caractériser 52 composés. Ces constituants sont des monoterpènes hydrocarbonés (71,21 %) et oxygénés (1,54 %), des sesquiterpènes hydrocarbonés (21,01 %) et oxygénés (1,15 %) et d'autres composés (4,8 %). Le  $\beta$ -pinène, l' $\alpha$ -pinène, le caryophyllène, l'humulène, le D-Germacrène et l' $\alpha$ -farnésène en sont les plus abondants.

L'analyse quantitative a montré que les teneurs en composés phénoliques contenues dans les extraits méthanolique et hydroalcoolique sont supérieures à celles des autres extraits. Cette étude révèle que les feuilles de *H. bonariensis* renferment des protéines totales et des fibres brutes alimentaires. Une bonne teneur en cendres totales et un important taux d'humidité ont été observés dans ces feuilles. Les minéraux essentiels, en l'occurrence le calcium, le magnésium, le fer, le zinc et le cuivre ont également été retrouvés dans les feuilles de cette plante à l'issue des tests réalisés dans cette étude.

Les enquêtes ainsi que l'étude des propriétés biologiques et chimiques de *H. bonariensis* ont révélé son importance médicinale et nutritionnelle. Ces résultats constituent une validation des usages traditionnels de cette plante ainsi que des preuves scientifiques en faveur de sa valorisation en Côte d'Ivoire. Ce travail renforce d'avantage l'important rôle de cette plante médicinale et alimentaire dans la vie quotidienne des populations du district d'Abidjan. *H. bonariensis* est prometteuse et pourrait être préconisée dans la lutte contre diverses maladies graves telles que les carences nutritionnelles (vitamines, minéraux, oligoéléments), la prévention des maladies cardiovasculaires et dégénératives liées au vieillissement. Les objectifs assignés à ce travail ont été atteints. Cependant, il convient :

- de poursuivre et approfondir les enquêtes dans toutes les régions de la Côte d'Ivoire, selon les saisons;
- d'évaluer la disponibilité de cette plante alimentaire et médicinale sur le terrain et de proposer sa culture ;

- de déterminer les quantités consommées et la fréquence de consommation des feuilles de *H. bonariensis* par les populations;
- de faire des tests sur les feuilles fraîches et évaluer leur toxicité in vivo;
- de développer des aliments fonctionnels à partir des feuilles cette plante;
- de préparer des médicaments traditionnels améliorés à base d'HE de *H. bonariensis*, pour dans la prise en charge du cancer de la vulve

*In fine*, l'étude de la relation structure-activité anticancéreuse est envisagée.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abderrahim E. H. (2011).** Valorisation des terpènes naturels issus de plantes Marocaines par transformations catalytiques. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, France, 158 pages.
- Acho C. F., Zoue L. T., Akpa E. E., Yapó V. G. & Niamke S. L. (2014).** Leafy vegetables consumed in Southern Côte d'Ivoire: a source of high value nutrients. *Journal of Animal and Plant Sciences* 20 (3): 3159-3170.
- Adakarlén S. M. (2011).** Etude phytochimique de plantes médicinales des Andes Vénézuéliennes: *Palicourea demissa* Standl. (Rubiaceae) et *Hydrocotyle umbellata* L. (Umbelliferae). Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 1, France, 382 pages.
- Adeniyi S. A., Orjiekwe C. L., Ehiagbonare J. E. & ARIMAH B. D. (2012).** Evaluation of chemical composition of the leaves of *Ocimum gratissimum* and *Vernonia amygdalina*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 6 (3): 1316-1323.
- AFNOR (2008).** Publication huiles essentielles, normes ISO, normes: [http://portailgroupe.afnor.fr/public\\_espacenormalisation/AFNORT75A/](http://portailgroupe.afnor.fr/public_espacenormalisation/AFNORT75A/). Consulté le 23/04/2016.
- Agbor G. A., Julius E., Oben J., Ngogang Y., Cai X. & Joe A. V. (2005).** Antioxidant Capacity of Some Herbs/Spices from Cameroon: A Comparative Study of Two Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 6819-6824.
- Aghui N., Biémi J. (1984).** Géologie et hydrogéologie des nappes de la région d'Abidjan. Risques de contamination. Annale Universitaire Nationale de Cote d'Ivoire, Série C (Sciences), tome 20, 313-347.
- Ahoua A. R. C., Konan A. G., Bonfoh B. & Koné M. W. (2015).** Antimicrobial potential of 27 plants consumed by chimpanzees (*Pan troglodytes* versus Blumenbach) in Ivory Coast. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15: 383.
- Ahoua A. R. C., Koné M. W., Konan A. G., Tra Bi F. H. & Bonfoh B. (2012).** Antioxidant activity of eight plants consumed by great apes in Côte d'Ivoire. *African Journal of Biotechnology* 11 (54): 11732-11740.
- Ajani E. O., Salako A. A., Sharlie P. D., Akinleye W. A., Adeoye A. O., Salau B. A. & Adebawo O. O. (2009).** Chemopreventive and remediation effect of *Hydrocotyle bonariensis* Comm Ex Lam (Apiaceae) leave extract in galactose-induced cataract. *Journal of Ethnopharmacology* 123: 134-142.

- Aké Assi L. (1984).** Flore de la Côte-d'Ivoire : étude descriptive et biogéographique, avec quelques notes ethnobotaniques. Thèse de Doctorat, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire, 1076 pages.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. & Walter P. (2002).** Molecular Biology of the Cell. Edition Garland Science, New York and London 351–352.
- Ali R. F. M. (2011).** Antioxidative effects of Pomposia extract on lipid oxidation and quality of ground beef during refrigerated storage. *American Journal of Food Technology* 6 (1): 52 - 62.
- Alyafi M. & Bentley J. (2017).** Récidive métastatique d'un cancer de la vulve sur la cheville. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* 17: 30965-30969.
- Ambé G. A. (2001).** Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte d'Ivoire: état de la connaissance par une population locale, les Malinké. *Biotechnology Agronomy Society and Environment* 5(1): 43-58.
- Andrea J. (2010).** Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [http://www.jbrj.gov.br/publica/livros\\_pdf/plantas\\_fungos\\_vol1.pdf](http://www.jbrj.gov.br/publica/livros_pdf/plantas_fungos_vol1.pdf). Consulté le /2 /09/2016.
- Anonyme 1 (2017).** Abobo - UVICOCI: Union des Villes et Communes de Côte d'Ivoire. <http://uvicoci.ci/accueil/communedetail/181>. Consulté le 13 novembre 2017.
- Anonyme 2 (2017).** Abobo - UVICOCI: Union des Villes et Communes de Côte d'Ivoire. <http://uvicoci.ci/accueil/communedetail/192>. Consulté le 13 novembre 2017.
- AOAC. (1990).** Association des Officiels Chimistes Analytiques, USA (Washington) 15e édition Adrich RC.
- Atawodi S. E. (2005).** Antioxidant potential of African plants. *African Journal of Biotechnology* 4 (2): 128-133.
- Atchibri A. L. O-A., Soro L. C., Kouamé C., Agbo E. A. & Kouadio K., K., A. (2012).** Valeur nutritionnelle des légumes feuilles consommés en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 6 (1): 128-135.
- Aurousseau B. (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA. Productions Animales* 15 (1): 67-82.
- Autard M. (2017).** Place et intérêt de l'aromathérapie en cancérologie. Thèse de Doctorat, Université de Marseille, France, 135 pages.

- Avallone S., Bohuon B., Hemery Y. & Trèche S. (2007).** Improvement of the *in vitro* digestible iron and zinc content of okra (*Hibiscus esculentus* L.) sauce widely consumed in Sahelian Africa. *Journal of Food Science* 72: 153-158.
- Avlessi F., Alitonou G. A., Djenontin T. S., Tchobo F., Yèhouénou B., Menut C. & Sohounhloué D. (2012).** Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences* 1(3): 7-13.
- Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu S. & Ozturk I. (2010).** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-Product Insects. *Journal of Insect Science* 10 (1): 21–26.
- Bachiri L., Bammou M., Echchegadda G., Ibijbijen.J., El Rhaffar L., Haloui Z. & Nassiri L. (2017).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux espèces de lavande : *Lavandula Dentata* Spp. *Dentata* et *Lavandula Pedunculata* Spp. *Pedunculata*. *European Scientific Journal* 13 (21): 1857–1881.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology* 46 (2): 446–475.
- Balandrin M. F., Klocke J. A., Wurtele E. S. & Bollinger W. H. (1985).** Natural Plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science* 228 (4704): 1154 – 1159.
- Barel S., Segal R. & Yashphe J. (1991).** The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology* 33: 187-191.
- Baser K. H. C. & Buchbauer G. (2015).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. 2nd edition CRC Press 1109 pages.
- Bassetti M., Peghin M., Cernelutti A., Righi E., Merelli M., Ansaldi F., Trucchi C., Alicino C., Sartor A., Wauters J., Lagrou K., Tascini C., Menichetti F., Mesini A., De Rosa F. G., Lagunes L., Rello J., Colombo A.L., Vena A., Munoz P., Tumbarello M., Sganga G., Martin-Loeches I. & Viscoli C. (2017).** Invasive candida infections in liver transplant recipients: clinical features and risk factors for mortality. *Transplant Direct* 3 (5): e156.
- Bechaalany P. (2005).** L'utilisation des huiles essentielles dans les affections inflammatoires en complément du traitement ostéopathe. *European School of Animal Osteopathy* 1: 10-11.

- Bedi G., Tonzibo Z. F., Chalchat J. C. & N'Guessan Y. T. (2001).** Composition chimique des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* L. King Robinson (Asteraceae) Abidjan Côte d'Ivoire. *Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie* 11: 29-37.
- Békro Y. A., Mamymbekova-Békro. J. A., Boua B. B., Tra Bi F. H. & Ehilé E. E. (2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences et Nature* 4 (2): 217-225.
- Belaiche P. (1979).** Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie, Edition Maloine, 35 pages.
- Benabdelkader T. (2014).** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat, Université Jean-Monet de Saint-Etienne, France. 259 pages.
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F. R., Ortuno A. & Del R. J. A. (1997).** Uses and properties of Citrus flavonoïds. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 45: 4505-4515.
- Bencheikh S. E. (2017).** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum* Labiatae. Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah–Ouargla, Algérie, 121 pages.
- Benedict S. & Colagreco J. (1994).** Fungal infections associated with malignancies, treatments, and AIDS. *Cancer Nursing* 17 (5): 411-417.
- Beniamino O. (1957).** Grasse, Centre Mondial des Matières Premières Aromatiques. *Revue de Géographie Alpine* 45 (4): 763 - 774.
- Bennani M. (2017).** Tumeur maligne de la vulve. Thèse de Doctorat, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc, 270 pages.
- Bergeret A. (1986).** Nourriture de cueillette en pays sahélien. *Journal d'Agriculture Traditionnelle et de Botanique Appliquée* 33: 91-130.
- Bergeron N. (2009).** Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de *Salmonella Typhimurium* provenant de porcs sains ou septicémiques. Thèse de Doctorat, Université de Montréal, Canada, 263 pages.
- Berghe & Vlietinck A. (1991).** A screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Method for Plant Biochemistry* 6: 47-68.
- Bernadet M. (2000).** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Editions Dangles, 384 pages.



- Betti J. L. (2004).** An ethnobotanical study of medicinal plants among the baka pygmies in the dja biosphere reserve, Cameroon. *African Study Monographs*, 25 (1): 1-27.
- Billerbeck V. G. (2008).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie* 5 (5): 249 – 253.
- Biloso M. A. (2008).** Valorisation des produits forestiers non ligneux des plateaux de bateke en périphérie de Kinshasa (RD Congo). Thèse de Doctorat, Université Libre de Bruxelles, Belgique 167 pages.
- Blaquière C., Ferrari V. & Girod-Quilain I. (2006).** Les arômes alimentaires: Les bases de la réglementation européenne. *Industries Alimentaires et Agricoles* 123 pages.
- Blasi F. & Stoppelli M. P. (1999).** Proteases and cancer invasion: from belief to certainty: AACR Meeting on Proteases and Protease Inhibitors in Cancer, Nyborg, Denmark. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Reviews on Cancer* 1423 (1): 35-44.
- Blois M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- BNETD/CCT (2015).** Carte du District d'Abidjan. Archives cartographiques du centre de cartographie et de télédétection d'Abidjan. Abidjan, Côte d'Ivoire.
- BNETD (2018).** Projet d'appui à la compétitivité du grand Abidjan (PACOGA): Plan d'action de réinstallation des personnes affectées par les travaux. Abidjan, Côte d'Ivoire, 138 pages.
- Boik J. (2001).** Natural compounds in cancer therapy. Oregon Medical Press Minnesota, 541 pages.
- Boizot N. & Charpentier J-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra. Numéro spécial 79-82.
- Botineau M. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Technologies & Documentation, Paris (France), 1335 pages.
- Boua B., Békro Y-A., Mamyrbekova-Békro J., Wacothon K. & Ehilé E. E. (2008).** Assessment of sexual stimulant potential of total flavonoids extracted from leaves of *Palisota hirsuta* Thumb. K. Schum (Commelinaceae). *European journal of Scientific Research* 22 (4): 533-538.
- Boudraa S., Hambaba L., Zidani S. & Boudraa H. (2010).** Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie: *Celtis australis* L.,

*Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. *Fruits* 65 (2): 75–84.

**Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N. S. & Abrini J. (2006).** Thymus essential oils: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et Environnement* 324-327.

**Bouvet J. M. P. & Grimont P. A. D. (2001).** Données de surveillance 1999 du Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*. *Journal of Behavioral Education* 12: 49-51.

**Boyd N. F & Mc Guire V. (1991).** The possible role of lipid peroxidation in breast cancer risk. *Free Radical Biology and Medicine* 10: 185-190.

**Boyd B. & Ford C. (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition* 4 (6): 1-7.

**Bremness L. (1996).** L'œil nature: Les plantes aromatiques et médicinales. Bordas Nature Paris, 303 pages.

**Brian M. L. (1995).** The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem (USA) 57-148.

**Bridier A. Le Coq D. Dubois-Brissonnet F. Thomas V. Aymerich S. & Briandet R. (2011).** The spatial architecture of *bacillus subtilis* biofilms deciphered using a surface-associated model and *in situ* imaging. *Plos One* 6 (1): 176-177.

**Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Edition Lavoisier, Paris, 519 pages.

**Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Technique & Documentation, Paris, 1120 pages.

**Burdin L. (2014).** Oligothérapie et personne âgée : Intérêt du chrome, du sélénium, du zinc et du cuivre ? Thèse de Doctorat, Université Toulouse III Paul Sabatier, France, 142 pages.

**Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology* 94 (3): 223-253.

**Campaner A. B., Fernandes G. L., Cardoso F. A. & Veasey J. V. (2017).** Vulvar melanoma: relevant aspects in therapeutic management. *Brazilian Annals of Dermatology* 92 (3): 398-400.

**Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokemen A. & Akpulat H.A., (2003).** Antioxydant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol

extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology* 87: 215-220.

**Cano A., Alcaraz O., Costa M. Y. & Arnao M. B. (2002).** Online antioxidant activity determination: comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS assay. *Redox Report* 7: 103-109.

**Cao G., Sofic E. & Prior R. L. (1996).** Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 44: 3426–3431.

**Carson C. F., & Riley T. V. (1995).** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology* 78 : 264-269.

**Cavallo J. D., Péan Y. & Weber P. (2000).** Facteurs influant sur la fréquence et sur le niveau de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* isolées au cours des infections urinaires chez les patients ambulatoires: Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance des bactéries aux antibiotiques (ONERBA). *Médecine et Maladies Infectieuses* 30 (11) : 714-720.

**Chang H. C., Sehra S., Goswami R., Yao W., Yu Q., Stritesky G. L., Jabeen R., McKinley C., Ahyi A. N. & Han L., (2010).** The transcription factor PU.1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation. *Nature Immunology* 11: 527-534.

**Chappuis P. (1991).** Les oligoéléments en médecine et biologie Edition Lavoisier, 653 pages.

**Chassaing V. (2006).** L'Aromathérapie: les huiles essentielles au service du cheval, Edition Violaine Chassaing, 4- 8.

**Chen L. G., Huang W. T., Lee L. T & Wang C. C. (2009).** Ellagitannins from *Terminalia calamansani* induced apoptosis in HL-60 cells. *Toxicology in Vitro* 23: 603–609.

**Cheruvanky H. (2004).** Method for treating hypercholesterolemia, hyperlipidemia and atherosclerosis. *United States Pathology* 6 (4): 733-799.

**Chhabra S., Bhavani M. & Deshpande A. (2014).** Trends of vulvar cancer. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 34 (2):165–168.

**Christiani M., Darrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G. & Micieli D. (2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membrane: Implication for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 55: 6300-6308.

- Chweya J. A. & Eyzaguirre P. (1999).** The biodiversity of traditional leafy vegetables. Institut international des ressources phytogénétiques (IPGRI), Italie, Rome, 182 pages.
- Condeelis J. & Segall J. E. (2003).** Intravital imaging of cell movement in tumours. *Nature reviews cancer* 3: 921-30.
- Couic-Marinier F. & Lobstein A. (2013).** Mode d'utilisation des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques* 52 (525): 26-30.
- D'abrosca D., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C. & Fiorentino A. (2007).** 'Limoncella apple', an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry* 104: 1333-1337.
- Dagnelie P. (1999).** Théories et méthodes statistiques, Presse agronomique de Gembloux: 2<sup>e</sup> Edition Gembloux (Belgique), 463 pages.
- Dangles O., Fargeix G. & Dufour C. (1999).** One-electron oxidation of quercetin and quercetin derivatives in protic and non protic media. *Journal of the Chemical Society* 2 (7): 1387-1395.
- Daniyan S. Y., Abalaka M. E., Aransiola S. A., Elemba O. M. (2011).** Phytochemical Screening, Proximate Analysis and Mineral Composition of *Cassia occidentalis* Seed Extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences* 1 (3): 145-147.
- Dansi A., Adjatin A., Adoukonou-Sagbadja H., Adomou A., Falade V., Yedomonhan H., Akpagana K. & De Foucault B. (2008).** Traditional leafy vegetables in Benin: Folk nomenclature, species under threat and domestication Dans: Biodiversité des légumes-feuilles traditionnels consommés au Bénin. Bibliothèque nationale, Bénin, 173 pages.
- Delarras C. (1998).** Microbiologie: 90 heures de travaux pratiques. Gaétan Morin, Paris, 169-191.
- Delcourt C., Cristol J. P., Léger C. L., Descomps B., Papoz L. & Pola S. G. (1999).** Associations of antioxidant enzymes with cataract and age-related macular degeneration: the POLA study. *Ophthalmology* 106 (2): 215-222.
- Della G. M., Fiorentino A., Monaco P. & Previtera L. (1994).** Polyoxygenated oleanane triterpenes from *Hydrocotyle ranunculoides*. *Phytochemistry* 35: 201– 204.
- Deschepper R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de Doctorat, Université de Marseille, France, 173 pages.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A. A. & Capasso F. (1999).** Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65 (4): 337-353.

- Diarra N., Togola A., Denou A., Willcox M., Daou C. & Diallo D. (2016).** Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 10 (1): 184-197.
- District d'Abidjan (2006).** Direction de l'environnement et de l'hygiène. Rapport d'activité 2006, 33 pages.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M. M., Badoc A. & Gmira N., (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaea lithroïdes*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* 142: 61-78.
- Doneanu C. & Anitescu G. (1998).** Supercritical carbon dioxide extraction of *Angelica archangelica* L. root oil. *The Journal of Supercritical Fluids* 12: 59-67.
- Dortel F., Lacroix P. & Magnanon S. (2011).** Plan de lutte contre l'Hydrocotyle fausse-renoncule (*Hydrocotyle ranunculoides* L.) en Région Pays de la Loire. Conservatoire botanique national de Brest, 85 pages.
- Douart J-P. (1994).** L'oligothérapie en pathologie fonctionnelle: Données scientifiques et cliniques. Edition Maloine, 293 pages.
- Dozon J-P. (1997).** L'étranger et l'allochtone en Côte d'Ivoire. In Contamin B., Mémel-Fotê H. (dir.): Le modèle ivoirien en question. Crises, ajustements, recompositions, Paris: Karthala- Orstom, 779-798.
- Driscoll J. A., Brody S. L. & Kollef D. M. H. (2012).** The Epidemiology, Pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* 67 (3): 351–368.
- Dro B., Soro D., Koné M., Bakayoko A. & K. (2013).** - Evaluation de l'abondance de plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le Nord de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences* 17 (3): 2631-2646.
- Dworkin M. M. & Falkow S. (2006).** Proteobacteria: Gamma subclass. Edition Springer, New York, 1248 pages.
- Economou K. D., Oreopoulou V. & Thomopoulos C. D. (1991).** Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *Journal of American Oil Chemist' Society* 68: 109-111.
- Ekoumou C. (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite au Mali. Thèse de Doctorat, Université de Bamako, Mali, 158 pages.
- El-Readi, M.Z., Eid, H.H., Ashour, M.L., Eid, S.Y., Labib, R.M., Sporer, F. & Wink, M. (2013).** Variations of the chemical composition and bioactivity of essential oils from

leaves and stems of *Liquidambar styraciflua* (Altingiaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 65: 1653– 1663.

**Elzbiéta S., Ewa C., Teresa L., Agnieszka F.-F. & Pawel M. P. (2008).** The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry* 107, 55–59.

**Falahati M., Farahyar S., Akhlaghi L., Mahmoudi S., Sabzian K., Yarahmadi M., Aslani R., (2016).** Characterization and identification of candiduria 263 due to *Candida* species in diabetic patients, *Current Medical Mycology* 2 (3): 10–14.

**FAO (2016).** Programme alimentaire mondial, lutte contre la faim. <https://fr.wfp.org/faim/faq> consulté le 1/09/2016.

**Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 64 (6): 390-396.

**Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annals Biological Clinical* 64 (6): 390-396.

**Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D. M., Forman D. & Bray F. (2015).** Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer* 136 (5): 359-386

**Fernandez X. & Chemat F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert 288 pages.

**Ferraz R. P. C., Cardoso G. M. B., Da Silva T. B., Fontes J. E. do N., Prata A. P. do N., Carvalho A. A., Moraes M. O., Pessoa C., Costa E. V. & Bezerra D. P. (2013).** Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopia frutescens* Aubl. (Annonaceae). *Food Chemistry* 141 (1): 196–200.

**Fertout-Mouri N., Latrèche A., Mehdadi Z., Toumi-Bénali F. & Khaled M. B. (2017).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie* 15 (6) 346–353.

**Fiaschi P. (2010).** Araliaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB005115>. Consulté le 2/05/2016.

**Fidler I. J. (2003).** The pathogenesis of cancer metastasis: the seed and soil hypothesis revisited. *Nature reviews, Cancer* 3: 453–458.

- Figueredo G. (2007).** Étude chimique et statistique de la composition des huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne, Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand, France, 212 pages.
- Finkel T. & Holbrook N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408: 239-247.
- Flandrois J. P., Courcol R., Lemeland J. F., Ramuz M., Sirot J. & Soussy C. J. (1997).** Bactériologie médicale – Collection Azay, Presses universitaires de Lyon, France 309 pages.
- Fleurentin J. (2016).** Du bon usage de l'aromathérapie. Edition Ouest-France, 205 pages.
- Florinsiah L., Farida Z. M. Y., Nur S. N. Norfazlina M. N., Suziana Z. C.F., Rajab N.F. (2013).** Mutagenicity Effect of Hydrocotyle Bonariensis Extracts in Salmonella/Microsome Assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 20 (2): 47-50.
- Fogang H. P. D., Maggi F., Tapondjou L. A., Womeni H. M., Papa F., Quassinti L., Bramucci M., Vitali L. A., Petrelli D., Lupidi G., Vittori S., Barboni L. (2014).** In vitro biological activities of seed essential oils from the Cameroonian spices *Afrotyrax lepidophyllus* Mildbr. and *Scorodophloeus zenkeri* Harms rich in sulfur-containing compounds. *Chemistry & Biodiversity* 11: 161–169.
- Fogliano V., Verde V. & Randazzo G. (1999).** Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47:1035–1040.
- Fondio L., Agbo A. E., Mahyao A., N'ZI J. C., N'Gbesso M. F. D. P., Djidji A. H. & Kouamé C. (2013).** Quelles contributions des légumes feuilles traditionnels à la sécurité alimentaire et à l'allègement de la pauvreté des populations urbaines en Côte d'Ivoire?, Conférence AGRAR, 3-7 juin 2013, Côte d'Ivoire, Yamoussoukro. Presses Agronomiques de Gembloux, 441-450.
- Food and Nutrition Board of the National Academy of Science (1998).** Dietary reference intakes: Proposed definition and plan for review of dietary antioxidants and related compounds. Natl. Acad. Press. <http://www4.nas.edu/IOM/IOMHOME.nsf/pages/Ongoing+studies>. Consulté le 19/11/2017.
- Franchomme P. Jollois R & Penoel D. (2001).** L'Aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements,

démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Éditions Roger Jollois, 490 pages.

**Gad-Shayne C. (1999).** Alternatives to *in vivo* studies in toxicology. In: Balantyne B., Marrs T., Syversen T., editors. General and applied toxicology. Volume 1. USA: Grove's Dictionari's Inc.

**Gardes-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. & Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique, novembre-décembre 2003: 91-96.

**Gautier-Béguin D. (1992).** Etude ethnobotanique des plantes de cueillette à utilisation alimentaire dans un village au Sud du V-Baoulé (Côte d'Ivoire centrale). Thèse de Doctorat, Université de Genève, Suisse, 368 pages.

**Georgievskii B. P., Komissarenko N. F. & Dmitrou C. E (1990).** Les composés bioactifs des plantes médicinales. Editions Naouka, 336 pages.

**Globocan., 2008.** Estimated cancer Incidence, Mortality, Prevalence and Disability-adjusted life years (DALYs) worldwide. IARC Pub LYON, [www.iarc.fr](http://www.iarc.fr). Consulté le 11/08/2017.

**Girad A. (2010).** Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui. Thèse de Doctorat, Université Henry Poincare, Nancy, France, 116 pages.

**Gould M. N. (1997).** Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environmental Health Perspect* 105: 977–979.

**Goupy P., Dufour C., Loonis M. & Dangles O. (2003).** Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 615-622.

**Grüning N. M., Lehrach H. & Ralser M. (2010).** Regulatory crosstalk of the metabolic network. *Trends Biochem Sciences* 35: 220-227.

**Guarrera P. M. & Savo V. (2016).** Wild food plants used in traditional vegetable mixtures in Italy. *Journal of Ethnopharmacology* 185: 202-234.

**Guinoiseau G. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse de Doctorat, Université de Corse, France, 148 pages.

**Gray A. I. & Waterman P. G. (1978).** Coumarins in the Rutaceae. *Phytochemistry* 17: 845- 864.



- Habibi M., Karam M. R. A. & Bouzari S. (2018).** Construction and evaluation of the immune protection of a recombinant divalent protein composed of the MrpA from MR/P fimbriae and flagellin of *Proteus mirabilis* strain against urinary tract infection. *Microbial Pathogenesis* (18) 101-103.
- Hage C. A., Goldman, M. & Wheat L. J. (2002).** Mucosal and invasive fungal infections in HIV/AIDS. *European Journal of Medical Research* 7 (5): 236-241.
- Hailu A. A., & Addis G. (2016).** The content and bioavailability of mineral nutrients of selected wild and traditional edible plants as affected by household preparation methods practiced by local community in benishangul gumuz regional state, Ethiopia. *International Journal of Food Science* 1-7.
- Halliwell B. & Gutteridge J. M. C. (1992).** Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update. *FEBS Letters* 307 (1): 108-112.
- Halliwell B. & Gutteridge J. M. C. (1999).** Free radicals in biology and medicine, 3ème edition Oxford University Press; 396 pages.
- Harborne J. & Williams C. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55 (6): 481-504.
- Hellal Z. (2011).** Hydroxylated derivatives of the flavylum cation. *Journal of Molecular Structure (Theochemical)* 1 (8): 45-78.
- Hertog M. G. L. & Hollman. P. C. H. (1996).** Potential health effects of dietary flavonoid quercetin. *European Journal of Clinical Nutrition* 50: 63-64.
- Herzog F. M. (1992).** Etude biochimique et nutritionnelle des plantes alimentaires sauvages dans le Sud du V-Baoulé, Côte-d'Ivoire. Thèse de Doctorat, Ecole polytechnique Fédérales de Zurich, Suisse, 122 pages.
- Hideg E. (2002).** "A comparative study of fluorescent singlet oxygen probes in plant leaves," *Central European Journal of Biology* 3 (3): 273–284.
- Huang Y. & Ho S. H. (1998).** Toxicity and antioxydant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Toribolium Castaneum* herbst and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research* 34: 11 – 17.
- Hussain A. I., Anwar F., Chatha S. A. S., Jabbar A., Mahboob S. & Nigam P. S. (2010).** *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 1070–1078.
- IITA (1981).** International Institute of Tropical Agriculture. Automated and semiautomated methods for soil and plant analysis. Manual series IITA: Ibadan.

- Ilumbe G. B., Van Damme P., Lukoki F. L., Joiris V., Visser M. & Lejoly J. (2014).** Contribution à l'étude des plantes médicinales dans le traitement des hémorroïdes par les pygmées Twa et leur voisin Oto de Bikoro, en RDC. *Congo Sciences* 2: 46- 54.
- INS (2015).** Côte d'Ivoire-Evaluation de la Sécurité Alimentaire en Situation d'Urgence 2012. Rapport de Ministère du Plan et du Développement, Institut National de la Statistique, Abidjan, Côte d'Ivoire, 17 pages.
- INSA (2015).** Mise au point d'une technique de séparation et de quantification des composés présents dans une huile essentielle. Institut National des Sciences Appliquées de Rouen, Rapport PE huiles essentielles 2015, 69 pages.
- Janssen A. M., Bosman C. B., Van Duijn W., Oostendorp Van De Ruit M. M., Kubben F. J., Griffioen G., Lamers C. B., Van Krieken J. H., Van De Velde C. J. & Verspaget H. W. (2000).** Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer. *Clinical Cancer Research* 6 (8): 3183-3192.
- Jayashree G., Kurup M., Sudarslal S. & Jacob V. B. (2003).** Anti-oxidant activity of *Centella asiatica* on lymphoma-bearing mice. *Fitoterapia* 74: 431–434.
- Juteau F., Masotte V., Bessiere J. M. & Viano J. (2002).** Composition and characteristics of essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochemical Systematic and Ecology* 30: 1065-1070.
- Jokhadze M., Eristavi L., Kutchukhidze J., Chariot A., Angenot L., Tits M., Jansen O. & Frédérick M. (2007).** *In vitro* cytotoxicity of some medicinal plants from Georgian Amaryllidaceae. *Phytotherapy Research* 216: 22–624.
- Kabran G. R. (2014).** Etude chimique et cytotoxique de dix plantes de Côte d'Ivoire, utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein. Thèse de Doctorat, Université Nangui abrogoua d'Abidjan, Côte d'Ivoire, 265 pages.
- Kalemba D. & Kunicka A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813-829.
- Kim S. Y., Kim S. K., Oh M. J. & Jung M. Y. (1994).** Antioxidant activity of selected oriental herb extracts. *Journal of the American Oil Chemist' Society* 71: 633-640.
- Kimball D. A. (1999).** Citrus processing: A complete guide. Second edition, Aspen Publication inc. 435 pages.
- Kimbaris A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S. & Polissiou M. G. (2006).** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction

methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics Sonochemistry* 13 (1): 54-60.

**Kipré G. R., Offoumou M. R., Silué K. D., Bouabré G. M., Zirihi G. N. & Djaman A. J. (2017).** Enquête ethnopharmacologique des plantes antipaludiques dans le département d'Agboville, sud-est de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 109: 10618-10629.

**Kiyoura Y. & Tamai R. (2015).** Innate immunity to *Candida albicans*. *Japanese Dental Science Review* 51 (3) 59–64.

**Klein B. P. & Kurilich A. C. (2000).** Processing effects on dietary antioxidants from plant foods. *HortScience* 35:580-584.

**Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20 (4) : 165-177.

**Koffi M. K., Békro Y.-A., Mamyrbékova-Békro J. A., Marc G., Tra J., Véronique M. & Boua B. B. (2008).** Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin Layer chromatography. *European Journal of Scientific Research* 24 (2): 219-228.

**Koné M. W., Kamanzi-Atindehou K., Terreaux C., Hostettmann K., Traoré D. & Dosso M. (2004).** Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 93: 43-49.

**Koné M. W., Koffi A. G., Bomisso E. L. & Tra Bi F. H. (2012).** Ethnomedical study and iron content of some medicinal herbs used in traditional medicine in Côte d'Ivoire for the treatment of anaemia. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 9 (1): 81-87.

**Kong Y., Fu Y. J., Zu Y. G., Chang F. R., Chen Y. H. & Liu X. L. (2010).** Cajanus lactone, a new coumarin with anti-bacterial activity from pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves. *Food Chemistry* 121 (4): 1150-1155.

**Koroch A., Juliani R., H. & Zygadlo J. A. (2007).** Bioactivity of essential oils and their components. In Flavours and Fragrances. *Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* 87–115.

**Kouamé N. M. T. (2009).** Espèces végétales spontanées consommées dans la région du Fromager (Gagnoa-Côte d'Ivoire): inventaires, valeurs alimentaires et essai de domestication. Thèse de Doctorat, Université de Cocody, Côte d'Ivoire, 152 pages.

- Kouamé N. M. T., Gnahoua G. M., Kouassi K. E. & Traoré D. (2008).** Plantes alimentaires spontanées de la région du Fromager (Centre- ouest de la Côte d'Ivoire) : flore, habitats et organes consommés. *Sciences & Nature* 5(1): 61-70.
- Kouamé N. M. T., Soro K., Mangara A., Diarrassouba N., Coulibaly A. V. & Boraud N. K. M. (2015).** Étude physico-chimique de sept (7) plantes spontanées alimentaires du centre-ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied BioSciences* 90: 8450–8463.
- Kouamé Bi K. F.-P. (2012).** Valorisation de quatre plantes médicinales Ivoiriennes: étude phytochimique. Thèse de doctorat, Université de Nantes et de l'Université de Cocody-Abidjan, 180 pages.
- Kouassi J. B., Massara C-C., Sess D. E., Tiahou G. & Djohan F. Y. (2013).** Détermination des teneurs en magnésium, potassium, manganèse et sodium de gombo. *Journal of Applied Biosciences* 67: 5219–5227.
- Kpoviessi S., Bero J., Agbani P., Gbaguidi F., Kpadonou-Kpoviessi B., Sinsin B., Accrombessi G., Frédérick M., Moudachirou M. & Quetin-Leclercq J. (2014).** Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *Journal of Ethnopharmacology* 151: 652–659.
- Kuo Y. H., Kuo Y. J., Kuo A. S., Yu M. D., Wu C. W., Ong L. M., Yang Kuo J. T., Huang C. & Chen S. Y. Li ( 2003).** Two novel sesquiterpenes lactone, cytotoxic vernolide —A and B from *Vernonia cinerea*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 51(4): 425-426.
- Kyung M. Y., Choong H. L., Hyungjae L., Bo K. M. & Chang Y. L. (2008).** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry* 106: 929–936.
- Lagnika L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes Béninoises. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg/Université d'Abomey Calavi, France/Bénin, 280 pages.
- Laguerre M., Lecomte J. & Villeneuve P. (2007).** Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research* 46 : 244–282.

- Lauginie F., Poilecot P., Akindes F., Beligne V., Bonfou K. & Ouattara D., 1996.** Monographie des Parcs Nationaux. Projet WWF – CI008. Revue Générale des Parcs Nationaux et Réserves de Côte d'Ivoire. Document 5. DDC, Minagra & WWF, Abidjan.
- Le Loir Y. & Gautier M. (2010).** Monographies de microbiologie : *Satphlococcus aureus*, Edition Lavoisier, 233 pages.
- Leblanc, Narducci F., Boukerrou M., Querleu D. (2007).** Chirurgie du cancer de vulve. *Encyclopédie médico-chirurgicale - Gynécologie* 41-890.
- Lee S. J., Umamo K., Shibamoto T. & Lee K. G. (2005).** Identification of volatile components in basil (*Ocimum Basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus Vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91 (1): 131 - 137.
- Leitao D., Polizello A., Ito I. & Spadaro A. (2005).** Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from Cramberry juice. *Journal of Medicinal Food* 8 (1): 36-40.
- Lien H. T. N. (2009).** Chemical examination of *Hydrocotyle bonariensis* L. (Apiaceae). *Journal of Chemistry* 47(5): 542–546.
- Liu Z. L. & Ho S. H. (1999).** Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* Herbst). *Journal of Stored Products Research* 35 (4): 317–328.
- Loriol M. (2001).** Le conseil en oligothérapie-Le Moniteur des Pharmaciens. Cahier n° 2420.
- Madisen H. L. & Bertelsen G. (1995).** Spices as antioxidants. *Trends in Food Science & Technology* 6: 271-277.
- Malhotra C. L., Das P. K., Sastry M. S. & Dhalla N. S. (1961).** Chemical and pharmacological studies on *Hydrocotyle asiatica* Linn. *Indian Journal of Pharmacology* 23: 106-107.
- Malins D. C. & Haimanot R. (1991).** Major alterations in the nucleotide structure of DNA in cancer of the female breast. *Cancer Research* 51 (19): 5430-5432.
- Mamyrbékova-Békro J. A., Konan M. K., Békro Y. A., Djié Bi M. G., Zomi Bi T. J., Mambo V. & Boua B. B. (2008).** Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *European Journal of Scientific Research* 24 (2): 219-228.

- Masoumian M., Arbakariya A., Syahida A. & Maziah M. (2011).** Flavonoids production in *Hydrocotyle bonariensis* callus tissues. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (9): 1564-1574.
- Marascuilo, L. A. & Serlin, R. C. (1979).** Tests and contrasts for comparing change parameters for a multiple sample McNemar data model. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology* 32: 105-112.
- Marfak A., 2003.** Radiolyse gamma des flavonoides: Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France, 220 pages.
- Marino D. C., Sabino L. Z., Armando J. J., Ruggiero A de A. & Moya H. D. (2009).** Analysis of the polyphenols content in medicinal plants based on the reduction of Cu(II)/bicinchoninic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 9: 57 (23): 11061-11066.
- Martin A. R., Salgueiro A. R., Goncalves M. J., Vila R., Tomi F., Adzet T. & Casanova J. (2000).** « Activity and chemical composition of the bark oil of *Croton stellulifer* ». *Planta Medica* 66 (7): 647-650.
- Martino R. & Subira M. (2002).** Invasive fungal infections in hematology: new trends. *Annals of Hematology* 81: 233-243.
- Marzocca A. (1997).** Vademecum de Malezas Medicinales de la Argentina. Indígenas y exóticas. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires, Argentina, 363 pages.
- Mates J. M. & Sanchez-Jimenez F. (1999).** Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience* 4: 0339- 0345.
- Matsushita A., Sasaki Y., Warashina T., Miyase T., Noguchi H. & Velde D.V. (2004).** Hydrocotylosides I-VII, new oleanane saponins from *Hydrocotyle sibthorpioides*. *Journal of Natural Products* 67: 384–388.
- Mauro J. E., Bertolino M. V, Basilio F., Nassif J. C. & Jankilevich G. (2009).** A series of 21 cases using cryosurgery, a novel technique for managing advanced or extended vulvar cancer in medically debilitated patients. *Gynecology Oncology* 114: 542-543.
- Mayer F. (2012).** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, France, 107 pages.
- M'Barek L. A., Mouse H. A., Jaâfari A., Abou F. R., Benharref A., Kamal M., Bénard J., El Abbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Chait A., Dalal A. & Zyad A.**

- (2007). Cytotoxic effect of essential oil of thyme (*Thymus Broussonettii*) on the IGR-OV1 Tumor Cells resistant to chemotherapy. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 40 (11): 1537 - 1544.
- Mendoza R. E., García I. V., De Cabo L., Weigandt C. F. & Fabrizio de I. A. (2015).** The interaction of heavy metals and nutrients present in soil and native plants with arbuscular mycorrhizae on the riverside in the Matanza-Riachuelo River Basin (Argentina). *Science of the Total Environment* 1:555-564.
- Merck E. (1980).** Révélateurs pour la chromatographie en couche mince et sur papier. In: Darmstadt 153 pages.
- Méric de Bellefon L., Legrand J. C., Codden T., Carlier E., Vanhaeverbeek M. (2007).** *Revue Médicale de Bruxelles* 28: 460-463.
- Michael G. & Lancour J. (1981).** Les vulvectomies pour cancer invasif de la vulve. *Encyclopédie Medico-Chirurgicale* 47: 7-41890.
- Middleton E. J. R. & Kardasnam. C. (1993).** The Flavonoids, Advances in research since 1986, éditions. J. B. Harborne, Chapman and Hall, London, 617-652.
- Migdal C. & Serres M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences* 27 (4) : 405-412.
- Miguel M .G. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules* 15 (12): 9252 - 9287.
- Mims C. A., Playfair J. H. L., Roitt I. M., Wakell D. & Williams R. (1993).** Medical Microbiology. *Antimicrobials and Chemotherapy Medical Microbiology* 35: 1-35.
- Minchella A., Molinari L., Alonso S., Bouziges N., Sotto A. & Lavigne J.-P. (2010).** Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie Biologie* 58 (1): 1-6.
- Mishara A. K. & Dubey N. K. (1994).** Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology* 60 (4):1101-1105.
- Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse de Magister, Université Abou Bakr Belkaïd d'Alger, Algérie, 138 pages.
- Mompon B. (1994).** Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction : CO<sub>2</sub>, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4 ième rencontre internationale de Nyons. 149-166.

- Monaghan J. M. (1990).** The management of carcinoma of the vulva. In: Sherperd JH, Monaghan, JM, editors *Clinical gynaecological oncology*. 2nd edition Oxford: *Blackwell Scientific Publications* 1: 140-167.
- Morello M. J., Shahidi F. & Ho C. T. (2002).** Free radicals in foods: Chemistry, nutrition, and health effects. *ACS Symposium Series* 807: 12-34.
- Morillon C. (2015).** Frottis Cervico-Utérins chez les femmes de plus de 65 ans vues en consultation dans le service de Gynécologie du Centre Hospitalier de l'Agglomération Montargoise en 2013. Thèse de Doctotrat, Université François-Rabelais de Tours, France, 46 pages.
- Mosmann T. (1983).** Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *Journal of Immunological Methods* 65: 55-63.
- Moulinier C. (2002).** Parasitologie et mycologie médicales: élément de morphologie et de biologie. Livre & outils du savoir, Edition EM Inter, 796 pages.
- Muther L. (2015).** Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Thèse de Doctorat, Université d'Auvergne, France, 186 pages.
- Muyima N. Y. O., Zulu G., Bhengu T. & Popplewell D. (2002).** The Potential Application of some novel essential oils as natural cosmetic preservatives in an aqueous cream formulation. *Flavour and Fragrance Journal* 17 (4): 258-266.
- Nébié R. H. C., Yaméogo R. T., Bélanger A. & Sib F. S. (2004).** Composition chimique des huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* du Burkina Faso. *Comptes Rendu de Chimie* 7: 1019–1022.
- N'gaman K. C. C., Békro Y. A., Mamyrbékova-Békro J. A., Bénie A. & Gooré B. S., (2009).** Sur la composition en métabolites secondaires et l'activité antioxydante d'extraits bruts de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest : Analyse par Chromatographie en Couche Mince. *European Journal of Scientific Research* 2 (36): 161-171.
- N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D. & Aké-Assi L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). *Sciences & Nature* 1 (6): 1-15.
- Ndir B., Lognay G., Wathelet B., Cornelius C., Marlier M. & Thonart P. (2000).** Composition chimique du nétéu, condiment alimentaire produit par fermentation des



graines du caroubier africain *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. *Biotechnology, Agronomy, Society & Environment* 4 (2): 101-105.

**Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro A. T. & Gning R. D. (2007).** Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* 7 (3): 1-17.

**Nguyen-Khoa T., Kebede M., Lacour B. & Massy Z. A. (2003).** Stress oxydant et insuffisance rénale chronique. *Médecine thérapeutique Cardiologie* 1 (3): 156-63.

**Nicolas A. N. & Plunkett G. M. (2009).** The demise of subfamily Hydrocotyloideae (Apiaceae) and the re-alignment of its genera across the entire order Apiales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53: 134-151.

**Niki E. & Noguchi N. (2000).** Evaluation of antioxidant capacity. What capacity is being measured by which method? *Iubmb Life* 50: 323-329.

**NRDC (2015).** Scientific Report, Technology Offer-Essential Oils, National Research Development Corporation, Sous Presse. [www.cder.dz/download/Art18-3\\_15.pdf](http://www.cder.dz/download/Art18-3_15.pdf). Consulté le 21/02/2018.

**Nyegue M. A. (2006).** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et médicinales du Cameroun. Thèse de Doctorat, Universités de Montpellier II et de Yaoundé I, 179 pages.

**Olle M. & Bender I. (2010).** The content of oils in umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research* 8: 687–696.

**OMS (2002).** Médecine traditionnelle. Rapport du Secrétariat, 6 pages.

**OMS (2012).** Organisation Mondiale de la Santé. Estimates of worldwide burden of cancer in 2012.

**Onyamboko N. V. & Tchatchambe W. B. (1988).** Contribution à l'analyse chimique comparative de deux légumes feuilles *Talinum triangulare* et *Cyphostemma adenocaulis*. *Annales de la Faculté des Sciences* 5: 15-22.

**Ouattara K., Djaman A. J., Coulibaly A., N'Guessan J. D., M'Baiasbe Y. J. & Guédé- Guina F. (2007).** Activité antibactérienne de *Thonningia sanguinea* (THOS) sur *S. enterica* ser Enteritidis lysotype 6, une souche multirésistante. *Revue de Médecine et Pharmacopée Africaine* 20: 1–8.

**Ouibrahim A. (2015).** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de

l'Est Algérien. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie, 117 pages.

**Oussou K. R., Youlou S., Kanko C., Guessennd K. N., Boti J. B., Ahibo C. & Casanova J. (2008).** Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Reaserch* 1: 94-103.

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L. & Lacroix M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 18 (5): 414-420.

**Oussou K. R. (2009).** Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, 241 pages.

**Ouviña A., Gorzalczany S., Acevedo C. & Ferraro G (2009).** Actividad Antiinflamatoria Tópica de Extractosde *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Apiaceae). *Latin American Journal of Pharmacy* 28 (6): 941-944.

**Paganini D., Uyoga M. A., Zimmermann M. B. (2016).** Iron fortification of foods for infants and children in low-income countries: Effects on the gut microbiome, gut inflammation, and diarrhea. *Nutrients* 8 (8): 494.

**Panyakhan S., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Soonthornsarathoon V. & Upatham S. (2006).** Toxicity and accumulation of cadmium and zinc in *Hydrocotyle umbellate*. *Science Asia* 32 (3): 323-328.

**Park C. Y. & Weaver C. M. (2012).** Review Vitamin d interactions with soy isoflavones on bone after menopause: a review. *Nutrients* 4: 1610-1621.

**Pelli K. & Lyly M. (2003).** Les antioxydants dans l'alimentation. Institut National de la Recherche Agronomique 147, rue de l'Université 75338 PARIS cedex 07. France: 28 pages.

**Percival S. L. (2004).** Microbiology of waterborne diseases. Edition Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 480 pages.

**Perlin D. S., Rautemaa-richardson R. & Alastruey-izquierdo A. (2017).** The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infectious Diseases* 17 (12):383-392.

- Petropoulos S. A., Levizou E., Ntatsi G., Fernandes Â, Petrotos K., Akoumianakis K., Barros L. & Ferreira I. C. (2017).** Salinity effect on nutritional value, chemical composition and bioactive compounds content of *Cichorium spinosum* L. *Food Chemistry* 214: 129-136.
- Pfaller M. A. & Diekema D. J. (2007).** Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews* 20 (1): 133-163.
- Pfaller M. A., Jones R. N., Doern G. V., Sader H. S., Messer S. A., Houston A., Coffman S. & Hollis R. J. (2000).** Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (3): 747-751.
- Philippe-Aubert B. (2006).** Cytotoxicité de l'isocaryophyllène sur les cellules L-929: caractérisation du mécanisme d'action. Thèse de Doctorat, Université du Québec, Canada, 97 pages.
- Piba S. C., Tra Bi F. H., Konan D. Bitignon B. G. A., Bakayoko A. (2015).** Inventaire et disponibilité des plantes médicinales dans la forêt classée de Yapo-Abbé, en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal* 11 (24) .161-181.
- Pimenov M. G. & Leonov M.V. (1993).** The genera of the Umbelliferae Nomenclator. Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom, 156 pages.
- Pincemail J. & Defraigne J. O. (2004).** Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 23/10/2004.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. & Defraigne, J.O. (2002).** Physiological action of antioxydant defenses. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 (4): 233-239.
- Pincemail J., Lecomte J., Collart E., Castiaux J. P. & Defraigne J. (2001).** Stress oxydant, antioxydant et exercice physique. *Vaisseaux, Coeurs, Poumons* 6 (5): 1-3.
- Potterat O. (1997).** Antioxydants and free radical scavengers of natural origin. *Current Organic Chemistry* 1 : 415-440.
- Pousset J. L. (1994).** Plantes médicinales africaines. *Le pharmacien d'Afrique* 87 : 1-16.
- Prabhjit K., Bikram S., Subodh K. & Satwinderjeet K. (2008).** In vitro evaluation of free radical scavenging activity of *Rubia cordifolia* L. *Journal of Chinese Clinical Medicine* 3: 278-284.

- Prasad M. N. V. & Freitas H. M. D. (2003).** Metal hyperaccumulation in plants – biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6 (3):285–321.
- Pszczola D. E., 2001.** Antioxidants, from preserving food quality to quality of life. *Food Technology* 55 (6): 51-59.
- Quindós G. (2014).** Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis, a changing face. *Revista Iberoamericana de Micología* 1(1):42–48.
- Rahman S., Ahmed T., Rahman A. S., Alam N., Ahmed A. M. S., Ireen S., Chowdhury I. Chowdhury A. F. P. & Rahman S. M. M. (2016).** Status of zinc nutrition in Bangladesh: the underlying associations. *Journal of Nutritional Science* 5 (e25): 1-9.
- Rakotonanahary M., 2012.** *Peumus boldus* M. : de la botanique à la thérapeutique: état des connaissances en 2012. Thèse de Doctorat, université Joseph Fourier, Grenoble, France, 109 pages.
- Randhawa M. A. & Alghamdi M. S. (2011).** Anticancer activity of *Nigella Sativa* (Black Seed) - A Review. *The American Journal of Chinese Medicine* 39 (6): 1075 – 1091.
- Rashid S., Rather M. A., Shah W. A. & Bhat B. A. (2013).** Chemical composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia indica* Willd. *Food Chemistry* 138: 693–700.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* 26 (9): 1231-1237.
- RCI, 2015.** Analyse de la situation nutritionnelle en Côte d'Ivoire. République de Côte d'Ivoire. Rapport Juillet 2015 du Conseil National pour la Nutrition (CNN), Abidjan, Côte d'Ivoire, 78 pages.
- Reddy K. R. & DeBusk W. F. (1985).** Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes. *Journal of Environmental Quality* 14: 459-462.
- Reddy K. R., D'Angelo E. M. & DeBusk T. A. (1990).** Oxygen transport through aquatic macrophytes: the role in wastewater treatment. *Journal of Environmental Quality* 19: 261-267.
- Reddy N. S., Gumireddy K. & Mallireddigari M. R. (2005).** *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 13: 3141-3147.

- Reidl K. M., Carando S., Alessio H. M., McCarthy M. & Hagerman A. E. (2002).** Antioxidant activity of tannins and tannin-protein complexes: Assessment in vitro and in vivo. *ACS Symposium Series* 807: 188-200.
- RGPH. (2014).** Recensement Général de la Population et de l'Habitat. Résultats globaux. Secrétariat Technique Permanent du Comité Technique du RGPH (Côte d'Ivoire), 3 pages.
- Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P. & Glover W. (1999).** Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.
- Robyns W. (1954).** Une Flore du Congo belge et du Rwanda-Burundi. *Bulletin du Jardin botanique de l'État à Bruxelles* 19 (3): 231-235.
- Roche M., Dufour C., Mora N. & Dangles O. (2005).** Antioxidant activity of olive phenols mechanistic investigation and characterization of oxidation products by mass spectrometry. *Organic Biomolecular Chemistry* 3: 423-430.
- Roginsky V. & Lissi E. A. (2005).** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* 92: 235-254.
- Roussel A. M. (2009).** Chrome et syndrome métabolique. *Médecine des maladies métaboliques* 3(5): 483-485.
- Roussel A. M., Andriollo-Sanchez M., Ferry M., Bryden N. A. & Anderson R. A. (2007).** Food chromium content, dietary chromium intake and related biological variables in French free-living elderly. *British Journal of Nutrition* 98: 326–331.
- Roux-Dessarps L. A., Ribeiro L., May P., Chis C., Luton D. & Koskas M. (2014).** [How I do...an abdominoperineal resection with a Taylor flap reconstruction for vulvar carcinoma]. *Gynecology Obstetric Fertility* 42 (2):132-135.
- Ruan S. Y., Lee L. N., Jerng J. S., Yu C. J. & Hsueh P. R. (2008).** *Candida glabrata* fungaemia in intensive care units. *Clinical Microbiology and Infection* 14(2):136-140.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R. (2011).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry* 91 (4): 621 – 632.
- Sanclemente T., Marques-Lopes I., FajóPascual M., Cofán M., Jarauta E., Ros E., Puzo J. & García- Otín A. L. (2011).** Naturally-occurring phytosterols in the usual diet influence cholesterol metabolism in healthy subjects. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 22 (10): 849-855.

- Sankaranarayanan R. & Ferlay J. (2006).** Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Clinical Obstetrics & Gynaecology* 20 (2) : 207–225.
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F. J. & Reglero G. (2005).** Chemical composition activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection* 68 (4): 790-795.
- Schlesier K., Harwat M., Bohm V. & Bitsch R. (2002).** Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. *Free Radical Research* 36:177-187.
- Schuler P. (1990).** Natural antioxidants exploited commercially *In*: B. J. F. Food antioxidants. *Elsevier* 99-170.
- Séguéna F., Soro K., Soro D. & N'Guessan K. (2013).** Savoir –faire des populations locales des taxons du jardin Botanique de Bingerville, Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 68: 5374–5393.
- Seifried H. E. (2007).** Oxidative stress and antioxidants: a link to disease and prevention? *Journal of Nutritional Biochemistry* 18 (3): 168- 171.
- Sergent O., Griffon B., Cillard P. & Cillard J. (2001).** Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie* 49 (9): 689-695.
- Seve M. & Favier A. (2002).** Métabolisme du zinc. *Encyclopédie Médico-chirurgicale*, 10-359.
- Shahi C., Leitch M. & Laforest S. (2009).** Marketing intelligence system for small-scale essential oils industry of North-Western Ontario, IUFRO 3.08 Small Scale Forestry Symposium Proceedings Morgantown, West Virginia 227 – 236.
- Shahidi F. (2002).** Antioxidants in plants and oleaginous seeds. *ACS Symposium* 807 (12): 162-175.
- Shan B., Cai Y.Z., Sun M. & Corke H. (2005).** Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53 (20): 7749-7759.
- Sharififar F., Moshafi M. H., Mansouri S. H., 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.
- Sherwin E. R. (1976).** Antioxidants for vegetable oils. *Journal of American Oil Chemical Society* 53: 430-436.
- Shimm D., Fuller A. & Orlow E. (1986).** Prognostic variables in the treatment of squamous cell carcinoma. *Gynecologic oncology* 24: 343-358.

- Sibirina S., Djakalia O., Mathieu E. W. & Dossahoua T. (2014).** - Usages traditionnels de quelques espèces végétales de la forêt marécageuse classée de Port Gauthier, en zone côtière au Sud-ouest de la Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal* 10(3): 519-533.
- Sidor P., Głabska D. & Włodarek D. (2016).** Analysis of the dietary factors contributing to the future osteoporosis risk in young Polish women. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 67 (3): 279-285.
- Singleton V. L. & Rossi J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Sobel J. D. 1988.** Pathogenesis and epidemiology of vulvovaginal candidiasis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 544:547–557.
- SODEXAM (2015).** Données de température et de pluviométrie du District d'Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Sooknah R. D. & Wilkie A. C. (2004).** Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. *Ecological Engineering* 22: 27–42.
- Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies* 327 (7): 649-662.
- Soro D., Koné M. W. & Kamanzi K. (2010).** Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research* 40 (2): 307-317.
- Soro L. C., Atchibri A. L. O-A., Kouadio K. K. A. & Kouamé C. (2012).** Evaluation de la composition nutritionnelle des légumes feuilles. *Journal of Applied Biosciences* 51: 3567- 3573.
- Sousa A. C., Gattass C. R., Alviano D. S., Alviano C. S., Blank A. F. & Alves P. B. (2004).** *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56 (5) 677– 681.
- Spichiger R. E., Savolainen V. V., Figeat M. & Jeanmonod D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs, une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Biologie, 4 ème édition, 447 pages.
- Statistica (2007).** Statistica pour Windows, release 5.5. Statoft Inc, France.

- Sturgeon S. R., Brinton L. A., Devesa S. S. & Kurman R. J. (1992).** In situ and invasive vulvar cancer incidence trends. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 166:1482–1485.
- Sultana R., Boyd-Kimball D. A., Poon H. F., Cai J., Pierce W. M., Klein J. B., Markesbery W. R. & Butterfield D. A. (2006).** Oxydative modification and down regulation of Pin 1 Alzheimer's disease hippocampus: a redox proteomics analysis. *Neurobiology of Aging* 27 (7): 918-925.
- Svoboda K. P. & Hampson J. B. (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antioxydant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities; Edition Plant biology department, sac Auchincruceayr, Scotland UK, 17 pages.
- Tabopda T. K., Mitaine-Offer A. C., Miyamoto T., Tanaka C., Mirjolet J. F., Duchamp O., Ngadjui B. T. & Lacaille-Dubois M. A. (2012).** Triterpenoid saponins from *Hydrocotyle bonariensis* Lam. *Phytochemistry* 73 (1):142-147.
- Takahashi H., Aoyagi K., Nakanishi Y., Sasaki H., Yoshida T. & Honda H. (2006).** Classification of intramural metastases and lymph node metastases of esophageal cancer from gene expression based on boosting and projective adaptive resonance theory. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 102 (1): 46–52.
- Tat L. (2004).** Vietnamese medicinal plants and remedies. *Medical Publishing House* 631 – 632.
- Tchiégang C. & Kitikil A. 2004.** Données ethnonutritionnelles et caractéristiques physico- chimiques des légumes feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura* 22 (1): 11-18.
- Tempone A. G., Sartorelli P., Teixeira D., Prado F. O., ARL Calixto I. A. R. L., Harri Lorenzi H. & Melhem S. C. M (2008).** Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 103 (5): 443-449.
- Thouri A., Chahdoura H., El Arem A., Omri H. A., Ben H. R. & Achour L. (2017).** Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). *BMC complementary and alternative medicine* 17 (1):248.



- Tiébré M. S., Ouattara D., Vroh Bi. T. A., Gnagbo A. & N'Guessan K. E. (2016).** Diversité floristique et disponibilité des plantes utilitaires en zone soudanienne de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 102: 9699-9707.
- Tobudic S., Kratzer C., Lassnigg A., Presterl E. (2011).** Antifungal susceptibility of *Candida* in biofilms. *Mycoses* 55 (3): 199-204.
- Tonzibo Z. F. (1998).** Contribution à l'étude des huiles essentielles des espèces acclimatées en Côte d'Ivoire. *Eucalyptus citrodora*, *Ocimum gratissimum* et *Ocimum basilicum*. Thèse de Doctorat, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, 136 pages.
- Touré D. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, 154 pages.
- Toursarkissian M. (1980).** "Plantas Medicinales de la Argentina: sus Nombres Botánicos, Vulgares, Usos y Distribución Geográfica". Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 178 pages.
- Toury J., Giogi R., Favier J. C. & Savina J. F. (1967).** Aliments de l'Ouest Africain : tables de composition. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation* 21 : 2-73.
- Touyz R. M. & Schiffrin E. L. (2003).** Role of endothelin in human hypertension. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 81(6): 533-541.
- Touyz R. M. (2005 a).** Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II. *Current Opinion on Nephrology and Hypertension* 14 (2): 125-131.
- Touyz R. M. (2005 b).** Reactive oxygen species as mediators of calcium signaling by angiotensin II: implications in vascular physiology and pathophysiology. *Antioxidants and Redox Signaling* 7: 1302-1314.
- Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B. & Sokmen A. (2002).** Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achilla setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology* 83: 117-121.
- Vander H. M., Cantley L. C. & Thompson C. B (2009).** Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324 :1029-1033.
- Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L. & Oomah B. D. (1998).** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 : 4113-4117.

- Vennetier P. (1983).** Atlas de la Côte d'Ivoire. Editions les atlas Jeune Afrique, 1-72.
- Vessereau A. (1992).** Méthodes Statistiques en Biologie et en Agronomie. Technique et documentation Lavoisier : Paris, 540 pages.
- Viuda-Martos M., Ruiz N. Y., Sánchez Z. E., Fernández-López J. & Pérez-Álvarez J. A. (2009).** Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal* 25 (1): 13-19.
- Vivot E., Muñoz J. D., Herrero I., Dragán A. & Sequin C. (2006).** Antimicrobial activity of dichloromethane extracts of eleven plants from the flora of entre ríos (Argentina). *Pharmacology online* 3: 845-849.
- Volpe M. G., Nazzaro M., Di Stasio M., Siano F., Coppola R. & De Marco A. (2015).** Content of micronutrients, mineral and trace elements in some Mediterranean spontaneous edible herbs. *Chemistry Central Journal* (9): 57 pages.
- Von A. E., Kager M. & Maucher A. (1994).** Antitumor activity of coumarin in prostate and mammary cancer models. *Journal of cancer research and clinical oncology* 120:14-16.
- Wagner H. & Bladt S. (1996).** Plant drug analysis in thin layer chromatography. 2nd edition Springer Verlag Berlin Edatlas, 384 pages.
- Walia M., Mann T. S., Kumar D., Agnihotri V. K. & Singh B. (2012).** Chemical composition and *in vitro* cytotoxic activity of essential oil of leaves of *Malus domestica* growing in Western Himalaya (India). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 649–727.
- Walsh T. J. & Merz W. G. (1986).** Pathologic features in the human alimentary tract associated with invasiveness of *Candida tropicalis*. *American Journal of Clinical Pathology* 85 (4): 498–502.
- Wang C. Y., Chen C. T. & Wang S. Y. (2009).** Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry* 117: 426–431.
- Wilson R. (2002).** Aromatherapy: essential oils for vibrant health and beauty, Edition Penguin Putman, 24 pages.
- Wingard J. R., Merz W. G. & Saral R. (1979).** *Candida tropicalis*: a major pathogen in immunocompromised patients. *Annals of Internal Medicine* 91 (4): 539–543.

- Xu R. H., Pelicano H., Zhou Y., Carew J. S, Feng L. & Bhalla K. N (2005).** Inhibition of glycolysis in cancer cells: a novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia. *Cancer Research* 65: 613-621.
- Yamanaka N., Samu O. & Nagao S. (1996).** Green Tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu<sup>2+</sup> induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Letters* 401: 230-234.
- Yao K., Koné M. W. & Kamanzi K. (2015).** Contribution des légumes feuilles à la nutrition des populations en zones urbaines de la Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research* 130 (4): 338-351.
- Yazdanpanah M., Luo X., Lau R., Greenberg M., Fisher L. J. & Lehotay D. C. (1997).** Cytotoxic aldehydes as possible markers for childhood cancer. *Free Radical Biology and Medicine* 23: 870-878.
- Yongpisanphop J., Kruatrachue M. & Pokethitlyook P. (2005).** Toxicity and accumulation of lead and chromium in *Hydrocotyle umbellata*. *Journal of Environmental Biology* 26 (1): 79-89.
- Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R. & Biniaz, M. (2014).** Toxicity of essential oil of *Satureja khuzistanica*: in vitro cytotoxicity and anti-microbial activity. *Journal of Immunotoxicology* 11: 50–55.
- Yu F., Yu, F., McGuire, P.M., Li, R. & Wang R. (2007).** Effects of *Hydrocotyle sibthorpioides* extract on transplanted tumors and immune function in mice. *Phytomedicine* 14: 166–171.
- Yu L., Haley S., Perret J. & Harris M. (2002).** Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. *Food Chemistry* 78: 457-461.
- Zein M. K. L., Kouamé B. A., Koné B., Téré H., Chatelain C. (2005).** Education environnementale dans la forêt d'Adiopodoumé. Série éducative Sud-Nord première édition des conservatoires et jardins botaniques de Genève, 129 pages.
- Zhiri A. (2006).** Aromathérapie. *Nutranews* 2-16.
- Zirihi G. N., Mambu L., Guédé-Guina F., Bodo B. & Grellier P. (2005).** In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of West African plants used for treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 281-285.

## ANNEXES

### Annexe 1 : Fiche d'enquête ethnobotanique

#### Fiche d'enquête

#### Connaissance et utilisation médicinale et alimentaire sur *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae) menée dans le District

Code enquêteur: 1/1  
Commune : Cocody Quartier : Commandant Saron  
Numéro du questionnaire : 819  
Date de l'enquête : 06/04/2015

1/3

#### Partie I : Connaissance générale de *Hydrocotyle*

| N°                                                                        | QUESTIONS                                                                 | MODALITES                   | REPONSES |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------|
| Q101                                                                      | Connaissez-vous <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ?                          | 1. Oui<br>2. Non            | <u>1</u> |
| Q102                                                                      | Si oui, l'utilisez- Vous ?                                                | 1. Oui<br>2. Non            | <u>1</u> |
| Si oui, passez directement à l'identification traditionnelle de la plante |                                                                           |                             |          |
| Q103                                                                      | Si non, connaissez-Vous une personne dans votre entourage qui l'utilise ? | 1. Oui<br>2. Non            | <u>/</u> |
| Q104                                                                      | Si oui, quelle utilisation en fait-elle ?                                 | 1. Aliment<br>2. Médicament | <u>/</u> |
| Si c'est un médicament, passez directement à Q 402                        |                                                                           |                             |          |
| Si c'est un aliment, passez directement à Q 502                           |                                                                           |                             |          |

#### Partie II : Identification de la personne interrogée

| N°   | QUESTIONS                     | MODALITES                                                                | REPONSES |
|------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------|
| Q201 | Nom et Prénoms de l'enquêteur | <u>Kemon Jette</u>                                                       |          |
| Q202 | Nationalité                   | <u>Ivoirienne</u>                                                        |          |
| Q203 | Groupe ethnique               | <u>Baule</u>                                                             |          |
| Q204 | Sexe                          | 1. Masculin<br>2. Féminin                                                | <u>2</u> |
| Q205 | Age                           | <u>63 ans</u>                                                            |          |
| Q206 | Niveau d'études?              | 1. Aucun<br>2. Primaire<br>3. Secondaire<br>4. Supérieur<br>5. Coranique | <u>3</u> |
| Q207 | Fonction ?                    | <u>commergante</u>                                                       |          |

Partie III: Identification traditionnelle de *Hydrocotyle*

| N°    | QUESTIONS                            | MODALITES                                                                                              | REPOSES |
|-------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Q301  | Quel est son nom vernaculaire ?      | .....                                                                                                  |         |
| Q302  | De quelle ethnie s'agit-il ?         | .....                                                                                                  |         |
| Q303  | Que signifie ce nom ?                |                                                                                                        |         |
| Q304  | Où l'avez connue ?                   | 1. Au Village,<br>2. Je la connais<br>3. Par quelqu'un<br>4. Par les vendeuses<br>5. Autres (Précisez) | 3/      |
| Q 305 | Type de plantes ?                    | 1. Spontanée<br>2. Domestiquée<br>3. Autres.....                                                       | 2/      |
| Q306  | Comment procurez vous cette plante ? | 1. Au marché<br>2. Je la cultive moi-même<br>3. Je la récolte moi-même<br>4. Autre.....                | 2/      |

Partie IV: usages médicaux de *Hydrocotyle bonariensis*

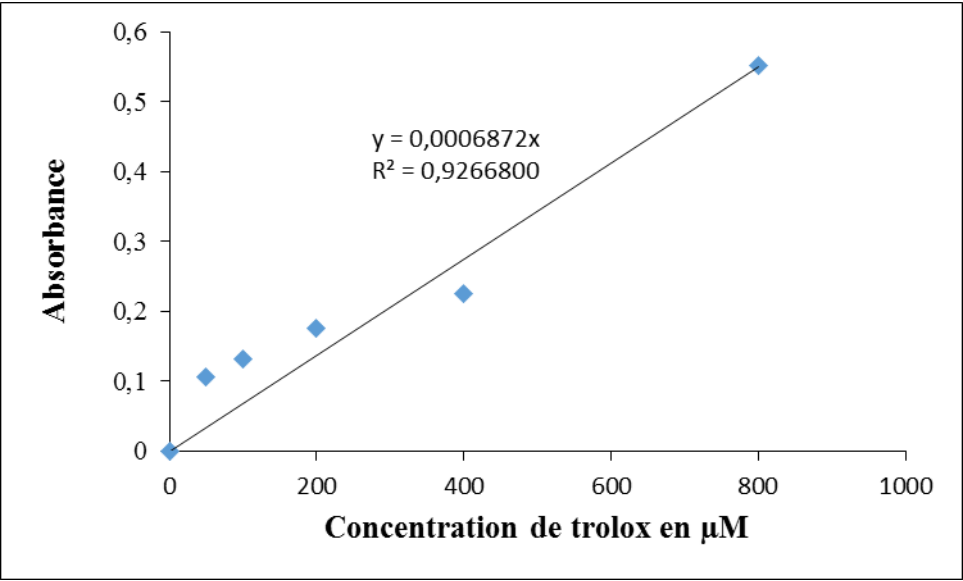
| N°                | QUESTIONS                                                                                                                           | MODALITES                                                                                                                        | REPOSES                       |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Q401              | L'utilisez-vous comme un médicament ?                                                                                               | 1. Oui<br>2. Non                                                                                                                 | 1/                            |
| Q402              | Quelles sont les maladies soignées avec cette plante?                                                                               | 1. Diabète<br>2. Hypertension<br>3. Perte de Mémoire<br>4. Paludisme<br>5. Rhumatisme<br>6. Autres (Précisez)                    | 2 et 6<br>(Fibromes)          |
| Q403              | <b>Organes végétaux utilisés</b><br><br><b>A- Mode de préparation</b><br>1. Décoction,<br>2. Macération<br>3. infusion<br>4. Autres | <b>B- Mode d'administration</b><br>1. Voie orale<br>2. Voie anale<br>3. Application sur la peau<br>4. Voie veineuse<br>5. Autres | <b>C. Durée du traitement</b> |
| 1. Feuilles       | 1/                                                                                                                                  | 1/                                                                                                                               | 2 → aucune idée<br>6 → 3 mois |
| 2. Fruits         | /                                                                                                                                   | /                                                                                                                                |                               |
| 3. Inflorescences | /                                                                                                                                   | /                                                                                                                                |                               |
| 4. Graines        | /                                                                                                                                   | /                                                                                                                                |                               |
| 5. Tiges          | /                                                                                                                                   | /                                                                                                                                |                               |
| Q404              | Quels sont les effets bénéfiques de la plante                                                                                       | 1. rejoint les cellules<br>2. fait baisser la tension<br>3.<br>4.                                                                |                               |
| Q405              | Quels sont les effets que vous n'avez pas approuvés ?                                                                               | 1.<br>2. Aucun à ma connaissance<br>3.<br>4.                                                                                     |                               |



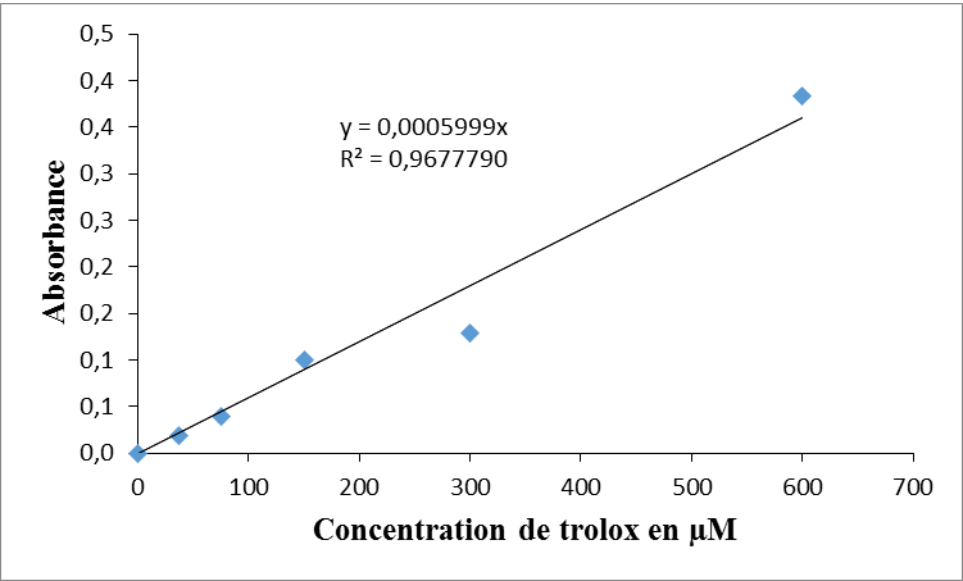
**Partie V- : Connaissance sur le mode, la fréquence de consommation de *Hydrocotyle bonariensis* (Apiaceae)**

| N°   | QUESTIONS                                                                          | MODALITES                                                                                                                                                                                                       | REponses                           |
|------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Q501 | Consommez-vous cette plante?                                                       | 1. Oui<br>2. Non                                                                                                                                                                                                | <u>1</u>                           |
| Q502 | Quelle partie de cette plante consommez-vous ?                                     | 1. Feuilles<br>2. Fruit<br>3. Inflorescence<br>4. Graine<br>5. Autre (Précisez).....                                                                                                                            | <u>1</u>                           |
| Q503 | Pourquoi consommez-vous cette plante?                                              | 1. Améliore ma santé<br>2. A cause du bon goût<br>3. A cause de son odeur<br>4. Tout le monde la consomme<br>5. Facilite la digestion<br>6. A cause de l'âge<br>7. Juste se nourrir<br>8. Autre (Précisez)..... | <u>6</u>                           |
| Q504 | Souffrez vous d'une ou des maladie(s) qui vous obligent à consommer cette plante ? | 1. Oui<br>2. Non                                                                                                                                                                                                | <u>2</u>                           |
| Q505 | Si oui lesquelles ?                                                                | 1. Diabète<br>2. Hypertension<br>3. Autre (précisez).....                                                                                                                                                       | <u>1</u>                           |
| Q506 | Sous quelles formes la consommez-vous ?                                            | 1. Sauce,<br>2. Légume,<br>3. Crudité,<br>4. Thé,<br>5. Autre (Précisez).....                                                                                                                                   | <u>3</u>                           |
| Q507 | Consommez-vous régulièrement cette plante ?                                        | 1. Oui<br>2. Non                                                                                                                                                                                                | <u>1</u>                           |
| Q508 | Combien de fois consommez-vous cette plante par jour ?                             | 1. 1 Foie<br>2. 2 Foie<br>3. Autre (Précisez).....                                                                                                                                                              | <u>1</u>                           |
| Q509 | Combien de fois consommez-vous cette plante par semaine ?                          | 1. 1 Foie<br>2. 2 Foie<br>3. Autre (Précisez).....                                                                                                                                                              | <u>2</u>                           |
| Q510 | Combien de fois consommez-vous cette plante par mois?                              | 1. 1 Foie<br>2. 2 Foie<br>3. Autre (Précisez) .....                                                                                                                                                             | <u>8</u>                           |
| Q511 | Combien de fois consommez-vous cette plante par an ?                               | 1. 1 Foie<br>2. 2 Foie<br>3. 3 Foie<br>4. Autre (Précisez) .....                                                                                                                                                | <u>26</u>                          |
| Q512 | Quelle quantité utilisez-vous lorsque vous voulez la consommer ?                   | 1. 1 Botte<br>2. 2 Botte,<br>3. Autre (Précisez).....                                                                                                                                                           | <u>3</u><br><u>120</u> 15 feuilles |
| Q513 | Combien coûte une botte de feuilles?                                               |                                                                                                                                                                                                                 | <u>-</u>                           |
| Q514 | Combien de personnes consomment cette plante dans votre famille actuelle ?         |                                                                                                                                                                                                                 | <u>2</u>                           |
| Q515 | Combien dépensez-vous si vous devez consommer cette plante ?                       | 1. 100 FCFA<br>2. 200 FCFA<br>3. 500 FCFA<br>4. 1000 FCFA<br>5. Plus de 1000 FCFA<br>6. Autre (précisez).....                                                                                                   | <u>6</u><br><u>Rien</u>            |
| Q516 | Consommez-vous d'autres plantes en plus de cette plante ?                          | 1. Oui<br>2. Non                                                                                                                                                                                                | <u>1</u>                           |
| Q517 | Si oui, lesquelles ?                                                               | <u>Epinard (feuilles)</u>                                                                                                                                                                                       |                                    |

**Annexe 2 :** Courbe standard d'étalonnage de la concentration du DDPH en équivalent de trolox (µM)



**Annexe 3 :** Courbe standard d'étalonnage de la concentration de l'ABTS en équivalent de trolox

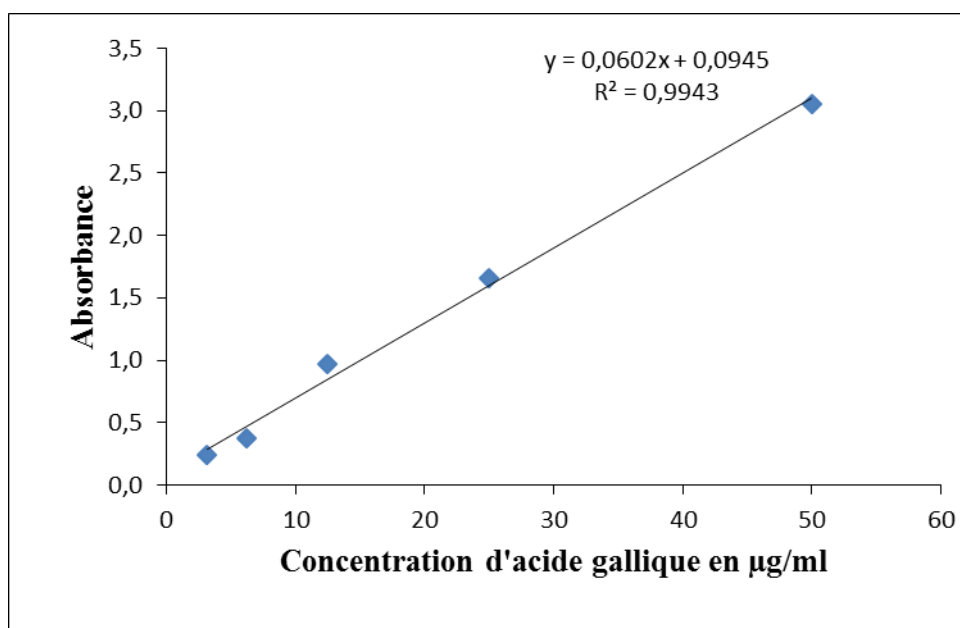


## Annexe 4 : Révélateurs utilisés pour l'identification des composés sur les chromatogrammes

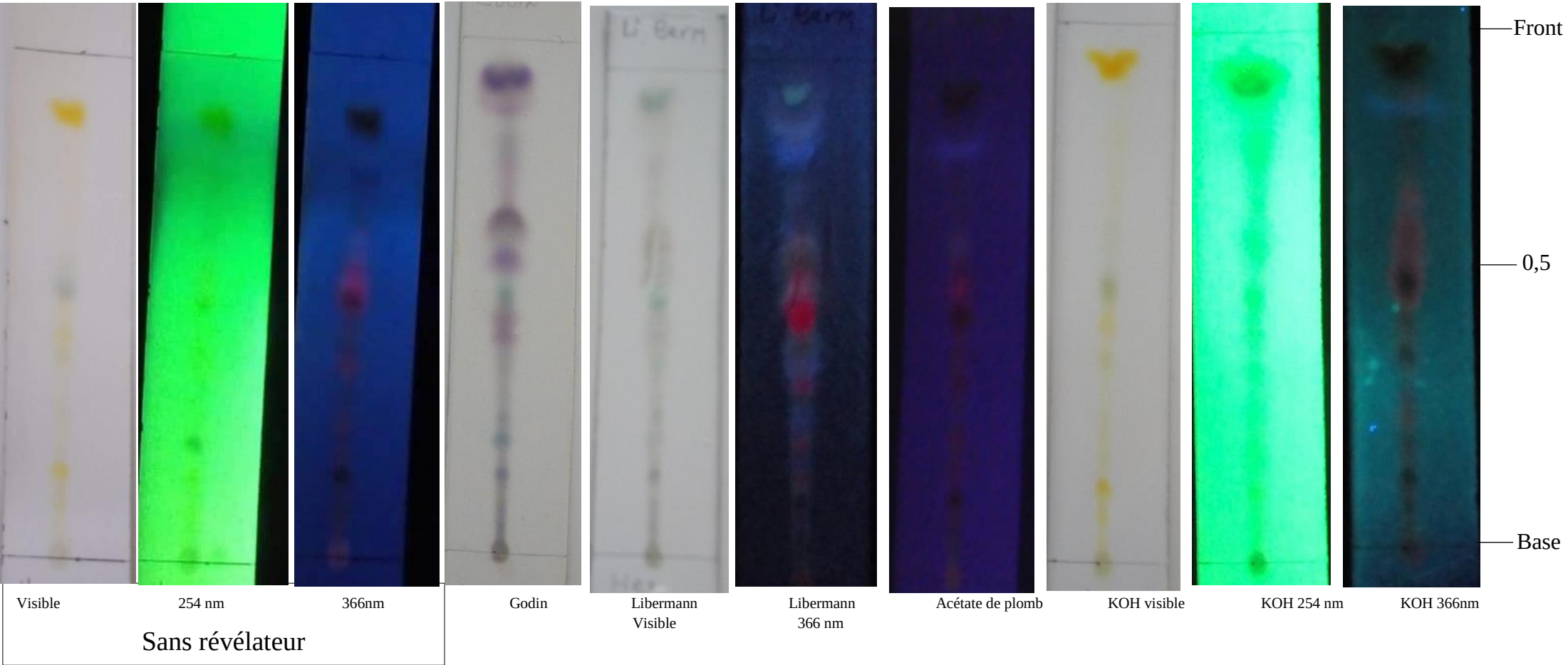
| Réactifs                   | Préparation et application                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Substances détectées                                                                                                                                                                                                   | Références                                    |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| AlCl <sub>3</sub>          | La solution éthanolique d'AlCl <sub>3</sub> à 5 % (m/V) est préparée par dissolution de 5 g d'AlCl <sub>3</sub> dissout dans 100 ml d'éthanol et conservé à 4 °C. Gicler et révéler en chauffant légèrement.                                                                                                                                                                                                 | <u>Flavonoïdes</u> : taches jaunes (visible), fluorescence allant du bleu au brun (à 366 nm)<br><br><u>Lactones Sesquiterpéniques</u> : fluorescence de diverses couleurs (366 nm), parfois lentes à apparaître        | <b>Merck, 1980; Lagnika, 2005</b>             |
| Godin (Réactif polyvalent) | Il est préparé en mélangeant des volumes égaux d'une solution éthanolique de vanilline à 1 % (v/v) avec une solution d'acide perchlorique à 3 % (v/v). Les chromatoplaques sont giclées avec ce réactif, puis avec une solution éthanolique de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 10 % (v/v). Elles sont ensuite chauffées à 100° C jusqu'à ce qu'apparaissent des taches de couleurs diverses dans le visible | Observation dans le visible<br><u>Stérols, terpènes (saponines, iridoïdes)</u> : en bleu ou violet.<br><u>Flavonoïdes</u> : rose jaune et orange<br><u>Triterpènes</u> : vert                                          | <b>Wagner &amp; Bladt, 1996 Lagnika, 2005</b> |
| Dragendorff                | C'est un mélange de deux solutions, l'une préparée avec 8,5 g de nitrate de bismuth et 10 g d'acide nitrique dissout dans 40 ml d'eau. L'autre obtenue avec 16 g dissout dans 40 ml d' H <sub>2</sub> O. Au moment de l'emploi, mélanger 5 ml de solution A et 5 ml de solution B + 100 ml d'eau + 20 g d'acide tartrique                                                                                    | <u>Alcaloïdes</u> : taches oranges ou rouges dans le visible disparaissant avec le temps                                                                                                                               | <b>Ekoumou, 2003</b>                          |
| Acétate de plomb           | L'acétate de plomb basique à 5% (m/v) est obtenu en dissolvant 5 g d'acétate de plomb basique dans 100 ml d'H <sub>2</sub> O.                                                                                                                                                                                                                                                                                | <u>Coumarines</u> : fluorescences vertes ou bleues (à 366 nm)                                                                                                                                                          | <b>Wagner &amp; Bladt, 1996</b>               |
| FeCl <sub>3</sub>          | Le chlorure de fer (III) (FeCl <sub>3</sub> ) à 2% (m/v) est préparé en dissolvant 1 g de FeCl <sub>3</sub> dans 50 ml d'H <sub>2</sub> O                                                                                                                                                                                                                                                                    | <u>Tanins, polyphénols</u> : taches de diverses couleurs (bleues, vertes, noires...) dans le visible                                                                                                                   | <b>Ekoumou, 2003</b>                          |
| KOH                        | La solution méthanolique de KOH à 5 % (m/V) est obtenue par dissolution de 5 g de KOH dissout dans 100ml de MeOH. Gicler puis observer à la lumière visible et 366 nm avant et après chauffage.                                                                                                                                                                                                              | <u>Anthraquinones</u> : taches rouges (Visible et 366 nm)<br><u>Anthrones</u> : taches jaunes (366 nm)<br><u>Coumarines</u> : taches jaunes (visible) qui s'intensifie ou se diversifie en bleu et vert sous UV 366 nm | <b>Georgievskii et al., 1990</b>              |



## Annexe 5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

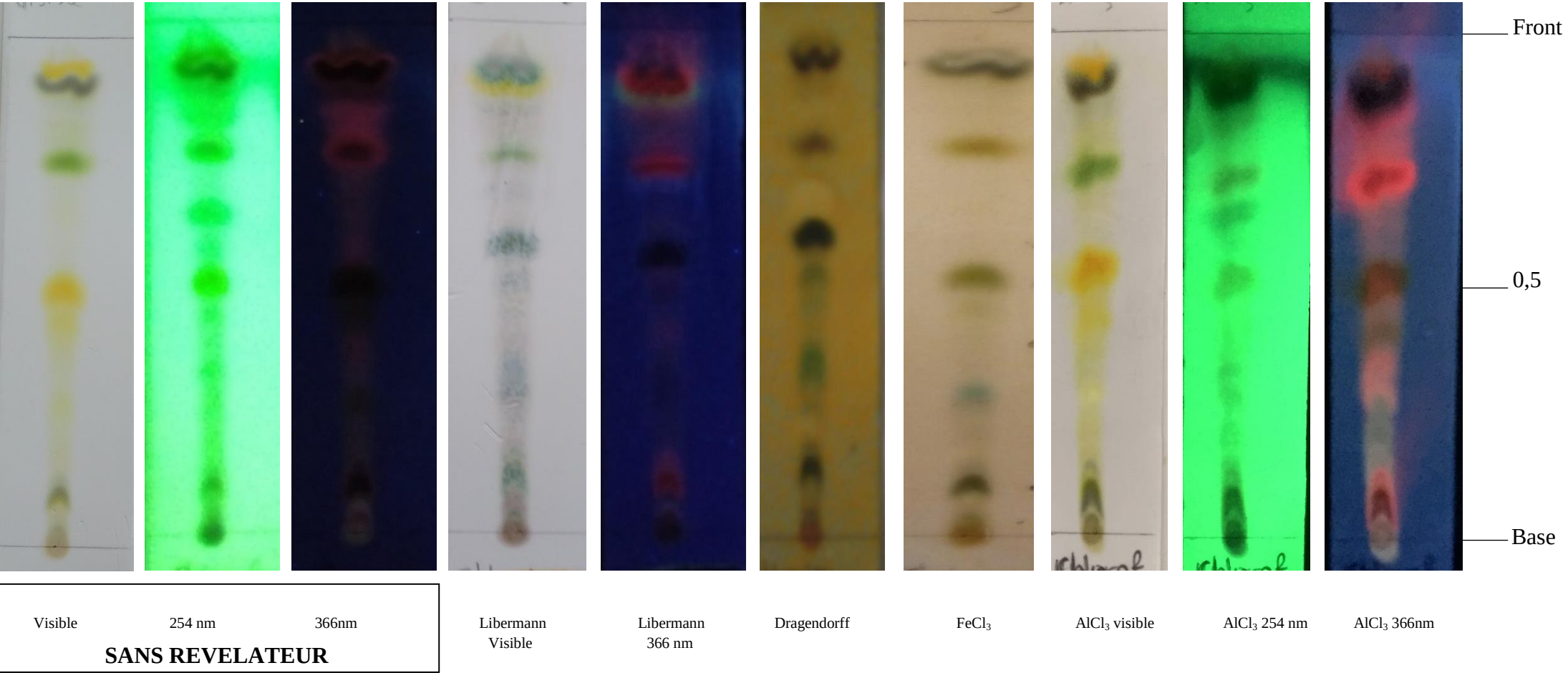


Annexe 6 : Profil chromatographique sur couche mince de l'extrait hexanique de *Hydrocotyle bonariensis*



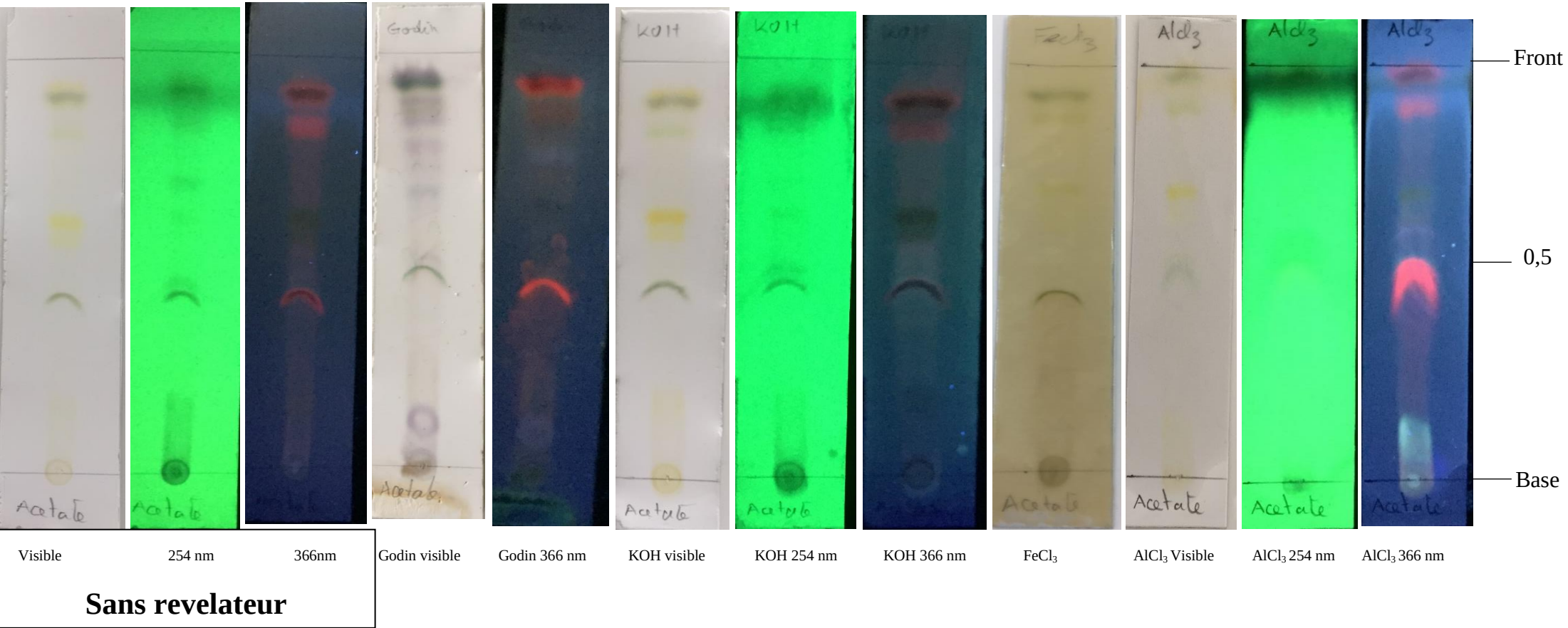
Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub> ; Eluant : Cyclohexane / Ethylacétate 8 : 2

**Annexe 7 :** Profil chromatographique sur couche mince de l'extrait choloroformique de *Hydrocotyle bonariensis*



Support : Silicagel 60 F<sub>254</sub> ; Eluant: chloroforme/Ethylacétate/hexane (8 :2 :1)

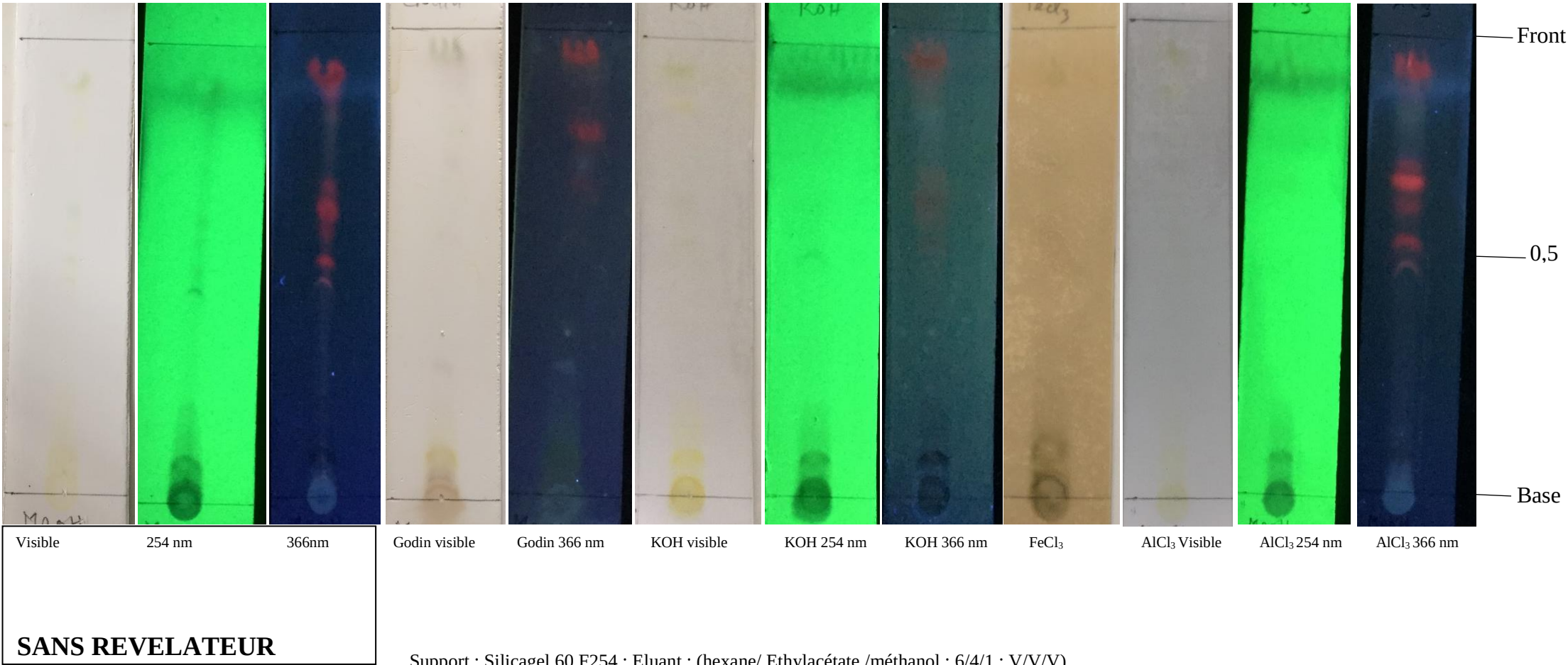
**Annexe 8 :** Profil chromatographique sur couche mince de l'extrait éthylacétatique de *Hydrocotyle bonariensis*



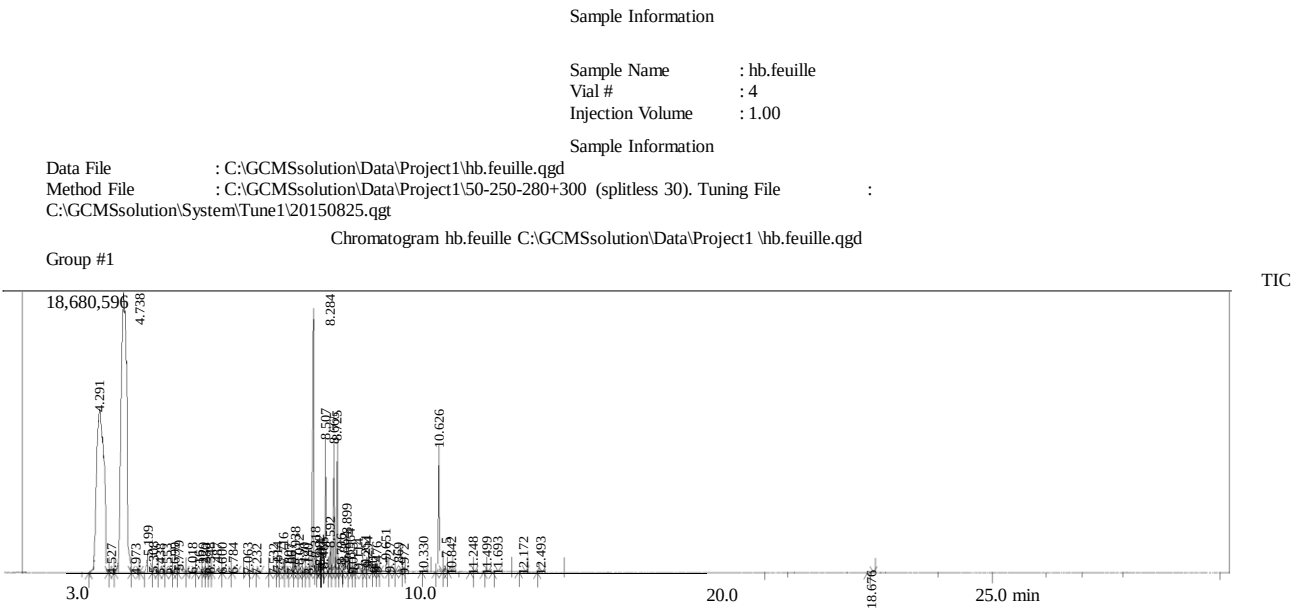
Support : Silicagel 60 F254 ; Eluant : (Chloroforme/ Ethylacétate (6/3 ; V/V)).



**Annexe 9:** Profil chromatographique sur couche mince de l'extrait méthanolique de *Hydrocotyle bonariensis*



Annexe 10 : Chromatogrammes en phase gazeuse de l’huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* Lam



Annexe 11 : Composés identifiés dans l’huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex.Lam

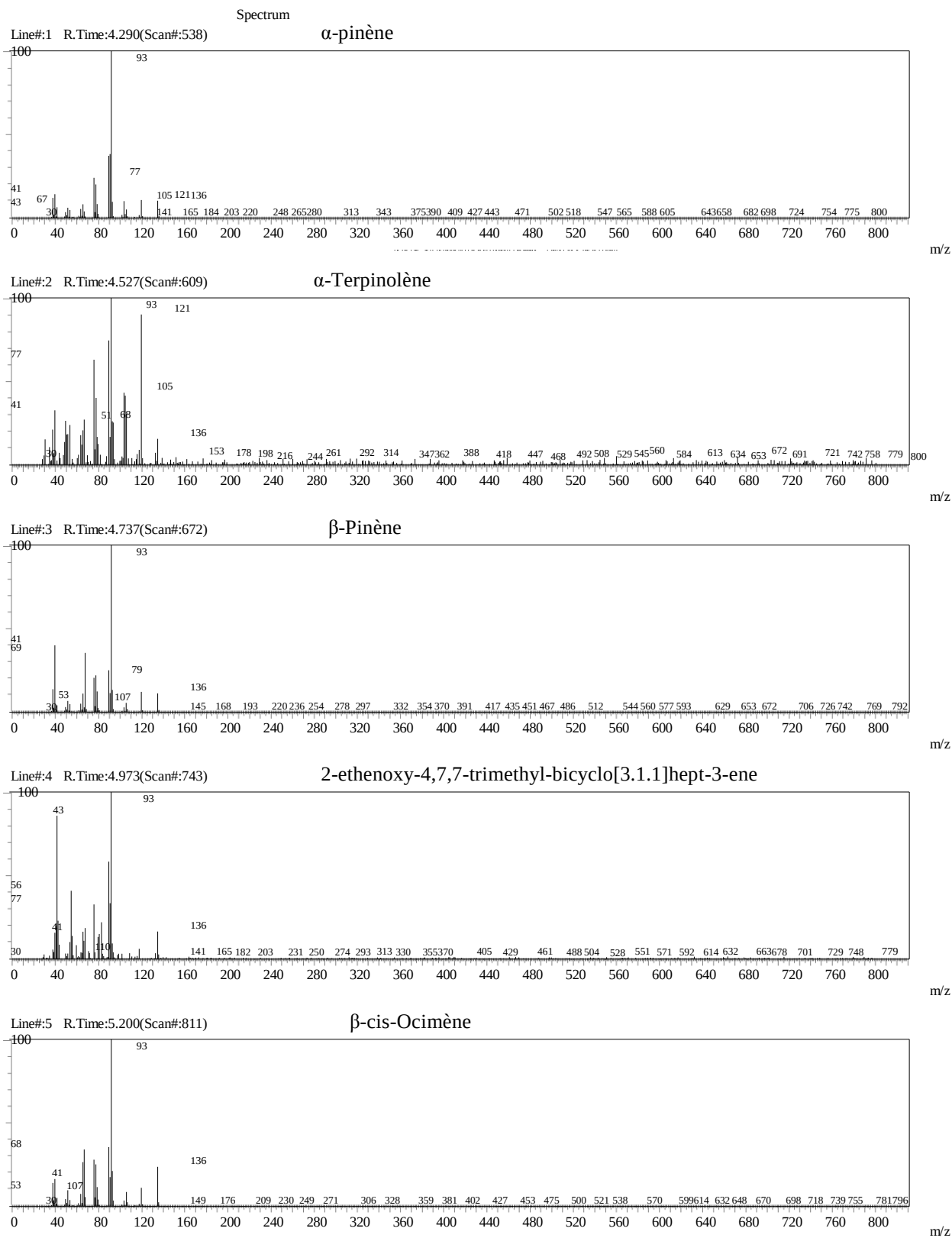
|       |        |        |        |           | Peak R | eport    |                                                         |  |
|-------|--------|--------|--------|-----------|--------|----------|---------------------------------------------------------|--|
| Peak# | R.Time | I.Time | F.Time | Area      | Area%  | Height   | Name                                                    |  |
| 1     | 4.291  | 4.090  | 4.453  | 100671024 | 29.66  | 10832725 | 1R-.alpha.-Pinene                                       |  |
| 2     | 4.527  | 4.453  | 4.567  | 320369    | 0.09   | 53038    | Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-           |  |
| 3     | 4.738  | 4.567  | 4.880  | 133232712 | 39.25  | 18476264 | Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)- |  |
| 4     | 4.973  | 4.880  | 5.040  | 570686    | 0.17   | 72958    | Bicyclo[3.1.1]hept-3-ene, 4,6,6-trimethyl-2-vinyloxy-   |  |
| 5     | 5.199  | 5.040  | 5.273  | 5937260   | 1.75   | 1294380  | .alpha.-Pinene                                          |  |
| 6     | 5.308  | 5.273  | 5.380  | 708539    | 0.21   | 202883   | 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-                         |  |
| 7     | 5.438  | 5.380  | 5.507  | 265751    | 0.08   | 72242    | 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-         |  |
| 8     | 5.553  | 5.507  | 5.647  | 211651    | 0.06   | 31754    | Phenol, 3-methyl-                                       |  |
| 9     | 5.699  | 5.647  | 5.740  | 359680    | 0.11   | 86394    | Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-           |  |
| 10    | 5.779  | 5.740  | 5.893  | 1204500   | 0.35   | 286580   | 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-                        |  |
| 11    | 6.018  | 5.893  | 6.073  | 469396    | 0.14   | 89274    | 2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-                 |  |
| 12    | 6.160  | 6.073  | 6.200  | 155314    | 0.05   | 36043    | Bicyclo[3.1.1]heptan-2-one, 6,6-dimethyl-, (1R)-        |  |
| 13    | 6.229  | 6.200  | 6.260  | 148204    | 0.04   | 76094    | 3-Isopropylidene-5-methyl-hex-4-en-2-one                |  |
| 14    | 6.280  | 6.260  | 6.320  | 57184     | 0.02   | 32606    | 2-Nonenal, (E)-                                         |  |
| 15    | 6.348  | 6.320  | 6.380  | 129413    | 0.04   | 68120    | 2(10)-Pinen-3-one, (+/-)-                               |  |

|    |        |        |        |          |      |          |                                                                           |
|----|--------|--------|--------|----------|------|----------|---------------------------------------------------------------------------|
| 16 | 6.487  | 6.380  | 6.573  | 933508   | 0.28 | 207040   | 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-                      |
| 17 | 6.600  | 6.573  | 6.753  | 767768   | 0.23 | 187882   | 3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (S)-              |
| 18 | 6.784  | 6.753  | 6.860  | 148588   | 0.04 | 65822    | 1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-                          |
| 19 | 7.063  | 7.040  | 7.093  | 137854   | 0.04 | 101229   | Benzene, 2-(2-butenyl)-1,3,5-trimethyl-                                   |
| 20 | 7.232  | 7.200  | 7.293  | 386060   | 0.11 | 270455   | 4-Hydroxy-2-methylacetophenone                                            |
| 21 | 7.532  | 7.460  | 7.587  | 122047   | 0.04 | 54067    | Myrtenyl acetate                                                          |
| 22 | 7.614  | 7.587  | 7.647  | 216735   | 0.06 | 216034   | clohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethyliden    |
| 23 | 7.716  | 7.647  | 7.747  | 815384   | 0.24 | 688008   | .alpha.-Cubebene                                                          |
| 24 | 7.807  | 7.747  | 7.840  | 133806   | 0.04 | 65636    | Indene-1,7(4H)-dione, 3a,7a-dihydro-5-methyl-                             |
| 25 | 7.867  | 7.840  | 7.913  | 84416    | 0.02 | 28648    | 4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, acetate                      |
| 26 | 7.938  | 7.913  | 7.987  | 1584933  | 0.47 | 1282923  | Copaene                                                                   |
| 27 | 8.012  | 7.987  | 8.080  | 792538   | 0.23 | 684715   | Bicyclo[5.3.0]decane, 2-methylene-5-(1-methylvinyl)-8-methyl-             |
| 28 | 8.120  | 8.080  | 8.133  | 143777   | 0.04 | 118496   | (2,6,6-Trimethylcyclohex-1-enylmethanesulfonyl)benzene                    |
| 29 | 8.180  | 8.133  | 8.207  | 129670   | 0.04 | 44484    | Ylangene                                                                  |
| 30 | 8.284  | 8.207  | 8.340  | 29215283 | 8.61 | 16705375 | Caryophyllene                                                             |
| 31 | 8.318  | 8.300  | 8.327  | 741846   | 0.22 | 998372   | a[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3a     |
| 32 | 8.382  | 8.340  | 8.400  | 686974   | 0.20 | 576878   | 1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (Z)-                     |
| 33 | 8.414  | 8.400  | 8.427  | 382442   | 0.11 | 384258   | 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]    |
| 34 | 8.466  | 8.457  | 8.477  | 165980   | 0.05 | 209655   | ,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.   |
| 35 | 8.507  | 8.427  | 8.553  | 10323077 | 3.04 | 8251015  | .alpha.-Caryophyllene                                                     |
| 36 | 8.592  | 8.553  | 8.613  | 2487059  | 0.73 | 1910037  | 2-Pentenoic acid, 3-methyl-5-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)             |
| 37 | 8.665  | 8.613  | 8.693  | 10064624 | 2.96 | 8587296  | 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]    |
| 38 | 8.725  | 8.693  | 8.760  | 10300801 | 3.03 | 8815958  | .alpha.-Farnesene                                                         |
| 39 | 8.796  | 8.760  | 8.820  | 1222714  | 0.36 | 632834   | ane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta., |
| 40 | 8.862  | 8.840  | 8.877  | 582258   | 0.17 | 603909   | hthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-c   |
| 41 | 8.899  | 8.820  | 8.940  | 3804881  | 1.12 | 2749245  | aphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, (1S-cis)  |
| 42 | 8.964  | 8.940  | 9.007  | 972615   | 0.29 | 888395   | Di-epi-.alpha.-cedrene                                                    |
| 43 | 9.025  | 9.007  | 9.053  | 102864   | 0.03 | 61576    | .alpha.-Calacorene                                                        |
| 44 | 9.114  | 9.053  | 9.200  | 1128409  | 0.33 | 345840   | 1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E)-                          |
| 45 | 9.251  | 9.200  | 9.273  | 957232   | 0.28 | 565002   | Diethyl Phthalate                                                         |
| 46 | 9.294  | 9.273  | 9.387  | 2233493  | 0.66 | 512525   | Caryophyllene oxide                                                       |
| 47 | 9.407  | 9.387  | 9.447  | 241930   | 0.07 | 111282   | .alpha.-Caryophyllene                                                     |
| 48 | 9.476  | 9.447  | 9.527  | 709254   | 0.21 | 524524   | 3,5-Dimethylcyclohex-1-ene-4-carboxaldehyde                               |
| 49 | 9.651  | 9.527  | 9.687  | 1267027  | 0.37 | 877010   | 2-Diethylamino-N-methyl-2-phenyl-acetamide                                |
| 50 | 9.727  | 9.687  | 9.807  | 421651   | 0.12 | 111769   | 4-(2,2,6-Trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-butan-2-one                   |
| 51 | 9.869  | 9.807  | 9.933  | 533924   | 0.16 | 141800   | Cubanol                                                                   |
| 52 | 9.972  | 9.933  | 10.007 | 99554    | 0.03 | 59894    | 1-Heptatriacotanol                                                        |
| 53 | 10.330 | 10.293 | 10.367 | 66259    | 0.02 | 35958    | 6,10-Dodecadien-1-yn-3-ol, 3,7,11-trimethyl-                              |
| 54 | 10.626 | 10.560 | 10.693 | 7994673  | 2.36 | 8235929  | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol                                    |

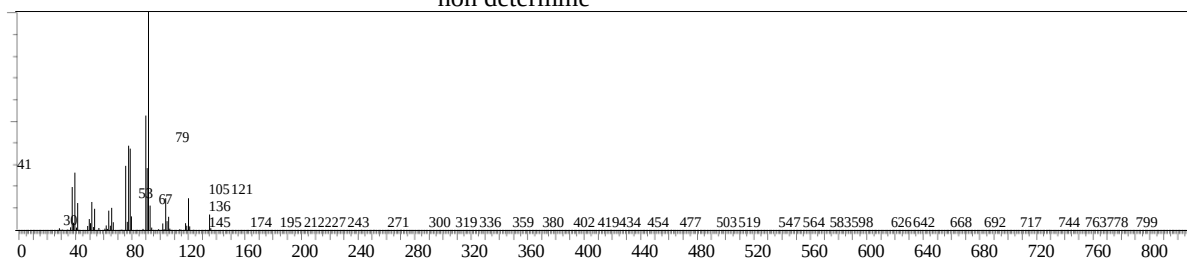
|       |        |        |        |           |        |                 |                                         |
|-------|--------|--------|--------|-----------|--------|-----------------|-----------------------------------------|
| 55    | 10.745 | 10.693 | 10.787 | 254774    | 0.08   | 193805          | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol  |
| 56    | 10.842 | 10.787 | 10.873 | 222949    | 0.07   | 173507          | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol  |
| 57    | 11.248 | 11.207 | 11.287 | 47177     | 0.01   | 30366           | L-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate |
| Peak# | R.Time | I.Time | F.Time | Area      | Area%  | Height          | Name                                    |
| 58    | 11.499 | 11.460 | 11.540 | 250758    | 0.07   | 144095          | Falcarinol                              |
| 59    | 11.693 | 11.627 | 11.733 | 212247    | 0.06   | 539             | Falcarinol                              |
| 60    | 12.172 | 12.113 | 12.247 | 189614    | 0.06   | 13<br>820<br>07 | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol  |
| 61    | 12.493 | 12.460 | 12.553 | 602130    | 0.18   | 612061          | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol  |
| 62    | 18.676 | 18.627 | 18.740 | 126624    | 0.04   | 508<br>33       | 2-Butene, 2,3-bis(1-naphthyl)-          |
|       |        |        |        | 339451864 | 100.00 | 99963717        |                                         |



## Annexe 12 : Spectres de masse des composés identifiés dans l'huile essentielle de *Hydrocotyle bonariensis* Lam



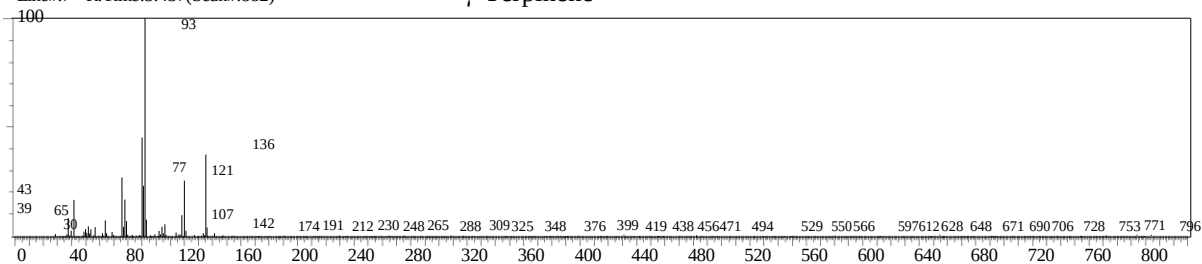
non déterminé



m/z

Line#:7 R.Time:5.437(Scan#:882)

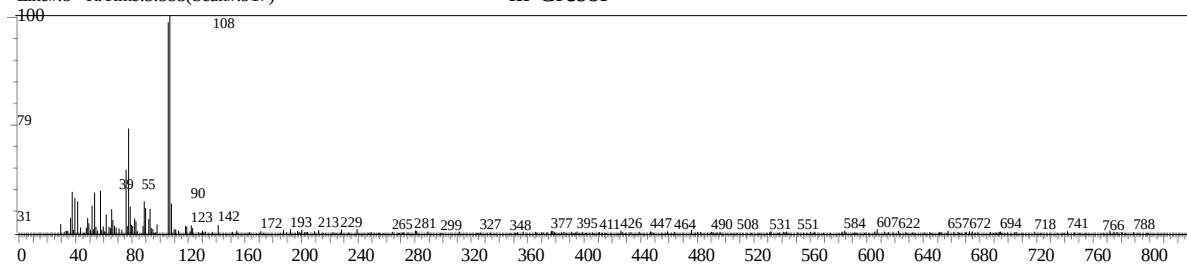
$\gamma$ -Terpinène



m/z

Line#:8 R.Time:5.553(Scan#:917)

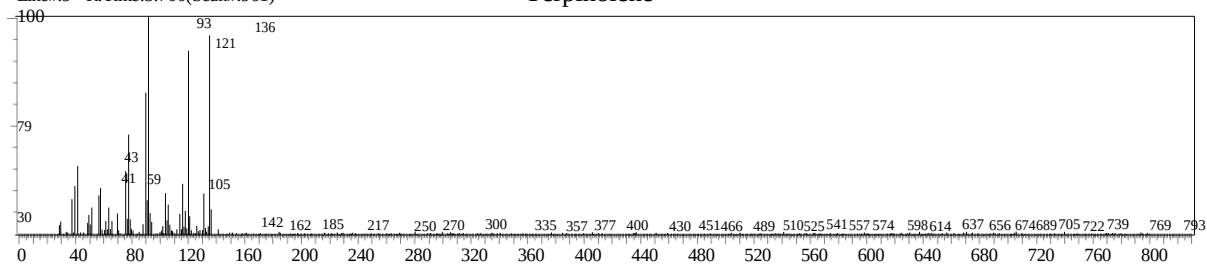
m-Crésol



m/z

Line#:9 R.Time:5.700(Scan#:961)

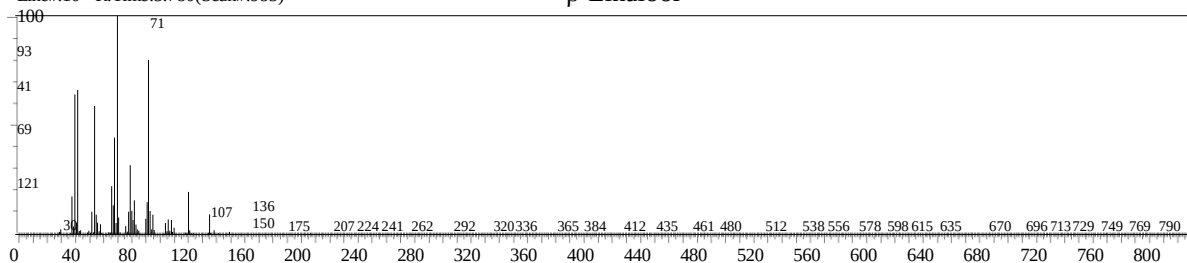
Terpinolène



m/z

Line#:10 R.Time:5.780(Scan#:985)

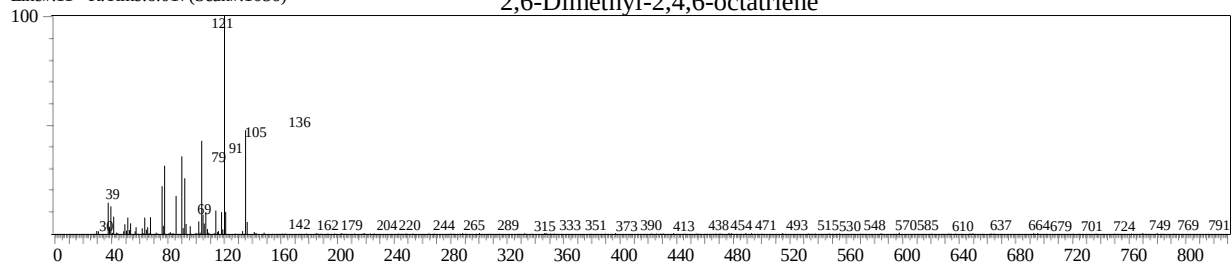
$\beta$ -Linalool



m/z

Line#:11 R.Time:6.017(Scan#:1056)

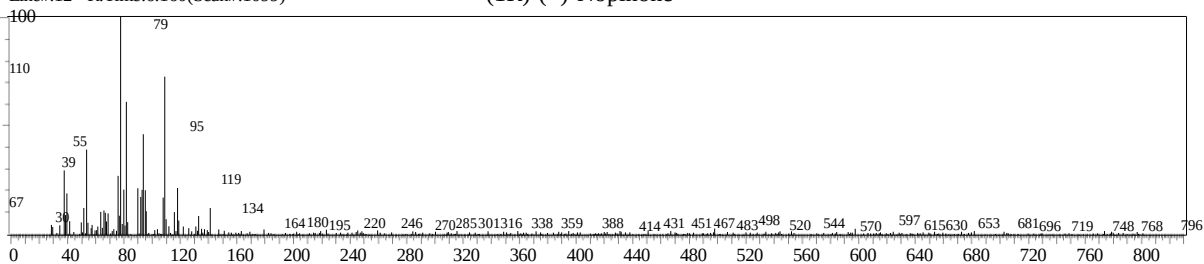
2,6-Dimethyl-2,4,6-octatriene



m/z

Line#:12 R.Time:6.160(Scan#:1099)

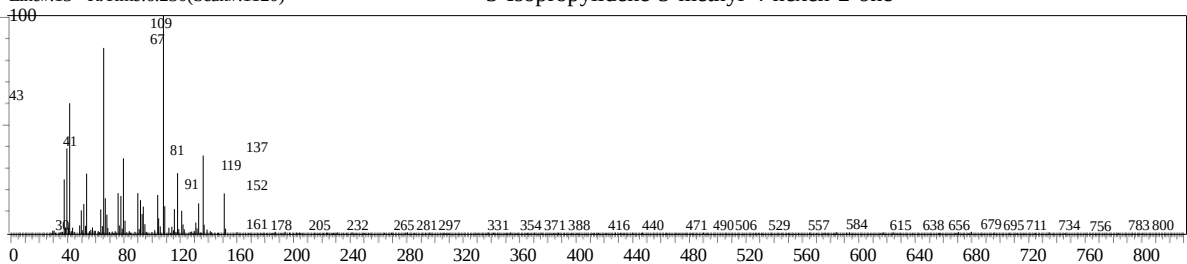
(1R)-(+)-Nopinone



m/z

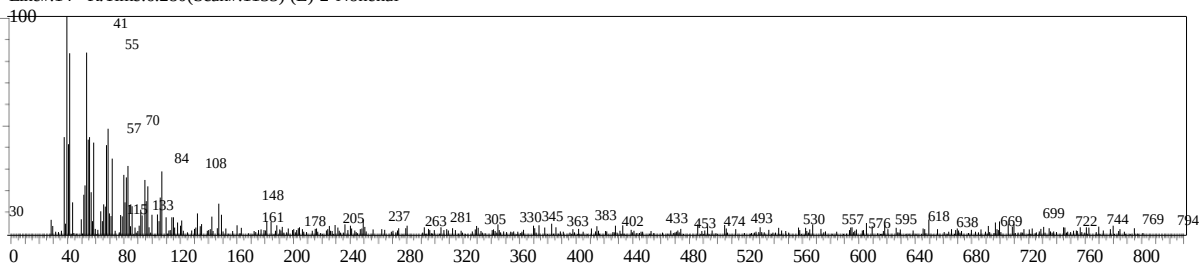
Line#:13 R.Time:6.230(Scan#:1120)

3-Isopropylidène-5-méthyl-4-hexén-2-one



m/z

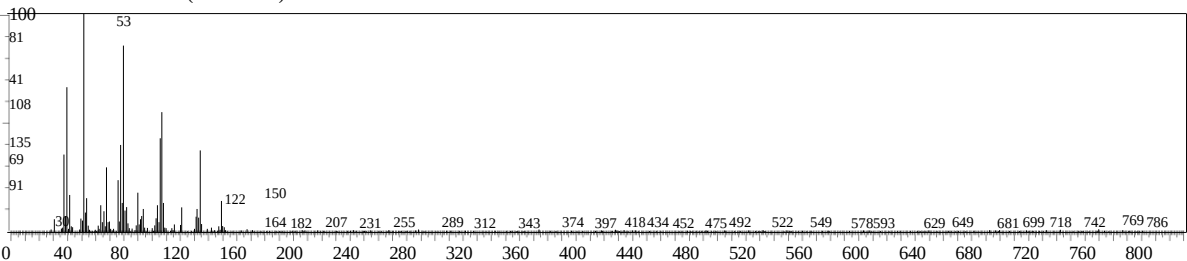
Line#:14 R.Time:6.280(Scan#:1135) (E)-2-Nonenal



m/z

Line#:15 R.Time:6.347(Scan#:1155)

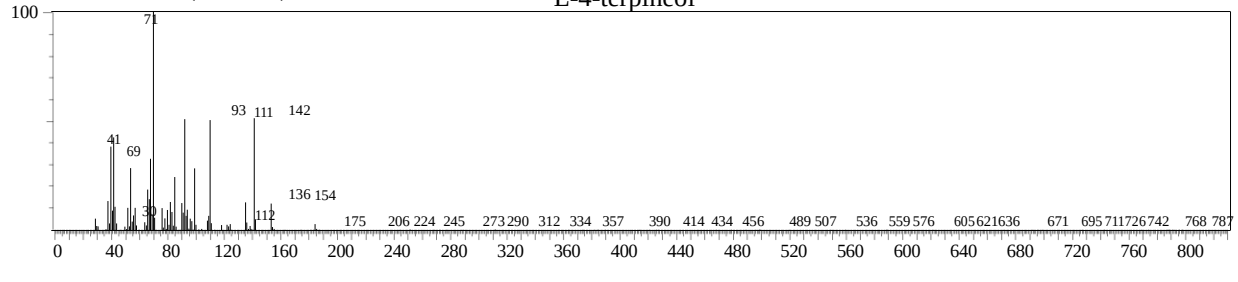
Pinocarvone



m/z

Line#:16 R.Time:6.487(Scan#:1197)

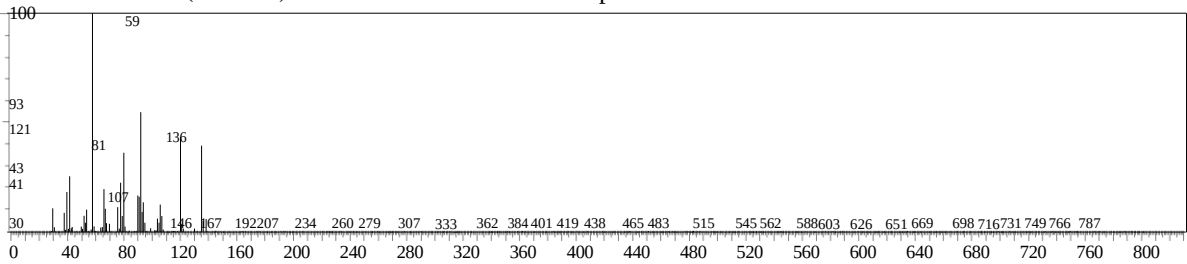
L-4-terpinéol



m/z

Line#:17 R.Time:6.600(Scan#:1231)

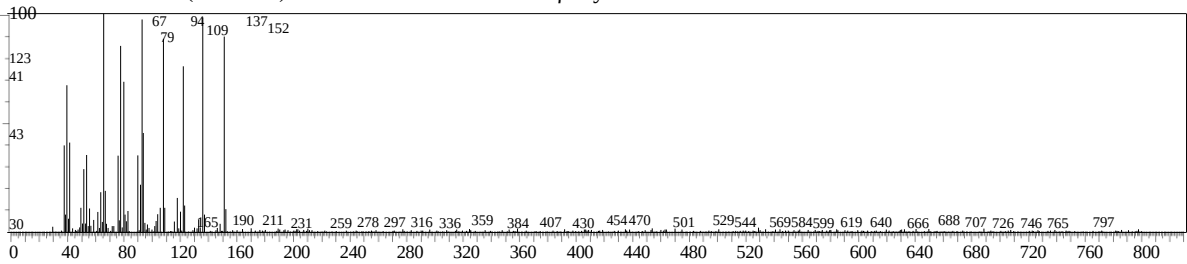
$\alpha$ -Terpinéol



m/z

Line#:18 R.Time:6.783(Scan#:1286)

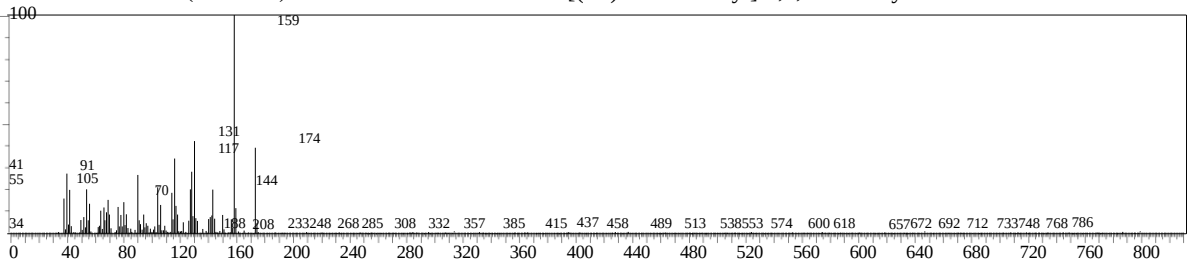
$\beta$ -Cyclocitral



m/z

Line#:19 R.Time:7.063(Scan#:1370)

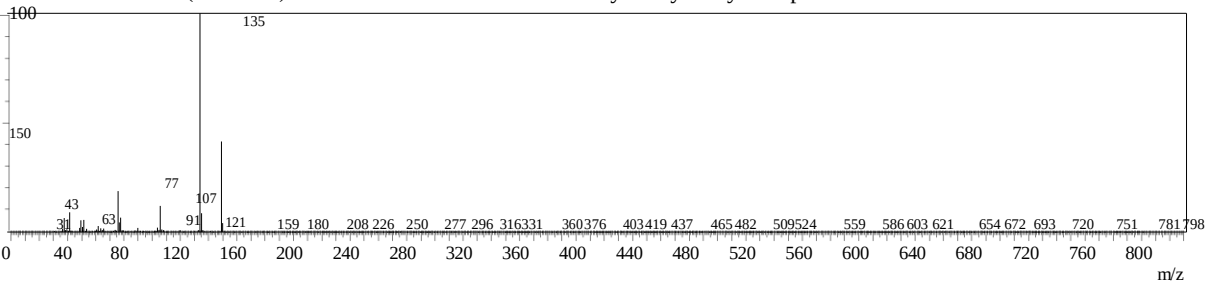
2-[(2E)-2-Butén-1-yl]-1,3,5-triméthylbenzène



m/z

Line#:20 R.Time:7.233(Scan#:1421)

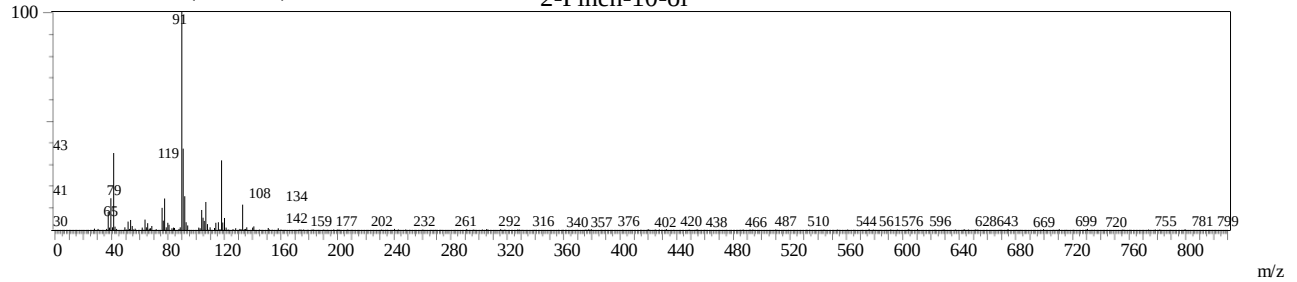
2-Méthyl-4-hydroxyacétophenone



m/z

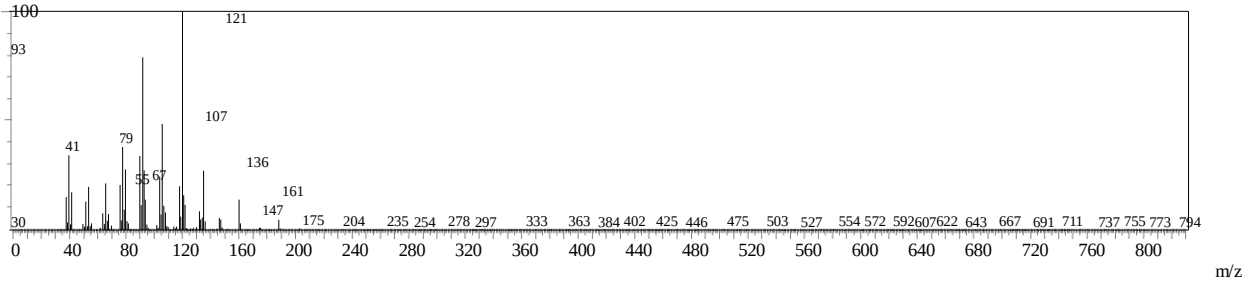
Line#:21 R.Time:7.530(Scan#:1510)

### 2-Pinen-10-ol



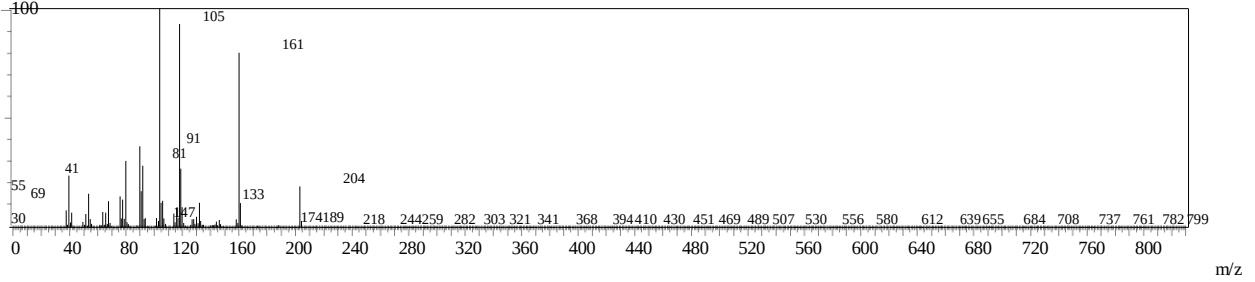
Line#:22 R.Time:7.613(Scan#:1535)

### Elixène



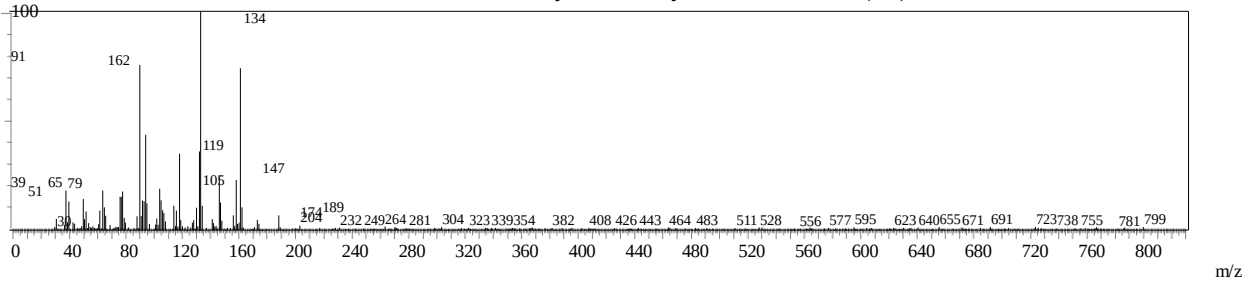
Line#:23 R.Time:7.717(Scan#:1566)

### $\alpha$ -Cubebene



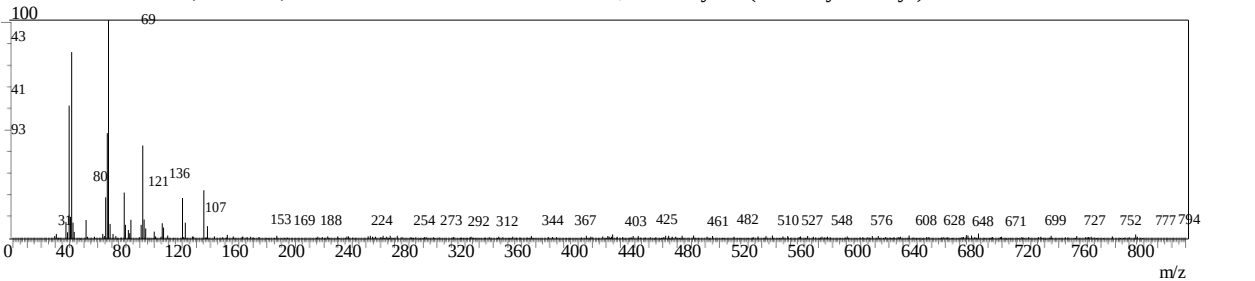
Line#:24 R.Time:7.807(Scan#:1593)

### 5-Méthyl-3a,7a-dihydro-1H-indène-1,7(4H)-dione



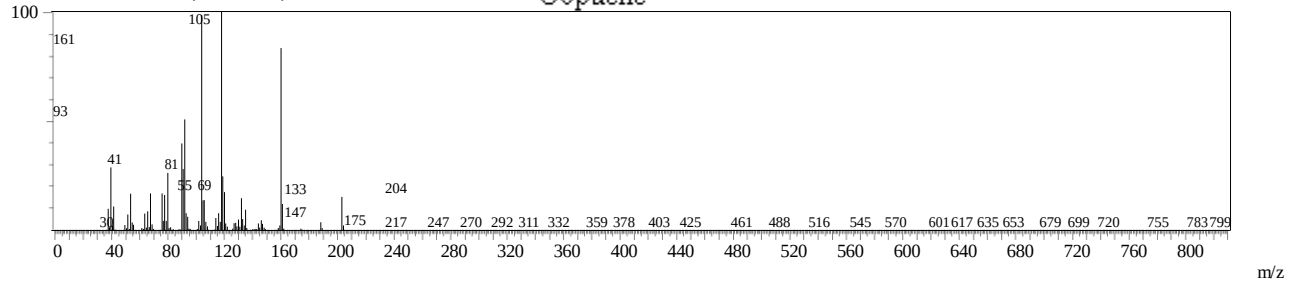
Line#:25 R.Time:7.867(Scan#:1611)

### 4-Hexen-1-ol, 5-méthyl-2-(1-méthylethenyl)- acétate



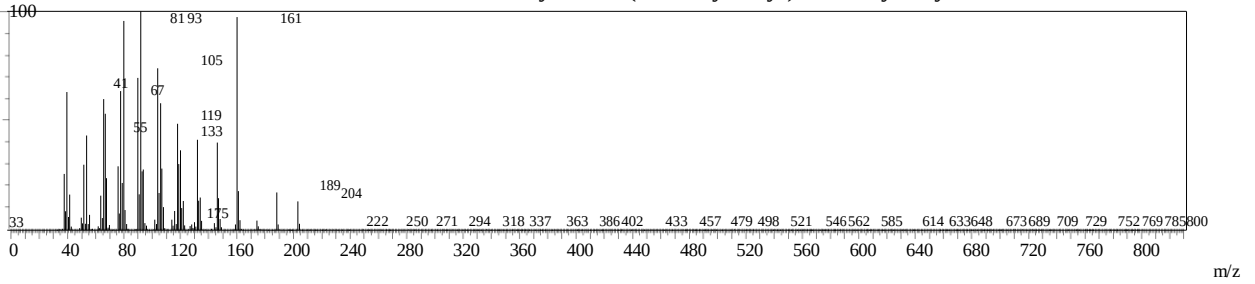
Line#:26 R.Time:7.937(Scan#:1632)

### Copaène



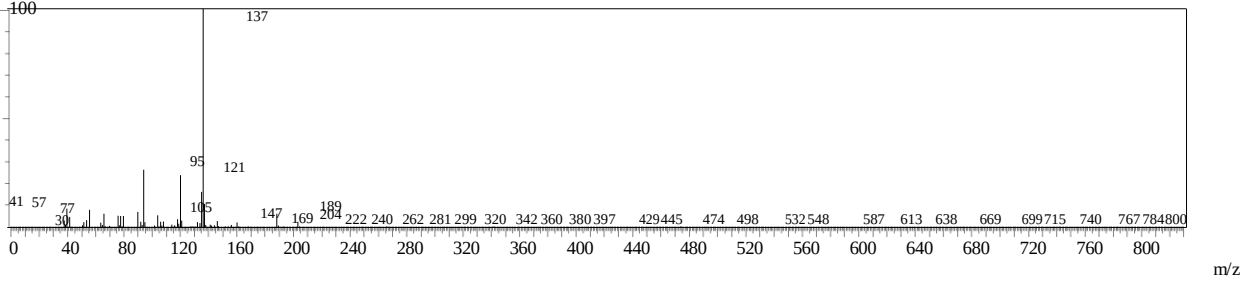
Line#:27 R.Time:8.013(Scan#:1655)

### 2-méthylène-5-(1-méthylvinyl)-8-méthylbicyclo[5.3.0]decane



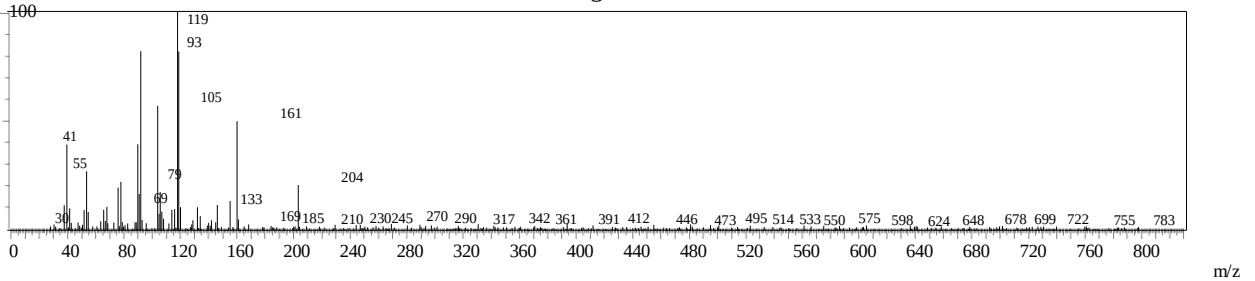
Line#:28 R.Time:8.120(Scan#:1687)

### {[(2,6,6-Triméthyl-1-cyclohexén-1-yl)méthyl]sulfonyl}benzène



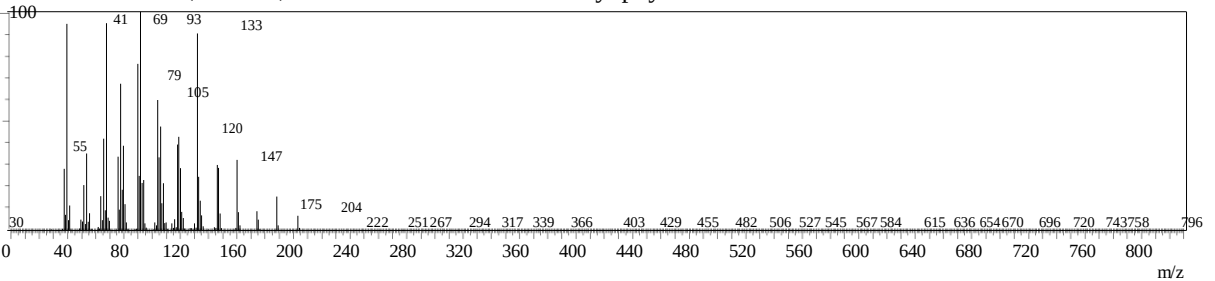
Line#:29 R.Time:8.180(Scan#:1705)

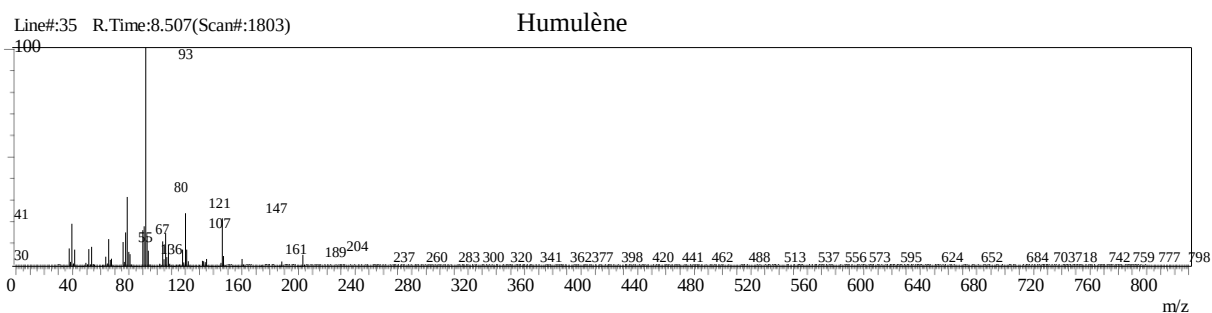
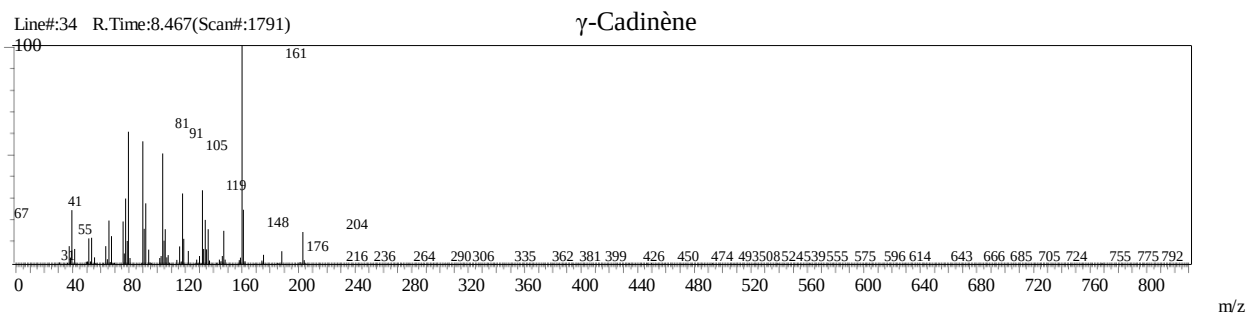
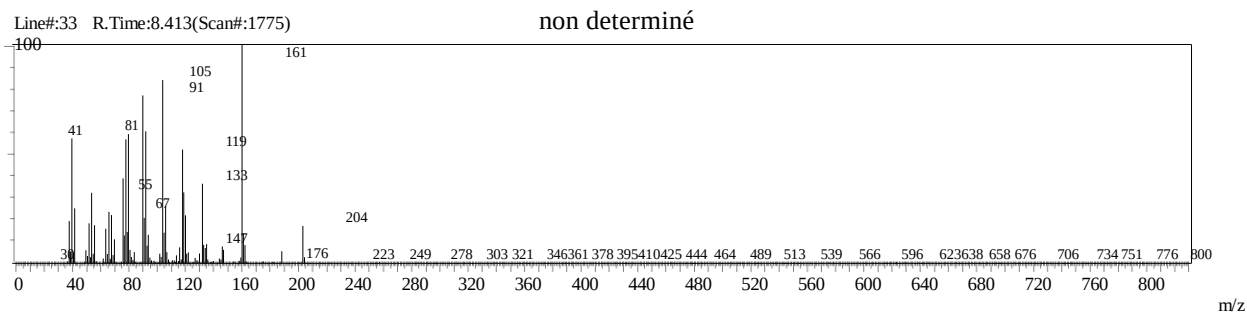
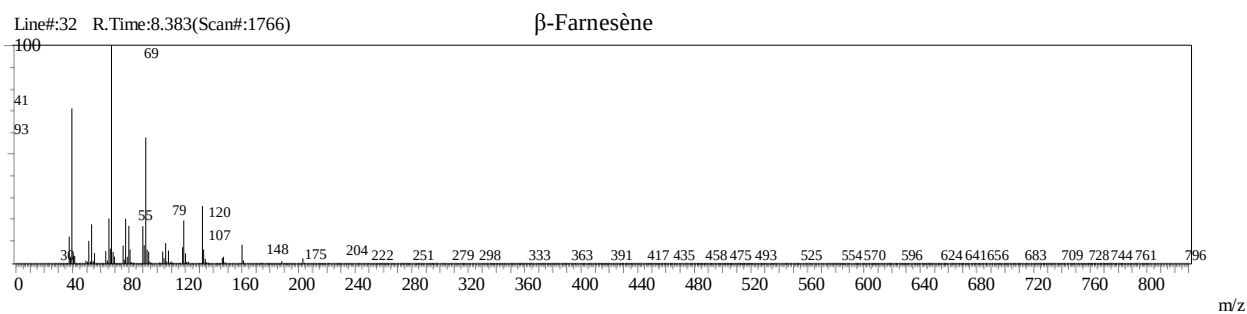
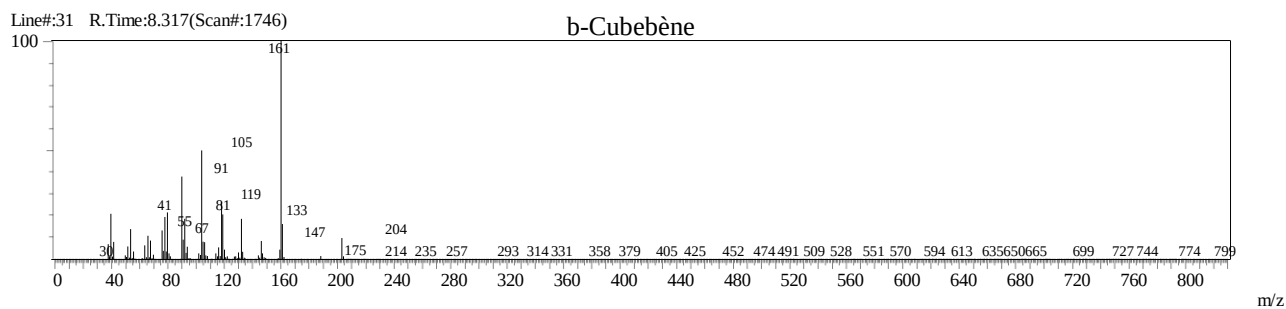
### Ylangène



Line#:30 R.Time:8.283(Scan#:1736)

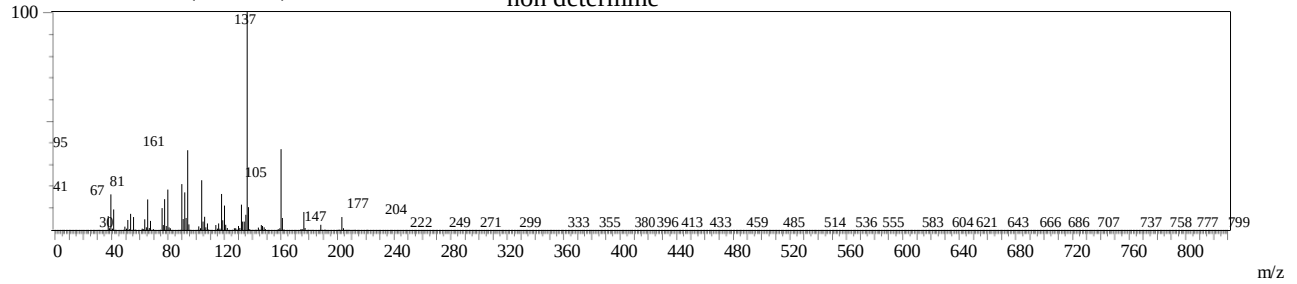
### Caryophyllène





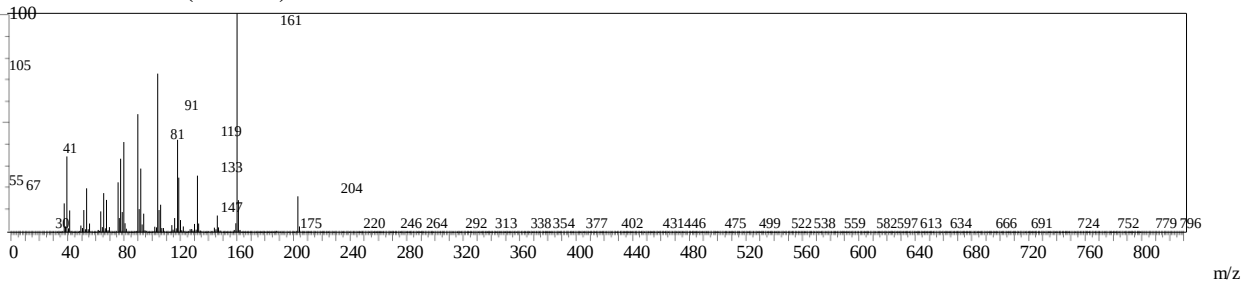
Line#:36 R.Time:8.593(Scan#:1829)

non déterminé



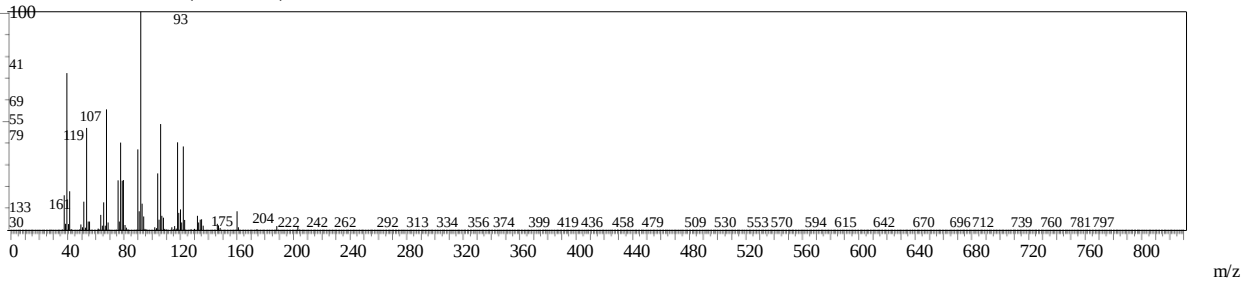
Line#:37 R.Time:8.667(Scan#:1851)

D-Germacrène



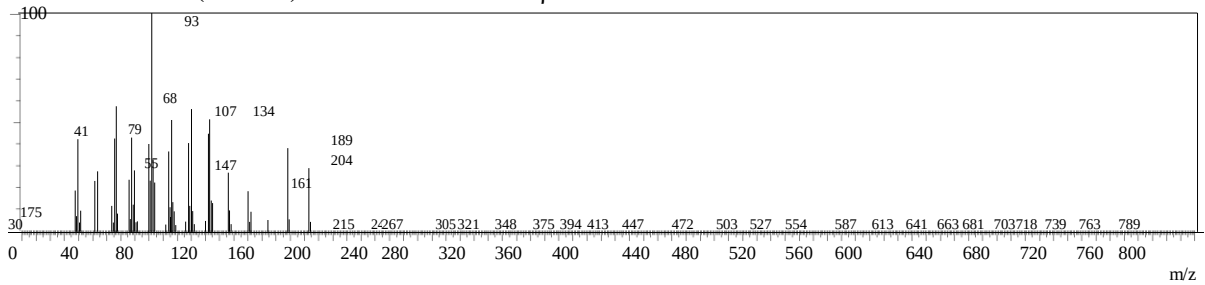
Line#:38 R.Time:8.727(Scan#:1869)

$\alpha$ -Farnesène



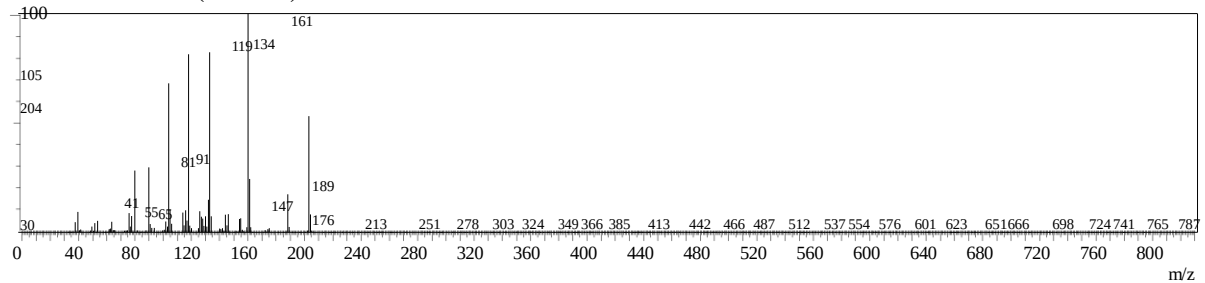
Line#:39 R.Time:8.797(Scan#:1890)

$\beta$ -Elemène



Line#:40 R.Time:8.863(Scan#:1910)

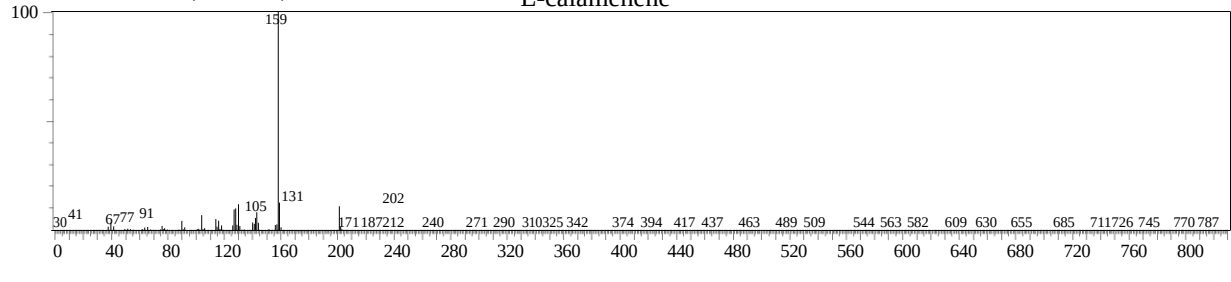
$\delta$ -Cadinène





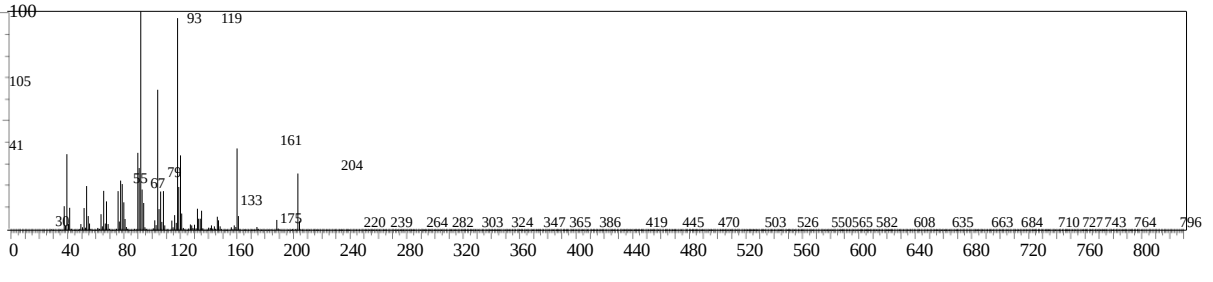
Line#:41 R.Time:8.900(Scan#:1921)

### L-calamenène



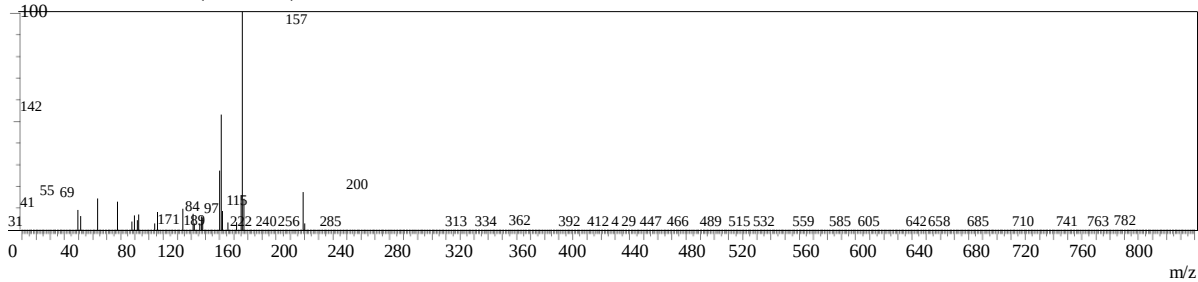
Line#:42 R.Time:8.963(Scan#:1940)

### $\alpha$ -Funebrène



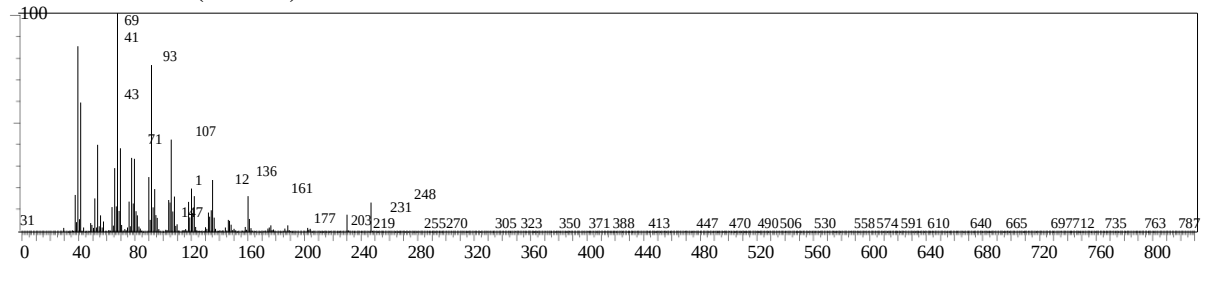
Line#:43 R.Time:9.027(Scan#:1959)

### $\alpha$ -Calacorène



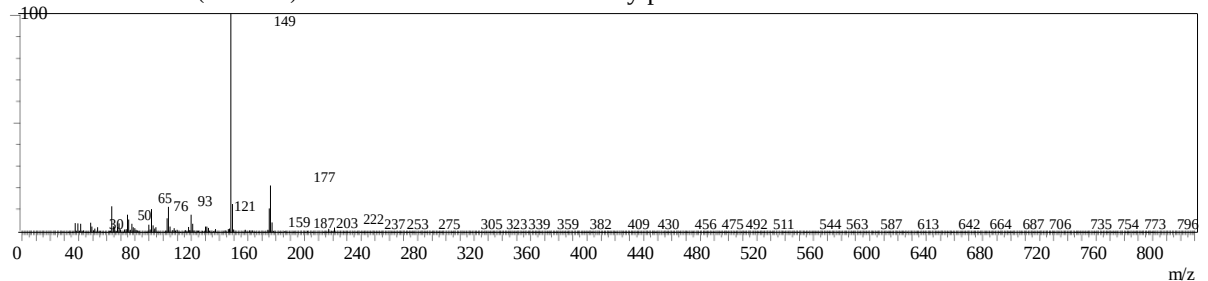
Line#:44 R.Time:9.113(Scan#:1985)

### Nérolidol



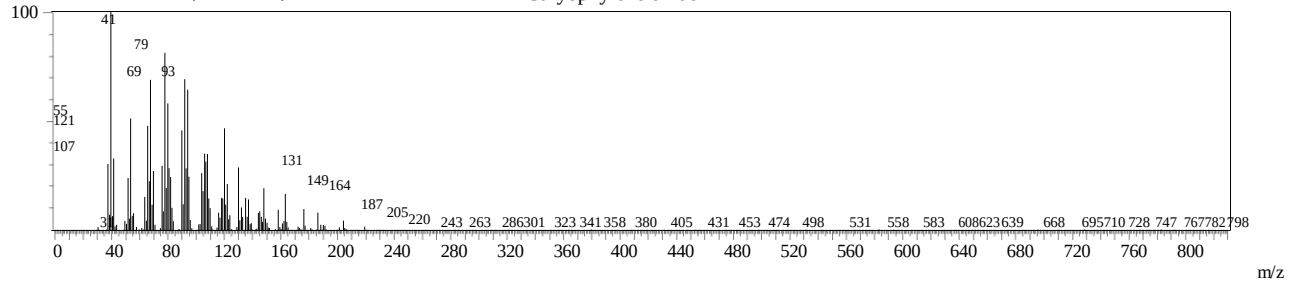
Line#:45 R.Time:9.250(Scan#:2026)

### Diéthylphthalate



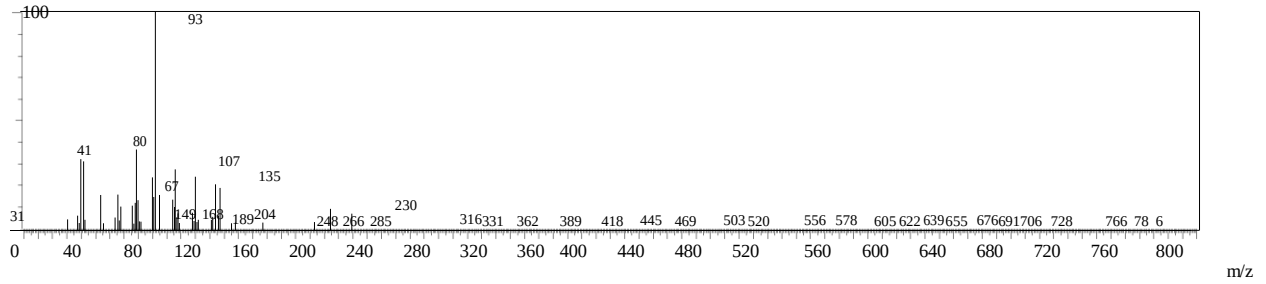
Line#:46 R.Time:9.293(Scan#:2039)

Caryophyllène oxide



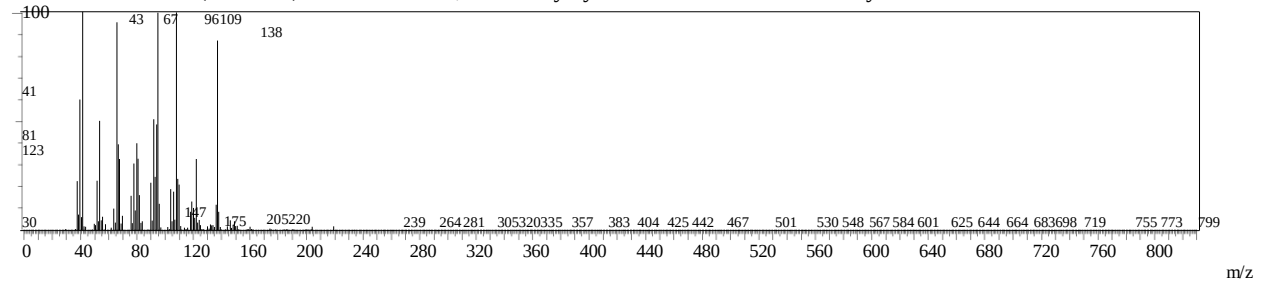
Line#:47 R.Time:9.407(Scan#:2073)

non déterminé



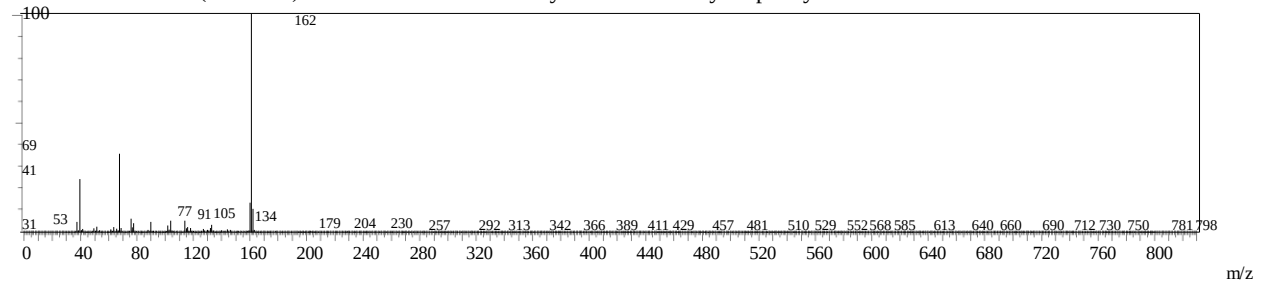
Line#:48 R.Time:9.477(Scan#:2094)

3,5-Diméthylcyclohex-1-ene-4-carboxaldéhyde



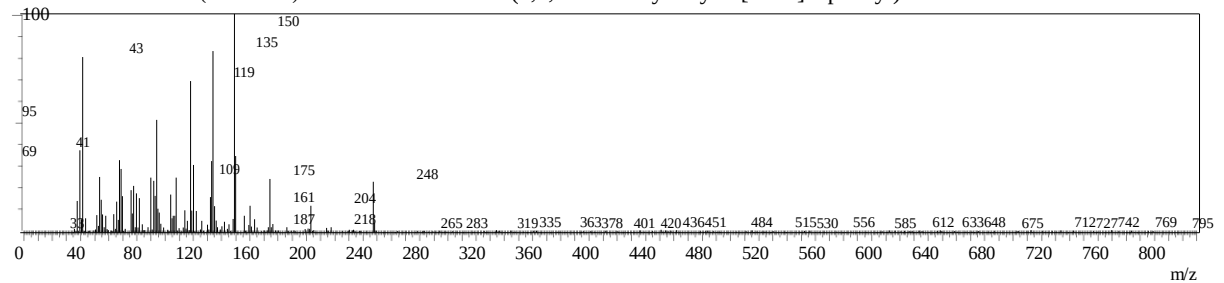
Line#:49 R.Time:9.650(Scan#:2146)

2-Diethylamino-N-méthyl-2-phenyl-acétamide



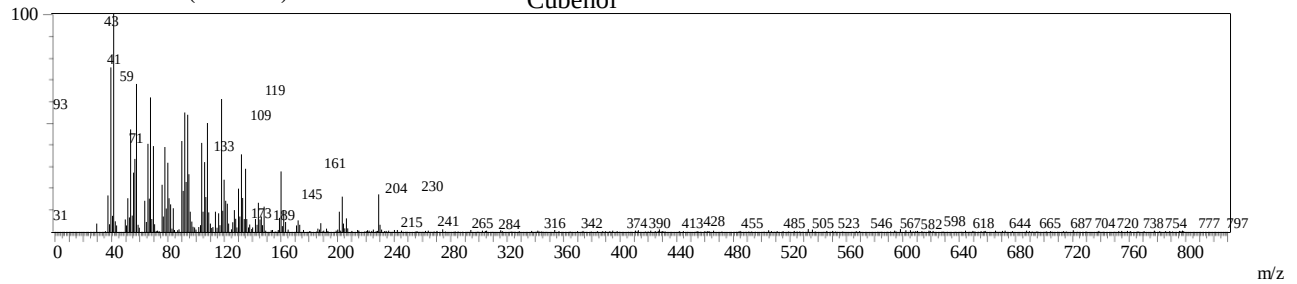
Line#:50 R.Time:9.727(Scan#:2169)

4-(2,2,6-Triméthylbicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-2-butanone



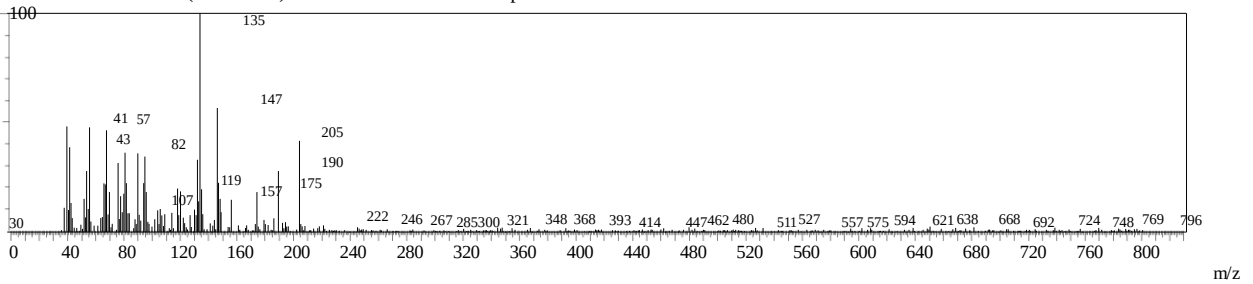
Line#:51 R.Time:9.870(Scan#:2212)

Cubénol



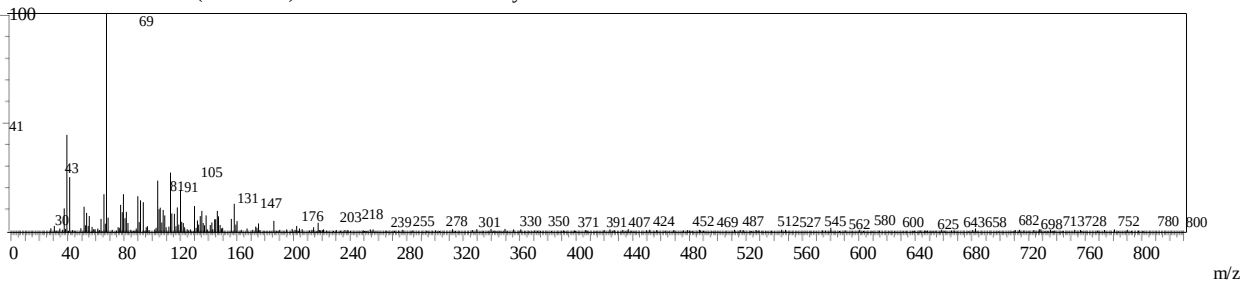
Line#:52 R.Time:9.973(Scan#:2243)

1-Heptatriacotanol



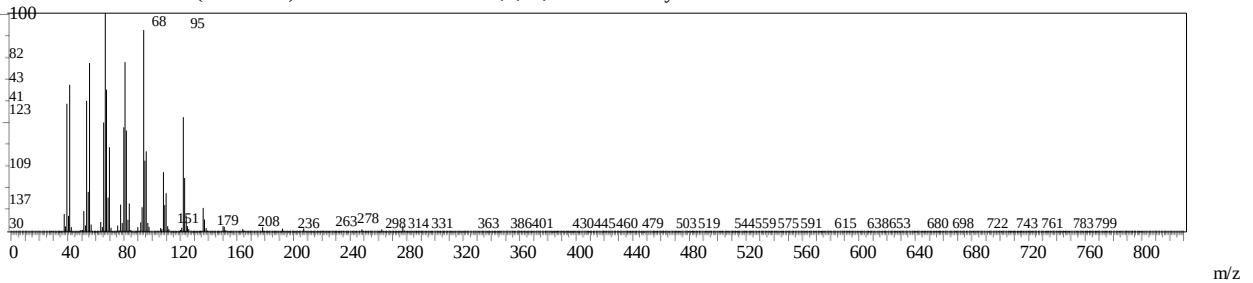
Line#:53 R.Time:10.330(Scan#:2350)

Dehydronerolidol



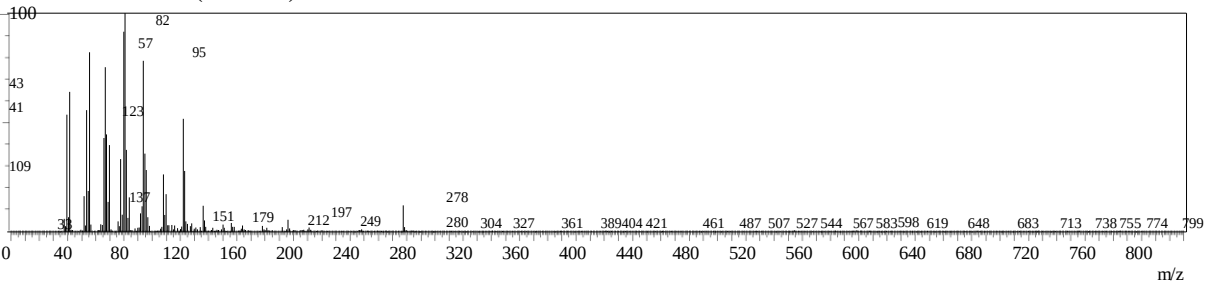
Line#:54 R.Time:10.627(Scan#:2439)

3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol



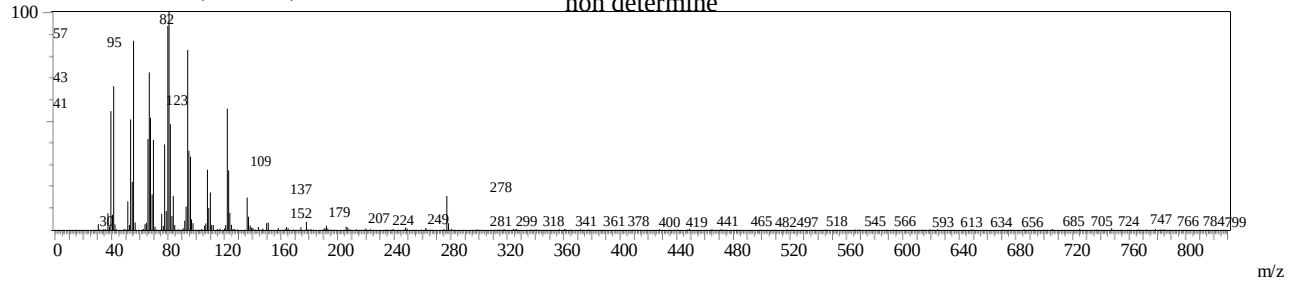
Line#:55 R.Time:10.747(Scan#:2475)

non déterminé



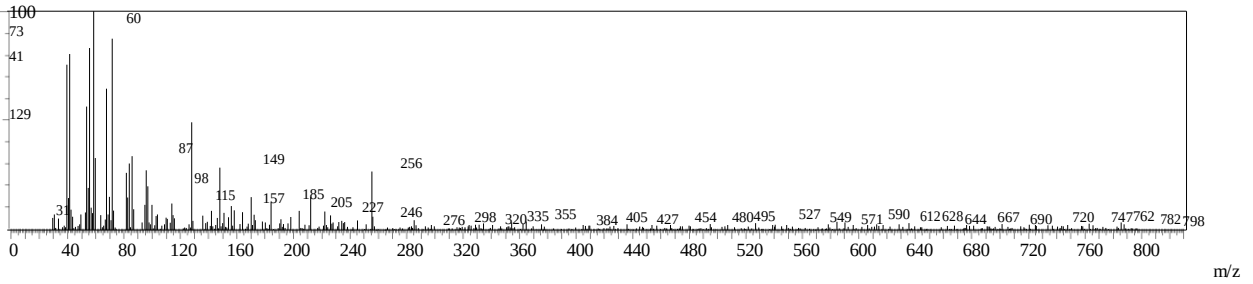
Line#:56 R.Time:10.843(Scan#:2504)

non déterminé



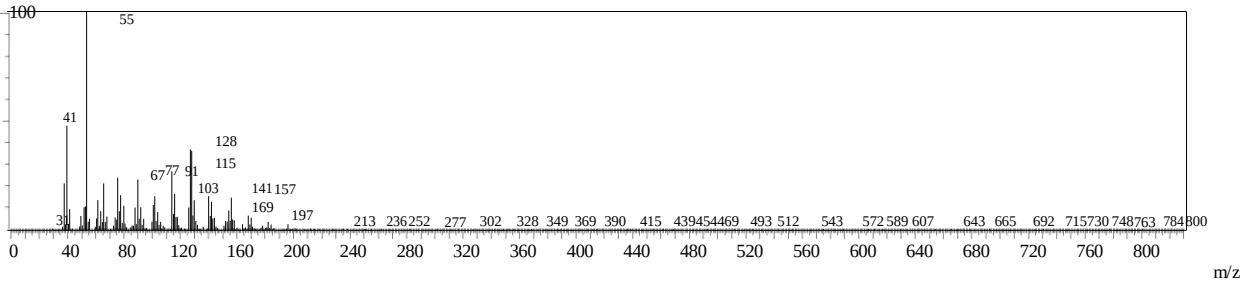
Line#:57 R.Time:11.247(Scan#:2625)

non déterminé



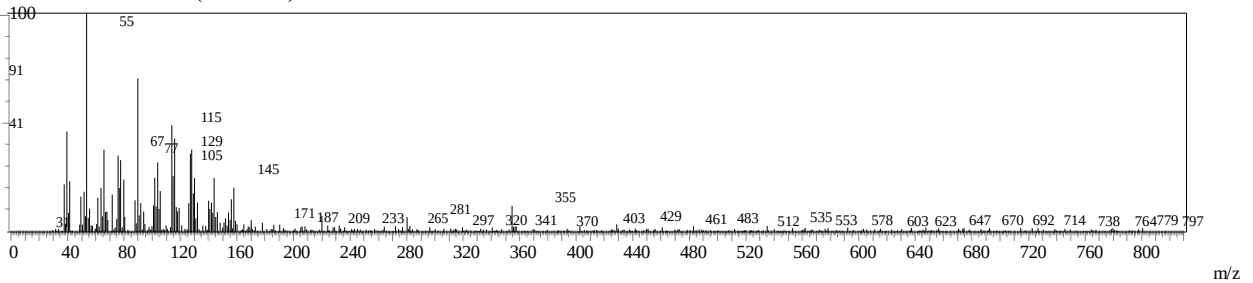
Line#:58 R.Time:11.500(Scan#:2701)

Falcarinol



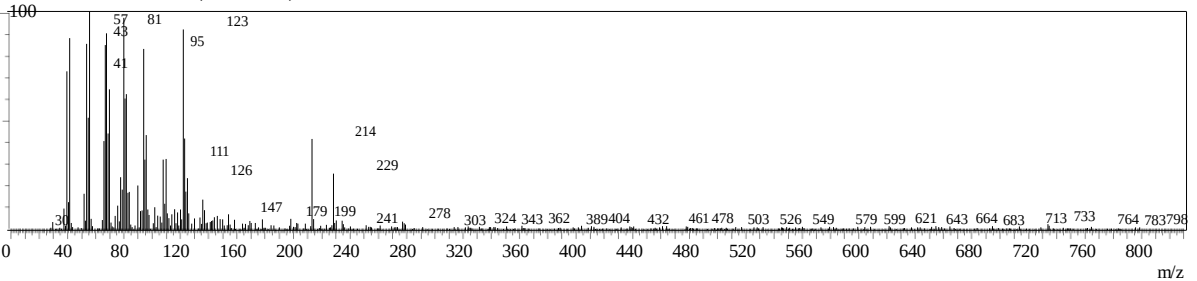
Line#:59 R.Time:11.693(Scan#:2759)

non déterminé

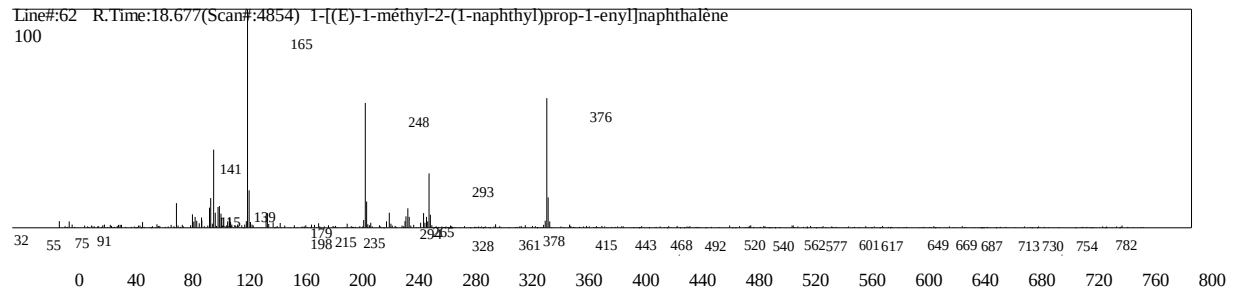
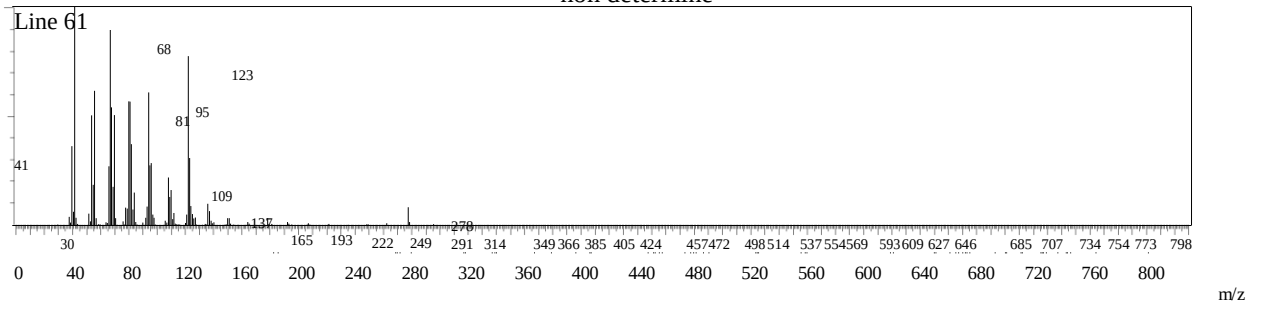


Line#:60 R.Time:12.173(Scan#:2903)

non déterminé



non déterminé



**PUBLICATION**

**ISSUE DE LA THESE**



**Original Paper**

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

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

**Niveau de connaissance et composition minérale de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae), une plante utilisée dans les ménages du District d'Abidjan (Côte d'Ivoire)**

Ebalah Delphine MONYN<sup>1</sup>, Adama BAKAYOKO<sup>1,2</sup>, Fézan Honora TRA BI<sup>1</sup>,  
Konan YAO<sup>2</sup>, et Mamidou Witabouna KONE<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup> Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, BP 1303 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

\* Auteur correspondant; E-mail: [konewit\\_sn@una.edu.ci](mailto:konewit_sn@una.edu.ci); [mamidou.kone@csrs.ci](mailto:mamidou.kone@csrs.ci), Tel: + 22503488905.

---

**RESUME**

*Hydrocotyle bonariensis* est une espèce végétale entrant dans les habitudes alimentaires et médicinales des populations en Côte d'Ivoire. Ce travail a été mené afin de déterminer le niveau de connaissance et d'utilisation de cette plante dans les ménages du district d'Abidjan ainsi que sa composition en micronutriments. Au total, 800 ménages répartis dans six communes du district ont été interviewés à partir d'un questionnaire. Le dosage des minéraux a été fait au spectrophotomètre d'adsorption atomique à flamme. Ces interviews ont inclus 597 femmes et 203 hommes. Leur niveau d'éducation varie de aucun niveau (382 personnes) à supérieur (61 personnes). Sur 513 ménages ayant une connaissance de la plante, 267 l'utilisent pour des besoins médicaux et alimentaires. Le niveau de consommation (27%) est influencé par les niveaux d'instruction et de vie et les groupes culturels ; les Akan du Centre en sont les plus grands consommateurs. Les organes les plus utilisés sont les feuilles qui ont une composition minérale en calcium (60%), magnésium (35%), fer (3%), zinc (1%) et en cuivre (1%). Cette étude constitue une première étape dans la valorisation nutritionnelle de *H. bonariensis*.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés:** Ethnobotanique, connaissance, *Hydrocotyle bonariensis*, minéraux, Abidjan, Côte d'Ivoire.

**Knowledge level and mineral content of *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae), a plant used by households in the District of Abidjan (Cote d'Ivoire)**

**ABSTRACT**

*Hydrocotyle bonariensis* is a plant species entering in food and medicinal habits of people in Cote d'Ivoire. This work was conducted to determine the households' knowledge and utilization of this plant in the district of Abidjan as well as its mineral content. A total of 800 households in six settings were interviewed using a questionnaire. The determination of mineral content was carried out using an atomic adsorption spectrophotometer. The surveyed people included 597 women and 203 men. Their education level varied from no formal education level (382 people) to high school level (61 people). Of 513 households having a

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

<http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i5.9>

2787-IJBCS

knowledge about this plant, 267 used it for medicinal and food needs. The level of consumption (27%) is influenced by education and life level and cultural groups; Akan from the Central Cote d'Ivoire were the largest consumers. The most used organs were the leaves that had mineral content of calcium (60%), magnesium (35%), iron (3%), zinc (1%) and copper (1%). This study is a first step for the nutritional valorization of *H. bonariensis*.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** Ethnobotany, Knowledge, *Hydrocotyle bonariensis*, Minerals, Abidjan, Cote d'Ivoire.

## INTRODUCTION

La malnutrition par carences en micronutriments (vitamines et sels minéraux), encore appelée «faim invisible» ou «faim cachée» est très importante et touche près de deux milliards de personnes dans le monde (FAO, 2016). Selon cette même source, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que les carences en fer, en vitamine A et en zinc sont parmi les dix premières causes de décès par maladie dans les pays en développement. Elles touchent le plus souvent les personnes vulnérables tels que les enfants, les femmes enceintes et les vieillards. Ces carences en un ou plusieurs oligoéléments constituent donc un véritable problème de santé publique. Dans ces pays en développement, l'apport en certains minéraux comme le fer n'est pas souvent couvert par l'alimentation. En outre, la faible biodisponibilité des nutriments dans l'alimentation représente l'un des plus grands problèmes dans la lutte contre les carences nutritionnelles.

En Afrique, les espèces végétales sauvages jouent un rôle important dans l'alimentation des populations (Diarra et al., 2016). Les plantes vertes comestibles pourraient aider à la prise en charge des malnutritions en micronutriments d'autant plus qu'elles sont facilement accessibles aux communautés à cause de leur faible coût (Hailu et Addis, 2016). En Côte d'Ivoire (N'Guessan et al., 2009 ; Kouamé et al., 2015), bien que les populations aient recours à des plantes médicinales et/ou alimentaires cultivées ou spontanées, Atchibri et al. (2012) rapportent que les légumes feuilles n'occupent pas une place de choix dans le régime

alimentaire. Or plusieurs auteurs ont montré que les légumes feuilles issues des plantes spontanées augmente la qualité nutritionnelle des mets en fournissant des minéraux, des fibres, des vitamines et des acides gras essentiels (Adeniyi et al., 2012 ; Adjatin et al., 2013 ; Volpe et al., 2015 ; Guarrera et Savo, 2016 ; Petropoulos et al., 2017). Ces légumes feuilles verts encore sous utilisés sont de bonnes sources de nombreux nutriments comme le fer, le calcium, l'acide ascorbique et le  $\beta$ -carotène. Selon Sanclemente et al. (2011), leurs richesses en oligoéléments, vitamines et phytoconstitués sont une aubaine dans les pays en développement.

L'évaluation des compositions en nutriments et anti-nutriments des plantes spontanées comestibles pourrait aider à identifier des aliments riches en minéraux et acquérir une connaissance des méthodes appropriées de préparation pour améliorer la biodisponibilité de ces nutriments (Hailu et Addis, 2016). Dans ce cadre, différents travaux menés sur quelques plantes alimentaires de Côte d'Ivoire ont porté sur leurs valeurs nutritionnelles et diététiques (Soro et al., 2012 ; Atchibri et al., 2012 ; Acho et al., 2014). Cependant, leur importance et leur rôle dans l'alimentation des populations urbaines restent encore insuffisamment documentés. La valeur de nombreuses espèces pour les populations, éventuellement celles utilisées pour des applications médicales et nutritionnelles, est encore très peu étudiée. Dans cet arsenal des plantes disponibles, *Hydrocotyle bonariensis*, une plante de la famille des Araliaceae a attiré notre attention.

*H. bonariensis* est une plante, herbacée vivace, rampante, s'enracinant aux nœuds et se



développant en tache dense. De son pivot principal robuste, elle se propage par des racines pivotantes adventives qui naissent à chaque nœud en contact avec le sol. Dans plusieurs pays, cette plante est utilisée dans la médecine populaire et dans l'alimentation (Andrea, 2010 ; Fiaschi, 2010). En Côte d'Ivoire, cette espèce végétale est aussi consommée dans des ménages, toutefois très peu de données sont disponibles sur ses usages et sa connaissance.

Ce travail a été entrepris afin de déterminer le niveau de connaissance de cette plante et sa composition minérale en vue d'une valorisation nutritionnelle et médicinale.

## MATERIEL ET METHODES

### Zone d'étude

Les enquêtes ont été menées dans le district d'Abidjan (Figure 1) qui se trouve sur le littoral Sud-Est de la Côte d'Ivoire. C'est la capitale économique du pays. Elle comptait en 2014, 4 707 000 habitants soit 20% de la population totale du pays (INS, 2015). Les six communes visitées sont Port-Bouët, Abobo, Yopougon, Cocody, Bingerville et Anyama. Elles ont été choisies par rapport à leur population de niveau de vie faible à élevé. Par ailleurs, une pré-enquête a montré que plusieurs résidents utilisent *Hydrocotyle bonariensis* pour divers besoins.

### Authentification de l'espèce végétale

Plusieurs échantillons de la plante ont été récoltés sur divers sites et authentifiés à l'Université Nangui Abrogoua, en raison de la variabilité morphologique et d'une confusion possible avec une autre espèce, *Centella asiatica*.

### Enquêtes auprès des ménages

#### Calcul de l'échantillon

L'unité d'échantillonnage est le ménage. La taille de l'échantillon a été calculée selon la méthode décrite par Vessereau (1992).

$$n = t^2 \times p(1-p)/m^2$$

avec n = taille d'échantillon requise, t = 1,96 à un niveau de confiance de 95%, m = marge d'erreur à 4,14%. Dans ce travail, il a été considéré une valeur de p = 50% afin d'obtenir un échantillon maximal (Bouvet et Grimont, 2001) ; le niveau de connaissance de *Hydrocotyle bonariensis* étant indéterminé. Ainsi un échantillon de 800 ménages à enquêter a été obtenu et reparti proportionnellement à la taille de chacune des six communes choisies (150 à Abobo, 150 à Anyama, 150 à Yopougon, 150 à Port-Bouët, 150 à Bingerville et 50 à Cocody).

### Enquêtes

Des séries d'enquêtes ethnobotanique et alimentaire ont été menées dans les six communes choisies. Ces enquêtes semi structurées ont été conduites durant la période allant de Décembre 2014 à Mars 2016 à l'aide d'une fiche d'enquête. Les ménages ont été tirés de manière aléatoire. L'enquête a consisté à interroger la maîtresse ou l'homme de la maison. Les grandes lignes de l'interview concernaient les informations sur la plante, son utilisation alimentaire, dans les soins de santé, le mode de préparation, la fréquence de consommation et sur d'autres usages de *Hydrocotyle bonariensis*. Les caractéristiques socio-démographiques ont été prises en compte dans l'enquête. Les langues de communication étaient le français et les langues locales comme le Dioula et le Baoulé.

### Détermination de la teneur en minéraux

#### Minéralisation

Une quantité de 0,3 g d'échantillon broyé a été pesée dans un creuset en porcelaine puis mise dans un four à moufle (PROLABO) à 650 °C pendant 5 h. Après refroidissement, 5 mL d'acide nitrique (1 mol.L<sup>-1</sup>) ont été ajoutés à la cendre obtenue puis portés à évaporation totale sur un bain de sable. Au résidu ont été ajoutés 5 mL d'acide chlorhydrique (0,1 mol.L<sup>-1</sup>), le tout a été remis au four à 400 °C pendant 30 min. Le résidu final a été récupéré avec 10 mL d'acide chlorhydrique (1 mol.L<sup>-1</sup>) puis versé dans une fiole de 50 mL. Le creuset a été rincé deux

fois avec 10 mL de l'acide chlorhydrique. La fiole a été complétée à 50 mL avec l'acide chlorhydrique. Dans les mêmes conditions, un essai à blanc a été réalisé (IITA, 1981 ; AOAC, 1990).

#### **Dosage**

Les minéraux dosés ont été le calcium, le cuivre, le fer, le magnésium, le phosphore et le zinc. Après la minéralisation, des gammes de concentrations de chaque minéral ont été préparées selon les méthodes de références pour la détermination quantitative des éléments chimiques dans les végétaux (IITA, 1981). Les dosages ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre d'adsorption atomique à flamme air-acétylène de type VARIAN AAS 20, de marque Australienne (AOAC, 1990 ; Kouassi et al., 2013). Les dosages ont été répétés trois fois.

#### **Traitement des données**

##### **Pourcentage de connaissance**

Le pourcentage de connaissance a été calculé par le rapport du nombre de ménages connaissant la plante (N) et du nombre total de ménages interrogés (Nt) selon la formule suivante :  $NC = N/Nt \times 100$ .

##### **Indice de consensus**

Afin d'apprécier les accords des informateurs sur l'utilisation médicinale de la plante contre les affections énumérées sur le plan médicinal, un facteur (degré) de consensus d'utilisation ou Informant Consensus Factor (ICF) a été calculé selon la formule suivante :

$ICF = Na/Nt$  ; où Na est le nombre d'informateurs ayant cité une pathologie et Nt le nombre total d'informateurs (Ilumbe et al., 2014).

L'ICF varie entre [0-1]. Une valeur faible, proche de 0, indique que les informateurs sont en désaccord sur les thérapies proposées. Une valeur élevée, proche de 1, indique un consensus élevé ou total autour de l'usage de la plante.

##### **Pourcentage de consommation**

Les pourcentages de consommation dans les six communes du district d'Abidjan

ont été calculés selon la méthode d'Ambé (2001). Ce pourcentage a été calculé par le rapport du nombre de ménages consommant la plante (n) et du nombre total de ménages connaissant la plante (N) selon la formule suivante :  $PC = n/N \times 100$

##### **Proportion de chaque minéral dans l'échantillon**

Le pourcentage en minéral (Pm) a été obtenu à l'aide de la formule

$Pm = (Tm/T) \times 100$ , où Tm = teneur du minéral et T = Teneur total pour l'ensemble des minéraux identifiés.

#### **Analyses statistiques**

La saisie des données a été réalisée avec le logiciel Epidata 3.1 et transférée sur le logiciel SPSS 20.0 pour la mise en place de la base de données. Le test de Khi-deux ( $\chi^2$ ) a été utilisé pour établir, s'il existe, une relation entre le niveau de connaissance, d'utilisation et de consommation de *Hydrocotyle bonariensis* et des paramètres tels que le lieu d'habitation et le groupe culturel, à l'aide du logiciel SPSS 20.0. Lorsqu'une relation existe au seuil de 0,05%, le test de Khi-deux est complété par la procédure de Marascuilo (Marascuilo et Serlin, 1988) à l'aide du logiciel XLStat version 2014. Cette procédure consiste à effectuer des tests de comparaison deux à deux pour tous les couples de proportions, ce qui permet d'identifier les proportions responsables de l'existence de liaison. La plus petite différence significative a été fixée au seuil de 0,05 (Vessereau, 1992).

## **RESULTATS**

### **Caractéristiques sociodémographiques**

Au total, 800 personnes dont 203 hommes et 597 femmes, ont été interviewées. Les personnes n'ayant aucun niveau sont les plus nombreuses, avec un total de 382. Les communes d'Abobo et de Bingerville en comptent le plus grand nombre, respectivement 87 et 83 personnes. Trois classes d'âge se dégagent à savoir : 18-30 ans ; 31-45 et supérieure ou égale à 46 ans. Les groupes ethniques sont marqués par la prépondérance des Akan du Centre et les Krou

qui ont été plus nombreux à Yopougon et Port-Bouët. Quant à la situation sociale, les commerçants et les ménagères en sont les plus nombreux, avec Bingerville ayant compté plus de ménagères (Tableau 1)

#### **Niveaux de connaissance et d'utilisation de *Hydrocotyle bonariensis* par commune**

Sur les 800 ménages interrogés, 64% connaissent la plante et 36% non. Le test de Khi-deux montre une différence significative entre ces pourcentages. Ce résultat indique que cette plante est connue des populations du district d'Abidjan. Pour les communes d'Abobo, d'Anyama et de Cocody, le niveau de connaissance est le même mais moins élevé que celui de Yopougon, Port-Bouët et Bingerville. Il y a donc une différence significative entre ces deux groupes de communes, Bingerville a le plus haut niveau de connaissance (Figure 2).

Sur 64% de ménages connaissant la plante, 52% l'utilisent et 48% non. On constate ici que la connaissance est liée à l'utilisation car les deux groupes de communes que nous avons identifiés sont statistiquement les mêmes. A Abobo, Anyama et Cocody, la plante est faiblement utilisée par rapport à Yopougon, Port-Bouët et Bingerville. Yopougon et Port-Bouët montrent un niveau moyen et Bingerville le plus haut niveau d'utilisation (Figure 3).

#### **Niveaux de connaissance et d'utilisation de *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique**

Au niveau de la connaissance de cette plante, il n'y a pas de différence significative entre les différents groupes culturels. Néanmoins, les Mandé du Nord représentent la plus faible proportion (Figure 4). Pour les huit groupes culturels, les proportions sont égales ( $F = 14,230$  ;  $p < 0,001$ ). Ceci montre qu'il y a une similarité entre le niveau de connaissance de la plante quel que soit le groupe culturel auquel appartient la personne interrogée sauf pour le groupe des Mandé du Nord.

Deux classes se dégagent quant à l'utilisation de la plante (Figure 5). Ce sont la classe des groupes culturels à forte utilisation (Akan du centre et ressortissants des pays CEDEAO) et la classe des groupes à faible utilisation (Mandé du Nord, ceux du Sud, les Akan du Sud, ceux de l'Est, les Gour et les Krou).

#### **Niveau de consommation de *Hydrocotyle bonariensis* par commune et par groupe ethnique**

Sur l'ensemble des ménages qui utilisent cette plante, 48% en font un usage médicinal, 44% un usage alimentaire et 8% de ménages y ont recours à la fois comme aliment et comme médicament.

Au niveau des communes, Bingerville est celle qui montre le plus haut niveau de consommation, suivie d'Abobo et Cocody avec un niveau moyen de consommation. Port-Bouët, Anyama et Yopougon viennent avec une faible consommation de la plante (Figure 6).

Sur le plan culturel, les huit groupes ethniques consomment cette plante mais ce sont surtout les Akan du Centre qui la consomment davantage (Figure 7).

#### **Niveau d'instruction des ménages interrogés et consommation de *Hydrocotyle bonariensis***

Le niveau d'instruction a une influence significative sur le niveau de consommation (relativement faible de 27%) des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis* dans les différents ménages (Figure 8). En effet, les ménages sans aucun niveau d'instruction représentent la plus forte proportion de consommateurs (47,75%), suivis des niveaux primaire (22,5%), secondaire (20,12%) et supérieur (7,625%). Quant au niveau coranique, il représente la plus faible proportion (2%).

#### **Usages médicaux et indice de consensus**

A l'issue de cette enquête, il ressort que *Hydrocotyle bonariensis* rentre dans le traitement de nombreuses maladies parmi

lesquelles on peut citer le diabète, l'hypertension, les maladies du système digestif, les maladies immunitaires, les maladies liées à la reproduction, etc... (Tableau 2). Les indices de consensus calculés donnent de faibles valeurs allant de 0,006 à 0,27. Aucun indice n'a atteint une valeur moyenne de consensus (0,5). Les valeurs de consensus les plus élevées ont été obtenues pour les maladies immunitaires (ICF = 0,27), les maladies du système digestif (ICF = 0,17), l'hypertension (ICF = 0,12).

#### Usages alimentaires et indice de consensus

Sur le plan alimentaire, trois modes de préparation sont utilisés dans les ménages

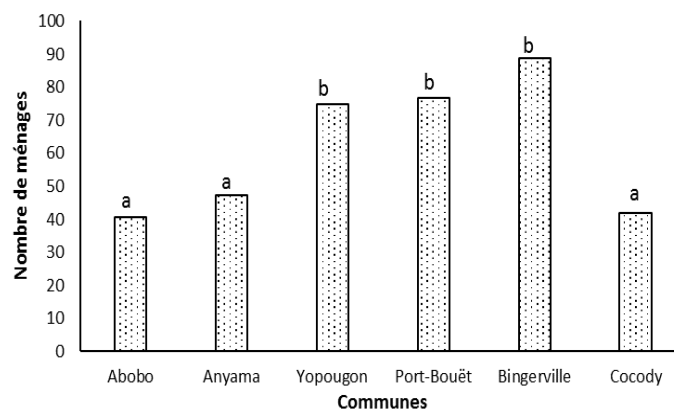
(Tableau 3). La consommation des feuilles sous forme de crudité est la plus utilisée avec un ICF de 0.88. Cette valeur élevée indique qu'il y a un accord plus important pour cette forme de consommation que les autres.

#### Composition en oligoéléments

L'analyse des minéraux a permis de montrer que cette plante est riche en calcium (60%) et en magnésium (35%) et contient de très faibles quantités de fer (3%), de zinc (1%) et de cuivre (1%) comme l'indique la Figure 9. Elle ne renferme pas de phosphore. Les teneurs observées pour chaque minéral sont consignées dans le Tableau 4.

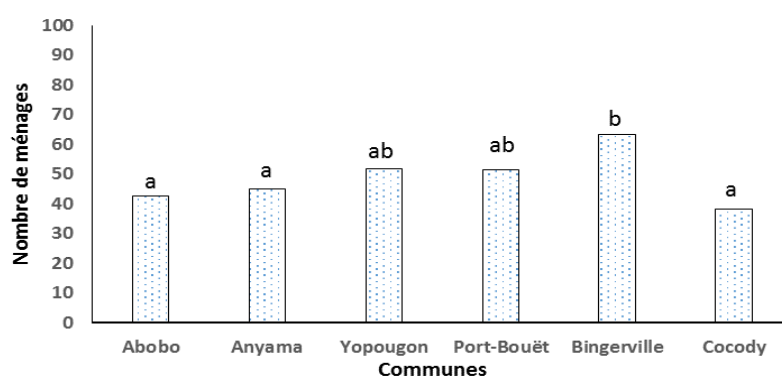


**Figure 1 :** Carte de localisation des sites d'étude (Source : Données cartographiques 2016).



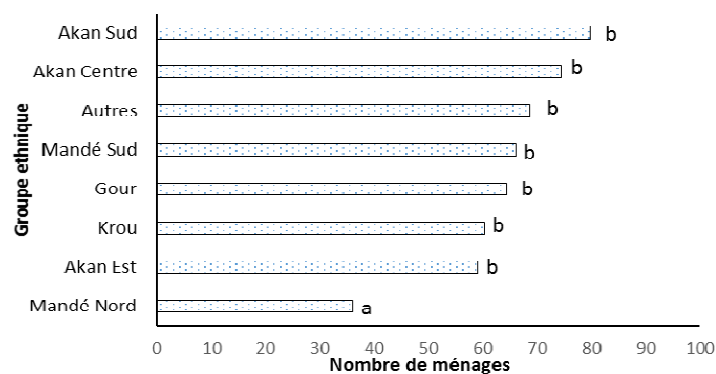
**Figure 2 :** Diagramme montrant le nombre de personnes connaissant *Hydrocotyle bonariensis* par commune.

Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,001$ ).



Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ ).

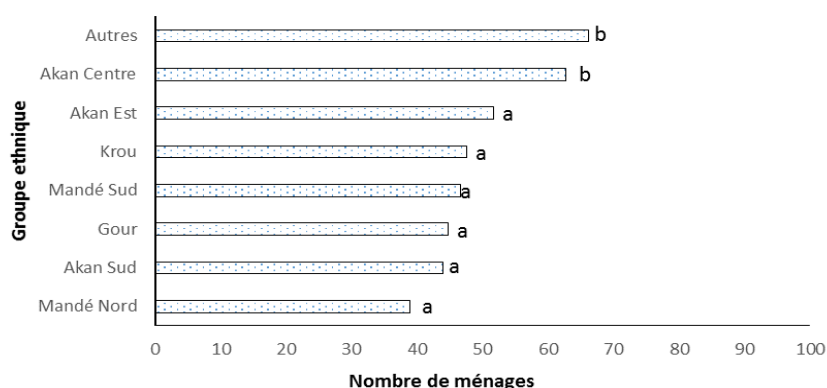
**Figure 3 :** Diagramme montrant le nombre de personnes utilisant *Hydrocotyle bonariensis* par commune.



**Figure 4 :** Diagramme montrant le nombre de personnes connaissant *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique.

Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,001$ )

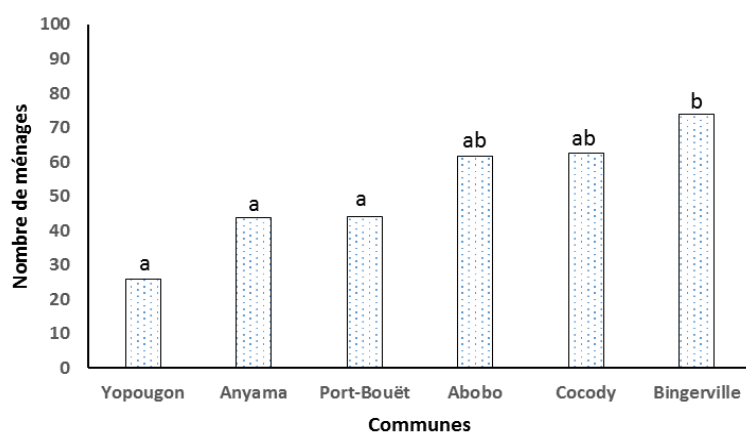
Autres: ressortissants des pays CEDEAO.



**Figure 5 :** Diagramme montrant le nombre de personnes utilisant *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique.

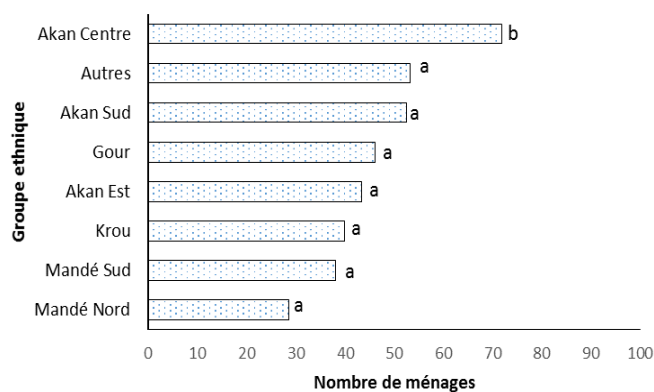
Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )

Autres : ressortissants des pays CEDEAO.



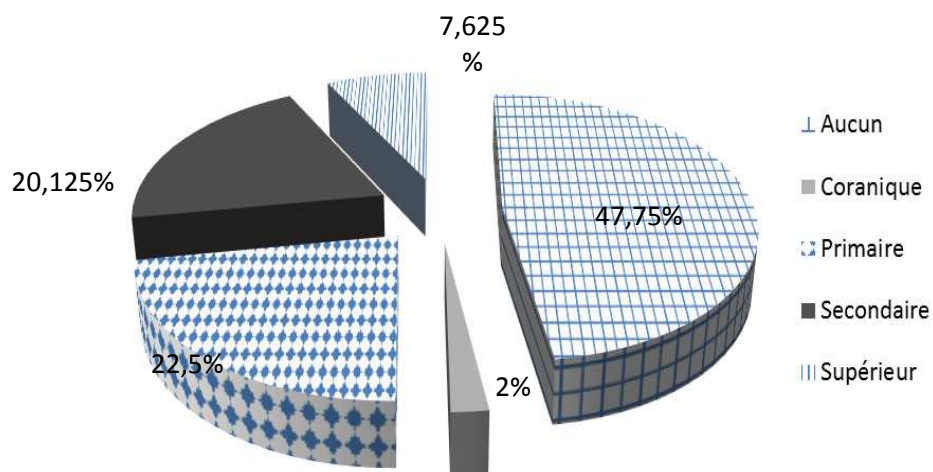
**Figure 6 :** Diagramme montrant le nombre de personnes consommant *Hydrocotyle bonariensis* par commune.

Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes.

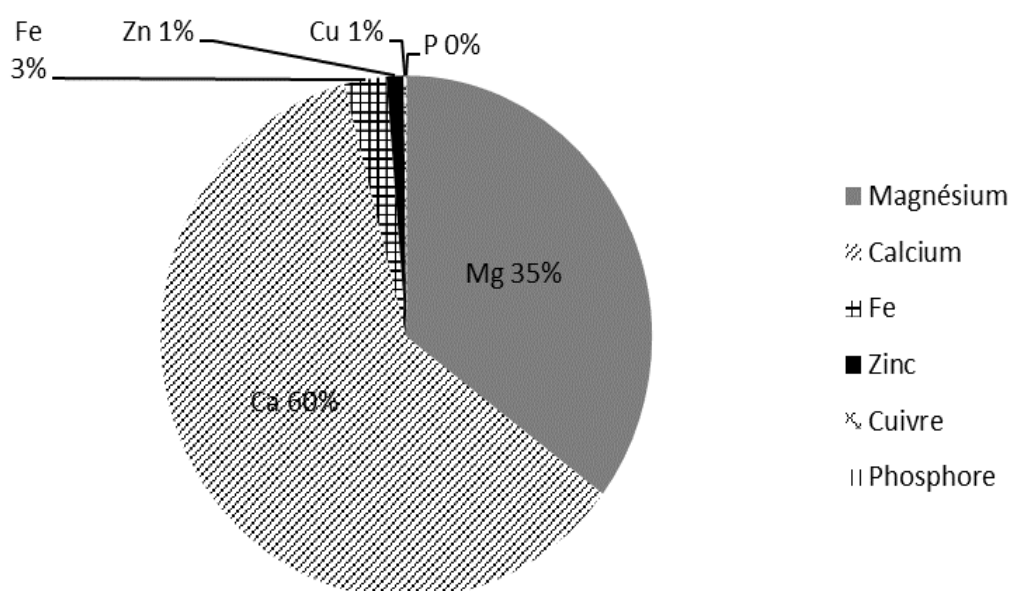


**Figure 7 :** Diagramme montrant le nombre de personnes consommant *Hydrocotyle bonariensis* par groupe ethnique. Les bandes portant les mêmes lettres en haut ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,038$ )

Autres : ressortissants des pays CEDEAO.



**Figure 8 :** Diagramme montrant le niveau d'instruction des ménages interrogés.



**Figure 9 :** Diagramme des éléments minéraux contenus dans *Hydrocotyle bonariensis*.  
Ca= Calcium; Mg= Magnésium; Fe= Fer; Cu= Cuivre; Zn= Zinc ; P= Phosphore.

**Tableau 1** : Caractéristiques sociodémographiques des personnes interrogées.

| Paramètres        | Zone d'étude |        |          |            |             |        | Total | Pourcentage |
|-------------------|--------------|--------|----------|------------|-------------|--------|-------|-------------|
|                   | Abobo        | Anyama | Yopougon | Port-Bouët | Bingerville | Cocody |       |             |
| Niveau d'étude    |              |        |          |            |             |        |       |             |
| Aucun             | 87           | 72     | 61       | 58         | 83          | 21     | 382   | 47,75       |
| Primaire          | 31           | 32     | 37       | 38         | 38          | 4      | 180   | 22,50       |
| Secondaire        | 18           | 25     | 37       | 44         | 23          | 14     | 161   | 20,13       |
| Supérieur         | 5            | 16     | 15       | 9          | 6           | 10     | 61    | 7,63        |
| Coranique         | 9            | 5      | 0        | 1          | 0           | 1      | 16    | 2,00        |
| Groupe ethnique   |              |        |          |            |             |        |       |             |
| Akan Sud          | 14           | 16     | 25       | 21         | 33          | 5      | 114   | 14,25       |
| Akan Est          | 14           | 19     | 15       | 21         | 20          | 9      | 98    | 12,25       |
| Akan Centre       | 24           | 19     | 30       | 29         | 25          | 10     | 137   | 17,13       |
| Mandé Sud         | 8            | 6      | 26       | 10         | 15          | 3      | 68    | 8,50        |
| Mandé Nord        | 29           | 38     | 9        | 10         | 9           | 5      | 100   | 12,50       |
| Krou              | 22           | 21     | 27       | 35         | 23          | 11     | 139   | 17,38       |
| Gour              | 12           | 16     | 7        | 5          | 3           | 2      | 45    | 5,63        |
| Autres            | 27           | 15     | 11       | 19         | 22          | 5      | 99    | 12,38       |
| Classe d'âge      |              |        |          |            |             |        |       |             |
| [18-30]           | 18           | 11     | 2        | 1          | 2           | 1      | 35    | 4,38        |
| [31-45]           | 62           | 64     | 68       | 71         | 64          | 22     | 351   | 43,88       |
| > 46              | 70           | 75     | 80       | 78         | 84          | 27     | 414   | 51,75       |
| Situation sociale |              |        |          |            |             |        |       |             |
| Commerçant        | 74           | 74     | 69       | 21         | 52          | 60     | 350   | 43,76       |



|               |     |     |     |    |     |     |     |       |
|---------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-------|
| Etudiant      | 3   | 2   | 2   | 1  | 0   | 4   | 12  | 1,50  |
| Fonctionnaire | 14  | 15  | 16  | 8  | 21  | 20  | 94  | 11,75 |
| Ménagère      | 58  | 58  | 58  | 20 | 75  | 64  | 333 | 41,62 |
| Sans emploi   | 1   | 1   | 5   |    | 2   | 2   | 11  | 1,38  |
| <b>Sexe</b>   |     |     |     |    |     |     |     |       |
| Féminin       | 108 | 100 | 127 | 36 | 119 | 107 | 597 | 74,62 |
| Masculin      | 42  | 50  | 23  | 14 | 31  | 43  | 203 | 25,38 |

**Tableau 2 :** Indices de consensus d'utilisation médicinale des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*.

| <b>Pathologies</b>                     | <b>Indice de consensus</b> |
|----------------------------------------|----------------------------|
| Diabète                                | 0,01                       |
| Hypertension                           | 0,12                       |
| Maladies immunitaires                  | 0,27                       |
| Croissance                             | 0,04                       |
| Maladies nutritionnelles               | 0,01                       |
| Maladies de la peau                    | 0,006                      |
| Maladies dégénératives (liées à l'âge) | 0,07                       |
| Maladies du système nerveux            | 0,08                       |
| Maladies rhumatismales                 | 0,04                       |
| Maladies liées à la reproduction       | 0,08                       |
| Maladies du système circulatoire       | 0,03                       |
| Maladies du système digestif           | 0,17                       |
| Maladies infectieuses                  | 0,02                       |
| Maladies du système respiratoire       | 0,06                       |

**Tableau 3 :** Indices de consensus d'utilisation alimentaire des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*.

| Modes de préparation | Indice de consensus |
|----------------------|---------------------|
| Crudité              | 0,88                |
| Tisane               | 0,006               |
| Légumes              | 0,26                |

**Tableau 4 :** Teneurs en minéraux des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis*.

| Minéraux  | Quantité (mg/100 g de matière sèche) |
|-----------|--------------------------------------|
| Calcium   | 340,84                               |
| Magnésium | 198,23                               |
| Fe        | 15,62                                |
| Zinc      | 6,36                                 |
| Cuivre    | 0,97                                 |
| Phosphore | 0                                    |

## DISCUSSION

L'objectif de ce travail a été d'inventorier les usages de *Hydrocotyle bonariensis* dans les ménages de six communes du district d'Abidjan, puis de déterminer la composition en micronutriments des feuilles.

Les enquêtes ethnobotaniques ont montré que 64% des ménages interviewés connaissent la plante. Plus de 52% l'utilisent soit à des fins médicinales, soit dans l'alimentation. Le niveau de connaissance et d'utilisation est statistiquement différent dans les communes. Abobo, Anyama et Cocody ont donné un niveau faible (entre 40 et 50%) comparées à celles de Yopougon, Port-Bouët et Bingerville qui ont des forts taux (entre 70 et 90%). La connaissance de la plante est donc liée à son utilisation mais aussi à la consommation. Par exemple, Bingerville est la commune où l'utilisation ainsi que la consommation sont très élevées (90%). Cela pourrait s'expliquer par le fait que les populations de Bingerville en Côte d'Ivoire ont beaucoup recours aux plantes aussi bien alimentaires que médicinales dans leurs habitudes (N'Guessan et al., 2009 ; Séguéna et al., 2013).

Au niveau des groupes culturels par contre, les niveaux de connaissance sont approximativement égaux sauf pour le groupe des Mandé du Nord qui a une faible connaissance de cette plante (moins de 40%). Cette connaissance n'est pas liée à l'utilisation et à la consommation comme dans le cas des communes. Il ressort que ce sont les Akan du centre qui consomment davantage *H. bonariensis*. L'origine culturelle pourrait donc être un facteur de choix dans l'utilisation des feuilles de cette plante dans l'alimentation. Cela corrobore les travaux de Yao et al. (2015) qui ont montré que l'utilisation des légumes feuilles dans l'alimentation des populations en zones urbaines de la Côte d'Ivoire sont liées à plusieurs facteurs, entre autres le groupe culturel auquel appartient de l'individu.

Le pourcentage de consommation des feuilles de *H. bonariensis* dans l'ensemble des zones d'enquêtes, est relativement faible (27%). Ce résultat est en accord avec ceux de Atchibri et al. (2012) qui ont rapporté que les légumes-feuilles n'occupent pas une place de choix dans les habitudes alimentaires en Côte d'Ivoire. Toutefois à Bingerville, les feuilles de *H. bonariensis* sont très utilisées dans les

ménages. Cela serait dû à leur disponibilité dans cette localité.

On note aussi que la consommation des feuilles de *H. bonariensis* se fait surtout sous forme de crudité et est beaucoup influencée par le niveau d'instruction et de vie. Les ménages à niveau d'instruction bas consomment plus cette plante que ceux à niveau élevé. Selon Tchiégang et Kitikil (2004), ceci tient au fait que les personnes avec un niveau faible d'instruction restent plus attachées à leurs valeurs culturelles. Tandis que celles à niveau élevé ont tendance à adopter des modes de vie occidentaux.

L'âge de l'individu pourrait être un facteur influençant le niveau de connaissance ; ce qui justifierait que les personnes ayant plus de 45 ans occupent la plus forte proportion dans cette étude. Ceci est peut-être lié aux maladies traitées par *H. bonariensis* qui affectent souvent les personnes âgées.

Le caractère bénéfice santé est également un facteur qui oriente beaucoup le choix des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis* pour son utilisation dans ces ménages du district d'Abidjan. Cette plante est souvent utilisée pour soigner diverses maladies telles que l'hypertension, les maladies du système immunitaire, les maladies du système digestif ou comme tonifiant, etc. Ces usages corroborent son utilisation dans la médecine populaire américaine (Fiaschi, 2010). Plusieurs consommateurs interrogés ont déclaré que la consommation régulière des feuilles de *H. bonariensis* est dû au fait que cette plante contribue à l'amélioration de leur état de santé. La recherche des effets promoteurs de la santé suite à la consommation de *H. bonariensis* en zones urbaines concorde avec les résultats de Yao et al. (2015). Selon ces auteurs, les populations urbaines introduisent les légumes feuilles comme complément de leur régime alimentaire en raison de leur bénéfice pour la santé.

L'étude de la composition en oligoéléments des feuilles de *H. bonariensis* a montré qu'elles contiennent du calcium, du

magnésium, du fer, du zinc, et du cuivre. La présence de ces minéraux est étroitement liée aux utilisations médicinales indiquées par les personnes interrogées. Chacun de ces micronutriments joue un rôle important dans le métabolisme de l'organisme. Le calcium a un effet sur la santé des os en termes de protection (Park et Weaver, 2012) ; le magnésium peut faire baisser la tension artérielle, le taux du cholestérol et est impliqué dans les systèmes de défenses naturelles contre les agressions de toute sorte ; il est très important pour la femme enceinte (Sidor et al., 2016). Le fer a un rôle essentiel dans le métabolisme des globules rouges (hémoglobine), dans la fonction musculaire. L'anémie par carence en fer est la plus fréquente chez les nourrissons et les enfants en Afrique subsaharienne (Paganini et al., 2016). Le cuivre est impliqué dans la lutte contre les radicaux libres. Le zinc est l'un des plus importants éléments impliqués dans le métabolisme chez l'Homme. C'est un minéral antioxydant, stabilisateur des membranes lipidiques, et qui joue un rôle dans les fonctions reproductrices et dans le maintien du matériel génétique (Rahman et al., 2016). Toutes ces propriétés biologiques et physiologiques montrent l'intérêt des populations pour *H. bonariensis* dans la lutte contre les carences en micronutriments et autres maladies.

## Conclusion

Les enquêtes ethnobotaniques menées dans le district d'Abidjan révèlent que les feuilles d'*Hydrocotyle bonariensis* entrent dans les habitudes alimentaires et médicinales des ménages. Ces résultats montrent que les espèces spontanées continuent de contribuer à la nutrition et à la santé en zones urbaines en Côte d'Ivoire, malgré souvent l'adoption de comportements nouveaux. Par ailleurs, cette plante est riche en micronutriments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

Au vu de ces résultats, cette ressource naturelle serait pour les populations d'un

intérêt non négligeable afin de venir à bout de nombreuses pathologies. Il serait nécessaire de promouvoir une large consommation de cette plante dans les ménages en raison de son bénéfice santé certain.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions l'Institut Polytechnique de Yamoussoukro pour l'analyse de la composition chimique de la plante étudiée. Nos remerciements vont également à l'endroit des populations du district d'Abidjan pour avoir autorisé l'accès à leurs domiciles et leur accueil chaleureux.

## CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

## CONTRIBUTION DES AUTEURS

EDM a rédigé le questionnaire, mené les enquêtes auprès des ménages, pris part à la rédaction et a approuvé la version finale du manuscrit. AB a procédé à l'identification de l'espèce végétale, pris part à la rédaction et la correction et approuvé la version finale du manuscrit. FHTB a co-supervisé les enquêtes sur le terrain, pris part à la rédaction et la correction et approuvé la version finale du manuscrit. KY s'est occupé des analyses statistiques. Il a approuvé la version finale du manuscrit. MWK a développé le concept de l'étude, guidé la confection du questionnaire, supervisé les enquêtes sur le terrain, pris part à la rédaction et la correction et a approuvé la version finale du manuscrit.

## REFERENCES

Acho CF, Zoue LT, Akpa EE, Yapo VG, Niamke SL. 2014. Leafy vegetables consumed in Southern Côte d'Ivoire: a source of high value nutrients. *J. Anim. Plant Sci.*, **20**(3): 3159-3170.

Adeniyi SA, Orjiekwe CL, Ehiagbonare JE, ARIMAH BD. 2012. Evaluation of chemical composition of the leaves of *Ocimum gratissimum* and *Vernonia*

*amygdalina*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **6**(3): 1316-1323.

Adjatin A, Dansi A, Badoussi E, Sanoussi AF, Gbaguidi F, Azokpota P, Vodouhe R, Akoègninou A, Akpagana K, Sanni A. 2013. Proximate, mineral and vitamin C composition of vegetable Gbolo [*Crassocephalum rubens* (Juss. Ex Jacq.) S. Moore and *C. crepidioides* (Benth.) S. Moore] in Benin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **7**(1): 319-331.

Ambé GA. 2001. Contribution à l'inventaire des plantes sauvages utiles des savanes guinéennes de la Côte d'Ivoire : cas du village de Kênêgbê. Certificat d'Études Approfondies Université de Gembloux, Gembloux, 76 p.

Andrea J. 2010. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [http://www.jbrj.gov.br/publica/livros\\_pdf/plantas\\_fungos\\_vol1.pdf](http://www.jbrj.gov.br/publica/livros_pdf/plantas_fungos_vol1.pdf). (Consulté le 2 septembre 2016).

AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. Association of official Analytical chemists, food composition, Official Analytical Chemists, additives natural contaminant (Vol 2, 15e édn). Adrich RC (ed). Association des Officiels Chimistes Analytiques, Inc USA : Washington.

Atchibri ALO-A, Soro LC, Kouamé C, Agbo EA, Kouadio KKA. 2012. Valeur nutritionnelle des légumes feuilles consommés en Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **6**(1): 128-135.

Diarra N, Togola A, Denou A, Willcox M, Daou C, Diallo D. 2016. Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(1): 184-197.

Dozon J-P. 1997. L'étranger et l'allochtone en Côte-d'Ivoire. In *Le Modèle Ivoirien en Questions: Crises, Ajustements, Recompositions* Contamin Bernard, Memel-Fotê H (eds). Karthala; Orstom : Paris ; 779-798.

- FAO (Programme alimentaire mondial). 2016. Lutte contre la faim. <https://fr.wfp.org/faim/faq> consulté le 1 septembre 2016.
- Fiaschi P. 2010. Liste des espèces de la flore du Brésil, Araliaceae. Jardin botanique de Rio de Janeiro.
- Guarrera PM, Savo V. 2016. Wild food plants used in traditional vegetable mixtures in Italy. *J. Ethnopharmacol.*, **185**: 202-34.
- Hailu AA, Addis G. 2016. The Content and Bioavailability of Mineral Nutrients of Selected Wild and Traditional Edible Plants as Affected by Household Preparation Methods Practiced by Local Community in Benishangul Gumuz Regional State, Ethiopia. *Inter. J. Food Sci.*, 7 p.
- IITA. 1981. International Institute of Tropical Agriculture. Automated and semi-automated methods for soil and plant analysis. Manual series IITA: Ibadan.
- Ilumbe GB, Van Damme P, Lukoki FL, Joiris V, Visser M, Lejoly J. 2014. Contribution à l'étude des plantes médicinales dans le traitement des hémorroïdes par les pygmées Twa et leur voisin Oto de Bikoro, en RDC. *Congo Sci.*, **2**: 46- 54.
- INS. 2015. Recensement général de la population et des habitations 2014, données socio- démographiques des localités. Institut National de Statistiques : Abidjan.
- Kouamé NMT, Soro K, Mangara A, Diarrassouba N, Coulibaly AV, Boraud NKM. 2015. Étude physico-chimique de sept (7) plantes spontanées alimentaires du centre-ouest de la Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.*, **90**: 8450 – 8463.
- Kouassi JB, Massara C-C, Sess DE, Tiahou G, Djohan FY. 2013. Détermination des teneurs en magnésium, potassium, manganèse et sodium de gombo. *J Appl Biosci.*, **67**: 5219–5227.
- N'Guessan K, Kadja B, Zirihi GN, Traore D, Aké-Assi L. 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). *Sci. Nat.*, **1**(6): 1-15.
- Paganini D, Uyoga MA, Zimmermann MB. 2016. Iron Fortification of Foods for Infants and Children in Low-Income Countries: Effects on the Gut Microbiome, Gut Inflammation, and Diarrhea. *Nutrients*, **8**(8): 494.
- Park CY, Weaver CM. 2012. Review Vitamin D Interactions with Soy Isoflavones on Bone after Menopause: A Review. *Nutrients.*, **4**: 1610-1621.
- Petropoulos SA, Levizou E, Ntatsi G, Fernandes Â, Petrotos K, Akoumianakis K, Barros L, Ferreira IC. 2017. Salinity effect on nutritional value, chemical composition and bioactive compounds content of *Cichorium spinosum* L. *Food Chem.*, **214**: 129-36.
- Rahman S, Ahmed T, Rahman AS, Alam N, Ahmed AMS, Ireen S, Chowdhury IA, Chowdhury FP, Rahman SMM. 2016. Status of zinc nutrition in Bangladesh: the underlying associations. *J. Nutr. Sci.*, **5**(e25): 1-9.
- Sanclemente T, Marques-Lopes I, Fajó-Pascual M, Cofán M, Jarauta E, Ros E, Puzo J, García- Otín AL. 2011. Naturally-occurring phytosterols in the usual diet influence cholesterol metabolism in healthy subjects. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **22**(10): 849-55.
- Séguéna F, Soro K, Soro D, N'Guessan K. 2013. Savoir –faire des populations locales des taxons du jardin Botanique de Bingerville, Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.*, **68**: 5374–5393.
- Sidor P, Głabska D, Włodarek D. 2016. Analysis of the dietary factors contributing to the future osteoporosis risk in young Polish women. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.*, **67**(3): 279-85.

- Soro LC, Atchibri ALO-A, Kouadio KKA, Kouamé C. 2012. Evaluation de la composition nutritionnelle des légumes feuilles. *J. Appl. Biosci.*, **51**: 3567-3573.
- Sprengel KPJ. 1820. *Hydrocotyle bonariensis*. In *Systema Vegetabilium* (6th Edition) C von Linné (ed). Stuttgart, Allemagne.
- Tchiegang C, Kitikil A. 2004. Données ethnonutritionnelles et caractéristiques physico- chimiques des légumes feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura.*, **22**(1): 11-18.
- Vennetier P. 1983. *Atlas de la Côte d'Ivoire* (2<sup>e</sup> éd.). Les atlas Jeune Afrique : Paris
- Vessereau A., 1992. *Méthodes Statistiques en Biologie et en Agronomie*. TEC & DOC Lavoisier : Paris.
- Volpe MG, Nazzaro M, Di Stasio M, Siano F, Coppola R, De Marco A. 2015. Content of micronutrients, mineral and trace elements in some Mediterranean spontaneous edible herbs. *Chem Cent J.*, **9**: 57.
- Yao K, Koné MW, Kamanzi K. 2015. Contribution des Légumes Feuilles à la Nutrition des Populations en Zones Urbaines de la Côte D'ivoire. *Eur. J. Sci. Res.*, **130**(4): 338-351.

## RESUME

*Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam. est une plante aromatique répandue dans certaines zones du sud de la Côte d'Ivoire. Cependant peu d'études ont été réalisées sur cette plante. Dans le but d'apporter une contribution à sa valorisation, des enquêtes ethnobotaniques ont été menées dans le District d'Abidjan. Des extraits bruts et l'huile essentielle (HE) des feuilles de cette plante ont été testés contre les radicaux DPPH et ABTS. Des tests antimicrobiens contre diverses souches et l'activité anticancéreuse contre la souche CA 431 de la vulve ont été effectués. La détermination de la composition phytochimique et biochimique a été réalisée. Les résultats ont montré que les feuilles sont consommées dans plusieurs ménages du District, surtout sous forme de crudité (ICF=0,88). Elles sont également utilisées contre diverses pathologies en l'occurrence celles liées à l'effondrement du système immunitaire (ICF= 0,27). La capacité antioxydante observée, en corrélation avec les teneurs en composés phénoliques totaux, est importante sur les deux cibles avec l'extrait méthanolique dont les valeurs des CI50 sont respectivement 139,2 et 86,4 µg/mL pour le DPPH et l'ABTS. L'HE a signé une bonne activité antiradicalaire ABTS (15,9 µg/mL), un effet bactériostatique sur *S. aureus* et *B. subtilis*, une action fongicide sur *C. tropicalis* et fongistatique sur *C. albicans* et *C. glabrata*. L'extrait aqueux a présenté un effet bactériostatique sur *P. aeruginosa* et fongicide sur *C. tropicalis*. L'HE a aussi exercé une forte toxicité sur les cellules cancéreuses qui ont manifesté une faible viabilité (21 % à 0,05 mg/mL). Les CCM ont révélé des stérols, des triterpènes, des coumarines, des alcaloïdes, des polyphénols, notamment des tanins et des flavonoïdes dans les feuilles. La CPG/MS de l'HE a permis d'identifier 52 composés dont les plus abondants sont le β-pinène, l'α-pinène, le caryophyllène, l'humulène, le D-Germacrène et l'α-farnésène. Les feuilles contiennent également des protéines totales (7,70 g/100g MS), des fibres brutes (145,58± 0,1 g/100g MS), du calcium (60 %), du magnésium (35 %), du fer (3 %), du zinc (1 %) et du cuivre (1 %). Tous ces résultats apportent une valeur ajoutée à l'utilisation des feuilles de *H. bonariensis* par les populations.

**Mots clés :** *Hydrocotyle bonariensis*, Ethnobotanique, activité antioxydante, activité antimicrobienne, activité anticancéreuse, huile essentielle, minéraux.

## ABSTRACT

*Hydrocotyle bonariensis* Comm. Ex Lam. is an aromatic plant widespread in some areas of southern Côte d'Ivoire. However, few studies have been done on this plant. For contributing to its valorization, ethnobotanical surveys were carried out in the District of Abidjan. Crude extracts and essential oil (EO) leaves of this plant were tested against the radicals DPPH and ABTS. Antimicrobial tests against various strains and cytotoxic activity against the CA 431 strain of the vulva were performed. The determination of the phytochemical and biochemical composition was carried out. The results showed that the leaves were consumed in several households in the district, especially in the form of crudity (ICF = 0.88). They were also used against various pathologies in particular the collapse of the immune system (ICF = 0.27). The antioxidant capacity correlated with the total phenolic compound contents, important on both targets with the methanolic extract. The IC50 values were 139.2 and 86.4 µg/mL respectively for DPPH and ABTS. The EO was a good antiradical activity ABTS (15.9 µg/mL); a bacteriostatic effect on *S. aureus* and *B. subtilis*, a fungicidal action on *Candida tropicalis* and fungistatic on *C. albicans* and *C. glabrata*. The aqueous extract showed a bacteriostatic effect on *P. aeruginosa* and fungicide on *C. tropicalis*. The EO exhibited a high toxicity on cancer cells that showed low viability (21 % at 0.05 mg/mL). TLC revealed sterols, triterpenes, coumarins, alkaloids and polyphenols including tannins, flavonoids in the leaves. The GC/MS of EO has identified 52 compounds, the most abundant were β-pinene, α-pinene, caryophyllene, humulene, D-Germacre and α-farnesene. This plant also contains total protein (7.70 g/100 g DM), crude fiber (145.58±0.1 g/100 g DM), calcium (60%), magnesium (35%), iron (3) %, zinc (1%) and copper (1%). All these results add value to the use of *H. bonariensis* leaves by local populations.

**Key words:** *Hydrocotyle bonariensis*, Ethnobotany, antioxidant activity, antimicrobial activity, anticancer activity, essential oil, minerals,