

LISTE DES ABREVIATIONS

Φ-OH	: Phénol
μM	: Micromolaire
ABTS	: (2,2' azinobis-[acide-3 ethylenzothiazoline-6- sulfonique])
Al	: Aluminium
Ca	: Calcium
CE50	: Concentration d'équivalence à 50%
CI50	: Concentration d'inhibitrice à 50%
Co	: Cobalt
Cu	: Cuivre
DL₅₀	: Dose létale à 50%
DPPH	: 1,1 diphényl -2-picryl hydrazyl
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
Fe	: Fer
Fe²⁺	: Ion ferreux
Fe³⁺	: Ion ferrique
FRAP	: Ferric Reducing Antioxydant Power
g/kg	: Gramme par kilogramme
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
HClO	: Acide hypochloreux
Mg	: Magnésium
mg/kg	: Milligramme par kilogramme
Mm	: Millimolaire
Ni	: Nickel

NO	: Monoxyde d'azote
NOO	: Nitroxyde
¹O₂	: Oxygène singulet
O⁻	: Anion superoxygde
OH⁻	: Anion hydroxyle
ONOO	: Peroxynitrite
ORAC	: Oxygen radical absorbance capacity
PI	: Pourcentage d'inhibition
RL	: Radicaux libres
ROO	: Radical peroxy
SOD	: Superoxyde dismutase
Sr	: Stronium
TEAC	: Trolox equivalent antioxidant capacity
Ti	: Titane
TNF-α	: Tumor necrosis factor α
Zn	: Zinc

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure chimique du radical libre DPPH [•] et la forme réduite.....	16
Figure 2 : Feuilles et fruits de <i>Combretum micranthum</i> G.Don « photographie Miura ».....	21
Figure 3 : Tiges et feuilles de <i>Combretum glutinosum</i> Peer.ex DC « photographie Keita ».....	30
Figure 4 : Fleurs, feuilles et tige de <i>Combretum aculeatum</i> Vent. « photographie Spjut ».....	35
Figure 5 : <i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel. « photographie Miura ».....	38
Figure 6 : Protocole d'obtention des différents extraits de drogues à tester.	46
Figure 7 : Action de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>C. micranthum</i> sur le DPPH.....	50
Figure 8 : Action de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>C. glutinosum</i> sur le DPPH.....	51
Figure 9 : Action de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Guiera senegalensis</i> sur le radical DPPH.....	52
Figure 10 : Action de l' extrait éthanolique des feuilles de <i>C. aculeatum</i> sur le DPPH.....	53
Figure 11 : Action inhibitrice de l'acide ascorbique sur le DPPH.....	54
Figure 12 : Évolution de l'activité inhibitrice des différents produits testés sur le DPPH.....	56

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Composition chimique des différentes parties de <i>Combretum micranthum</i>	25
Tableau II : Rendements d'extraction des plantes à tester.	49
Tableau III : Pourcentage d'inhibition du DPPH (moy±écart type) par les différents produits testés	55

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE :ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
CHAPITRE I : LES ANTI-OXYDANTS	5
I.1. Les moyens de défense endogènes	7
I.1.1. Les systèmes enzymatiques	7
I.1.2. Les systèmes non enzymatiques	8
I.2. Les moyens de défense exogènes	9
CHAPITRE II : LES RADICAUX LIBRES	10
CHAPITRE III : LES METHODES D'ETUDES DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE	14
III.1. Test du DPPH	15
III.2. Test ABTS	16
III.3. Test FRAP.....	17
III.4. Test ORAC.....	17
CHAPITRE IV : PRESENTATION DES PLANTES A ETUDIER.....	19
IV.1. <i>Combretum micranthum</i> G.Don. (Combretaceae).....	20
IV.1.1 Classification et description botanique	20
IV.1.1.1. Synonymes et noms vernaculaires.....	20
IV.1.1.2. Description botanique.....	20
IV.1.2. Répartition géographique.....	21
IV.1.3. Chimie de la plante	22
IV.1.4. Pharmacologie et usages.....	25
IV.2. <i>Combretum glutinosum</i> Perr.ex DC.....	28
IV.2.1. Classification et description botanique	28
IV.2.1.1. Synonymes et noms vernaculaires.....	28
IV.2.1.2 Description botanique	28
IV.2.2. Répartition géographique.....	30
IV.2.3. Chimie de la plante	31
IV.2.4. Pharmacologie et usage	31
IV.3 <i>Combretum aculeatum</i> Vent.	34
IV.3.1.Classification et description botanique	34
IV.3.1.1. Synonymes et noms vernaculaires.....	34
IV.3.1.2 Description botanique	34
IV.3.2. Répartition géographique.....	35
IV.3.3. Chimie de la plante	36

IV.3.4. Pharmacologie et usage	36
IV.4. <i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel.	37
IV.4.1. Classification et description botanique	37
IV.4.1.1. Synonymes et noms vernaculaires	37
IV.4.1.2. Description botanique	37
IV.4.2. Répartition géographique	39
IV.4.3. Chimie de plante	39
IV.4.4. Pharmacologie	40
IV.4.5 Toxicité	42
DEUXIEME PARTIE : ETUDE DE L'ACTVITE ANTIOXYDANTE.....	43
CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES	44
I.1. Matériels et réactifs	45
I.1.1. Matériel végétal	45
I.1.2. Matériel de laboratoire.....	45
I.1.3. Réactifs	46
I.2. Méthodes d'études	46
I.2.1. Extraction.....	46
I.2.2. Activité anti-oxydante	47
I.2.2.1. Protocole expérimental	47
I.2.2.2. Expression des résultats et analyses statistiques.....	47
CHAPITRE II : RESULTATS	48
II.1. Rendements d'extraction.....	49
II.2. Dosage de l'activité antioxydante	49
II.2.1. <i>Combretum micranthum</i>	49
II.2.2 <i>Combretum glutinosum</i>	50
II.2.3 <i>Guiera senegalensis</i>	51
II.2.4. <i>Combretum aculeatum</i>	52
II.2.5. Acide ascorbique	53
CHAPITRE III : DISCUSSION	57
III.1. Rendement d'extraction	58
III.2. Activité antioxydante	59
CONCLUSION	61
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	65
ANNEXES	

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes médicinales remonte à l'antiquité. Ainsi les maladies infectieuses et métaboliques ont été traitées de façon empirique à l'aide de ces plantes.

Cependant les végétaux sont de plus en plus utilisées pour l'extraction des substances physiologiquement actives ou pouvant être transformées en médicaments.

Au Sénégal, la médecine traditionnelle a longtemps occupé la place qui lui revenait dans le traitement de plusieurs affections. Malgré ses pratiques ésotériques, cette médecine tend à prendre une proportion importante du fait de sa pharmacopée riche et vaste et sa grande accessibilité (Diouf, 2002).

De nombreux travaux effectués par des spécialistes reconnus, ont permis de faire le bilan de nos connaissances sur les plantes médicinales africaines, du point de vue ethnobotanique, chimique et pharmacologique.

Dans notre étude, nous allons rechercher l'activité anti-oxydante ou anti-radicalaire de quatre Combrétacées de la flore sénégalaise.

Les radicaux libres induisent des dommages et des lésions sur l'ADN, les protéines cellulaires essentiellement, et les lipides membranaires. Ces actions s'expliquent par la présence d'électron(s) célibataire(s) très réactif(s) sur un de leurs orbitales, susceptibles de s'apparier aux électrons des composés environnants (Gueye, 2010).

Pendant longtemps les chimistes ont considéré que la toxicité des radicaux libres(RL) était incompatible avec la vie. Ce n'est qu'après la découverte des enzymes impliquées dans leur élimination, que l'importance des RL a été admise (Gueye, 2010).

La protection contre les effets induits par les radicaux libres s'effectue à l'aide de trois types d'agents : les protections enzymatiques et non enzymatiques, les

antioxydants d'origine naturelle (glutathion, tocophérols, caroténoïdes et la vitamine C).

On considère aujourd'hui, que les antioxydants végétaux sont d'importants agents protecteurs de santé.

L'hypersécrétion de RL est à la base des explications physiopathologiques des grandes maladies neurovégétatives (sclérose latérale amyotrophique, maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, cancer, vieillissement) (Gueye 2010).

Les Combrétacées sont une famille tropicale ou subtropicale importante au Sénégal et dans la plupart des pays sahéliens, par le nombre d'espèces présentes dans ces zones à climat rigoureux, notamment les espèces du genre *Combretum* et *Guiera* (20 espèces) (Berhaut, 1967).

C'est là où réside tout l'intérêt de notre étude qui porte sur la recherche de l'activité antioxydante des feuilles de quatre plantes Combrétacées appartenant au genre *Combretum* (*C.micrantum*, *C. glutinosum*, *C. aculeatum*) et au genre *Guiera* (*G. senegalensis*).

Ce travail sera divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique relative à des rappels sur les anti-oxydants, les radicaux libres, les méthodes d'études de l'activité antioxydante et les différentes plantes étudiées.
- Une partie expérimentale qui porte sur la recherche de l'activité antioxydante ces quatre plantes en utilisant le test du DPPH (2-2, diphényl picryl –hydrazine).

PREMIERE PARTIE :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES ANTI-OXYDANTS

Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo*. Ainsi lorsque les espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Il s'agit principalement d'enzymes : le super-oxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faibles masses moléculaires comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique.

En plus de ces substances propres à l'organisme, les médicaments et l'alimentation peuvent être également d'autres sources d'antioxydants (Babacar, 2004).

Ainsi la toxicité des radicaux libres, connue sous le vocable de stress oxydant, est liée surtout à leur pouvoir d'oxydation des macromolécules (telles que les protéines, l'ADN, et l'ARN), des molécules comme les acides gras insaturés. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron non apparié. On peut citer les espèces réactives de l'oxygène (ERO) : l'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$), l'anion superoxyde (O_2^-), l'anion hydroxyle (OH^-).

Les travaux récents ont montré que le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies comme l'obésité, le diabète de type 2, l'athérosclérose, les cancers, les maladies infectieuses bactériennes et virales, dans le vieillissement également (Bassène, 2012).

C'est ainsi que l'organisme dispose de différents systèmes de protection :

- ❖ des systèmes de protection endogènes comprenant des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques.
- ❖ des systèmes de protection exogènes.

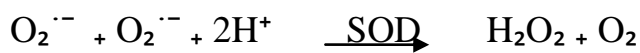
I.1. Les moyens de défense endogènes

I.1.1. Les systèmes enzymatiques

Ils comprennent essentiellement les super-oxydes dismutases (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase.

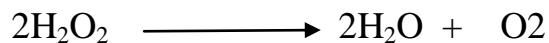
❖ Les super-oxydes dismutases (SOD):

Ce sont des métalloprotéines qui accélèrent 10⁹ fois la vitesse spontanée de dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée et en oxygène moléculaire. La réaction est la suivante :



❖ La catalase :

Son action complète celle des SOD, en accélérant la réduction spontanée du peroxyde d'hydrogène en eau :



❖ La glutathion peroxydase :

C'est une enzyme séléno-dépendante, localisée dans le cytoplasme cellulaire et retrouvée au niveau du foie, des cellules sanguines, des reins et du cristallin. Elle attaque, non seulement le peroxyde d'hydrogène, mais également les hydroperoxydes d'acides gras avec comme donneur d'hydrogène, le glutathion réduit. Ce dernier est régénéré à partir du glutathion oxydé, grâce au NADPH, H⁺ fourni par la voie des pentoses phosphates.

I.1.2. Les systèmes non enzymatiques

Ces systèmes agissent en complexant les métaux de transition comme le fer et le cuivre qui jouent un rôle important dans la lipoperoxydation ou bien se comportent en piègeurs de radicaux libres.

❖ La transferrine ou sidérophiline et la lactoferrine :

Elles exercent leurs effets protecteurs en complexant le fer, l'empêchant ainsi de catalyser la formation du radical OH.

❖ La céruléoplasmine :

Elle agit en transportant le cuivre et en neutralisant l'anion superoxyde. Elle catalyse également l'oxydation du fer ferreux en fer ferrique, sans libération de radicaux libres oxygénés intermédiaires.

❖ L'albumine :

Elle se combine au cuivre et empêche la formation du radical hydroxyle (OH[•]). C'est également un puissant piègeur de l'acide hypochloreux (HClO), un oxydant produit par la myéloperoxydase au cours de la phagocytose.

❖ L'haptoglobine et l'hémopexine :

Elles auraient une propriété antioxydante par fixation de l'hémoglobine et de l'hème qui sont porteuses de fer qu'elles peuvent libérer et donc initier des réactions, telles que la lipidoperoxydation.

❖ L'acide urique :

Il inhibe la peroxydation lipidique en fixant le fer et le cuivre. C'est également un piègeur du radical peroxyde et de l'acide hypochloreux.

❖ Le glucose et la bilirubine :

Le premier agit comme piègeur du radical hydroxyle et la seconde aurait une action protectrice par sa liaison avec l'albumine transporteuse d'acides gras libres.

I.2. Les moyens de défense exogènes

Ils sont constitués par toutes les substances d'origine alimentaire ou médicamenteuse capable d'inhiber l'action des radicaux libres.

❖ La vitamine E ou alphas-tocophérol :

Il existe quatre isomères α , β , γ , δ tocophérols dont α est le plus puissant. C'est un antioxydant qui, *in vitro*, va se localiser, grâce à sa lipophilie, dans les doubles couches lipidiques des membranes cellulaires, points stratégiques pour arrêter la lipidoperoxydation.

❖ La vitamine C ou acide ascorbique :

Elle possède la propriété de réagir rapidement avec l'ion peroxyde et le radical hydroxyle avec production d'un radical semihydroascorbate. C'est également un piègeur de l'oxygène singulet et de l'acide hypochloreux.

❖ La vitamine A :

Elle a une action antioxydante moins démontrée. Elle agirait sur l'oxygène singulet en le bloquant.

❖ Les polyphénols :

Les polyphénols sont composés principalement de trois familles : les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Bien que non essentielles, ces substances jouent pourtant un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant (Gueye, 2010).

CHAPITRE II : LES RADICAUX LIBRES

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne.

L'oxydation des acides gras constitutifs des phospholipides membranaires est l'une des éventualités apparaissant au cours de telles réactions.

Les principaux radicaux libres rencontrés en biologie sont :

- l'anion superoxyde O_2^-
- le radical hydroxyle $\cdot OH$
- l'oxygène singlet 1O_2
- le monoxyde d'azote NO
- le peroxyde d'hydrogène H_2O_2
- le nitroxyde NOO
- le peroxynitrite ONOO
- le radical peroxy ROO

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux. Les sources de radicaux libres sont :

a) La mitochondrie : elle est la source de production majeure d' O_2^- dans la cellule intacte.

Dans les conditions physiologiques, la formation de ce radical est liée à l'activité physique et par là même à l'intensité d'oxygénation. Cette production peut également s'intensifier lorsque interviennent des désordres

mitochondriaux, génétiques, inflammatoires (effet du TNF- α) ou nutritionnels (carence en ubiquinone).

b) L'inflammation : elle est une source importante de radicaux oxygénés produits directement par le complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires activées.

Ce mécanisme lorsqu'il est contrôlé est capital dans la lutte anti- infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et corps étrangers. De plus les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines comme le TNF- α qui est capable de faire produire des radicaux libres par les mitochondries des cellules cibles.

c) Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent des radicaux libres au cours de réactions biochimiques (xanthine oxydase, hème oxygénase, cytochrome P450...). Une autre espèce radicalaire le monoxyde d'azote (ou NO \cdot) est elle aussi produite par des systèmes enzymatiques que sont les différentes NO Synthétases (ou NOS) à des fins de médiation cellulaire. Rappelons que la production concomitante dans un même site de NO et de superoxyde s'avère très dommageable en donnant naissance au radical peroxynitrite.

d) les mécanismes de cycles rédox : ils sont produits dans l'organisme par l'oxydation de molécules comme les quinones. Ces différentes molécules endogènes ou exogènes (ascorbate, glutathion réduit, adrénaline, flavines) réagissent spontanément avec l'O $_2$ et sont ainsi oxydées conduisant à la formation de O $_2^{\cdot -}$. Ce mécanisme est souvent mis en cause pour expliquer la toxicité de l'alcool, des résidus de la fumée de cigarette, ou de certains médicaments (chloroquine, adriamycine, acetaminophène), mais il existe aussi pour des composés endogènes comme le lévulinate et surtout les catécholamines. Ce dernier mécanisme amplifié par les métaux, fait l'objet de

recherches actuelles sur l'origine de la maladie de Parkinson. Les O_2^- sont également produits lors de la formation de méthémoglobine à partir d'oxyhémoglobine.

e) Les métaux toxiques (chrome, vanadium, cuivre) et le fer libre (existant lors de surcharges générales ou localisées) : ils génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de Fenton. Les particules inhalées telles que l'amiante et ou la silice sont aussi des sources de radicaux par la phagocytose exacerbée qu'elles déclenchent et aussi car elles sont recouvertes de sels de fer en surface.

f) Les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux, qu'il s'agisse des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants (Favier A., 2003).

CHAPITRE III : LES METHODES D'ETUDES DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE

Il existe différentes méthodes pour déterminer le potentiel antioxydant de produits alimentaires, actifs, ingrédients, etc. Quatre types d'analyses peuvent être proposés : le test TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) / ABTS+Decolorization Assay, le test DPPH (1,1 diphenyl-2-picryl hydrazyl), le test FRAP (Ferric reducing antioxydant power) et le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Les antioxydants peuvent réduire les radicaux primaires par deux mécanismes : par transfert d'électron singulet ou par transfert d'atome d'hydrogène. Les méthodes ABTS+Decolorization Assay (ou TEAC) et DPPH jouent sur le transfert d'électron singulet, alors que la méthode ORAC joue sur le transfert d'un atome d'hydrogène.

Les méthodes ABTS et DPPH sont couramment utilisés pour analyser les extraits de plantes et de fruits. Ce sont des méthodes anciennes qui, une fois standardisées, permettent des comparaisons de résultats. La méthode ORAC est plus récente et est applicable sur quasiment toutes les matrices (extraits végétaux, aliments, plasma sanguin etc.), aussi bien sur des composés hydrophiles que lipophiles. Le test ORAC propose une mesure largement standardisée.

III.1. Test du DPPH

Le DPPH (1,1 diphenyl -picryl-hydrazine) est un radical libre qui absorbe à 517 nm. En présence d'une substance antiradicalaire (anti-oxydante), les électrons non appariés sont capturés pour donner un produit qui absorbe à 470 nm, ce qui provoque une baisse de l'absorption à 517 nm (Kansci et *al.*, 2003).

La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer la CE50, la concentration avec laquelle 50% de la coloration du DPPH est perdue.

La figure 1 représente la structure chimique du radical libre DPPH et la forme réduite.

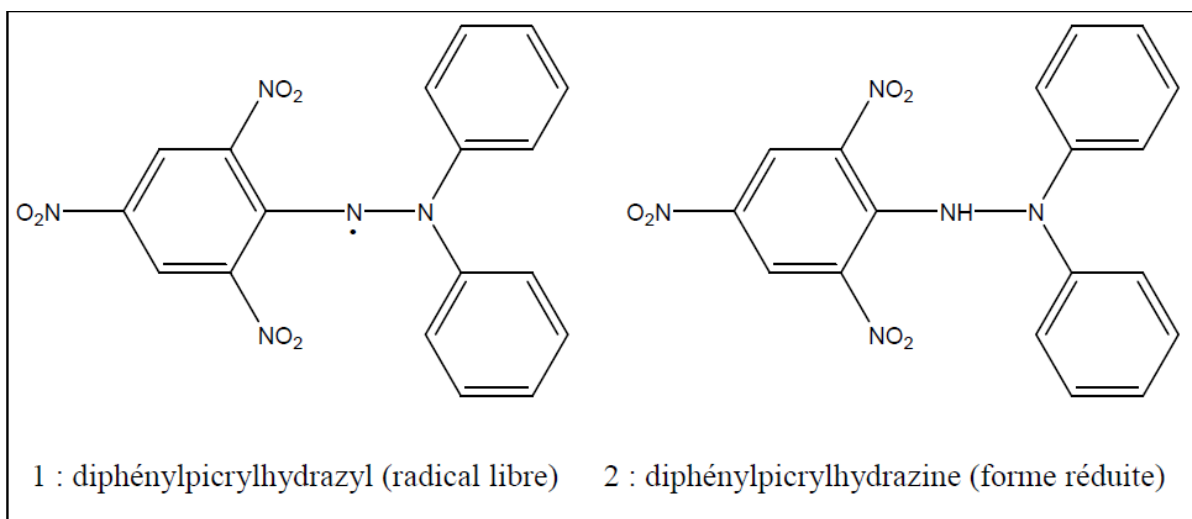
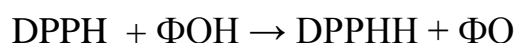


Figure 1: Structure chimique du radical libre DPPH[•] et la forme réduite.

Dans le cas des composés phénoliques (Φ -OH), le principale mécanisme d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH alors transformé en une molécule stable DPPHH :



III.2. Test ABTS

L'activité anti-radicalaire est basée sur décoloration (mesurée à 734 nm) d'un cation radicalaire stable, ABTS^{•+} (2,2'-azinobis-[acide 3-éthylenthiazoline-6-sulfonique]) de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

Une comparaison est faite avec la capacité du Trolox (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer ABTS^{•+}.

La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La capacité antioxydante, exprimée en équivalent Trolox (TEAC) correspond donc à une concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une concentration donnée. La méthode standardisée, avec un temps fixe d'incubation, peut dans certains cas, engendrer une sous estimation de la valeur obtenue. On parle alors de capacité

antioxydante relative. Dans ce cas, on peut envisager de laisser se dérouler la réaction jusqu'au bout et recalculer la valeur TEAC (Leong et Shui, 2002).

III.3. Test FRAP

La méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est basée sur la capacité des extraits à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) (Thaipong et *al.*, 2006).

III.4. Test ORAC

Cette méthode est basée sur la décroissance de fluorescence de la fluoresceine en présence d'un oxydant chimique l'AAPH (un radical peroxy libre stable). Le produit à tester peut être capable de protéger la fluoresceine et réduire la vitesse de dégradation de la fluorescence. Il possède alors un pouvoir antioxydant. La méthode est réalisée en microplaques dans lesquelles nous mesurons, en parallèle, le déclin de la fluoresceine au cours du temps en présence de concentrations croissantes de Trolox (une molécule de référence, analogue structural hydrosoluble de la vitamine E), et des échantillons à tester à différentes concentrations. Le but est d'obtenir une réponse comparable à celle de la gamme (Thaipong et *al.*, 2006).

On peut aussi, après traitement des données, calculer l'équivalent Trolox.

La méthode faisant intervenir une cinétique, la mesure de la capacité se fait par l'intermédiaire du calcul des aires sous la courbe. C'est la seule méthode qui combine à la fois le pourcentage d'inhibition de la réaction d'oxydation et la longueur dans le temps de cette inhibition en une seule mesure. Elle mesure d'une globale de la capacité antioxydante. L'avantage majeur du test ORAC est de proposer une mesure standardisée et largement acceptée.

Remarque : il existe souvent des différences de valeur entre les méthodes, selon que les sources de radicaux libres sont différentes, et que les antioxydants

répondent différemment aux méthodes de mesures. Selon les matrices testées, l'une ou l'autre méthode est applicable. Par exemple, pour les extraits végétaux, les 4 tests sont applicables. En revanche, pour du plasma sanguin, la méthode ORAC est la plus couramment rencontrée dans le corps humain. La valeur en est de fait plus significative.

Dans notre travail, nous allons appliquer la méthode du DPPH pour doser l'activité anti-oxydante de quatre Combrétacées qui nous allons passer en revue.

.

CHAPITRE IV : PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES

IV.1. *Combretum micranthum* G.Don. (Combretaceae)

IV.1.1 Classification et description botanique

IV.1.1.1. Synonymes et noms vernaculaires

Famille : Combretaceae

Genre : Combretum

Synonymes:

Combretum altum PERR.

Combretum raimbaultii Heckel

Combretum nigricans

Combretum lecananthum Engl. Et Diels (Aubreville, 1950)

Noms vernaculaires :

Bambara: golobé,

Bassari: ambed,

Sérere: ndag,

Toucouleur: tallika,

Wolof: séhéw,

IV.1.1.2. Description botanique

Le port : c'est un petit arbuste buissonnant, haut de 2 à 5m (Berhaut, 1974 ; Mahamat, 1990).

Les feuilles illustrées par la figure 2, sont opposées par deux, l'extrémité des rameaux ayant facilement une tendance volubile. Le Limbe est elliptique et long de 5 à 8 cm, large de 25 à 50 mm (limbe parfois elliptique allongée et 2 fois plus long que large). La base est en coin ou arrondie, le sommet en coin ou parfois atténué en pointe avec 6 nervures latérales ayant, en général, une petite touffe de poils à l'aisselle, sous le limbe. Les nervures tertiaires sont fines et parallèles entre elles. Les surfaces sont glabres, en général, mais le dessous lenticellé d'écailles blanches très fines.

Le pétiole est court et mesure 5 à 10 mm, généralement glabre, parfois finement lenticellé de blanc, de même que les très jeunes pousses.

Les fleurs : elles sont en épis fasciculés, quand la plante est défeuillée, ou avec les premières feuilles.

Les épis sont courts, ne dépassant guère 2 à 3 cm parfois jusqu'à 4 cm, au moment de l'ouverture des futurs fleurs. Les fleurs sont petites, blanches et munies de pédicelles mesurant environ 1mm de long

Les fruits : ils sont à 4 ailes sont glabres, longs et larges de 15 mm, facilement un peu moins larges que longs (Kerharo, 1974).

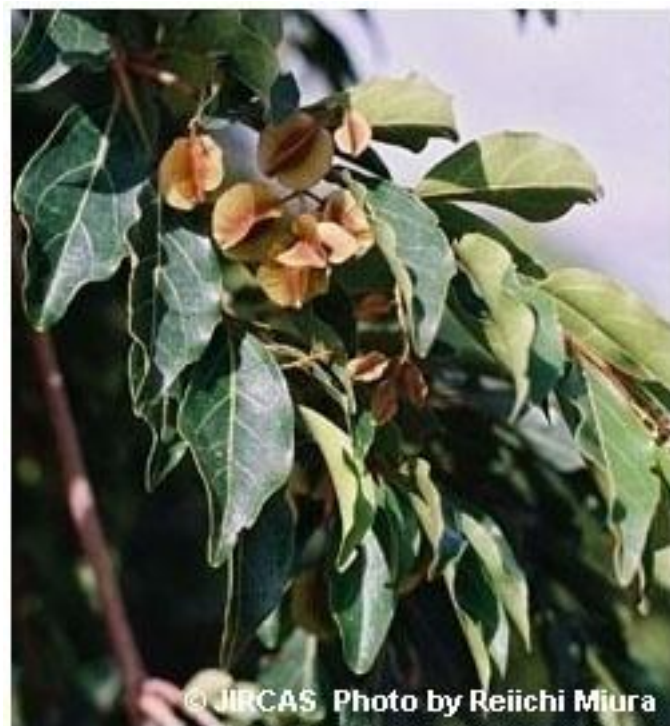


Figure 2 : Feuilles et fruits de *Combretum micranthum* G.Don « photographie Miura ».

IV.1.2. Répartition géographique

Répandu partout au Sénégal sur les cuirasses latéritiques : très reconnaissable à son joli feuillage vert clair, au milieu des Guiera, au début des pluies ; et plus tard, en autonome, à ses feuillages rougissant et prenant une couleur rouille.

En Casamance, dans des forêts humides des environs d'Oussouye, on peut le rencontrer sous formes de grande liane à tronc de 15cm, et s'élevant jusqu'à 10 et 15m de hauteur dans les arbres voisins (Berhaut, 1974).

IV.1.3. Chimie de la plante

Les feuilles

Selon Kerharo (1974) les travaux de Heckel et Schlagdenhauffen ont montré dans les feuilles la présence d'un tanin, d'un plobaphène, d'un sel de nitrate. Selon le même auteur, Jentzsch avait isolé la vitexine cristallisée avec la saponarétine dans les feuilles.

Dans l'état actuel de nos connaissances, on peut estimer que les principes chimiques des feuilles de kinkéliba appartiennent aux groupes suivants :

Les flavonoïdes : ce sont des C-hétérosides de la vitexine (obtenue

l'état cristallisé) et son isomère, la saponanétine. D'après les travaux de Honowitz et Gentily (1967) la vitexine $C_{21}H_{20}O_{10}$ est la 8-C-B-D-glucopyranosyl apigénine-12, l'apigénine étant la 6-C-B-D-glucopyranosyl apigénine-15

Bassene (1987 et 1985) a confirmé la présence des C- flavonoïdes de Jentzsch. En outre, il a mis en évidence dans les feuilles de kinkéliba la présence de deux autres flavonoïdes : l'homoorientine (glucosyl-6-lutéoline) et l'orientine (glucosyl-8-lutéoline (Bassene, 1985 ; Bassene 1987 ; Pousset, 1985).

Ammoniums quaternaires: En 1972, Ogan (1972) a isolé deux alcaloïdes majeurs : les combrétines A et B, de formule brute $C_7H_{13}NO_3$ qui sont des stéréoisomères de la bétonicine ou méthylbétaine de l'hydroxy-D-proline ; la troisième base dénommée base C existe seulement en très faibles quantités (Bassene, 1985 ; Bassene 1986). En reprenant ces travaux, Bassene a confirmé

qu'il s'agit de stéréoisomères de l'hydroxystachydrine. Il a, en outre, isolé deux ammoniums quaternaires : la stachydrine et la choline, deux alcaloïdes majeurs.

La choline présente également dans les boutons floraux ainsi que la bétaine (Jentzsch et *al.*, 1962).

Acide gallique libre et combiné : caractérisé par Jentzsch, puis Daffe (Jentzsch et *al.* 1962 ; Daffe, 1973).

Tanins catéchiques et catéchols expliquent le rougissement de la drogue sèche. La pharmacopée traditionnelle locale prescrit de rejeter les feuilles rougeâtres, considérées comme moins actives.

Des acides organiques : les différents auteurs qui ont eu à se consacrer à l'étude de ces constituants n'ont pas obtenu les mêmes résultats. Ces résultats variables émaneraient des méthodes utilisées. En effet, Balansard et Arnoux (1959) ont été les premiers à mettre en évidence la présence dans les feuilles de kinkéliba de plusieurs acides organiques : citrique, oxalique, tartrique, glycérique, glycolique. Jentzsch et *al.* (1962) rendent compte qu'ils n'ont pas trouvé des acides tartrique, citrique et glycolique dans leurs échantillons (Kerharo, 1974).

Des matières minérales (4,80%) sous forme de sels (chlorures, sulfates, phosphates, nitrates de calcium, potassium, manganèse et aluminium).

Substances glucidiques Bassene (1987) a abordé pour la première fois l'étude des glucides de kinkéliba. Il a isolé deux groupes de sucres.

Il y'a d'une part le groupe du glucose, galactose, du mannose et du fructose et d'autre part, des sucres réduits : glycérol, érythritol, adonitol, arabitol, rhamnitol, sorbitol, dulcitol, inositol.

Lipides : l'étude de l'extrait lipidique a été entreprise pour la première fois par BASSENE (1986). En effet, cet auteur a étudié les acides gras et l'insaponifiable. L'insaponifiable est constitué d'alcools triterpéniques, stérols et dans le cas des acides gras, il en a isolé onze (11) mais n'a pu identifier que les huit (8).

Ecorces (Berhaut, 1974).

A notre connaissance, l'écorce n'avait jusqu'à 2013 fait l'objet d'aucune investigation. Aussi est-il intéressant de noter qu'en 1968 et POPP et al. (1974) ont obtenu avec des extraits d'écorces provenant du Nigeria des réactions positives concernant la présence d'alcaloïdes.

Racine (Kerharo, 1974 ; Sene, 1990)

POPP et al. 1974 et 1990 ont initié l'étude de la composition chimique des racines de kinkéliba (espèce nigérienne). Ils en ont isolé des composés qui réagissent avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Bouchardat, Valser Mayer, Dragendorff).

Le tableau ci-dessous nous synthétise la composition chimique de *Combretum micranthum*.

Tableau I: Composition chimique des différentes parties de *Combretum micranthum*

Parties utilisées	Principes actifs
Racines	Alcaloïdes
Ecorces	Alcaloïdes
Feuilles	Alcools triterpéniques, stérols, acide gallique libre et combiné, bases amines quaternaires, choline, tanins catéchiques et catéchols, acides organiques, matières minérales, substances glucidiques, flavonoïdes

IV.1.4. Pharmacologie et usages

- Pharmacologie

Les feuilles possèdent une action cholagogue et émétique puissante. Administrée à la dose de 5mg/kg, la drogue agit sur la circulation sanguine et le cœur : elle produit une faible hypotension accompagnée d'une légère augmentation d'amplitude cardiaque ; elle est capable de doubler et même de tripler le volume urinaire, ce qui est une caractéristique des flavones (Kerharo, 1971).

Pour étudier l'effet **anti-diabétique** des feuilles de *Combretum micranthum*, trois doses (100, 50 et 20mg/kg), ont été administrés à des rats (Chika et Bello, 2010).

Parmi les doses testées, celle de 100 mg/kg de l'extrait est la plus efficace. Elle produit un effet hypoglycémiant significatif. Son activité anti-diabétique est comparable à celle de référence qui est la glibenclamide (0,6mg/kg glibenclamide).

Activité diurétique : les expériences réalisées sur le lapin ont montré que la diurèse provoquée par l'injection par voie parentale d'un décocté porte d'une part sur l'élimination aqueuse et d'autre part, l'excrétion de l'urée et des chlorures (Balansard et Arnoux, 1952 ; Balansard et Bernard, 1952 ; Balansard et Dephaut, 1952).

Activité antibactérienne : l'extrait fluide des feuilles de kinkéliba est actif sur des staphylocoques, streptocoques et *Entamoeba coli*.

Les extraits de racines de l'espèce nigériane sont actifs contre les organismes Gram (+) et (-) (Kerharo, 1971, 1974).

Activité antitumorale : les écorces des racines de l'espèce nigériane ont des propriétés antitumorales (Vignoli.al, 1945).

Activité antivirale : Forrea et *al.*, en 1993 ont mis en évidence l'activité méthanolique *in vitro* sur les virus de Herpes Simplex (HSV1 et HSV2). Cette activité est présentée seulement après une semaine et non avec l'extrait fraîchement préparé. Les auteurs évoquent l'hypothèse de la présence de précurseurs inactifs que se transforment en composés actifs seraient des tanins catéchiques condensés qui en milieu alcalin, subissent un réarrangement intramoléculaire et une auto-oxydation.

Usages traditionnels

Les feuilles fraîches sont mâchées pour apaiser les maux de ventre et la diarrhée

La plante est aussi fébrifuge, diurétique, anti-diarrhéique, tonique cholagogue, et digestive.

Dans la toux et les bronchites, l'espèce est employée comme médicament principal ; et dans les autres maladies, comme médicament d'appui (Eklu-Natey et *al.*, 2012).

Les feuilles sont employées en infusions contre les ictères, la fièvre jaune : 16 grammes de feuilles pour un litre d'eau, à prendre par 250 ml toutes les 10 minutes. Les feuilles et les racines bouillies servent en fumigations et lavages chaudes contre les fièvres et les courbatures.

Les feuilles, additionnées d'écorces de racines du *Salvadora persica*, sont considérées comme anti-blennorragiques et anti-rhumatismales.

La tisane de feuilles fraîches se donne avec du miel ou du sucre, contre le rhume : ce serait un bon remède.

La poudre d'écorces dissoute dans de l'huile de palme, ou mélangée au beurre de karité est employée en massages dans les contusions et les entorses.

L'écorce donne des fibres, et les tiges tordues peuvent faire de bons liens.

La décoction des racines doit entrer dans l'alimentation journalière des femmes stériles en qualité de médicament d'appoint énergétique.

Les racines sont utilisées contre la syphilis et l'énurésie (dans ce dernier cas, en association avec *Securinega virosa*).

Le bois est utilisé pour tresser des greniers, ou pour faire des cannes. On prend alors les rejets, qui sont plus droits. Le vieux bois est très dur.

Par ailleurs cette plante est un médicament excellent contre la fièvre bilieuse hématurique (Berhaut, 1974).

IV.2. *Combretum glutinosum* Perr.ex DC

IV.2.1. Classification et description botanique

IV.2.1.1. Synonymes et noms vernaculaires

Famille : Combretaceae

Genre : Combretum

Synonymes :

Combretum cordofanum Engl. & Diels

Combretum passargei Engl. & Diels

Combretum leonense Engl. & Diels (Eklun-Natey et al., 2012).

Noms vernaculaires : (Berhaut, 1974)

Bambara : dirinimblé,

Mandingue : dămbakată

Peul : dôko, ndoki

Sérère : yay

Toucouleur : doki, ndoko

Wolof : rat

IV.2.1.2 Description botanique

C. glutinosum, illustré par la figure 3 est un arbuste, ou petit arbre haut de 4 à 12m.

Les feuilles sont généralement verticillées par 4 ; elles peuvent être aussi opposées, ou même alternes.

Le limbe est coriace, de forme variable, généralement elliptique ou oblong, parfois largement obovale elliptique, long de 6 à 10 cm, large de 3 à 4 cm, à base arrondie ou en coin large, à sommet arrondi ou en coin obtus. Il a sept à dix nervures ordinairement très saillantes dessous, entre lesquelles se trouve un réseau réticulé très fin comprenant comme de petites aires déprimées, circonscrites par les mailles proéminentes du réseau de nervilles.

Le pétiole est long de 5 à 10 mm, gris tomenteux, de même que les rameaux.

Les inflorescences en épis axillaires ou venant avant les feuilles, sont longs de 4 à 6 cm, formés de petites fleurs jaune- verdâtre.

Les fruits sont longs de 25 à 30 mm, larges de 25 mm, à 4 ailes, glabres, ou un peu pubescents sur la partie centrale, entre les ailes (Berhaut ,1974).



Figure 3: Tiges et feuilles de *Combretum glutinosum* Peer.ex DC
« photographie Keita ».

IV.2.2. Répartition géographique

Ce petit arbre est très répandu, au Sénégal, dans la savane boisée, surtout dans les terres argileuses des plateaux latériques. Il existe partout sauf dans la forêt guinéenne de la Casamance maritime. Il forme des peuplements monospécifiques dans les dunes du Sahel (Djolof) et il est à la base de

nombreux taillis culturels (Sine, Saloum, Casamance, Tamba). Il résiste à la sécheresse et existe en Mauritanie avec 200 mm d'eau (Berhaut, 1974 ; Kerharo, 1974).

IV.2.3. Chimie de la plante

Selon Daffe, (1973) les principaux constituants chimiques de *C. glutinosum* se trouvent dans sa feuille. On y retrouve quatre hétérosides flavoniques, des sucres, du leucocyanidol, du leucodelphidinol, des acides phénols (gallique, ellagique, férulique), des tanins condensés. Parmi les tanins condensés, on peut citer la combreglutinine, le 2, 3-(S) hexahydroxy diphénol-D- glucose, la punicaline et la punicalgine (Kerharo, 1969).

IV.2.4. Pharmacologie et usage

- Pharmacologie
 - Activité diurétique et hypotensive

Une importante étude clinique portant sur les différentes indications thérapeutiques signalées sur cette espèce a été effectuée à Dakar par le Docteur BLATT cité par KERHARO (1974). L'expérimentation réalisée avec le décocté aqueux de feuilles de *C. glutinosum* (5 feuilles pour 1 litre d'eau) a mis en évidence une action diurétique et hypotenseur d'appoint très intéressante (Berhaut, 1974).

-Activité anti-spasmodique de *Combretum glutinosum* a été testé par Ngaba et al, (1982).

Les essais effectués sur le duodénum isolé de rat ont montré une activité antispasmodique nette vis-à-vis des contractions obtenues soit par l'acétylcholine, soit par le chlorure de baryum.

-Activité antipaludique : l'utilisation traditionnelle de *Combretum glutinosum* dans le traitement de la fièvre, l'ictère, l'anémie qui sont les symptômes du

paludisme, serait ainsi justifiée l'activité antipaludique de cette plante (Malgras, 1992).

- Usages traditionnels

Teinture : la décoction des feuilles, des écorces et surtout des racines, fournit une teinture jaune magnifique. On en fait autant avec les feuilles sèches pilées et macérées dans de l'eau froide.

Les feuilles ont une action diurétique et cholagogue : d'où leur emploi dans toutes les affections hépato-biliaires, et la fièvre bilieuse hématurique.

L'infusion des feuilles donne une excellente tisane contre le rhume et les refroidissements fébriles. Elle est aussi expectorante et laxative.

La décoction des feuilles est donnée en boisson dans les bronchites, les coryzas, la constipation, les coliques. Elle a aussi une action favorable sur le paludisme, l'anémie, l'anorexie et la toux. Contre la toux et les céphalées on peut donner aussi une macération de feuilles.

Les jeunes pousses seraient plus actives et auraient une action aphrodisiaque.

Les feuilles vertes, ou sèches pulvérisées sont utilisées pour faire des pansements de plaies.

La décoction ou l'infusion des feuilles pilées est employée efficacement en lotions, contre les hémorragies, les plaies et les blessures, spécialement celles des circoncis.

Les écorces du tronc sont prescrites comme anti-émétique et comme revigorant sexuel.

Les fruits verts séchés et pilés auraient une bonne action sur les chancres syphilitiques et les plaies. Ils sont aussi utilisés en médecine vétérinaire.

Les racines cuites avec de la viande constitueraient un aliment anti-blennorragique. La décoction de racines, souvent additionnée de sel, est prescrite dans les maux de ventre de diverses origines. Et l'infusion sucrée de racines est donnée contre la toux.

Les écorces de racines sont aussi recommandées comme anthelminthiques. La racine et l'écorce servent aussi à teindre en jaune. Tandis que les cendres du bois servent à teindre en bleu indigo.

Le bois est jaunâtre, dur et durable. C'est un bon bois de chauffage (Berhaut, 1975).

Combretum glutinosum fournit une gomme de troisième choix. Cette gomme est utilisée en pharmacie comme laxatif et antidiarrhéique. Son pouvoir adhésif permet son utilisation dans l'appareillage des colostomies et également pour la fixation des prothèses dentaires (Amadou, 2004).

La plante est souvent aussi utilisée en association avec d'autres plantes à vertus médicinales reconnues comme *Ximenia* L. (*Olacaceae*) dans le traitement de la fièvre jaune, *Sécurinega virosa* (Roxb) Baill (*Euphorbiaceae*) dans le traitement de la Bilharziose, *Strophantus sarmentus* DC. (*Apocynaceae*) dans le traitement de la lèpre, *Guiera senegalensis* J.F.Gmel. (*Combretaceae*) dans le traitement de l'impuissance sexuelle, *Balanites aegyptiaca* L. (Del) (*Balanitaceae*) dans le traitement des maladies mentales (Amadou, 2004).

IV.3 *Combretum aculeatum* Vent.

IV.3.1. Classification et description botanique

IV.3.1.1. Synonymes et noms vernaculaires

Famille : Combretaceae

Genre : Combretum

Synonymes :

Combretum etessei

Combretum passargei

Combretum gallabatense (Aubreville, 1950)

Noms vernaculaires :

Mandingue : Wolo, Kabana, ndindolo, volokoli

Peul : laonâdi

Toucouleur : laonâdi

Serère : Nalafum, Nelaum, Sabé

Socé : Kounou, ndin, dolo

Wolof : Sowat, Saut, (Eklou Natey et al, 2012)

IV.3.1.2 Description botanique

C. aculeatum illustré par la figure 4 est un petit arbuste buissonnant, ou lianescent, ordinairement à feuilles opposées, parfois verticillées par 3, mais souvent aussi subopposées ou alternes.

Le limbe est ovale, long de 1 à 5 cm, large de 8 à 30 mm, à base généralement arrondie, et à sommet en coin (souvent aigu dans les petites feuilles). Il

comporte quatre à six nervures latérales et un fin réseau de nervilles non saillantes.

Le pétiole est long de 3 à 10 mm, généralement coudé : la partie inférieure reste sur la tige après la chute de la feuille et forme un aiguillon obtus pubescent. Le pétiole est pubescent, ainsi que les jeunes rameaux.

Les fleurs blanches sont larges de 8mm, à 5 pétales bien séparés, ciliés. Les étamines sont à anthères roses. Le calice est rougeâtre, pubescent, à 5 courtes dents. Les fleurs sont de petites panicules terminales corymbiformes.

Le fruit long et large de 20 à 25 mm, à 5 ailes (Berhaut, 1950).



Figure 4: Fleurs, feuilles et tige de *Combretum aculeatum* Vent. « photographie Spjut ».

IV.3.2. Répartition géographique

C'est une espèce de savane répandue du Sénégal au Cameroun. On la trouve aussi en Ethiopie et en Somalie. Au Niger, elle est commune sur les affleurements latéritiques où elle fleurit en fin de saison sèche (Eklu Natey et *al.*, 2012).

IV.3.3. Chimie de la plante

Combretum aculeatum n'a probablement pas fait l'objet d'études chimiques. En effet, nous n'avons pas retrouvé d'article scientifique concernant son étude chimique.

IV.3.4. Pharmacologie et usage

- Pharmacologie

Comme la chimie, *Combretum aculeatum* n'a probablement pas fait l'objet d'études pharmacologiques. En effet, nous n'avons pas retrouvé de données scientifiques concernant son étude pharmacologique.

- Usages traditionnels:

La plante est utilisée pour traiter la blennorragie, la colique, la diarrhée, les vers intestinaux, les blessures, la fièvre, la gastrite, la lèpre et la perte d'appétit.

En médecine traditionnelle la plante est utilisée pour traiter la stérilité féminine et les troubles mentaux.

En décoction (5 à 10%), c'est un diurétique et un cholagogue, moins concentrée elle est utilisée comme boisson hygiénique. A Lagos (1985), la Plante est également un anti-palustre.

La tige écorcée est utilisée pour le traitement de la dysenterie et la diarrhée.

La racine est utilisée pour la blennorragie.

Les feuilles sont diurétiques, rétrécissement de l'urètre du à une maladie vénérienne (Eklu Natey et *al.*, 2012).

Les graines sont comestibles et dans certains endroits, utilisées pour la consommation. Elles sont également consommées par des animaux sauvages et domestiques (Arbonnier, 2002).

IV.4. *Guiera senegalensis* J.F.Gmel.

IV.4.1. Classification et description botanique

IV.4.1.1.Synonymes et noms vernaculaires

Famille : Combretaceae

Genre : *Guiera*

Synonymes :

Guiera senegalensis Lamark

Guiera glandulosa Smith (Ouoba, 1983)

Noms vernaculaires :

Peulh : ndiéloki

Diola : foupiroum

Mandingue : mamacoumcoïo

Bambara : koudiengbé

Wolof : n'guer

Sérère : houd (Aubreville, 1950)

IV.4.1.2. Description botanique

Guiera senegalensis représentée par la figure 5 est un arbuste souvent en touffes buissonnantes.

Ses feuilles sont opposées ou sub-opposées, d'un gris blanchâtre. Le limbe est oblong, elliptique, long de 3 à 5 cm, large de 15 à 25 mm, à base arrondie, à sommet arrondi et mucroné. Il possède trois à cinq nervures latérales peu

sensibles. Le limbe est à pubescence douce tomenteuse très courte, laissant apercevoir des points noirs. La surface inférieure du limbe est criblée. Le pétiole est grêle, long de 2 à 4 mm, finement pubescent, de même que les jeunes rameaux.

Les fleurs très fines, jaunâtres, agglomérées en capitules sphériques larges de 7 à 10 mm, au sommet de courts rameaux axillaires.

Les fruits linéaires sont longs de 3 à 4 cm, un peu fusiformes, couverts de longs poils soyeux argentés denses. Les fruits sont disposés en couronne au dessous des 4 bractées foliacées qui soutenaient le capitule floral : l'ensemble a l'aspect d'une grosse araignée velue (Berhaut, 1950).



Figure 5: *Guiera senegalensis* J.F.Gmel. « photographie Miura ».

IV.4.2. Répartition géographique

Il existe dans tout le Sénégal, du fleuve jusqu'à la limite de la forêt guinéenne en Casamance maritime, et est très commun dans le Sahel où il forme des peuplements monospécifiques.

Il envahit la plupart des jachères aux sols légers, mais existe aussi dans les limons des vallées passagèrement inondées (affluents de la Gambie).

IV.4.3. Chimie de plante

La présence d'alcaloïdes, de tanins galliques et catéchiques, d'éléments alcalinoterreux, de flavonoïdes et de coumarines a été mise en évidence par plusieurs auteurs.

Des essais préliminaires ont été également pratiqués à Paris (1974), sur des échantillons de Haute -Volta qui ont montré que les tiges feuillées contenaient des alcaloïdes (harmane, tétrahydroharmane), des tanins (catéchine, gallique), un principe aphrogène non hémolytique.

L'étude chimique dans ses grandes lignes, a été reprise par Koumare (1968) sur des échantillons de racines et de feuilles en provenance du Mali.

Les racines et feuilles sèches contiennent respectivement 6,8 et 8,6% d'eau ; 2,4 et 3,2% de cendres. On y trouve des métaux alcalins (Mg, Ca, Sr, Ti, Fe, Al) et des alcalino terreux (Cu, Ni, Co, Zn).

En effet Koumare et al ont mis en évidence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins dans les feuilles de *Guiera senegalensis*. Nacoulma en 1996 avait également signalé la présence des ces même éléments dans les tiges feuillées de la dite plante.

IV.4.4. Pharmacologie

Les propriétés antitussives, antidiarrhéiques et antibactériennes des extraits aqueux des rameaux feuillés du Nguer souvent signalées par les guérisseurs ont été testées respectivement par Koumare (1974) et par Faye (1980). Le pouvoir anti-inflammatoire des feuilles à l'égard de l'œdème provoqué a été par ailleurs signalé par Koumaré (Kerharo, 1974).

Les alcaloïdes totaux des feuilles de *Guiera senegalensis* présentent une activité antitussive. En effet, administré aux doses de 10, 25, et 30mg/kg, l'extrait d'alcaloïdes totaux inhibe significativement les accès de toux provoqués par l'exposition des cobayes à l'ammoniac. La dose de 30mg/kg inhibe de 72,5% la toux. Les doses de 10 et 25mg de l'extrait d'alcaloïdes totaux ont donné des résultats similaires à ceux de la codeine utilisée comme référence (Diatta et al., 2007).

Activité antioxydante et inhibitrice sur la lipoxygénase : Bucar et al. (1998) après avoir isolé le méthyl flavaspérone et la rhamnétine d'un extrait dichlorométhanique des feuilles de *G. senegalensis*, ont évalué leurs effets sur le stress oxydatif et la 5-lipoxygénase. Le rhamnétine a montré une forte activité inhibitrice sur la 5-lipoxygénase avec une CI50 (concentration inhibitrice à 50%) de 0,7 μ M alors que le 5-méthyl flavespérone se révèle faiblement inhibiteur sur ce test (CI50 > 200 μ M). Par contre, sur le stress oxydatif évalué à l'aide du test du désoxyribose, ces deux molécules ont des effets antiradicalaires similaires avec des CI50 respectifs de 15,8 et 16,7mMol.

Activité antivénimeuse : selon Abubacar et al. (2000), l'extrait des feuilles de *G. senegalensis* exerce *in vitro* un effet détoxifiant sur les venins de deux espèces de serpents (*Echis carinatus* et *Naja nigricollis*). L'administration intrapéritonéale du venin reconstitué et incubé avec l'extrait des feuilles à des

souris albinos réduit fortement leur mortalité comparativement aux animaux ayant reçu seulement le venin.

Activité antipaludique : Fiot et *al.* (2006) ont montré que l'extrait des alcaloïdes totaux des racines ainsi que celui des feuilles ont un effet inhibiteur intéressant sur les parasites du genre *Plasmodium*. Les trois alcaloïdes isolés à partir de ces fractions alcaloïdes (harmane, dihydroharmane et tetrahydroharmane) se sont montrés aussi très actifs sur le plasmodium.

Ces auteurs notent toutefois que parmi ces trois alcaloïdes testés, le dihydroharmane est le moins actif. Ils ont aussi recherché l'effet de l'association des alcaloïdes totaux de *G. senegalensis* à deux autres plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme (*Mitraguna inermis* et *Pavetta crassipes*). Un effet synergique de cette association a été révélé lors de cette étude.

Activité antidiarrhéique et antiulcéreuse : Anigu et *al.* (2005) ont recherché ces deux activités de l'extrait aqueux des racines de *G. senegalensis* chez le rat et la souris. L'extrait administré aux doses 100 et 200 mg/kg diminue mieux la motilité que l'atropine à 0,1mg/kg. L'extrait possède aussi un effet ulcéroprotecteur sur un modèle d'ulcération induite par l'éthanol chez le rat. Le meilleur effet antiulcéreux est obtenu avec la dose de 100mg/kg

Une forte activité antidiarrhéique de l'extrait aqueux des racines est notée chez le rat. En effet la fréquence de défécation ainsi que la liquidité des selles diminuent significativement. De plus, l'extrait provoque une inhibition à 100% de la diarrhée induite chez la souris par l'huile de castor justifiant l'utilisation traditionnelle des racines dans le traitement de diarrhée au Nigéria (Aniagu et *al.* 2005).

Activité antifongique : Silva et *al.* , (2003) ont montré que le Guiéranone. A (premier naphtyl cétone à être isolé dans la famille des Combretacées) extrait

des feuilles de *G.senegalensis* a une propriété antifongique. En effet, il s'est montré actif sur *Cladosporium cucumerinum*.

IV.4.5 Toxicité

D'une manière générale, aucune toxicité n'a été signalée pour *G. senegalensis* par voie orale. Il est toutefois contre- indiqué en cas d'hypotension.

Koumare (1960) mentionne une embryo toxicité nulle par voie entérale chez les rates et assez élevée par voie intrapéritonéale. Elle est précoce chez la lapine et s'exerce avec intensité par voie intraveineuse.

Selon des travaux récents, la dose de 3g/kg d'un extrait lyophilisé de Nguer pour le cobaye par voie orale ne provoque aucune toxicité (Diouf et *al.*, 2000).

La dose létale 50 (DL₅₀) chez le cobaye est obtenue par voie intrapéritonéale à raison de 1 à 1,5g/kg (Ouoba, 1983).

Enfin la dose orale de 5g/kg pendant six semaines chez la souris et les rats et la dose de 10g/kg par voie sous-cutanée chez la souris n'entraînent aucun signe de toxicité (Kerharo, 1968 ; Ouoba, 1983).

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

I.1. Matériels et réactifs

I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles des quatre *Combretaceae* suivantes : *Combretum micranthum* G.Don., *C. glutinosum* Perr.ex DC, *C. aculeatum* Vent. et *Guiera senegalensis* J.F.Gmel.

Les feuilles de *Combretum micranthum* et de *Guiera senegalensis* ont été récoltées au village de Touba Guèye (région : Thiès, Communauté rurale de Thienaba).

Celles de *Combretum aculeatum* proviennent du Jardin Botanique de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Les feuilles de *Combretum glutinosum* quant à elles ont été obtenues à Gankette Balla (village de la région de Louga, arrondissement de Keur Momar Sarr).

Ces différentes plantes ont été identifiées au Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odontologie (FMPO) de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Les drogues végétales ont été séchées à l'ombre dans un endroit aéré du Laboratoire Pharmacognosie et Botanique.

I.1.2. Matériel de laboratoire

- Broyeur de marque «Brabender OHG Duiburg»,
- Rotavapor de marque «Buchi 461»,
- Balance de marque « Comecta laborcom 5000»,
- Capsule en verre,
- Dessicateur ;
- Ballon de 500 ml
- Spectrophotomètre «BTS-350»,
- Pierre ponce

I.1.3. Réactifs

- Ethanol,
- DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (Sigma Aldrich)
- Acide L(+) ascorbique (Panreac)

I.2. Méthodes d'études

I.2.1. Extraction

Pour chaque plante, les feuilles sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur.

Ensuite, environ 30 g de poudre des feuilles sont extraits par chauffage sous reflux pendant une heure avec 350 ml d'éthanol. Après filtration, l'extrait éthanolique ainsi obtenu est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour donner un résidu sec.

La figure 6 illustre le mode d'obtention des différents extraits utilisés lors l'étude de l'activité antioxydante.

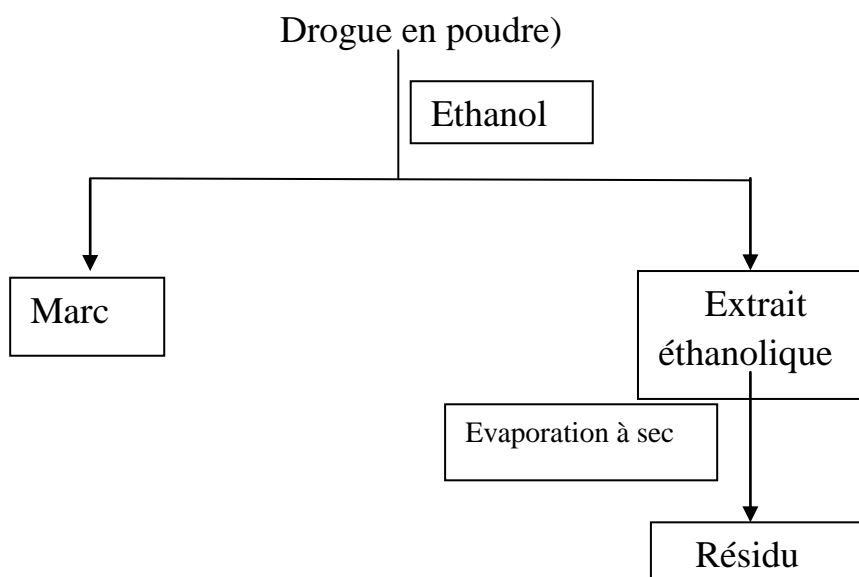


Figure 6: Protocole d'obtention des différents extraits de drogues à tester.

I.2.2. Activité anti-oxydante

I.2.2.1. Protocole expérimental

La méthode utilisée est celle de Molyneux (2003). Elle consiste à dissoudre 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol. La conservation de la solution se fait à l'abri de la lumière.

Ensuite, dans chaque tube à essai contenant 0,8 ml d'extrait à différentes concentrations, sont ajoutés 3,2 ml de la solution de DPPH. Les extraits sont testés aux concentrations suivantes : 12,5-25-50-100-200 µg/ml. L'acide ascorbique utilisé comme antioxydant de référence est testé aux concentrations de 0,78-1,56-3,125-6,25-12,5 µg /ml.

La lecture de l'absorbance se fait au bout de 30 minutes au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc.

I.2.2.2. Expression des résultats et analyses statistiques

Trois essais ont été effectués pour chaque concentration d'extraits testée (n =3). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) selon la formule suivante : $PI = 100(A_0 - A_1)/A_0$

A_0 = Absorbance du DPPH

A_1 = Absorbance lue 30 minutes après ajout du DPPH à l'extrait à une concentration donnée.

PI = pourcentage d'inhibition

Les analyses statistiques des résultats obtenus sont faites à l'aide du logiciel Statview. Ainsi une analyse normale de variance suivie du test de Fischer sont effectués. La différence est considérée comme significative si $p < 0,05$ par rapport au témoin négatif (solution de DPPH).

CHAPITRE II : RESULTATS

II.1. Rendements d'extraction

Le tableau II représente les rendements d'extraction des 4 plantes étudiées. L'extraction de 30 g de poudre de feuilles de *Combretum micranthum* a donné un extrait sec de 6,84g soit un rendement 22,8%.

Concernant *Combretum glutinosum*, *C aculeatum* et *Guiera senegalensis*, à partir de 30 g de feuilles de chacune d'elles, ont été obtenus respectivement 4,21-2,91 et 4,57 g d'extraits secs ; soient des rendements respectifs de 14,03-9,7-15,23%.

Tableau II: Rendements d'extraction des plantes à tester.

Plante étudiée	Extrait sec obtenu à partir de 30g de drogue	Rendement d'extraction
<i>Combretum micranthum</i>	6,84 g	22,8 %
<i>Combretum glutinosum</i>	4,21 g	14,03 %
<i>Combretum aculeatum</i>	2,91 g	9,7 %
<i>Guiera senegalensis</i>	4,57 g	15,23 %

II.2. Dosage de l'activité antioxydante

II.2.1. *Combretum micranthum*

La figure 7 représente l'action de l'extrait éthanolique des feuilles de *Combretum micranthum* sur le DPPH. A toutes les concentrations testées, *C. micranthum* inhibe de manière significative le DPPH ($p < 0,05$). Les 3 concentrations les plus faibles testées (12,5-25-50 $\mu\text{g/ml}$) entraînent un effet inhibiteur similaire. En effet ces concentrations inhibent respectivement le DPPH de 81,24-81,32-80,41%.

La comparaison entre les actions de ces trois concentrations ne montre pas de différence significative entre elles ($p>0,05$). Les activités les plus faibles sont obtenues avec les plus grandes concentrations testées (100 et 200 μg) qui inhibent, de manière significative, respectivement le DPPH de 76,58 et 73,42% ($p<0,05$).

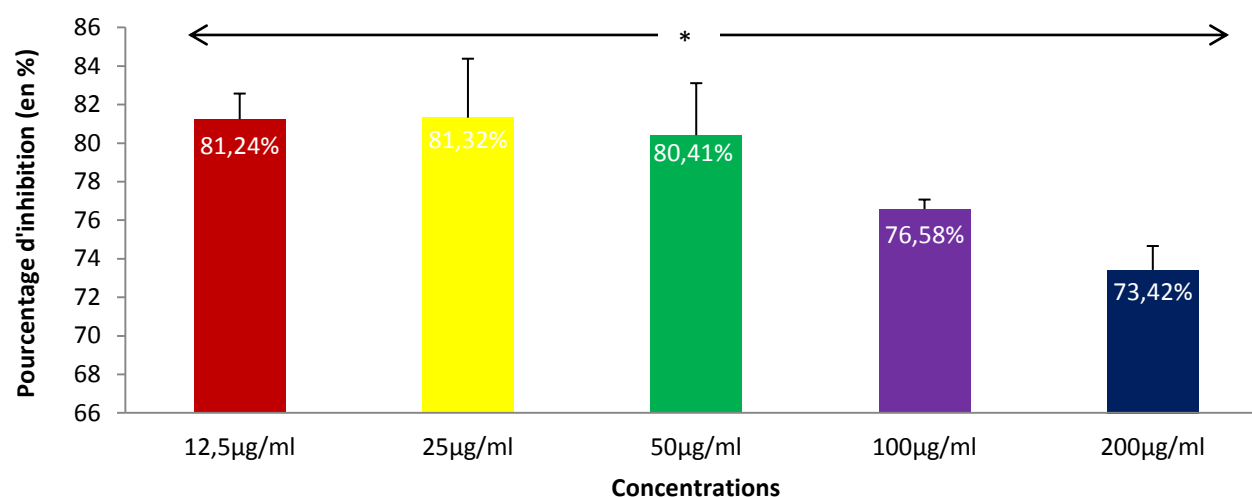


Figure 7 : Action de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. micranthum* sur le DPPH.

* : $p<0,05$.

II.2.2 *Combretum glutinosum*

Comme en atteste la figure 8, l'extrait éthanolique des feuilles de *C. glutinosum* inhibe de manière significative le DPPH à toutes les concentrations testées ($p<0,05$). Les concentrations les plus faibles testées (12,5-25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) entraînent respectivement une inhibition de 48,93% et 53,36% du DPPH. La comparaison entre les effets de ces deux concentrations ne montre pas de différence significative entre elles ($p>0,05$).

Ensuite, à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, l'activité augmente significativement (88,46% d'inhibition). Par contre, à 100 et 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (PI respectifs de 86,49 et 85,86%),

la variation d'activité notée n'est pas significative par rapport à l'effet noté avec la concentration de 50 µg/ml ($p>0,05$).

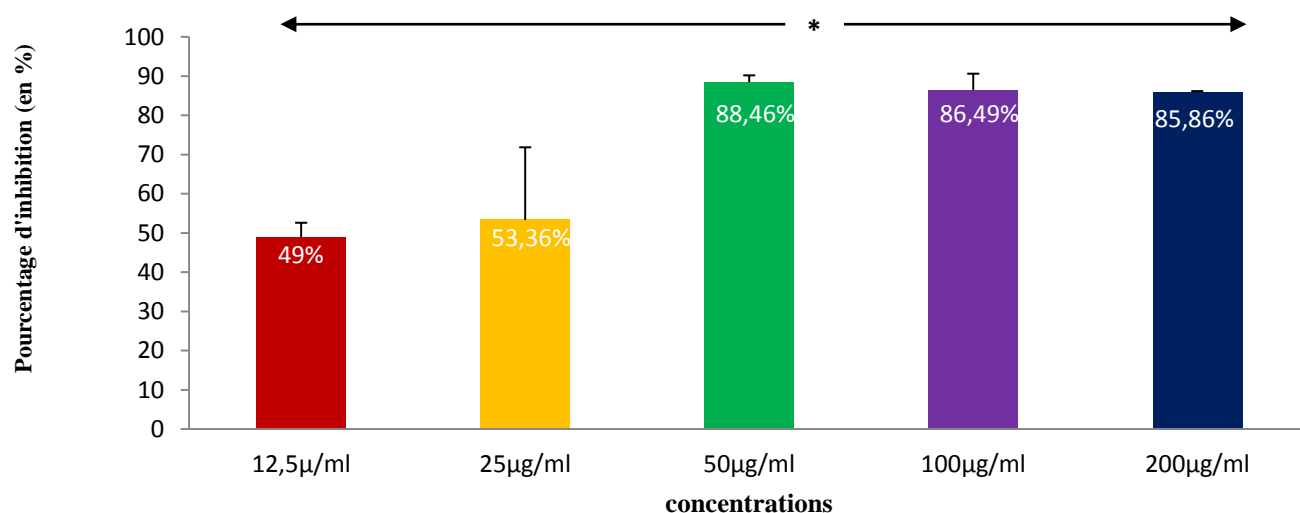


Figure 8 : Action de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. glutinosum* sur le DPPH.

II.2.3 *Guiera senegalensis*

La figure 9 représente l'action éthanolique de *G. senegalensis* sur le DPPH. A toutes les concentrations testées, *G. senegalensis* inhibe de manière significative le DPPH ($p<0,05$).

De 12,5 µg/ml à 25 µg/ml, l'inhibition du DPPH passe de 83,86% à 88,22% (différence significative, $p<0,05$). Ensuite une très faible diminution d'activité est remarquée en passant aux concentrations de 50 et 100 µg avec des PI respectifs de 87,67% et 86,15% ($p>0,05$). Enfin à 200 µg/ml, la plus forte concentration testée, l'inhibition de 78,87% du DPPH observée est significativement inférieure à celle obtenue avec la concentration de 100 µg/ml ($p<0,05$).

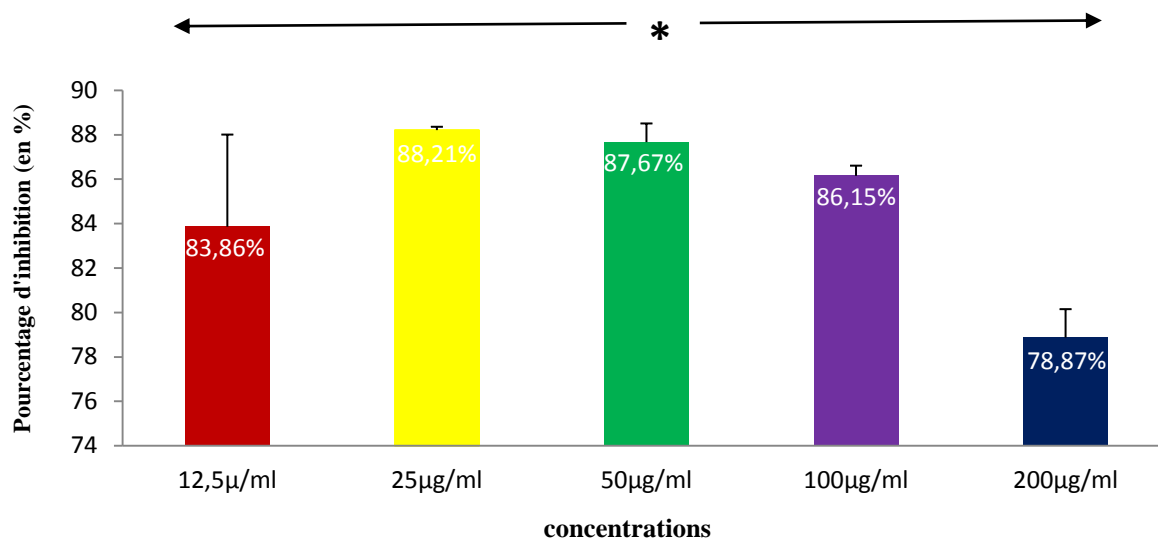


Figure 9 : Action de l'extrait éthanolique des feuilles de *Guiera senegalensis* sur le radical DPPH.

II.2.4. *Combretum aculeatum*

L'action de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. aculeatum* sur le DPPH illustrée par la figure 10 montre qu'à toutes les concentrations testées, celui-ci inhibe de manière significative le DPPH ($p < 0,05$).

L'évolution des PI en fonction des concentrations testées suit la même tendance que l'extrait des feuilles de *Guiera senegalensis*. En effet une augmentation d'activité est notée de la concentration de 12,5 µg/ml à celle de 25 µg/ml avec des PI respectifs de 87,61% et 91,75% ($p > 0,05$). Ensuite l'activité diminue de manière non significative à 50 µg/ml et 100 µg/ml (PI respectifs de 90,93% et 89,15%). Par contre, cette diminution du PI se maintient significativement à la concentration de 200 µg/ml avec un PI de 85,04% ($p < 0,05$).

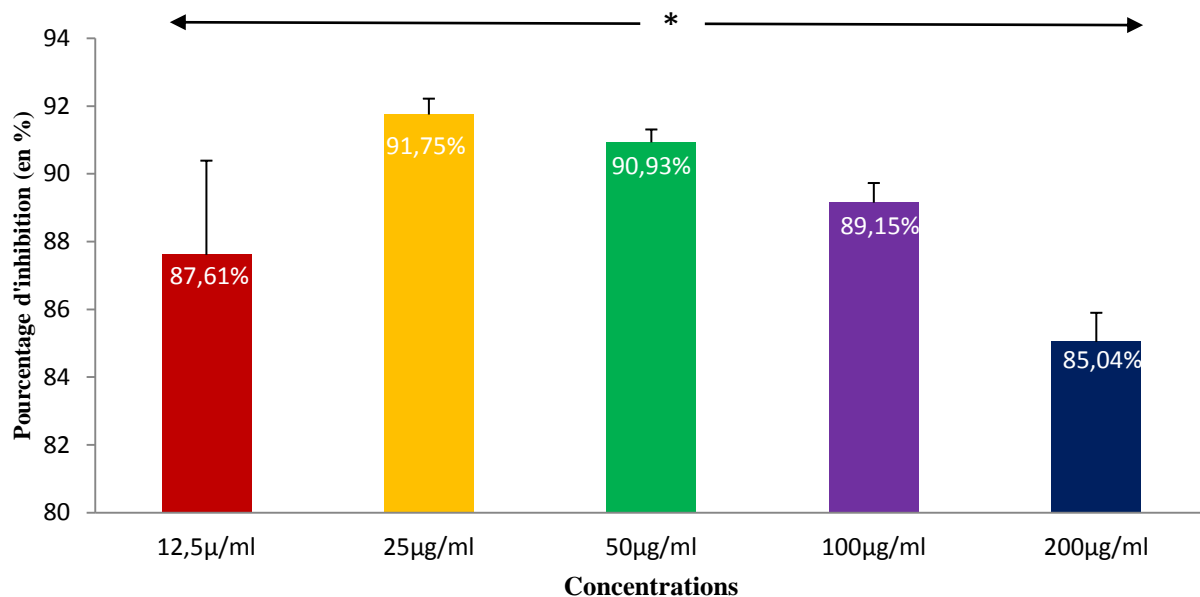


Figure 10 : : Action de l' extrait éthanolique des feuilles de *C. aculeatum* sur le DPPH.

II.2.5. Acide ascorbique

La figure 11 représente l'action de l'acide ascorbique choisi comme référence sur le DPPH. A toutes les concentrations testées, acide ascorbique inhibe de manière significative le DPPH ($p < 0,05$). Les concentrations les plus testées (0,78-1,56-3,12 µg/ml) inhibent respectivement le DPPH de 38,06-53,74-65,94%. La comparaison entre l'action des ces concentrations montre une différence significative ($p < 0,05$). Les activités les plus fortes sont obtenues aux plus grandes concentrations (6,25-12,5 µg/ml) qui inhibent de manière significative respectivement le DPPH de 89,86- 93,86%.

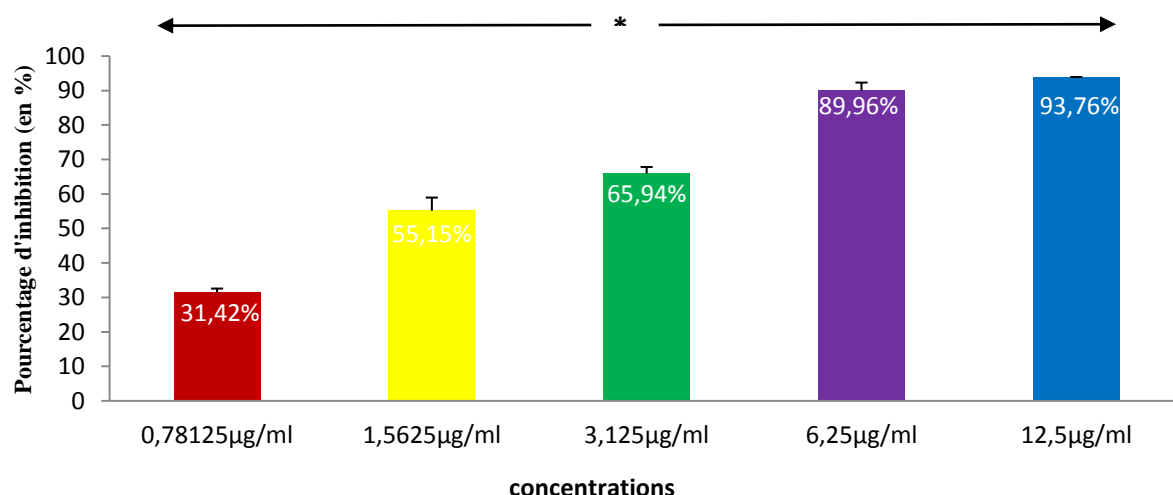


Figure 11 : Action inhibitrice de l'acide ascorbique sur le DPPH

Donc tous les produits testés inhibent significativement le DPPH à toutes les concentrations testées. Le tableau III et la figure 12 représentent un synopsis de l'action inhibitrice des différents produits testés sur le radical libre DPPH. Aux concentrations de 12,5 µg/ml et 25 µg/ml, l'extrait éthanolique des feuilles de *Combretum aculeatum* et celui de *Guiera senegalensis* présentent les PI les plus élevés (respectivement $87,61 \pm 1,61\%$ et $83,86 \pm 2,40\%$ à 12,5 µg/ml ; $91,75 \pm 0,27\%$ et $88,86 \pm 0,08\%$ à 25 µg/ml).

A 50 µg/ml et 200 µg/ml, les extraits de feuilles de *Combretum aculeatum* et *Guiera senegalensis* possèdent les PI les plus importants. En effet, à 50 µg ces deux extraits inhibent respectivement le DPPH de $90,93 \pm 0,22\%$ et $88,46 \pm 1,01\%$. A 200 µg/ml, ces mêmes extraits réduisent respectivement le dpph de $85,04 \pm 0,50\%$ et $85,86 \pm 0,20\%$.

A la concentration de 100 µg/ml, l'extrait de *C. aculeatum* présente également l'une des meilleures activités avec une inhibition de $89,15 \pm 0,34\%$ du DPPH.

Tableau III: Pourcentage d'inhibition du DPPH (moy±écart type) par les différents produits testés

	C1	C2	C3	C4	C5
<i>Combretum micranthum</i>	81,24±0,77*	81,31±1,77*	80,41±1,56*	76,58±0,29*	73,41±0,72*
<i>Combretum aculeatum</i>	87,61±1,61*	91,75±0,27*	90,93±0,22*	89,15±0,34*	85,04±0,50*
<i>Combretum glutinosum</i>	48,93±2,10*	53,36±10,69*	88,46±1,01*	86,49±2,39*	85,86±0,20*
<i>Guiera senegalensis</i>	83,86±2,40*	88,86±0,08*	87,67±0,48*	86,15±0,48*	78,88±0,74*
Acide ascorbique	38,06±6,65*	53,74±2,94*	65,14±1,09*	89,86±1,37*	93,86±0,12*

Combretum micranthum , *Combretum glutinosum* ,*Guiera senegalensis* et *Combretum aculeatum* : C1= 12,5µg/ml, C2= 25µg/ml, C3= 50µg/ml, C4= 100µg/ml, C5= 200µg/ml.

Acide ascorbique: C1= 0,78µg/ml, C2= 1,56µg/ml, C3= 3,12µg/ml, C4= 6,25µg/ml, C5= 12,5µg/ml.

* : p < 0,05 versus témoin négatif ; n =3 pour chaque concentration testée.

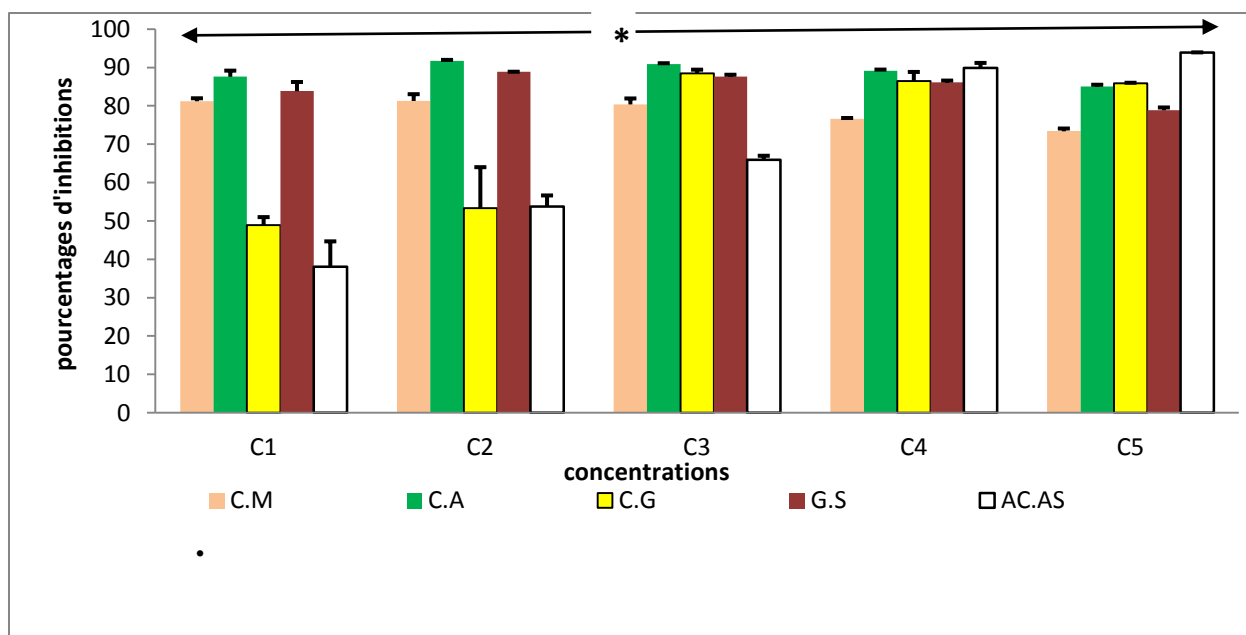


Figure 12 : Évolution de l'activité inhibitrice des différents produits testés sur le DPPH.

Combretum micranthum (C.M), *Combretum glutinosum* (C.G), *Guiera senegalensis* (G.S) et *Combretum aculeatum* (C.A) : C1= 12,5µg/ml, C2= 25µg/ml, C3= 50µg/ml, C4= 100µg/ml, C5= 200µg/ml.

Acide ascorbique (AC.AS) : C1= 0,78µg/ml, C2= 1,56µg/ml, C3= 3,12µg/ml, C4= 6,25µg/ml, C5= 12,5µg/ml.

* : $p < 0,05$ versus témoin négatif ; $n = 3$ pour chaque concentration testée.

CHAPITRE III : DISCUSSION

III.1. Rendement d'extraction

L'éthanol qui est un solvant polaire a été utilisé pour extraire toutes les plantes. Ce solvant a été choisi pour sa capacité d'extraire des composants polaires tels que les polyphénols qui sont bien représentés dans les feuilles de Combrétacées (Pousset, 1985). Il permet aussi d'extraire des composants non hétérosidiques tels que les alcaloïdes qui sont également identifiés dans les feuilles de Combrétacées (Kerharo, 1969).

Cependant, bien que toutes les drogues utilisées soient des feuilles de Combrétacées, une forte variation des rendements d'extraction est remarquée pour ces plantes étudiées. A titre d'exemple, le rendement de l'extrait éthanolique des feuilles de *Combretum micranthum* représente plus du double de celui de *Combretum aculeatum* (22,8% versus 9,7% respectivement).

Par ailleurs *Combretum micranthum* et *Guiera senegalensis* qui présentent les meilleurs rendements d'extraction (22,8% et 15,23%) proviennent du même lieu de récolte où elles poussent spontanément (un village de la région de Thiès dénommé Touba Gueye). Le plus faible rendement a été obtenu *Combretum aculeatum*, récolté dans un milieu conservé plus précisément au niveau du Jardin Botanique de la Faculté des Sciences et Techniques de Dakar.

Il a été établi que les teneurs en principes actifs des drogues végétales peuvent varier suivant plusieurs facteurs. D'une part, des facteurs intrinsèques liés au génotype peuvent induire une variation des teneurs en principes actifs (Thompson et *al.*, 2003).

D'autre part, les facteurs liés aux conditions écologiques tels que le type de sol et la pluviométrie peuvent influencer sur la teneur en principes actifs (Ahmed et Fahmy, 1949).

III.2. Activité antioxydante

A toutes les concentrations testées, les différents extraits éthanoliques des plantes testés présentent une activité antioxydante significative ($p < 0,05$). Cette inhibition du DPPH par les extraits des 4 espèces étudiées est dose dépendante.

En effet une diminution notable de l'activité inhibitrice des extraits de feuilles de *Combretum micranthum*, *C. glutinosum*, *C. aculeatum* et *Guiera senegalensis* est remarquée à la plus grande concentration testée c'est-à-dire 200 µg/ml. Cette inversion d'activité pourrait s'expliquer par un phénomène de saturation des sites de fixation des principes actifs. En effet, les études phytochimiques menées sur les *Combretum* y ont révélé la présence de plusieurs classes de composés comme les triterpènes, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes, des amino-acides non protéiques entre autres (Rogers et Verotta).

Par ailleurs, les *Combretaceae* sont connus pour leur forte teneur en flavonoïdes et en tanins. De manière générale, les polyphénols sont réputés pour leur pouvoir antioxydant (Scalbert et al., 2005). Les flavonoïdes agiraient principalement comme antioxydant en stabilisant les radicaux peroxydes ou bien en désactivant les espèces oxygénées : ion peroxyde, radical OH., oxygène sigulet (Monica et al., 2010).

A titres d'exemples, les thés vert et noir possèdent diverses activités biologiques y comprise une activité antiradicalaire, qui serait due à leur haute teneur en polyphénols (Rechner et al., 2002 ; Campanella et al., 2003).

Il a été également rapporté que l'extrait hydrométhanolique de *Melissa officinalis* entraîne une inhibition importante de la peroxydation lipidique de manière dose-dépendante et que les composants phénoliques qui sont représentés dans cet extrait ont une activité antiradicalaire (Hohmann et al., 1999).

Les antioxydants, au sein desquels sont retrouvés les polyphénols, peuvent prévenir le stress oxydatif retrouvé dans la genèse de plusieurs maladies cardiovasculaires (Hertog et *al.*, 1993). Ce stress oxydatif, conséquence d'un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants dans l'organisme, est maintenant reconnu comme un phénomène clé dans la survenue des maladies chroniques.

Par ailleurs, divers organismes de santé prônent des conseils diététiques pour la prévention du cancer, de l'athérosclérose et d'autres maladies chroniques (Bronner, 1996). Ainsi, les fruits et légumes exerceraient un effet protecteur (Cox et *al.*, 2000; Strandhagen et *al.*, 2000). La haute teneur en antioxydants polyphénoliques dans les fruits et légumes est probablement le principal facteur responsable de ces effets.

Il demeure donc important de rechercher des antioxydants naturels plus accessibles aux populations du tiers monde. Parmi les extraits de plante testés, celui de *C. aculeatum* présente globalement la meilleure activité antioxydante aux concentrations testées. Il serait donc important de s'intéresser à la composition chimique de ses feuilles. Nos recherches bibliographiques ne nous ont pas permis de retrouver des publications relatives à la chimie ou à la pharmacologie de cette espèce.

CONCLUSION

De nos jours, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique, les plantes médicinales occupent toujours une place importante dans le dispositif thérapeutique en Afrique. Des recherches concernant les plantes et les recettes des pharmacopées traditionnelles ont mis en évidence les richesses de celles-ci. Les recherches sur la pharmacopée traditionnelle ont permis d'acquérir une connaissance plus approfondie des plantes tant sur le plan de leurs compositions chimiques que de leur activités pharmacologiques.

Ces dernières années, un grand intérêt est porté aux substances antioxydantes en vue de prévenir les effets délétères des radicaux libres formés de façon endogène ou bien issus de processus physiques. Ces substances antioxydantes jouent un rôle majeur dans la prévention de certaines pathologies telles que la maladie d'Alzheimer, le diabète, le cancer etc.

Dans notre organisme, les radicaux libres peuvent avoir des effets nocifs. Les effets destructeurs, au niveau cellulaires, s'expliquent par la présence d'électron(s) célibataire(s) sur une de leur orbitales, susceptibles de s'apparier aux électrons des composés environnants. Ces composés ainsi spoliés deviennent, à leur tour, des radicaux et amorcent une réaction en chaîne.

Ces radicaux libres s'attaquent aux composantes normales cellulaires telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques entre autres entraînant le stress oxydant.

Notre travail a consisté d'étudier l'activité antioxydante des feuilles de 4 *Combretaceae* de la flore sénégalaise: *Combretum micranthum* (« kinkéliba » en wolof), *C. glutinosum* (« ratt »), *C. aculeatum* (« sawat ») et *Guiera senegalensis*(« nguer »).

Les extraits éthanoliques testés ont été obtenus par ébullition sous reflux en immergeant 30 g de poudre de feuilles de chaque plante dans 350 ml. Après filtration, le solvant est évaporé grâce à un rotavapor pour obtenir un extrait sec.

Ainsi, les rendements d'extraction des feuilles de *Combretum micranthum*, de *C. glutinosum*, de *C. aculeatum* et de *Guiera senegalensis* sont respectivement de 21,63% ; 14,04% ; 9,71% et 15,25%.

L'étude de l'activité antioxydante de ces différents extraits de plantes est réalisée par la méthode de DPPH (2-2-Diphényl picryl hydrazyl) qui est un radical libre. En solution éthanolique le DPPH a une coloration violette. En présence d'une molécule à activité antioxydante et pouvant céder un atome d'hydrogène, une diminution ou une disparition de cette coloration violette caractéristique est notée.

Ainsi, pour chaque extrait les concentrations suivantes ont été testées : 200-100-50-25-12,5µg/ml. L'acide ascorbique connu par son activité antioxydante est utilisé comme référence.

A toutes les concentrations testées, les extraits éthanoliques des feuilles de *Combretum micranthum*, de *C. glutinosum*, de *C. aculeatum* et de *Guiera senegalensis* présentent une activité antioxydante significative ($p < 0,05$). Cette activité est dose dépendante.

L'extrait des feuilles de *Combretum aculeatum* présente la meilleure activité antioxydante aux concentrations de 12,5-25-50 et 100µg/ml. En effet ces concentrations inhibent respectivement le DPPH de 87,61% ; 91,75% ; 90,93% et 89,15%. Par contre, à 200µg/ml qui représente la plus forte concentration testée, *Combretum aculeatum* et *Combretum glutinosum* présentent la meilleure activité antioxydante avec des pourcentages d'inhibitions respectifs de 85,04% et 85,86%.

Cette étude confirme la capacité antioxydante de ces Combrétacées. Parmi les extraits de plante testés, celui de *C. aculeatum* présente globalement la meilleure activité antioxydante. Il serait donc important de s'intéresser à la composition chimique de ses feuilles. Nos recherches bibliographiques ne nous ont pas

permis de retrouver des publications relatives à la chimie ou à la pharmacologie de cette espèce. Ainsi les études en perspectives devraient s'orienter vers l'isolement des différents principes actifs qui peuvent être impliqués dans l'activité de cette plante. Des études toxicologiques s'avèrent également nécessaires pour garantir une sécurité d'emploi de ces Combrétacées. L'objectif final consiste à mettre au point des phytomédicaments efficaces, sûrs et accessibles aux populations africaines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **ABUBACAR M.S., SULE M.I., PATEH U.U., ABDOURAHMAN E.M., HARUNA A.K., JAHUM B.M. (2000):** *In vitro* detoxifying action of the leaf extract of *Guiera senegalensis*. Ethnopharmacol. ; 69 (3):253-7.
- 2- **AMO.S.S.KOLAWOLE E. AKAH P. (2001):** Behavioral effects of the aqueous extract of *Guiera senegalensis* in mice and rats Phytomedicine; 8(2):356-366.
- 3- **ANIAGU SO, BINDA L.G., NWINYI F.C., ORISADIPE A., AMOS S., WAMBEBE C., GAMANIEL K. (2005):** Anti-diarrheal and ulcer-protective effects of the aqueous root extract of *Guiera senegalensis* in rodents. J. Ethnopharmacol. ; 97(3):549-54.
- 4- **ARBONNIER M. (2002) :** Arbres arbustes et lianes des zones sèches d'Afriques de l'Ouest. CIRAD-MNHN, 576p, Paris.
- 5- **BALANCHARD J., ARNOUX M. (1952):** Diurèse et kinkéliba ; les facteurs responsables de l'action diurétique. Bull. Soc. Pharm., Marseille, p 25-30.
- 6- **BALANCHARD J., BERNARD P. (1952) :** Diurèse et kinkéliba : Essai d'isolement d'une partie active. Bull. Soc. Pharm., Marseille, p 27.
- 7- **BALANCHARD J., DELPHAUT J., (1952) :** Diurèse et kinkéliba : action d'un décocté sur la diurèse d'un lapin. Bull. Soc. Pharm., Marseille, p 25.
- 8- **BASSENE E. (1985) :** Etude de la composition de *Combretum micranthum* G.Don, Combretaceae . Th. Doct. ès-Sc. Pharm., Dakar, N°13, 128pages.
- 9- **BASSENE E. (2012):** Initiation à la recherche sur les substances naturelles Extraction-Analyse-Essais Biologique. Presses Universitaires de Dakar, 150 pages

- 10- **BASSENE E., LAURAN A. OLSCHWANG D. POUSSET J., (1985):** Plante médicinale africaine : XIX. Dosage de la vitexine par chromatographie liquide haute performance dans un extrait brut de *Combretum micranthum* G. Don. J. chromatography, 25 (2):28-30.
- 11- **BASSENE E., OLSCHWANG D., POUSSET J.L. (1986) :** Etude de l'insaponifiable de l'extrait lipidique des feuilles de *Combretum micranthum* G.Don. Herba hungaria ; 28 (1-1): 75-9.
- 12- **BASSENE E., OLSCHWANG D., POUSSET J.L (1987) :** Plantes médicinales africaines : XVIII. Etudes des sucres réduits dans les feuilles de *Combretum micranthum*. Journal of African Medicinal plants ; 6 :85-95.
- 13- **BASSENE E., OLSCHWANG D., POUSSET J.L. (1986):** Plantes médicinales africaines. Alkaloides de *Combretum micranthum* G.Don. Ann. Pharm.Fr., 44(3) :191- 6.
- 14- **BASSENE E., OLSCHWANG D., POUSSET J.L. (1986) :** Plantes médicinales africaines. Acides gras des feuilles de *Combretum micranthum*, Herba hungaria ; 2 : 25.
- 15- **BASSENE E., OLSCHWANG D., POUSSET J.L. (1987) :** Plantes médicinales : XXIII. Flavonoïdes du *Combretum micranthum* G.Don. Plantes méd. et phytothérapie, XXI (2) :173-6.
- 16- **BERHAUT J. (1960, 1974) :** Flore illustrée du Sénégal. Edition Clairafrique, Dakar, tome II, p 319-373.
- 17- **BERHAUT J. (1967) :** Flore illustrée du Sénégal, 2^e édition. Dakar : édition Clairafrique, 485p
- 18- **BERHAUT J. (1974) :** Flore illustrée du Sénégal. Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement Rural, Direction des Eaux et Forêts.

- 19- **BERHAUT J. (1974)** : Flore illustrée du Sénégal. Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement Rural, Direction des Eaux et Forêts.
- 20- **BERHAUT, J. (1975)** : Flore illustrée du Sénégal, *Combretum glutinosum*. Direction des Eaux et forets, Gouvernement du Sénégal, tome 4 625pages
- 21- **BOUQUET A., DEBRAY M. (1974)**: Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. Travaux et Documents de l'ORSTOM, Paris, N°32, 231 pages.
- 22- **BRONNER YL. (1996)**: Nutritional status outcomes for children: ethnic, cultural, and environmental contexts. J. Am. Diet. Assoc.; 96:891-903.
- 23- **BUCAR F., RESCH M., BAUER R., BERIST M, KNAUDER E., SCHAUBERT-ZSILAVEC Z. M. (1998)**: 5-methylfvasperone and rhamnetin from. *Guiera senegalensis* and their antioxydative and 5-Lipoxygenase inhibitory activity. Pharmazie, 53 (12) p 875-8.
- 24- **CAMPANELLA L., BONANNI A., TOMASSETTI M. (2003)**: Determination of the antioxidant capacity of samples of different types of tea, or of beverages based on tea or other herbal products using a superoxide dismutase biosensor. J. Pharm. Biomed. Anal.; 32: 725–736.
- 24- **CHIKA A., BELLO S.O. (2010)**: The antihyperglycaemic activity of aqueous leaf–extract of *Combretum micranthum* in normal and alloxan-induced diabetic rats,Nigeria 129(1) p7-34.
- 25- **COX BD., WHICHELOW MJ., PREVOST A.T. (2000)**: Seasonal consumption of salad vegetables and fresh fruit in relation to the development of cardiovascular disease and cancer. Public Health Nutr.; 3:19-29.

- 26- **DAFFE B.M. (1973)** : Recherche sur la flore médicinale du Sénégal : *Antiaris africana* Engls, *Combretum micranthum* G. Don, *Combretum glutinosum* Perr. Th. Doct. Pharm., Univ. Bordeaux II, N°4, 73 pages.

- 27- **DIATTA W., FALL A.D., DIEYE A.M., FATY S., BASSENE E., FAYE B. (2007)**: Mise en évidence de l'activité antitusive des alcaloïdes totaux de *Guiera senegalensis* Lam. chez le Cobaye. Dakar Médical, 52 (2) :135-140.

- 28- **DIOUF D., CISSE A., GUEYE S.S., SIBY T., DIOP Diouf R.M., BASSENE E. (2000)** : Etude toxicologique de *Guiera senegalensis*. Lam. Dakar Médical , 45 (1):89-94.

- 29- **DIOUF M. (2002)** : Inventaire des Combrétacées médicales de la pharmacopée sénégalaise : enquêtes et ethnobotaniques dans la région de Dakar. Th. Doct. Pharm. ; Dakar, N°68, 57 pages.

- 30- **EKLU-NATEY R.D., BALET A., AHYI M., ADJANOHOUM.J, ASSI A.L., BORST.F., CHATELAIN.C., DIALLO.D., HOSTETTMANN.K., SANOU.L., KOUMARE.M. (2012)** : Pharmacopée Africaine. Dictionnaire et monographies multilingues du potentiel médical des plantes africaines, Afrique de l'Ouest ; volume 2. Monographie. Editions d'en-bas, Genève, 999 pages.

- 31- **FAYE O. (1980)** : Contribution à l'étude des propriétés antitussives et antibactériennes du NGuer (*Guiera senegalensis* Lam.) . Diplôme d'Etudes Approfondies de Chimie et Biochimie des Produits Naturels, Dakar.

- 32- **FERREA G., GANESSA A., SAMPIETRO F., CRUCIANI M., ROMUSSI G., BASSETTI D. (1993)** : In vitro activity of *Combretum micranthum* extract against Herpes Simplex virus type 1 et type 2. Antiviral Research, 21(4) pages 317-25.

- 33- **FIOT J., SANON S., AZAS N., MAHIOUR, JANSEN O., ANGENOT L., BALANSARD G., OLLIVIER E. (2006):** Phytochemical and pharmacological study of roots and leaves of *Guiera senegalensis*. J.F Gmel (*Combretaceae*). J Ethnopharmacol. ; 106(2):173-8.
- 34- **GUEYE D. (2010) :** Recherche de l'activité antioxydante de neuf plantes de la flore sénégalaise. Th. Doct. Pharm. ; Dakar, N°32, 89 pages.
- 35- **HERTOG MGL., FESKENS EJM., HOLLMAN PCH., KATAN MB., KROMHOUT D. (1993):** Dietary antioxidant flavonoïds and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. Lancet; 342:1007-1011.
- 36- **HOHMANN J., ZUPKO L., REDEI D., CSANYI M., FALKAY G., MATHE I., JANICSÁK G. (1999):** Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation, *Planta Med.*; 65:576-578.
- 37- **JENTZCH P., SPIEGEL K., FUCHS L. (1962):** The constituents of the leaves of *Combretum micranthum* G. Don. *Planta Medica* , 10 (1) p 1-8.
- 38- **KANSCI G., DONGO E., GENOT C. (2003):** 2, 2 diphényl-1-picrilhydrazyl (DPPH) test demonstrates antiradical activity of *Dorstenia psilurus* and *Dorstenia ciliata* plant extracts *Nahrung*; 47 (6): 434-437.
- 39- **KERHARO J. (1971):** Recherches ethnobotaniques et ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales et toxiques de la pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Thèse Doct. Pharm., Dakar, N°21, 285 pages.
- 40- **KERHARO J. (1974) :** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot et frères, Paris, 1011 pages.

- 41- KOUMARE M., CROS J., PITET.G. (1968):** Recherches sur les constituants chimiques de *Guiera senegalensis*. Plantes médicinales et phytothérapie. (2): 204-9.
- 42- LEONG L.P., SHUI.G. (2002):** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food chem; 76 : 69-75.
- 43-MAHAMAT. (1990) :** Contribution à l'étude des Combrétacées du Sénégal : Comparaison de l'activité antibactérienne de trois espèces : *Terminalia avicennioïdes* Guil., *Combretum micranthum* G.Don, *Guiera senegalensis* T.FGmel. Th. Doct. Pharm., N°44, 84 pages.
- 44-MALGRAS D. (1992):** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Ed Karthala et ACCT, 478p, pp 128-129.
- 45-MONICA G., SANDRA V.V., PATRICIA I.O., CESAR G.F. (2010):** Antioxidant actions of flavonoïds: Thermodynamic and kinetic analys. Archives of biochemistry and biophysics, vol 501.
- 46- NACOUUMA.O. (1996) :** Plantes médicinales et pratiques traditionnelles au Burkina Fasso : cas du plateau central, Th. Doct. Faculté des Sciences et technique, Université Ouagadougou, tome (2) 289 pages.
- 47- NGABA J., OLSCHWANG D., POUSSET J.L. et GIONO-BARBER H. (1982) :** Plantes médicinales africaines VI : Action antispasmodique de *Combretum glutinosum*, Médecine d'Afrique Noire, 29 (7) : 497
- 48- NIASSE A. (2010) :** Recherche bio-autographique de l'activité antioxydante de quelques *Caesalpinaceae* et *Meliaceae* de la flore sénégalaise .Th. Doct. Pharm., Dakar, N° 25, 81 pages.
- 49- OUOBA B. (1983):** Essai de mise au point et de conservation d'un sirop antitussif à base de Nguer (*Guiera senegalensis* Lam., Combrétacées). Th. Doct. Pharm., Dakar, N°1.

- 50- POPP F.D., WEEFFER J.M., CHAKRABOTRY D.P., ROSEN G., CASEY A.C. (1990):** Investigation of African plants for alcaloïdes antimalarial agents and antineoplastic agents. *Planta Medica*, 16(3):343-347.
- 51- POUSSET J., LEVESQUE A., BLOND A., BODO B., BOUCHET N. (1996) :** 1,3, di-O- galloylquinic acid from *Guiera senegalensis* J.F Gmel. *Phytochimistry*, 42(1):180 -190.
- 52- RECHNER AR., WAGNER E., VAN BUREN L., VAN DE PUT F., WISEMAN S., RICE-EVANS CA. (2002):** Black tea represents a major source of dietary phenolics among regular tea drinkers. *Free Radic. Res.* 36:1127-1135.
- 53- REMESY C., MANACH C., DEMIGNE C., TEXLER O., REGEEERAT F. (1996):** A quinolone alkaloid with antioxidant activity from the aleurone layer of anthocyanin pigmented rice. *J. Nat. Prod.* 64 (12):1579-80
- 54- ROGERS C.B., VEROTTA L. (1996) :** Chemistry and Biological Properties of the African Combretaceae. In *Chemistry, Biological and Pharmacological Properties of African Medicinal Plants*; Eds. University of Zimbabwe Publications, Harare.
- 55- SCALBERT A., JOHNSON IT., SALTMARSH M. (2005):** Polyphenols: antioxidants and beyond. *American Journal of Clinical Nutrition*; 81(1):21-55.
- 56- SECK A. (2006):** Contribution à la conservation *ex situ* et à la valorisation de deux espèces de la pharmacopée traditionnelle sénégalaise : *Combretum glutinosum* Perr. (*Combretaceae*), *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. (*Anacardiaceae*) ; Enquêtes socio-économiques, essais botaniques et pharmacognosiques de qualité. Th. Doc. Pharm., Dakar, N°36, 95 pages.

- 57- **SENE B. (1990)** : Contribution à l'étude de l'activité pharmacologique de *Combretum micranthum*. Th. Doct. Pharm., Dakar, N°94, 88pages.
- 58- **SHAHINAS D.G., MACMULLI N., BENEDICT C., CRANDALL I., PILLAI D.R. (2012)**: Harmine is a potent antimalarial targeting HSp90 and synergizes with chloroquine and artemisinin. Antimicrob agent chemother. Aug 56(8), 4207-13.
- 59- **SILVA O., GOMES E.T. (2003)**: Guieranone A, a naphthyl butanone from the leaves of G. S with antifungal activity. J Nat Prod ; 66 (3) 447-9.
- 60- **STRANDHAGEN E., HANSSON PO., BOSAEUS I., ISAKSSON B., ERIKSSON H. (2000)**: High fruit intake may reduce mortality among middle-aged and elderly men. The study of men born in 1913. Eur J Clin Nutr; 54:337-341.
- 61- **THAIPONG K., BOONPRAKOD U., CROSBY K., CISNEROS-ZEVALLOS L., BYRNE D.H. (2006)**: Comparaison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from Guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis; 19: 669-675.
- 62- **VIGNOLI L., DELPHAUT D. (1945)** : Recherches pharmacologiques sur l'extrait fluide de kinkéliba. Travaux Soc. Pharm., Montpellier.
- 63- **ZOHOUN S.I. (1997)** : Monographies de quatre plantes médicinales sénégalaises : *Cassia occidentalis* L., *Euphorbia hirta* L., *Guiera senegalensis* J.F. Gmel, *Tinospora Bokis* (A. Rich) MIERS. Th. Doct. Pharm., Dakar, N°39, 108 pages.

WEBOGRAPHIE

KEITA.Y. (2007) in www.c3ed.ird.sn consulté le 04 mars 2013.

MUIRA.R. in www.jircas.affrc.go.jp consulté le 04 mars 2013.

SPJUT.R. in www.worldbotanical.com/ C. aculeatum.jpg consulté le 04 mars 2013.

ANNEXES

Annexe 1 : Absorbances des différentes concentrations de l'extrait de *Combretum micranthum* G.Don.

	Absorbances		
Concentrations	C1a	C2a	C3a
200µg/ml	0,0998	0,1096	0,1049
100µg/ml	0,0930	0,0938	0,0901
50µg/ml	0,0723	0,0699	0,0894
25µg/ml	0,0725	0,0622	0,2394
12,5µg/ml	0,0796	0,0729	0,0693

Annexe 2 : Absorbances des différentes concentrations de l'extrait de *Combretum glutinosum* Perr.ex DC.

:

	Absorbances		
Concentrations	C1b	C2b	C3b
200µg/ml	0,0826	0,0822	0,0859
100µg/ml	0,0636	0,0678	0,1080
50µg/ml	0,0799	0,0645	0,0602
25µg/ml	0,2271	0,4008	0,1988
12,5µg/ml	0,2729	0,3034	0,3317

Annexe 3 : Absorbances des différentes concentrations de l'extrait de *Combretum aculeatum* Vent.

	Absorbances		
Concentrations	C1c	C2c	C3c
200µg/ml	0,0946	0,0863	0,0853
100µg/ml	0,0647	0,0676	0,0607
50µg/ml	0,0537	0,0516	0,0561
25µg/ml	0,0477	0,0521	0,0470
12,5µg/ml	0,0550	0,0867	0,0788

Annexe 4 : absorbances des différentes concentrations de l'extrait de *Guiera senegalensis* J.F.Gmel.

	Absorbances		
Concentrations	C1d	C2d	C3d
200µg/ml	0,1128	0,1255	0,1255
100µg/ml	0,0825	0,0775	0,0785
50µg/ml	0,0660	0,0756	0,0707
25µg/ml	0,0685	0,0668	0,0678
12,5µg/ml	0,1185	0,0715	0,0880

Annexe 5 : Absorbances des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

	Absorbances		
Concentrations	C1e	C2e	C3e
12,5µg/ml	0,0313	0,0296	0,0312
6,25µg/ml	0,0413	0,0627	0,0441
3,12µg/ml	0,1587	0,1772	0,1665
1,56µg/ml	0,213	0,2067	0,2419
0,78µg/ml	0,3324	0,3357	0,3435

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :

Le Président du jury

Vu :

Le Doyen de.....

Vu et Permis d'imprimer

Pour le Recteur, Président de l'Assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar
et par délégation

Le Doyen