

Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne.

Alain dit Philippe BIDIE^{1*}, Banga B. N'GUESSAN², Adou F. YAPO¹, Jean David N'GUESSAN¹ & Allico Joseph DJAMAN¹

¹ Laboratoire de pharmacodynamie-Biochimique ; UFR Biosciences Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22 Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Physiologie, Pharmacologie et Phytothérapie, UFR SN, Université d'Abobo-Adjamé 02 BP 801 Abidjan 02

* Auteurs pour les correspondances (E-mail : alphbid@yahoo.fr)

Reçu le 25-02-2010, accepté le 09-12-2010.

Résumé

Le stress oxydant, cause de plusieurs maladies, suscite la recherche de nouveaux remèdes antioxydants. Dans cette optique, l'étude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de dix (10) plantes utilisées dans la pharmacopée ivoirienne a été réalisée. Ces plantes sont issues de la région forestière de la Côte d'Ivoire et précisément du département d'ISSIA (région du haut Sassandra). Les extraits des dix plantes sont obtenus après macération dans le méthanol 96 %, pendant 48 H, à la température ambiante (25°C), suivie d'une double filtration sur coton puis sur papier wattman 3 mm et évaporé au rotavapor. La poudre ainsi obtenue, nous a permis de réaliser nos tests phytochimiques et antioxydants. Le tri phytochimique, l'activité antiradicalaire par le DPPH et l'inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode au thiocyanate ferrique et la méthode des TBARS ont été utilisées. Le tri phytochimique a permis de révéler que ces plantes contiennent des stérols, des polyterpènes, des polyphénols, des flavonoïdes des alcaloïdes et des saponines. Celles qui présentent l'activité antioxydante et antiradicalaire avérée sont: *Mitragyna ciliata* ($IC_{50} = 10,5 \pm 0,288 \mu\text{g/mL}$), *Trichilia prieuriana* ($IC_{50} = 7,5 \pm 0,288 \mu\text{g/mL}$), *Chrysophyllum perpulchrum* ($IC_{50} = 4,00 \pm 0,288 \mu\text{g/mL}$) et *Disthemonanthus benthamianus* ($IC_{50} = 4,50 \pm 0,288 \mu\text{g/mL}$). Ces plantes contiennent des flavonoïdes et des polyphénols qui sont en général de très bons antioxydants. Ainsi, elles sont, au vu de notre étude, considérées comme des plantes antioxydantes et antiradicalaires parmi les 10 plantes sélectionnées.

Mots clés : antioxydante, antiradicalaires, Screening, phytochimie

Abstract

Antioxidant activities of ten plants used in ivorian pharmacopoeia

Oxidative stress is responsible for several diseases. This phenomenal has moved researchers into action in looking for new remedies «antioxidants». In this context, the study of the antioxidant activity of methanolic extracts of ten (10) plants used in Côte d'Ivoire pharmacopoeia has been performed. These plants are from the forest region of Côte d'Ivoire precisely the Department of ISSIA (upper Sassandra region). The extracts from these ten plants were obtained after soaking in 96% methanol for 48 H at room temperature (25 ° C), followed by a double filtration on cotton and Wattman 3 mm paper and evaporated in a rotary evaporator. The powder thus obtained allowed us to perform our phytochemical test and antioxidants. The phytochemical screening, the scavenging activity by DPPH and the inhibition of lipid peroxidation by the ferric thiocyanate method and the method of TBARS were used. The phytochemical screening revealed that these plants contain sterols, polyterpenes, polyphenols, flavonoids, alkaloids and saponins. Those that have a very significant antioxidant activity and scavenging are: *Mitragyna ciliata* ($IC_{50} = 10.5 \pm 0.288 \text{ mg / mL}$), *Trichilia prieuriana* ($IC_{50} = 7.5 \pm 0.288 \text{ mg / mL}$), *Chrysophyllum perpulchrum* ($IC_{50} = 4.00 \pm 0.288 \text{ mg / mL}$) and *Disthemonanthus benthamianus* ($IC_{50} = 4.50 \pm 0.288 \text{ mg / mL}$) contain flavonoids and polyphenols, which are generally very good antioxidants. Thus, in light of our study these plants were considered as antioxidant and antiradical plants among the 10 selected plants.

Keywords: antioxidant, antiradical, Screening, Phytochemistry

1. Introduction

La flore ivoirienne dont cinq mille espèces ont été inventoriées (Adjanooun et Aké- Assi, 1979) apparait comme une issue de secours pour l'élaboration de nouveaux médicaments qui seront non seulement efficaces dans le traitement des maladies endémiques propres aux pays tropicaux, mais surtout facilement accessibles pour leur grande disponibilité. Cet intérêt pour la médecine traditionnelle est toujours croissant. Il en est de même pour l'expérimentation scientifique qui a pris un essor vertigineux et qui a permis d'isoler plusieurs substances d'origines naturelles et de leur trouver des vertus thérapeutiques. C'est le cas de l'Aspirine (acide acétyl salicylique) isolé initialement des feuilles et des écorces de *Salix alba* L. (Salicaceae) (Colegate et Molyneux, 1993), de la Galegine (agent antihyperglycémiant) isolé de *Galega officinalis* L. (Fabaceae). La Galegine a servi de modèle de synthèse de la Metmorfin et d'autres médicaments antidiabétiques (Sneader, 1985).

A l'heure actuelle, d'autres équipes de chercheurs obtiennent à partir des plantes médicinales, des substances nécessaires à la création de nouveaux médicaments. Parmi ces plantes, nous pouvons citer *Mansonia altissima* (Sterculaceae), dont la mansonine demeure le principal composé purifié pouvant être utilisé dans le traitement des affections cardiovasculaires (Guédé-Guina, 1975 et Guédé-Guina et al, 1992 et 1998).

Cependant, le potentiel des plantes comme sources pour la production de nouveaux médicaments est largement inexploité (Hamburger et Hostettmann, 1991) eu égard au nombre d'espèces de plantes supérieures (angiospermes et gymnospermes) sur la planète estimé à 250.000 (Kong et al., 2003). En effet, sur ce nombre, seulement 6% ont été testés pour leur activité biologique et 15 % ont été évalués sur le plan phytochimique (Verpoorte, 2000).. Notre travail porte sur dix (10) plantes de la pharmacopée ivoirienne. Il faut toutefois noter que de nos jours, en Afrique, nous sommes de plus

en plus confrontés à la résurgence de nouvelles maladies. Entre autres, nous pouvons citer : les maladies liées au stress oxydant.

En effet, le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (Girodon et al., 1997; Sohal et al., 2002). Le stress oxydant est la principale cause initiale de plusieurs maladies (Mates et Sanchez-Jimenez, 2000). C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Sergeant et al., 1998). Vu la diversité et la gravité des maladies qu'induit le stress oxydant, plusieurs équipes de chercheurs se sont investis dans la recherche de nouveaux antioxydants en vu de lutter contre le stress oxydant et ses pathologies associées.

Cette étude se propose donc d'évaluer l'activité antioxydante de 10 plantes (*Mitragyna ciliata*, *C. perpulchrum*, *D. gangeticum*, *D. benthamianus*, *T. prieuriana*, *A. conyzoïdes*, *P. nigrescens*, *S. bignoniifolia*, *M. zechiana* et *B. sapida*) issues de la pharmacopée ivoirienne et d'en retenir celles qui ont une activité avérée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Dix plantes médicinales issues de la pharmacopée ivoirienne ont été utilisées pour l'étude. Ces plantes ont été récoltées dans la région forestière du Centre Ouest dans le département d'Issia (Côte d'Ivoire). Les extraits utilisés ici ont été obtenus à partir soit des écorces, soit des feuilles des plantes sélectionnées. Les plantes ont été identifiées par le Pr AKE-Assi du jardin Botanique de l'Université de Cocody-Abidjan où un spécimen a été déposé (Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des plantes médicinales utilisées pour l'étude

Noms des Plantes	Famille	Organe utilisé	N° de spécimen
<i>Mitragyna ciliata</i>	Rubiaceae	Ecorces	8888
<i>Chrysophyllum perpulchrum</i>	Sapotaceae	Ecorces	8375
<i>Desmodium gangeticum</i>	Leguminosae	Ecorces	5250
<i>Disthemonanthus benthamianus</i>	Leguminosae	Feuilles	12473
<i>Trichilia prieuriana</i>	Meliaceae	Ecorces	11588
<i>Ageratum conyzoides</i>	Asteraceae	Feuilles	15872
<i>Parquetina nigrescens</i>	Periplocaceae	Feuilles	15031
<i>Sherbournia bignoniifolia</i>	Rubiaceae	Feuilles	14396
<i>Millettia zechiana</i>	Leguminosae	Ecorces	22473
<i>Blighia sapida</i>	Sapindaceae	Feuilles	12613

Un spécimens de chaque plante affecté d'un numéro a été déposé au jardin Botanique de l'Université de Cocody-Abidjan (CNF).

2.2. Réactifs

Il s'agit du DPPH (2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle), de la quercétine, du réactif de Folin-Ciocalteu, fournis par Sigma (St. Louis, Etats Unis d'Amérique). L'acide gallique, le carbonate de sodium et le sulfate de fer sont obtenus chez Merck (Darmstadt, Allemagne) ; alors que le méthanol, le Tris-HCl, Chlorure de fer proviennent de chez Prolabo (Briare, France).

2.3. Méthodes

2.3.1. Préparation des extraits méthanoliques des plantes.

Cette préparation est effectuée conformément à la méthode décrite par Bidié *et al* (2008). En effet, cinquante grammes (50 g) de broyat d'écorces de plantes ont été mélangés à 1,5 L de méthanol 96%. Le mélange obtenu est agité pendant 48 heures à température ambiante (25°C) à l'aide d'un agitateur magnétique du type IKAMAG RCT (Staufen, Allemagne). Ensuite, le mélange est filtré trois fois sur coton et sur papier filtre WATTMAN 3 mm. Le filtrat est évaporé à pression réduite et à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif BUCHI 461 Watter Batch (Strasbourg, France). La poudre obtenue a servi à faire les différents tests.

2.3.2. Screening phytochimique

Les différents groupes de composés (stérols, polyterpènes, alcaloïdes, tannins, polyphénols, flavonoïdes, quinones et saponines) contenus dans les extraits ont été mis en évidence selon les méthodes décrites par Ronchetti et Russo (1971), Hegnauer (1973), Wagner (1983), Békro *et al.* (2007).

2.3.2.1. les stérols et les polyterpènes

Pour mettre en évidence les stérols et les polyterpènes, nous avons utilisé le réactif de LIEBERMANN. En effet, cinq (5) mL de chacun des dix (10) extraits de plante a été évaporé à sec dans une capsule sur bain de sable ou bain-marie. Le résidu est dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique. Nous avons ajouté 0,5 mL d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre et violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive. Cet essai a été effectué avec une solution chlorophormique témoin de cholestérol ou de sitostérol.

2.3.2.2. les polyphénols

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a été utilisée. Ainsi, à 2 mL de chaque solution, est ajoutée

une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée. Le témoin est effectué avec la solution alcoolique d'acide gallique.

2.3.2.3. *les flavonoïdes,*

Pour mettre en évidence les flavonoïdes, la réaction dite "la cyanidine" a été utilisée. Deux (2) mL de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose-orangée ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique a intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes. Une solution alcoolique de quercétine a été utilisée pour servir de témoin.

2.3.2.4. *les tannins*

- les tannins catéchiques sont identifiés par le réactif de STIASNY (Formol 30%, HCl concentré : 1/0,5). Cinq (5) mL de chaque extrait ont été évaporés à sec. Après ajout 15 mL du réactif de STIASNY au résidu, le mélange a été maintenu au bain- marie à 80 °C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérise les tanins catéchiques.
- les tannins galliques sont identifiés par ajout de $FeCl_3$. En effet, nous avons filtré la solution précédente. Le filtrat est recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de $FeCl_3$ à 2% provoque l'apparition d'une coloration bleu-noir intense dénotant la présence de tanins galliques.

Une solution alcoolique d'acide gallique ou de catéchine est utilisée pour servir de témoin.

2.3.2.5. *les substances Quinoniques libres ou combinées*

Pour mettre en évidence les substances Quinoniques libres ou combinées, nous avons utilisé le réactif de BORNTAEGEN. En effet, deux (2) mL de chacun des extraits ont été évaporés à sec. Le résidu est trituré dans 5 ml d'acide

chlorhydrique au 1/5. Le triturât est porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, il est extrait par 20 mL de chloroforme. L'ammoniac dilué 2 fois (0,5 mL) a été ajouté à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violet constituait le signe de la présence de quinones.

2.3.2.6. *Les alcaloïdes*

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, les réactifs de DRAGENDORFF (réactif de l'iodobismuthate) et de BOUCHARDAT (réactif iodoioduré) ont été utilisés. En effet, six (6) mL de chaque solution ont été évaporés à sec. Le résidu est repris dans 6 mL d'alcool à 60°C. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff à la solution alcoolique provoque un précipité ou une coloration orangée. L'ajout de 2 gouttes du réactif de Bouchardat à la solution alcoolique provoque un précipité de coloration brun-rougeâtre et indiquait une réaction positive.

2.3.2.7. *Les saponines*

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 mL de chacun des extraits aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes (s) puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

2.3.3. *Dosage des phénols totaux*

Les teneurs en phénols totaux des plantes ont été déterminées par la méthode de Folin-ciocalteu (Mc Donald *et al.*, 2001). Un volume de 0,5 mL de chaque extrait de plante (0,1 g/mL) ou d'acide gallique (0,1 mg/mL) est mélangé à 5 mL du réactif de Folin-ciocalteu diluée au 1/10^{ème} avec de l'eau distillée et 4 mL de carbonate de sodium (1 M). L'acide gallique est l'antioxydant de référence. Après 15 minutes d'incubation à la température ambiante (25 °C), l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm. La courbe étalon est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations (0- 250 mg/L) de solution d'acide gallique préparée dans le méthanol. Les teneurs en phénols totaux des extraits de plantes sont déterminées graphiquement et exprimées en termes d'équivalent d'acide gallique (mg/g de matière sèche).

2.3.4. Dosage de l'activité antiradicalaire par le test au DPPH (2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle)

La mesure de l'activité antiradicalaire des dix extraits de plantes a été effectuée par le test au 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon la méthode de Parejo *et al.* (2000).

Une gamme de concentrations (0-200 µg/mL) d'extrait de plantes ou de la Quercétine (antioxydant de référence) est préparée dans le méthanol. Un volume de 2,5 mL de cette solution, est mélangé à 2,5 mL de DPPH (100 µM) préparé également dans le méthanol. Après homogénéisation, le mélange est incubé à la température ambiante (25 °C) à l'abri de la lumière. Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 517 nm contre un « blanc » qui ne contient que du méthanol.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = (1 - (\text{DO essai} / \text{DO blanc})) \times 100.$$

La CI_{50} qui est la concentration d'extrait de plante ou de la Quercétine responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits et de la Quercétine.

2.3.5. Inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode au thiocyanate ferrique (FTC)

L'activité antioxydante des extraits de plantes est mesurée par l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique en utilisant la méthode au thiocyanate ferrique, selon la méthode décrite par Takao *et al.* (1994). Le mélange réactionnel contenant respectivement 0,4 mL d'extraits (100 µg/mL), 0,4 mL d'acide linoléique (2,52 % dans l'éthanol absolu) et 0,8 mL de tampon phosphate (pH 7,4) est incubé dans un bain-marie pendant 1 heure à 40° C. Un aliquote (0,1 mL) de cette solution est alors ajouté au mélange constitué de 5 mL d'éthanol 70 % et 0,1 mL d'ammonium thiocyanate (30 %). Après 3 minutes, 0,1 mL de $FeCl_2$ préparé dans 3,5 % de HCl (20 mM) est ajouté au milieu réactionnel. Un essai blanc (blanc) est réalisé en remplaçant les extraits par de l'eau distillée. L'absorbance de la coloration rouge résultant de la solution, est lue pendant 7 jours à 500 nm au spectrophotomètre toutes les 24 heures jusqu'à ce que l'absorbance du contrôle négatif (eau distillée) atteigne son

maximum. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique est alors calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (1 - (\text{DO essai} / \text{DO blanc})) \times 100$$

2.3.6. Inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode des TBARS

La méthode de Choi *et al.* (2002) utilisant une induction de la peroxydation lipidique par le couple acide ascorbique/sulfate de fer (réaction de Fenton) a été adaptée pour cet essai. A 600 µL d'extraits de plantes, est ajouté respectivement 300 µL de solution tampon Tris-HCl (pH 7,5 ; 20 mM), 500 µL d'acide linoléique (20 mM) et 100 µL de sulfate de fer (4 mM). La peroxydation débute après addition de 100 µL d'acide ascorbique (5 mM). Le mélange réactionnel obtenu est incubé au bain marie à 37°C pendant 60 minutes. Après cette étape, 2 mL de TCA (10 %) sont ajoutés dans tous les tubes. Ensuite, à 1 mL d'aliquote recueilli dans chacun des mélanges réactionnels préparés auparavant, est ajouté 1 mL de TBA (1 %). Les mélanges réactionnels obtenus sont placés dans un bain bouillant à 95°C pendant 20 minutes.

L'acide gallique est utilisé comme molécule de référence. Un essai blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 532 nm et le pourcentage d'inhibition de l'acide linoléique est déterminé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (1 - (\text{DO essai} / \text{DO blanc})) \times 100$$

2.4. Analyse statistique

La représentation graphique des données a été réalisée grâce au logiciel Graph Pad Prism 5.0 (Microsoft, USA). La valeur moyenne est accompagnée de l'erreur standard sur la moyenne (Moyenne ± SEM). La différence entre deux valeurs est considérée comme significative lorsque $P < 0,05$. L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant l'analyse des variances (ANOVA). La signification de la différence testée est déterminée en comparant la probabilité P associée à la statistique du test de Fischer au seuil théorique de $\alpha = 0,05$. Ainsi lorsque $P \geq 0,05$, il n'existe pas de différence significative, par contre lorsque $P < 0,05$, il existe une différence significative entre les différentes moyennes. Lorsqu'une différence significative est observée, des tests de comparaison multiple de Tukey et de Dunnett sont effectués.

3. Resultats

3.1. Screening phytochimique

Les résultats indiquent que toutes les plantes contiennent des polyterpènes et des alcaloïdes. Par contre, aucune plante ne contient des quinones ni de tannins galliques. Seuls *Mitragyna*

ciliata et *Chrysophyllum perpulchrum* contiennent des tannins catéchiques. Aussi, les plantes étudiées contiennent des polyphénols et des flavonoïdes, à l'exception de trois d'entre elles : *Parquettina nigrescens*, *Blighia sapida* et *Millettia zechiana*. Concernant les saponines, à l'exception de *Parquettina nigrescens* et de *Millettia zechiana*, elles se retrouvent dans toutes les plantes étudiées (Tableau 2).

Tableau 2 : Différents groupes de composés mis en évidence dans les plantes

Extraits	Stéroïds	Polyterpènes	Polyphénols	Flavonoïdes	Tannins		Quinones	Alcaloïdes		Saponines
					Cat.	Gal.		B	D	
<i>M. ciliata</i>		+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>T. priouriana</i>		+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>D. benthamianus</i>		+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>D. gangeticum</i>		+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>P. nigrescens</i>		+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>B. sapida</i>		+	-	-	-	-	-	+	+	±
<i>C. perpulchrum</i>		+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>A. conyzoïdes</i>		+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>M. zechiana</i>		+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>S. bignoniifolia</i>		+	+	+	-	-	-	+	+	+

Légende:

- ◆ Tannins
 - Cat: Catéchique
 - Gal: Gallique
- ◆ B: Bouchardat
- ◆ D: Dragendorff
- + Présence du métabolite
- Absence du métabolite

3.1.1. Teneur en Phénols totaux

La figure 1 présente la teneur en phénols totaux dans chacune des plantes étudiées. Les résultats indiquent que deux plantes ont les teneurs les plus élevées en phénols totaux à savoir: *Chrysophyllum perpulchrum* (74,08 ± 1,8 mg/gms) et *Distemonanthus benthamianus* (70,17 ± 0,84 mg/gms); ensuite viennent *Mitragyna ciliata* et *Trichilia priouriana* avec des teneurs en phénols totaux respectives de 40 ± 1,36 mg/gms et 38,67 ± 0,96 mg/gms. Les six autres plantes ont des teneurs variant de 0,61 ± 0,006 mg/gms à 33,05 ± 0,47 mg/gms.

3.1.2. Activité antiradicalaire

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques et de la quercétine (molécule de référence) sont présentés par la figure 2. Cette figure montre deux catégories de plantes. La première regroupe les plantes ayant

une forte activité antiradicalaire dont les CI_{50} sont compris entre 2 et 10,5 µg/ml. Il s'agit de: *Mitragyna ciliata* ($CI_{50} = 10,5 \pm 0,288$ µg/mL), *Trichilia priouriana* ($CI_{50} = 7,5 \pm 0,288$ µg/mL), *Distemonanthus benthamianus* ($CI_{50} = 4,50 \pm 0,288$ µg/mL) et de *Chrysophyllum perpulchrum* ($CI_{50} = 4,00 \pm 0,288$ µg/mL). La quercétine présente une $CI_{50} = 2,00 \pm 0,288$ µg/mL (tableau 3). La deuxième catégorie dont les courbes sont éloignées de l'axe des ordonnées (figure 2), est celle des plantes présentant une activité antiradicalaire faible. C'est le cas de: *Millettia zechiana* ($CI_{50} = 96 \pm 0,577$ µg/mL) *Ageratum conyzoïdes* ($CI_{50} = 76 \pm 0,577$ µg/mL), *Parquettina nigrescens* ($CI_{50} = 75,5 \pm 0,166$ µg/mL) et de *Sherbournia bignoniifolia* ($CI_{50} = 49,5 \pm 0,288$ µg/mL). Les composés dont la CI_{50} est supérieur à 100 µg/mL n'ont pas une activité antiradicalaire notable. Il s'agit de: *Desmodium gangeticum* ($CI_{50} = 10000 \pm 288,7$ µg/mL) et de *Blighia sapida* ($CI_{50} = 17000 \pm 577,4$ µg/mL) (Tableau 3).

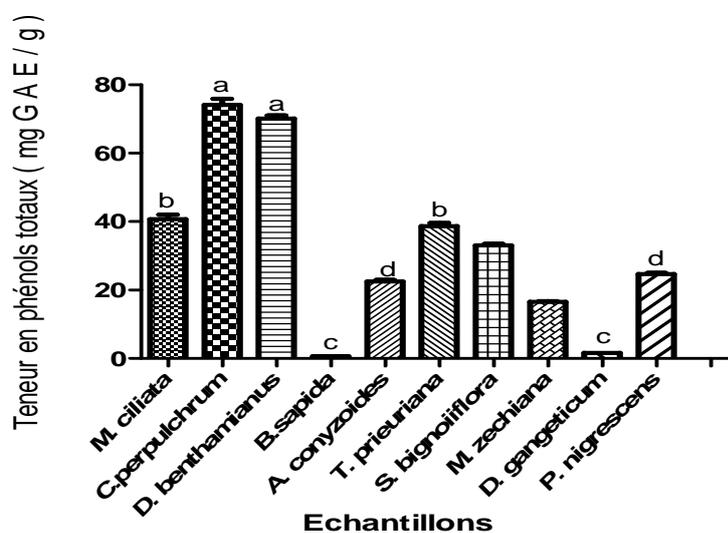


Figure 1 : Histogramme de la teneur en phénols totaux des échantillons de plantes.

Légende :

- ◆ a, b, c, d, : représentent l'aspect non significatif du test statistique de Tukey.
 - ◆ Le test de la comparaison des variances est non significatif pour les histogrammes surmontés de la même lettre.
- n = nombre des expérimentations réalisées pour l'étude (n = 3).

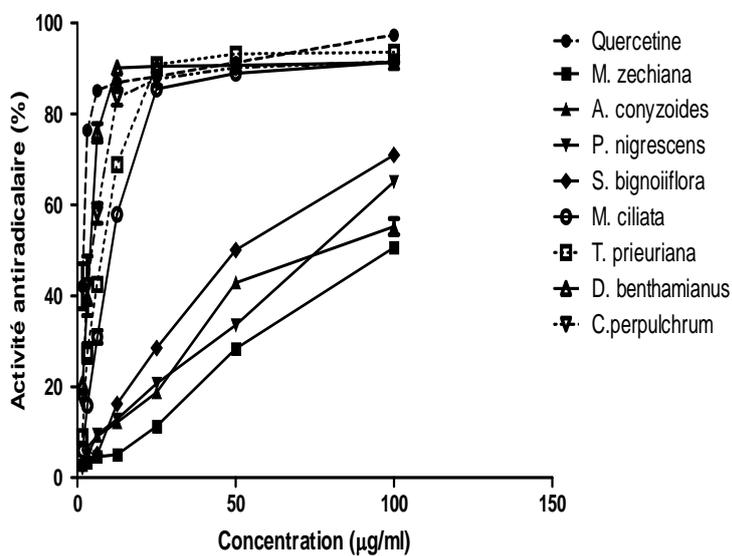


Figure 2 : Evolution de l'activité antiradicalaire des extraits des plantes et de la Quercétine en fonction de la concentration

n = nombre des expérimentations réalisées pour l'étude (n = 3).

Tableau 3 : CI_{50} de la quercétine et des substances testées sur la décoloration du DPPH

Composés	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
Quercétine	$2,00 \pm 0,288$	
<i>M. ciliata</i>	$10,5 \pm 0,288$	ns
<i>C. perpulchrum</i>	$4,00 \pm 0,288$	ns
<i>D. gangeticum</i>	$10000 \pm 288,7$	
<i>D. benthamianus</i>	$4,50 \pm 0,288$	ns
<i>T. prieuriana</i>	$7,5 \pm 0,288$	ns
<i>A. conyzoïdes</i>	$76 \pm 0,577$	ns
<i>P. nigrescens</i>	$75,5 \pm 0,166$	ns
<i>S. bignoniifolia</i>	$49,5 \pm 0,288$	ns
<i>M. zechiana</i>	$96 \pm 0,577$	ns
<i>B. sapida</i>	$17000 \pm 577,4$	

Légende :

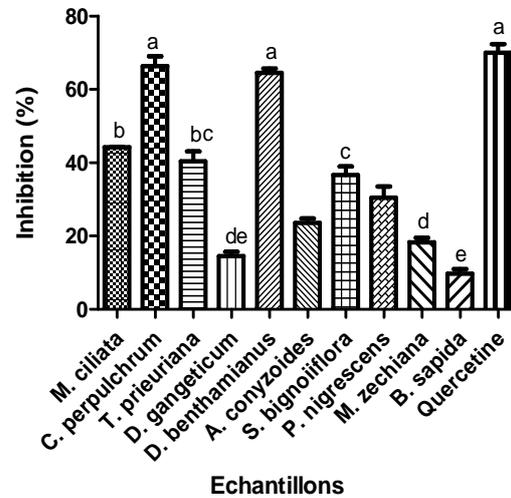
- ◆ ns: représente l'aspect non significatif du test statistique de Dunnett.
- ◆ Le test pour la comparaison des variances est non significatif pour les CI_{50} suivies de la mention : ns.
- ◆ Quercétine : Témoin de l'expérimentation

3.1. 3. Peroxydation lipidique par la méthode FTC

Les résultats indiquent que *C. perpulchrum*, *D. benthamianus*, *M. ciliata* et *T. prieuriana* présentent de forts taux d'inhibition (similaires à celui de la quercétine). Aussi, *S. bignoniifolia*, *P. nigrescens*, *A. conyzoïdes* et *M. zechiana* inhibent la peroxydation lipidique par la méthode FTC mais à des taux inférieurs à celui de la quercétine. Toutes les autres plantes présentent de faibles taux d'inhibition (Figure 4).

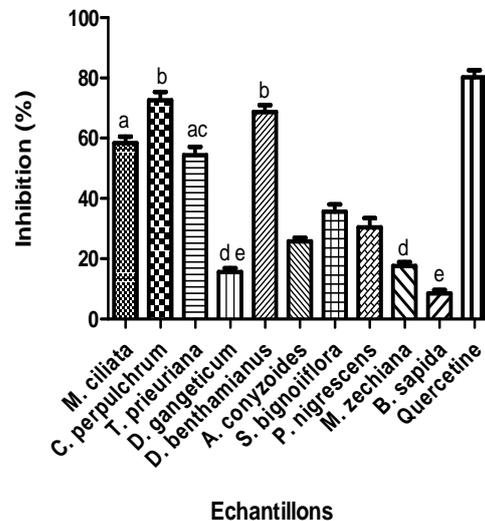
3.1.4. Peroxydation lipidique par la méthode des TBARS.

Les résultats indiquent que *C. perpulchrum*, *D. benthamianus*, *M. ciliata* et *T. prieuriana* présentent de forts taux d'inhibition (similaires à celui de la quercétine). Ensuite, *S. bignoniifolia*, *P. nigrescens*, *A. conyzoïdes* et *M. zechiana* inhibent aussi la peroxydation lipidique par la méthode des TBARS mais à des taux inférieurs à celui de la quercétine. Toutes les autres plantes présentent de faibles taux d'inhibition (Figure 5).

**Figure 4** : Evaluation du taux d'inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode des FTC.

Légende :

- ◆ a, b, c, d, e : représentent l'aspect non significatif du test statistique de Tukey.
- ◆ Le test de la comparaison des variances est non significatif pour les histogrammes surmontés de la même lettre.
- n = nombre des expérimentations réalisées pour l'étude (n = 3).

**Figure 5** : Evaluation du taux d'inhibition de la peroxydation lipidique par la méthode des TBARS.

Légende :

- ◆ a, b, c, d, e : représentent l'aspect non significatif du test statistique de Tukey.
- ◆ Le test de la comparaison des variances est non significatif pour les histogrammes surmontés de la même lettre.
- n = nombre des expérimentations réalisées pour l'étude (n = 3).

4. Discussion

Cette étude a permis de montrer que parmi les dix plantes testées, *C. perpulchrum*, *D. benthamianus*, *M. ciliata* et *T. prieuriana* possèdent les plus fortes activités antiradicalaires par le test au DPPH et antioxydantes par la méthode au FTC et aux TBARS. Aussi, *S. bignoniifolia*, *P. nigrescens*, *A. conyzoïdes* et *M. zechiana* présentent une bonne activité antioxydante mais faible par rapport à celles des plantes citées plus haut.

En effet, l'analyse de la variance (ANOVA) et le test post-ANOVA (test de comparaison multiple de Dunnett) ont montré que les moyennes des CI_{50} de ces 8 plantes ne sont pas significativement différentes de celle du témoin que représente la quercétine. De plus ces 8 plantes à l'exception de *P. nigrescens* comprennent en leur sein, des composés phénoliques dont la teneur est en adéquation avec l'activité antiradicalaire traduite ici par les tests au DPPH, la peroxydation lipidique par la FTC et les TBARS. Selon Hsu *et al.* (2007), les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules antiradicalaires et antioxydantes. Par ailleurs, Hatano *et al.* (1989), Duh *et al.* (1999) et N'guessan *et al.* (2007) ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire. Selon Chen et Ho (1995), les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante des huit premières plantes serait donc liée à leur forte teneur en phénols totaux. Cette assertion est ici confirmée par l'analyse des variances (ANOVA) suivie des tests de comparaison multiple de Tukey qui comparent les teneurs en phénol totaux des plantes entre elles. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'Adeolu *et al.* (2008). Selon ces auteurs, les plantes qui possèdent une bonne activité antioxydante contiennent de fortes teneurs en groupement phénoliques. Aussi, en plus de leur importante teneur en phénols totaux, ces huit plantes citées plus haut à l'exception de *P. nigrescens* (*C. perpulchrum*, *D. benthamianus*, *T. prieuriana*, *M. ciliata*, *S. bignoniifolia*, *P.*

nigrescens, *A. conyzoïdes* et *M. zechiana*), d'après le tri phytochimique, contiennent aussi des flavonoïdes, métabolites qui selon N'guessan *et al.* (2007) et Zhi *et al.* (2008), expriment une bonne activité antioxydante.

Le tri phytochimique a également révélé qu'en plus des phénols totaux en général et des flavonoïdes en particulier, les huit plantes contiennent aussi des polyterpènes, des saponines et des alcaloïdes. Leur forte activité antioxydante contribuerait à leurs diverses activités thérapeutiques. Cette assertion peut être soutenue par les travaux de Syamsudin *et al.* (2007). Ces auteurs ont montré que *Garcia parvifolia* Miq contenant en son sein des xanthonés, des flavonoïdes et des benzophénols présente plusieurs activités thérapeutiques dont les activités antiplasmodiales, antioxydante et antibactériennes.

5. Conclusion

Les dix plantes étudiées contiennent des alcaloïdes, des flavonoïdes des polyterpènes, des stérols principalement et secondairement, des saponines et des polyphénols. Par ailleurs, celles qui ont une activité antioxydante certaine, à savoir, *D. benthamianus*, *C. perpulchrum*, *M. ciliata*, *T. prieuriana*, *S. bignoniifolia*, *P. nigrescens*, *A. conyzoïdes* et *M. zechiana* à l'exception de *P. nigrescens* contiennent les polyphénols et des flavonoïdes, métabolites responsables de l'activité antioxydante et antiradicalaire. Ainsi, cette étude fait ressortir que parmi les dix plantes étudiées, huit (*M. ciliata*, *T. prieuriana*, *D. benthamianus*, *C. perpulchrum*, *S. bignoniifolia*, *P. nigrescens*, *A. conyzoïdes* et *M. zechiana*) peuvent être considérées comme plantes antioxydantes. Et surtout quatre d'entre elles ont une activité antioxydante très forte et similaire à celle de la quercétine. Au terme de notre étude, nous retenons que toute activité biologique est fonction de la présence de certains métabolites à l'intérieur des tissus de la plante.

Remerciements

Nos remerciements vont à l'endroit de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour la bourse post-doctorale octroyée à Dr Bidié Alain

Dit Philippe pour effectuer son stage au Laboratoire de Pharmacognosie et de Phytochimie de l'Université de Genève.

Nous remercions le Pr Kurt Hosttetmann pour avoir accepté Dr Bidié dans son laboratoire en vue de réaliser ce travail.

Nos remerciements vont également à l'endroit du Pr Aké-Assi Laurent pour avoir identifié et proposé les plantes qui ont fait ici l'objet de notre étude.

Références citées

- Adjanooun e. J. & Ake-Assi L., 1979. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Centre national de floristique de l'Université Nationale de Côte d'Ivoire. Tome 1, 23-30.
- Adedapo A.A., Jimoh F.O., Afolayan A.J. & Masika P.J., 2008. Antioxydant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. *BMC Complement Altern Med.*, 8: 54 doi: 10.1186/1472-6882-8-54.
- Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B.B., Tra B.F.H. & Ehilé E.E., 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.)(Caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat.* 4: 217-225.
- Bidié A.P., Koffi E., N'guessan JD., Djaman A.J. & Guédé-Guina F., 2008. Influence of *Mitragyna ciliata* (MYTA) on the microsomal activity of ATPaseNa⁺/K⁺ dependent extract on a rabbit (heart) *Afr J Trad CAM* 5: 294-301.
- Chen C.W. & Ho C.T., 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. *J Lipids*, 2: 35-46.
- Choi C.W., Kim S.C., Hwang S.S., Choi B.K., Ahn H.J., Lee M.Z., Park S.H. & Kim S.K., 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plant and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*, 163: 1161-1168.
- Colegate S.M. & Molineux R.J., 1993. Bioactive natural products. Detection, isolation structural determination. CRC press Inc. 528p.
- Duh P.D., Tu Y.Y. & Yen G.C., 1999. Antioxydant activity of water extract of harnag Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm.wiss. Technol.* 32: 269-277.
- Girodon F., Blache D., Monget A.D., Lombart M., Brunet-Lecompte P., Arnaud J., Richard M.J. & Galan P., 1997. Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. *J Am Coll Nutr* 16: 357-365.
- Guède-Guina F., 1975. Etude de quelques effets physiologiques de « GLOW », un poison extrait du bois « Bété ». *Mansonia altissima* (Sterculacées). Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle. Université d'Abidjan. N°31, 127 p
- Guède-Guina F., Berebi-Bertrand I., Smith M.O. & Ochilo R., 1992. Pharmacological characterization of a novel analog from *Mansonia altissima* : an in vitro investigation of effets on Na⁺/K⁺-ATPase. *Cell. Molec. biol*, 5: 240-247.
- Guède-Guina F., Berrebi-Bertrand I. & Maixent J.M., 1998. Cardiotonic effets of a new novel cardiac glycoside MSN on the monkey myocardium PROC. 1st Mtg of FASBMB. 103-108.
- Hamburger M. & Hostettmann K., 1991. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochem.* 30: 3864-3874.
- Hatano T., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Fujita Y., Yasuhara T., Yoshida T. & Okuda T., 1989. Effect of interaction of tannins with co-existing substances VI. Effect of tannins and related polyphenols on superoxyde anion radical and on DPPH radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 2016-2021.
- Hegnauer R., 1973. *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag, Basel, Stuttgart, 6, 761 pp.
- Hsu C.Y., Chan Y.P. & Chang J., 2007. Antioxidant activity of extract from *Polygonum cuspidatum*. *Biol Res*, 40: 13-21.

- Kong J.K., Goh N.K., Chia L.S. & Chia T.F., 2003. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacol Sin* **24**: 7-21.
- Mc Donald S., Prenzler P.D., Autolovich M. & Robards K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts, *Food Chem*, **73**: 73-84.
- Mates J.M. & Sanchez-Jimenez F.M., 2000. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol* **32**: 157-170.
- N'guessan J.D., Zirihi G.N., Kra A.K.M., Kouakou K., Djaman A.J. & Guede-Guina F., 2007. Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. *IJONAS*, **4**: 425-429.
- Parejo I., Codina C., Petrakis C. & Kefalas P., 2000. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminal chemiluminescence and DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) free radical assay. *J Pharmacol Toxicol Method*, **44** : 507-512.
- Ronchetti F. & Russo G., 1971. A new alkaloid from *Rauvolfia*. *Phytochem*. **10**: 1385-1388.
- Sergeant C., Hamon C., Simonoff M., Constans J., Conri C., Peuchant C., Delmas-Beauvieux M-C., Clerc C., Pellegrin J.L., Leng B., Pellegrin I. & Fleury H. 1998. Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Editors: L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. New York-Basel-Hong Kong, 409-427.
- Sneader W. 1985. Drug discovery: The evolution of modern medicines. John Wiley & Sons. Inc, Somerset, New Jersey, U.S.A. 435p.
- Sohal R.S., Mockett R.J. & Orr W.C. 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med* **33**: 575-586.
- Sourabie S., 1993. Contribution à l'étude chimique et microbiologique de *Nauclea latifolia* (Rubiaceae). Thèse de Doctorat 3ème cycle, Université de Ouagadougou, Burkina Faso. 142p.
- Syamsudin, Shirly K. & Broto S., 2007. Screening of some extracts from *Garcinia parvifolia* Miq (Guttiferae) for antiplasmodial, antioxydant, cytotoxic and antibacterial activities. *Asian J. Plant Sci* **6**: 972-976.
- Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A. & Sakata K., 1994. A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci Biotechnol Biochem*, **58**: 1780-1783.
- Verpoorte R., 2000. Pharmacognosy in the new millennium: lead finding and biotechnology. *J. Pharmacol*. **52**: 253-262.
- Wagner H. & Bladt S., 2001. Plant Drug Analysis: A thin Layer Chromatography Atlas (2nd ed.). Springer, Berlin, pp. 349-364.
- Zhi P.R., Liang L.Z. & Yi M. L., 2008. Evaluation of the Antioxydant Activity of *Syzygium cumini* Leaves. *Molecules*, **13**: 2545-2556.