

LISTE DES ABREVIATIONS

AAPH :	2,2'-azobis-2-méthyl- propanimidamide, dichlorhydrate (radical peroxy libre stable)
ABTS :	2,2azinobis- (acide 3- ethylbenzothiazoline 6-sulfonique)
AcA :	acide ascorbique
Ach:	acetylcholine
ADN:	acide désoxyribonucléique
ADP-ribose :	adénosine diphosphate ribose
ALT :	alanine amino transférase
Ara:	arabinose
ARN :	acide ribonucléique
AST :	aspartate amino –transférase
CLHP:	chromatographie liquide haute performance
DL50 :	dose létale 50
DPPH :	1,1diphényl-2-picryl-hydrazyl
ECG :	électrocardiogramme
FA :	fraction aqueuse
FeCl3 :	chlorure ferrique
FH :	fraction hexanique
GGT:	gamma glutamyl transpeptidase
Glc:	Glucose
GSH-péroxydase :	glutathion peroxydase
HClO :	acide hypochloreux
HDL :	lipoprotéines de haute densité

HPSEC:	high pressure size exclusion chromatography
LDH :	lactate déshydrogénase
LDL :	lipoprotéines de faible densité
NAD⁺ :	forme oxydée du nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH :	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
ORAC :	Oxygen Radical Absorbance
o – TYR:	ortho-tyrosine
p- TYR:	para- Tyrosine
PHE :	phénylalanine
PI :	pourcentage d'inhibition
QT :	temps de systole ventriculaire
Quer :	quercétine
Rha :	rhamnose
RL :	radicaux libres
ROS :	réactive oxygen species (espèces réactives oxygénées)
SOD :	superoxyde dismutase
TEAC :	Trolox equivalent antioxydant capacity

LISTE DES FIGURES

Figure1: <i>Euphorbia balsamifera</i> (Euphorbiaceae).....	6
Figure2 : Tige fleurie de <i>Euphorbia hirta</i>	11
Figure 3 : Parties aériennes de <i>Euphorbia hirta</i>	11
Figure 4 : Feuilles et fruits de <i>Phyllanthus acidus</i>	18
Figure 5 : Feuilles de <i>Phyllanthus amarus</i>	22
Figure 6 : Système de détoxification des ROS.....	32
Figure 7 : Structure du radical 1,1-Diphényl-2-Picryl-Hydrazyl et de sa forme réduite.....	38
Figure 8 : Protocole d'obtention des différents extraits de drogue à tester.....	44
Figure 9 : Action de l'extrait éthanolique de <i>E. balsamifera</i> sur le dpph.....	47
Figure10 : Action de l'extrait éthanolique de <i>E. hirta</i> sur le dpph.....	48
Figure 11 : Action de l'extrait éthanolique de <i>P. acidus</i> sur le dpph.....	49
Figure 12 : Action de l'extrait éthanolique de <i>P. amarus</i> sur le dpph.....	50
Figure 13 : Action de l'extrait éthanolique de l'acide ascorbique sur le dpph...	51
Figure 14 : Evaluation du PI du DPPH par rapport aux produits testés.....	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Listes des plantes à étudier.....	42
Tableau II : Rendement des extraits éthanolique des différentes plantes	46
Tableau III : Pourcentage d'inhibition du DPPH (moyenne \pm écart type) par les différents produits testés.....	52

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I: PRESENTATION DES <i>EUPHORBIACEAE</i>	5
I.1. EUPHORBIA BALSAMIFERA	5
I.1.1.Nomenclature	5
I.1.2. Description botanique	5
I.1.3.Répartition géographique.....	6
I.1.4. Etudes réalisées sur la chimie	7
I.1.5. Etudes réalisées sur la pharmacologie	7
I.1. 6. Emplois	8
I.1.7. Etudes sur la toxicité.....	9
I.2. EUPHORBIA HIRTTA	10
I.2.1.Nomenclature.....	10
I.2.2. Description botanique	10
I.2.3.Répartition géographique.....	12
I.2.4. Etudes réalisées sur la chimie	12
I.2.5. Etudes réalisées sur la pharmacologie	13
I.2. 6. Emplois	15
I.2.7. Etudes sur la toxicité.....	16
I.3.PHYLLANTHUS ACIDUS.....	17
I.3.1.Nomenclature	17
I.3.2. Description botanique	17
I.3.3.Répartition géographique.....	18
I.3.4. Etudes réalisées sur la chimie	19
I.3.5. Etudes réalisées sur la pharmacologie	19
I.3. 6. Emplois	20
I.3.7. Etudes sur la toxicité.....	21
I.4.PHYLLANTHUS AMARUS	21

I.4.1.Nomenclature	21
I.4.2. Description botanique	21
I.4.3.Répartition géographique.....	22
I.4.4. Etudes réalisées sur la chimie	23
I.4.5. Etudes réalisées sur la pharmacologie	24
I.4. 6. Emplois	25
I.4.7. Etudes sur la toxicité.....	27
CHAPITRE II : RAPPELS SUR LES RADICAUX LIBRES (RL)	28
II.1.TOXICITE DES RADICAUX LIBRES	28
II.1.2. Action sur les acides nucléiques	29
II.1.3. Action sur les lipides	29
II.2. CONSEQUENCES DU STRESS OXYDANT SUR L'ORGANISME	30
II.3. SYSTEME DE PROTECTION CONTRE LES RADICAUX LIBRES	31
II.3.1. Les moyens de défense endogènes	31
II.3.1.1.Les systèmes enzymatiques	31
II.3.1.2. Les systèmes non enzymatiques	32
II.3.2. Les moyens de défense exogènes	33
CHAPITRE III : LES DIFFERENTES METHODES D'ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE	35
III.1. LE TEST ABTS (2,2' azinobis-acide 3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonique)	36
III.2. LE TEST DPPH (1, 1 diphényl-2-picryl-hydrazyl)	36
III.3. LE TEST ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)	38
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	41
I.1. MATERIEL ET REACTIFS	41
I.1.1. Matériel végétal	41
I.1.2. Matériels de laboratoire	42

I-1-3. Réactifs	42
I.2. METHODES D'ETUDES	43
I.2.1.Obtention de l'extrait éthanolique des différentes plantes	43
I.2.2. Activité antioxydante	45
I.2.2.1. Protocole opératoire de la méthode au DPPH	45
I.2.2.2.Expressions des résultats et analyses statistiques	45
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	46
II.1. RESULTATS	46
II.1.1.Extraction.....	46
II.1.2.Activité antioxydante.....	46
II.1.2.1. Activité antioxydante de <i>Euphorbia balsamifera</i>	46
II.1.2.2. Activité antioxydante de <i>Euphorbia hirta</i>	47
II.1.2.3. Activité antioxydante de <i>Phyllanthus acidus</i>	48
II.1.2.4. Activité antioxydante de <i>Phyllanthus amarus</i>	49
II.1.2.5. Activité antioxydante de l'acide ascorbique	50
II.2.DISCUSSION	54
II.2.1.Extraction	54
II.2.2 Activité antioxydante	55
CONCLUSION	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	63

INTRODUCTION

Aujourd'hui on ne peut parler de la santé en Afrique sans traiter des plantes médicinales. La phytothérapie occupe, en effet, une place très importante dans les soins de santé, particulièrement en milieux ruraux. Chaque communauté possède, plus ou moins, sa propre pharmacopée et dispose de ses propres guérisseurs. Dans certains pays d'Asie et d'Afrique, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires (Encyclopédie médicale de l'Afrique, 1986). L'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. En effet, beaucoup de plantes ont montré des effets notables sur le stress oxydant produit par les radicaux libres.

Les radicaux libres sont des molécules instables et incomplètes qui peuvent se retrouver dans l'organisme et qui tentent de s'accoupler à des éléments de nos propres cellules afin de se compléter. Dans l'opération, ils détruisent alors des cellules saines. Les radicaux libres entraînent des dommages à notre organisme un peu comme la rouille sur le métal d'une automobile. La première source de radicaux libres est tout à fait normale et naturelle. Elle est produite par l'activité même de nos cellules, soit la respiration tissulaire. En effet, chaque fois que l'on respire, l'utilisation de l'oxygène par l'organisme entraîne la formation de radicaux libres. Si les radicaux libres sont indispensables au bon fonctionnement de notre corps, ils peuvent également être nuisibles s'ils sont fabriqués en trop grande quantité. Ils provoquent alors une détérioration des cellules : ils abiment les lipides et les membranes des cellules, et altèrent la communication intercellulaire. Cela peut aussi créer des lésions au niveau de l'ADN des cellules et donc de leur patrimoine génétique. Lorsque la production de radicaux libres devient trop grande, nos réserves d'antioxydants peuvent devenir insuffisantes pour neutraliser l'effet néfaste de l'oxydation des radicaux libres sur nos tissus et cellules. D'après les recherches scientifiques, les radicaux libres seraient impliqués dans l'apparition de nombreuses maladies telles que: l'arthrite, les taches sur la peau, l'asthme, le cancer, les maladies

cardiaques, la cataracte, les troubles articulaires, les maladies dégénératives comme la sclérose en plaques, la maladie d'Alzheimer et l'athérosclérose.

De plus, en entraînant une détérioration graduelle des cellules, les radicaux libres seraient les premiers responsables du vieillissement prématuré.

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres. En effet, un lien évident entre une plus grande consommation d'antioxydants et une plus faible incidence des maladies citées précédemment a été établi. La consommation d'antioxydants naturels notamment ceux issus des plantes pourrait diminuer ces dégâts. Notre étude va essentiellement porter sur la recherche quantitative de l'activité antioxydante de quatre Euphorbiacées de la flore sénégalaise qui constituent une famille tropicale et subtropicale, représentée au Sénégal par plus de 25 genres dont une quinzaine d'*Euphorbia* et une dizaine de *Phyllanthus*. Nous nous intéresserons particulièrement à *Euphorbia balsamifera* (écorces de la tige), à *Euphorbia hirta* (parties aériennes), à *Phyllanthus acidus* (feuilles) et à *Phyllanthus amarus* (parties aériennes).

Ainsi notre étude comprendra essentiellement deux grandes parties :

- **Une première partie** portant sur une **étude bibliographique** consacrée à l'étude ethnobotanique des 4 plantes, aux généralités sur les radicaux libres et les méthodes d'étude de l'activité antioxydante.
- **Une deuxième partie** portant sur une **étude expérimentale** de l'activité antioxydante des quatre Euphorbiacées par la méthode du dpsh (1,1diphényl-2-picryl-hydrazyl).

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: PRESENTATION DES EUPHORBIACEAE

I-1- *Euphorbia balsamifera* Linn (*Euphorbiaceae*)

I-1-1- Nomenclature

- Synonyme : *Euphorbia rogeri* N.E.Br Ic.
- Noms vernaculaires :
 - Mandingue : salan
 - Peul : batukary, badékarey
 - Sérère : ndamol, ndamul
 - Wolof : salane
 - Français : Euphorbe du Cayor, Euphorbe Porte Baume.

I-1-2- Description botanique

► **Le Port:** *Euphorbia balsamifera* illustré par la figure 1, est un arbuste à latex blanc, pouvant atteindre 2 mètres de hauteur. De nombreux rameaux gris argenté, donnant un aspect évasé, partent de la base. L'écorce est mince et lisse. Les rameaux, épais et charnus, laissent couler un latex blanc abondant quand on les coupe.

► **Les Feuilles:** elles sont dépourvues de pétioles, apparaissent pendant 2 à 4 mois en hivernage. Elles sont en rosettes terminales, alternes, sensibles, allongées et spatulées. Plusieurs petits limbes vert glauque, linéaires, se groupent à l'extrémité des rameaux.

► **La Fleur:** elle est vert-jaunâtre, se tenant à l'extrémité des rameaux après la chute des feuilles ou en saison sèche. Le bouton floral orné de quelques glandes est entouré de 6 bractées formant comme une corolle.

► **Le Fruit:** c'est une capsule globuleuse finement poilue, divisée en 3 lobes, verdâtre, sphérique, de 7 à 10 mm de diamètre (Encyclopédie médicale de l'Afrique, 1986).



Figure 1: *Euphorbia balsamifera* (Euphorbiaceae).

I-1-3- Répartition géographique

Cet arbuste serait originaire des Iles Canaries, mais on le trouve au Mali, en Mauritanie, au Sénégal, au Niger, au Nigéria, en Guinée, au Gabon, au Tchad et au Congo. Il est fréquemment rencontré comme haie vive délimitant les champs et parfois en individu isolé dans les terres sablonneuses. Au Sénégal, nous le retrouvons dans les dunes sablonneuses du littoral atlantique entre Dakar et Saint Louis, le long de la ligne du chemin de fer. Il sert à stabiliser le sol (Kerharo, 1973).

I-1-4- Etudes sur la chimie

Le latex est un mélange de deux phases liquides nuisibles :

- **Une phase dispersante:** l'eau qui contient des substances dissoutes comme les sels minéraux, les alcaloïdes.
- **Une phase dispersée** contenant:

- Une émulsion des lipides (cérides et stérides) et des gouttelettes de caoutchouc (polyisoprènes).
- En suspension des grains d'amidon. On cueille le latex par saignée.

Le latex contient : 83,6% de résine ; 11,8% de substance caoutchouteuse et 4,5% de substances hydrosolubles. Trois alcools triterpéniques de même formule globale $C_{29}H_{46}CH_3OH$ ont été extraits de la résine de latex : le germanicol ou isolupéol, le lanostérol (ou lanostadiénol, cryptostérine, isocholestine) et le cycloarténol (ou artosténol, handianol). Par saponification du latex a été obtenue une résine qui laisse cristalliser un produit de formule brute $C_{36}H_{56}O_2$, H_2O , lequel à son tour fournit par saponification le germanicol et un acide (Kerharo, 1973).

D'après des études réalisées par Gueye (2010), les écorces de tige de *Euphorbia balsamifera* contiennent des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des hétérosides cardiotoniques.

I-1-5- Etude sur la pharmacologie

La toxicité du latex est controversée mais sans aucune base scientifique. Au point de vue thérapeutique, son emploi comme antiseptique et cicatrisant paraît justifié, car il est connu que les résines végétales naturelles à triterpénoïdes sont dotées d'excellentes propriétés cicatrisantes. Quoique le germanicol soit le triterpénoïde dominant de la résine, signalons que le lanostérol possède une certaine action anti-cholestérolémique (Kerharo, 1973).

Rau et *al.* (2006) ont montré une possible utilisation de *Euphorbia balsamifera* comme antidiabétique.

Une étude réalisée par Yam et *al.* (1997) a montré que *Euphorbia balsamifera* peut être utilisé comme antalgique dans le traitement de la pulpite aiguë dentaire.

I-1-6- Emplois

E. balsamifera est très employé dans toute la zone sahélienne du Sénégal, en Médecine Populaire comme antiseptique et cicatrisant externe, et aussi comme drogue agissant sur l'intestin et les organes du bassin.

Les Peuls et Toucouleurs l'emploient comme purgatif drastique (macéré aqueux de préparation extemporanée d'écorces et de racines pilées, en boisson le matin à jeun). Ils le prescrivent aussi comme antivenimeux en usage externe.

En pays wolof et sérère, il est surtout considéré comme purgatif de dérivation, d'où la présence fréquente des racines dans les préparations antilépreuses, antisypilitiques et même antigonococciques. Pour la syphilis, le traitement interne est complété par un traitement externe consistant en des bains et des lavages avec un décocté à base de tiges de *Euphorbia balsamifera* et de parties aériennes de *Momordica charantia*. Le décocté de racine est prescrit seul comme parasiticide intestinal et la poudre de feuilles et de racines, associée généralement à des organes d'autres espèces actives, telles que *Tinospora bakis*, *Trichilia roka* constitue un contre poison. Sur les marchés de Dakar, les rameaux sont vendus comme vermifuge et la racine comme anti blennorragique (Kerharo, 1973).

En usage alimentaire, les rameaux jeunes et les jeunes feuilles sont consommés bouillis pour les enfants en période de famine.

Le latex est toxique et dangereux pour les yeux. Il est utilisé à des fins criminelles et aussi comme poison de pêche et de chasse. Il est aussi employé comme piège à oiseaux, à criquets ou papier tue-mouches.

Le latex est galactogène et sert également à faire tomber les dents malades (Arbonnier, 2000).

La poudre d'écorce de tige malaxée avec le beurre de karité, est appliquée en pommade sur le corps en cas de fièvre (Adjanohoun et al., 1986).

La décoction des rameaux que l'on laisse tiédir entre dans la préparation d'un bain destiné à faciliter le flux menstruel et à réduire les pertes blanches (Encyclopédie médicale de l'Afrique ,1986).

I-1-7- Etudes sur la toxicité

C'est une plante toxique ; le latex est particulièrement dangereux pour les yeux et les parties génitales. Son usage interne est déconseillé (Encyclopédie médicale de l'Afrique ,1986).

I-2- *Euphorbia hirta* Linn (*Euphorbiaceae*)

I-2-1- Nomenclature

- Synonymes : *Euphorbia pilulifera* L (Berhaut ,1979)
- Noms vernaculaires :
 - Bambara : daba, demba
 - Poular : takanpolé
 - Sérère : mbal fooy, dad ondis
 - Wolof : mbal
 - Français : mal nommée

I-2-2- Description botanique

► **Le Port** : *Euphorbia hirta* illustrée par les figures 2 et 3 est une plante herbacée, annuelle ou semi-vivace, à tiges cylindriques, semi-dressées simples ou couchées, ramifiées dès la base, atteignant 40 cm de haut, pubescentes avec également des poils plus grands étalés, jaunâtres, dorés. La tige recèle un latex blanc. La tige principale est courte, et les tiges secondaires présentent des renflements au niveau des nœuds.

► **Les Feuilles**: elles sont opposées, dentées, pubescentes et de couleur vert rougeâtre. Le limbe est elliptique à la base, arrondi d'un côté, cuné de l'autre et au sommet pointu (Encyclopédie médicale de l'Afrique, 1986).

► **Les Fleurs:** elles sont jaunâtres, sous formes de glomérules, axillaires et terminales. L'inflorescence terminale est sub-sessile, portant 4 petites glandes pétaloïdes blanchâtres. L'ovaire trigone, pédicellé, émerge du centre (Fortin et *al.*, 2000).

► **Le Fruit:** c'est une capsule globuleuse, pubescente pouvant atteindre 1 mm de large, d'abord rouge sur la plante fraîche puis verte sur la plante sèche. Le fruit est composé de trois coques comprimées, couvertes de poils et renfermant chacune de petites graines rouges.



Figure 2 : Tige fleurie de *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae).



Figure 3 : Parties aériennes de *Euphorbia hirta* (L) (*Euphorbiaceae*).

I-2-3- Répartition géographique

Cette plante est originaire d’Australie. Elle est largement répandue dans les régions tropicales de l’Asie (Chine, Inde Occidentale), de l’Afrique et de l’Amérique du Sud. En Afrique, elle est largement distribuée notamment dans les îles du Cap-Vert, au Mali, au Burkina-Faso, en Côte d’Ivoire, au Bénin, au Nigeria. Au Sénégal, on la retrouve sur toute l’étendue du territoire depuis la vallée du fleuve Sénégal jusqu’en Casamance, en passant par les régions du Centre (Encyclopédie médicale de l’Afrique, 1986).

I-2-4- Travaux sur la chimie

Kerharo (1973) a rapporté la présence, dans la plante entière, des substances banales comme une gomme résine, de la cire, de l’oxalate de calcium, des sucres, un mucilage, une résine, des substances volatiles, les acides mélistique, palmitique, oléique, linoléique, des traces d’alcool cérylique, une

huile essentielle, les acides malique (en quantités notables) et succinique (en petites quantités).

Power et Browning (1913) ont mis en évidence la présence de quercétine dans la plante entière. Par la suite, Ueda et Hsu (1949) obtiennent à partir de 1,6 kg de l'espèce formosane 9,5 g d'un alcaloïde identifié à la xanthorhamnine. Hallet et Parkes isolent en 1951 la quercitrine ou quercétine-3-rhamnoside et le l-inositol (0,5% dans le latex).

Au Japon, Takemoto et Inagati (1958) mettent en évidence deux substances triterpéniques : le taraxérol (ou alnuline, skimmiol, tiliadine) et la taraxérone (ou protalnuline, skimmone).

Les premières études sur les tanins de *Euphorbia hirta* Linn remontent en 1964, date à laquelle Ridet et Chartol ont mis en évidence la présence de tanins pyrogalliques avec une teneur estimée à 2,30 g/kg. Gupta et *al.* (1966) ont caractérisé dans les extraits de tige le taraxérol, le friédéline, le β -sistostérol, l'alcool myricillique, l'acide ellagique et l'hentriacontane. Les extraits de fleurs révèlent seulement la présence d'acide ellagique.

Par la suite, De Sacqui-sannes (1971) isole des tanins galliques et catéchiques à l'état de traces dans les parties aériennes de *E hirta*. Parmi les acides phénols identifiés, figurent les acides galliques et ellagique, chlorogénique, caféique.

Ensuite, d'autres composés furent isolés par Blanc et De Sacqui-sannes (1972) : le leucocyanidol, le quercétol, le camphre et un dérivé de l'aquercitol contenant un groupe rhamnosique.

Chen et *al.* (1991) ont isolé six composés à partir des feuilles de *Euphorbia hirta*. Ces composés ont été identifiés comme étant l'acide gallique, la quercitrine, la myricitrine, l'acide 3,4-di-o-galloylquinique, le 2,4,6-tri-o-galloyl-D-glucose et le 1,2,3,4,6-penta-o-galloyl-bêta-D-glucose.

On note aussi la présence de diterpènes, des leuco-anthocyanes, des anthocyanosides qui sont la cyanidine 3,5-diglucoside et la pélargonidine-3,5-diglucoside, de l'euphorbine A et B.

I-2-5- Etude sur la pharmacologie

Power et Browing (1913) ont isolé pour la première fois un principe antispasmodique. L'acide shikimique et la choline sont doués de propriétés respectivement relaxante et contracturante sur l'iléon de cobaye.

L'efficacité de l'extrait hydro-alcoolique de *Euphorbia hirta* dans le traitement de l'amibiase intestinale est confirmée par deux études citées par Gueye (1995).

On note une activité anti amibienne *in vitro* sur *Entamoeba histolytica* et sur *Amoeba proteus* et une activité anti bactérienne sur *Shigella Shiga*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Molesh et *al.* considèrent le gallate d'éthyle, isolé et identifié à partir de l'extrait alcoolique des feuilles, comme principe antibactérien actif sur les germes Gram positif et négatif. Cette activité est estimée à un tiers de celle de l'Ampicilline.

Galvez et *al.* (1993) ont montré que la quercetrine ou quercetol, extraite de *Euphorbia hirta* augmente l'absorption des fluides au niveau du colon de la souris, même en présence de substances sécrétagogues comme les prostaglandines E2 ou le picosulfate de sodium.

L'activité anti diarrhéique a été étudiée chez un groupe d'enfants par Sy (2000). Elle a observé qu'il n'y avait pas de modifications du transit intestinal dans les conditions physiologiques normales. Le transit intestinal ralentit lorsque la diarrhée est provoquée par l'huile de ricin et par perturbations du transport des électrolytes et de l'eau.

Lanthers et *al.* (1991) ont montré que l'effet analgésique d'un extrait de *Euphorbia hirta* dosé à 50 g/kg est semblable à celui obtenu avec le sulfate de

morphine dosé à 1,15 mg/kg. Les propriétés antipyrétiques ont été obtenues à des doses supérieures à 100 mg/kg.

Selon les mêmes auteurs, l'extrait est efficace à forte dose dans le traitement du processus inflammatoire. Cette propriété est confirmée par Faye (1994), à l'issue d'une étude effectuée sur le rat et la souris.

D'après les travaux de M'efoua (2005), la décoction de poudre de plantes entières de *Euphorbia hirta* possède un effet gastroprotecteur. En effet le traitement des ulcérations gastriques avec le décocté à la concentration de 60 g/L a entraîné la cicatrisation complète des lésions ulcératives au bout de 10 jours. Cet effet est semblable à celle de la ranitidine à 4,3 mg/kg/jour

Des études menées par Hu et *al.* (2007) a conduit à l'isolement de l'afzéline, de la quercitrine et de la myricitrine isolés à partir de la fraction méthanolique extraite des parties aériennes de *Euphorbia hirta* Linn. Ces trois composés inhibent la prolifération de *Plasmodium falciparum* avec, respectivement, des valeurs de CL50 de 1,1-4,1- 5,4 µg /ml.

Gyuris et *al.* (2009) ont établi que l'extrait aqueux inhibe de manière dose-dépendante, l'activité de la transcriptase reverse de trois virus (VIH1, HIV2 et SIV). Ces mêmes études ont montré que l'extrait méthanolique exerce un effet antirétroviral plus élevé que celui de l'extrait aqueux.

De Saqui-sannes (1971), après des essais réalisés sur le pigeon, a confirmé l'action galactagogue. Il fait mention de l'inhibition totale de la croissance de *Trichomonas vaginalis* en culture par l'extrait aqueux de la plante.

I-2-6- Emplois

La mal nommée est réputée pour trois actions principales que l'on retrouve dans tous les pays tropicaux : antidiarrhéique, antiamibien et antiasthmatique. Les propriétés anti-diarrhéiques et amoebicides de *Euphorbia hirta* sont largement mises à profit dans diverses contrées africaines. Au Sénégal, les guérisseurs Toucouleurs et Wolofs emploient le décocté de la plante

entière pour traiter les diarrhées de l'adulte, les coliques et les diarrhées des enfants et des nourrissons. Pour les bébés, on recommande un macéré de 3 heures environ dans du lait, la dose étant alors d'une cuillerée à café, en prises renouvelées, selon la réaction de l'enfant (Kerharo, 1973).

Pour se débarrasser des amibes il suffit de boire 3 jours de suite une décoction de 100 grammes de plante dans de l'eau. Aucune intolérance n'a été observée (Encyclopédie médicale de l'Afrique ,1986).

Parmi les plantes les plus utilisées dans les cas de diarrhées, *Euphorbia hirta* occupe une place de choix. En effet, introduite en Europe comme médicament antiasthmatique, elle fut réintroduite après 1914 dans diverses pharmacopées traditionnelles d'Asie, d'Afrique et du Moyen Orient pour ses propriétés anti-dysentériques et anti-diarrhéiques (Sy, 2002).

Au Bénin, le décocté de la plante entière aurait donné de bons résultats dans le traitement des candidoses. La plante est aussi utilisée en toilette intime dans les cas de métrorragies.

Au Nigeria, au Ghana, en Côte d'Ivoire et à Madagascar, *Euphorbia hirta* est employé pour ses effets laxatifs et purgatifs.

Euphorbia hirta est utilisé dans le traitement de diverses affections respiratoires comme l'asthme, la coqueluche, la toux, la bronchite, l'hémoptysie. En Australie, il est utilisé dans les affections respiratoires telles que l'asthme, la bronchite et la toux. Au Zaïre il est employé dans le traitement des maladies vénériennes.

Ses usages comme galactagogues sont souvent mis à profit, ainsi que ses indications contre la blennorragie. *Euphorbia hirta* est également employée en usage externe contre les affections de la peau et des muqueuses. Le latex est utilisé en application externe comme antidote de poison de flèche. Les

Toucouleurs et les Wolofs emploient aussi le latex en application externe comme antiseptique et pour traiter les plaies.

Le latex est utilisé pour soigner la gale, les aphtes, diverses affections cutanées telles que les cors ou les verrues, certaines formes de tuméfactions, notamment au niveau de la gorge ou des bras. John et *al.* (1999) ont montré que les extraits aqueux et alcoolique de *Euphorbia hirta* présentent un effet diurétique, dose dépendant chez le rat. Cet effet est semblable à celui d'un diurétique de référence, l'acétazolamine. Par contre, l'extrait alcoolique induit seulement une excrétion urinaire des bicarbonates.

En Afrique de l'Est, l'infusion des feuilles est donnée aux chèvres, brebis et vaches pour augmenter leur lactation. Les jeunes filles balaka du Malawi utilisent le latex pour développer leur poitrine (Kokwaro, 1976).

En République Centrafricaine, *E. hirta* s'emploie comme aphrodisiaque et antihelminthique.

I-2-7- Etude sur la toxicité

Selon Galvez et al (1993), la DL50 par voie orale est supérieure à 6 g/kg.

Hazleton et Hallerman (1948) ont étudié la toxicité. Par voie orale, l'extrait est pratiquement dépourvu de toxicité et peut être ajouté régulièrement au régime alimentaire normal du rat, à la dose de 5%, sans provoquer d'intolérance ni de phénomènes toxiques. Par voie intraveineuse la DL50 chez le rat est de 7ml/kg.

Il faut 1g de plante pour tuer par voie intra péritonéale une souris de 30g.

I-3- *Phyllanthus acidus* Linn

I-3-1- Nomenclature

- Synonyme : *Phyllanthus distichus* (L) Müll. Arg.
- Non vernaculaires :
 - Créole, Portugais : azedina
 - Français : cerisier de Tahiti, surette de la Martinique, girembellier

I-3-2 Description botanique

► **Le Port:** *Phyllanthus acidus* est un arbre fruitier tropical, haut de 1 à 3 m. Cet arbre fruitier possède un port ornemental.

► **Les Feuilles:** elles sont alternes, paraissant imparipennées, le rachis ayant des folioles alternes et une foliole terminale. Les feuilles glabres, sont plutôt condensées au sommet des rameaux. Les feuilles de girembellier, longues de 15 à 30 cm, sont persistantes, caduques, verdâtres, avec des pétioles courts et pointus. Elles sont relativement rapprochées les unes des autres.

► **Les Fleurs:** les fleurs mâles sont en petits glomérules sub- sessiles sur le racème. Les fleurs femelles sont isolées sur le racème et pédicellées. Cet arbre produit de très nombreuses petites fleurs de couleur rose, rassemblées en grappes de 5 à 12,5 cm de long. Un même individu produit à la fois des fleurs mâles et femelles.

► **Les fruits:** ils sont nombreux, aplatis aux pôles, avec 6 à 8 côtes, d'environ 1,5 à 2,5 cm de diamètre. Ils sont de couleur blanc-jaune et sa peau présente une apparence cireuse. C'est un fruit juteux et très acide, qui est plutôt consommé une fois cuit ou encore groseille étoilée, placé en conserves. Le jus du fruit est également très utilisé pour préparer des sauces.



Figure 4: feuilles et fruits de *Phyllanthus acidus* (Euphorbiacées).

I-3-3- Répartition géographique

Cet arbuste originaire de l'Asie et de la Malaisie, a été introduit en Afrique où il est apprécié pour ses nombreux petits fruits comestibles (Berhaut, 1979). Cet arbre est maintenant cultivé dans de nombreuses régions tropicales (et quelques zones subtropicales comme en Floride). Cette espèce tropicale ou subtropicale a d'abord germé à Madagascar. Il a été constaté dans d'autres parties de l'Asie du Sud. Selon Eduardo, il a été introduit aux Philippines à l'époque préhistorique. Il s'est répandu dans l'océan Indien à la Réunion et l'île Maurice et la traversée du Pacifique à Hawaï. L'arbre est commun à Guam, en Indonésie (où il est appelé ceremai ou Cerama), au Sud-Vietnam (appelé CHUM Ruot), au Laos, en Malaisie du Nord (appelé CERME et chermai) et en Inde (appelé chalmeri et harpharoi). Aux États-Unis, il se trouve à Hawaii, et parfois

dans les régions du sud de la Floride. On le rencontre en Équateur, au Salvador, au Mexique, en Colombie, au Venezuela, au Surinam, au Pérou et au Brésil.

I-3-4- Etude sur la chimie

L'écorce des racines contient des saponines, de l'acide gallique et des tanins.

Sengupta et *al.* (1966) ont décrit la présence dans l'écorce de *Phyllanthus*, de triterpénoïdes pentacycliques, du phyllanthol, et de l'oléane-12ène-3β-ol (β-amyrine). Adénosine, l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide caféique, l'acide hypogallique, et le kaempférol ont été isolés à partir de l'extrait de feuilles de *P. acidus*.

D'après des études effectuées par Gueye (2010), les feuilles de *Phyllanthus acidus* contiennent des flavonoïdes, des tanins et des saponosides.

Nous n'avons pas trouvé d'études détaillées récentes sur la chimie de *Phyllanthus acidus* lors des recherches bibliographiques que nous avons effectuées.

I-3-5- Etude sur la pharmacologie

Le latex de *Phyllanthus acidus* est accrédité d'activité émétique et purgative. La prise de *Phyllanthus acidus* corrige le transport d'électrolyte défectueux dans les voies aériennes, parallèlement aux mécanismes qui augmentent les niveaux intracellulaires de l'AMPc et du Calcium. Ceci entraînant l'activation des canaux calciques (Sousa et *al.*, 2007).

Selon Melendez et *al.* (2006), *Phyllanthus acidus* possède une forte activité antibactérienne *in vitro* sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

D'après les travaux de Lee et *al.* (2006), *Phyllanthus acidus* est doué d'effets hépatoprotecteur et antioxydant. L'effet hépatoprotecteur de *P. acidus* contre les dommages oxydatifs induits par le tétrachlorure de carbone peut être

lié à ses propriétés antioxydantes et antiradicalaires libres potentiels (Srirama et *al.*, 2012 ; Jain et *al.*, 2011).

Senapati et *al.* (2011) ont étudié l'activité antipyrétique de *Phyllanthus acidus*. Parmi les 17 espèces de *Phyllanthus* étudiées, seules 7 espèces dont *Phyllanthus acidus*, possèdent une activité antipyrétique.

D'après les études réalisées par Leeya et *al.* (2010), l'extrait des feuilles de *P. acidus* a provoqué une diminution de la pression artérielle des rats anesthésiés qui n'a pas été modifiée par l'atropine ou le propranolol.

Sousa et *al.* (2007) ont montré que *P. acidus* corrige le transport défectueux des électrolytes dans les fibroses kystiques des voies aériennes par des mécanismes parallèles.

I-3-6 Emplois

Phyllanthus acidus a été largement utilisé en médecine traditionnelle comme antipyrétique, diurétique, et pour traiter les maladies du foie et des infections virales. Les feuilles sont employées, avec du poivre, en cataplasme contre le lumbago et la sciatique. Elles sont également employées, en infusion, comme sudorifique dans le traitement des affections rhumatismales.

Le suc laiteux qui découle de la plante est vomitif et purgatif, celui de l'écorce de la racine serait toxique. Les fruits sont comestibles, même avant maturité. On peut les consommer crus ou après cuisson.

A l'Hôpital Traditionnel de Keur Massar, *Phyllanthus acidus* occupe une place importante dans les préparations. En association avec d'autres plantes, on lui reconnaît un effet catalyseur. On utilise ses fruits et ses feuilles. C'est un excellent dépuratif qui explique son action efficace contre l'asthme et dans les cures d'amaigrissement, sans oublier sa richesse en vitamine C. Il est tout aussi utile comme cicatrisant (aphtes, dermatoses) et contre la fièvre (Ba, 2011).

I-3-7- Etude sur la toxicité

D'après des études réalisées par Sousa et *al.* (2007) chez la souris, aucun effet cytotoxique n'a été détecté.

I-4- *Phyllanthus amarus* (SCHUM. et THONN.)

I-4-1- Nomenclature

- Synonymie *Phyllanthus niruri* Swartz
- Noms vernaculaires :
 - Peul : Lébèl
 - Wolof : Ngégian, Ngèt Sal
 - Français : herbe au chagrin, casse-pierre, petit tamarin blanc.

I-4-2- Description botanique

► **Le Port** : *Phyllanthus amarus* illustré par la figure 5 est une petite herbe annuelle, glabre, autochtone du bassin de l'Amazonie, haute de 40 à 50 cm. Le port est dressé. La Tige est parfois un peu ramifiée vers le sommet, unie mais finement rainurée longitudinalement. Les jeunes branches sont légèrement ailées (Kerharo, 1973).

► **Les Feuilles**: elles sont alternes, simples, sub-sessiles et glabres. La base du pétiole est encadrée de deux stipules filiformes très réduites (Berhaut, 1979). Elles sont oblongues, elliptiques ou ovoïdes, arrondies aux deux extrémités, distiques, de 10 sur 4 mm, de couleur vert pâle.

► **Les Fleurs**: elles sont verdâtres, petites, insérées sur les rameaux à l'aisselle des feuilles. Elles sont unisexuées, solitaires et à six sépales. Les fleurs mâles sont à la base de la tige alors que les femelles sont vers le sommet. Le disque de la fleur femelle est profondément denté (Kerharo, 1973).

► **Le fruit**: c'est une capsule déhiscente glabre, triloculaire de 2 mm de diamètre.



Figure 5: Feuilles de *Phyllanthus amarus* (Schum. et Thonn.) (*Euphorbiaceae*).

I-4-3- Répartition géographique

Cette plante est originaire d'Amazonie, de la Chine, du Sud de l'Inde et des Bahamas. Elle pousse de manière sauvage un peu partout notamment dans les forêts tropicales humides, comme en Argentine, au Pérou, au Texas et en Amérique. C'est une espèce très répandue dans toutes les îles de l'océan indien (Schmelyer et Gurib Fakin, 2008).

En Afrique tropicale, elle est présente dans la plupart des pays. Elle est assez fréquente en Casamance et dans les sols frais des autres régions du Sénégal, rare ailleurs, sauf parfois autour des villages dans les sols organiques Kerharo (1973).

I-4-4- Etudes réalisées sur la chimie

Plusieurs composés biologiquement actifs ont été identifiés à partir de cette espèce. La première étude chimique concernant cette espèce fut réalisée en

1891 par Ottow qui isola dans les feuilles une substance amère dénommée phyllanthine, retrouvée par Pekolt en 1905.

Attendoli étudie la teneur en potassium en 1936. En 1944, les recherches de Martin Serra aboutissent à des résultats négatifs concernant la présence de quinine et autres alcaloïdes, mais Loustalot et Pagan signalent en 1949 la présence d'alcaloïdes dans les feuilles et les tiges (Kerharo, 1973).

On note la présence de tanins avec des tanins hydrolysables (l'amariline, l'acide amarilinique, l'amalurone) et des tanins condensés. Ogata et *al.* (1992) isolèrent l'acide répandusinique.

Des flavonoïdes tels que la quercétine, la quercétrine, la rutine ont été mis en évidence par Londhe et *al.* (2009). On note aussi la présence d'astragaline, de nirurine, de flavone-5-o-rutinoside, de quercetol et de niruriflavone.

La plante renferme également des terpènes : le limonène, le p-cymène, le lueol, des coumarins et le méthylbrevifolicarboxylate).

Des alcaloïdes de type pyrrolizidine ont été identifiés: ce sont la securinine, la dihydrosecurinine, la securinol-B, la phyllanthine l'allosecurine, la norsecurine. Trois autres alcaloïdes, à savoir le 4-méthoxy dihydrosecurine, le 4-méthoxytetrahydrosecurine et le 4-hydrosecurine sont également représentés dans la plante (Bagalkotkar et *al.*, 2006).

Les lignanes représentés par la phyllanthine, l'hypophyllanthine, la nirurine, l'aryltetrahydronaphtalène (Islam et *al.*, 2008 ; Sing et *al.*, 2009), la niranthane, la nirtétraline, la phyltétraline, et la lintétraline (Satyanarayana et Venkateswalu, 1991) ont aussi été identifiés dans la plante entière.

I-4-5- Etudes réalisées sur la pharmacologie

L'extrait de la plante entière est actif sur l'iléon de cobaye et montre chez la souris une activité anticancéreuse vis-à-vis du virus de la leucémie de Friend (Kerharo, 1973).

Chirdchupunseree et Pramyothin (2010) ont montré que la phyllanthine, principal constituant de *Phyllanthus amarus* (Schum. et Thonn.) a un effet hépatoprotecteur sur les lésions induites par l'éthanol sur les cellules hépatiques du rat.

Selon Pousset (2008) avec 3 fois 200 mg de poudre de *P. amarus* par jour pendant 3 mois, on peut guérir d'une hépatite chronique.

L'activité antidiabétique des extraits aqueux des feuilles et graines de *Phyllanthus amarus* a été étudiée chez les souris. Les extraits ont été administrés *per os* aux doses de 150, 300 et 600 mg/kg. L'expérience a montré une baisse de la glycémie et de la cholestérolémie chez les souris (Gormley et *al.*, 1996).

En Inde, Ramakrishnan a constaté, en administrant par voie orale à des lapins des extraits aqueux de feuilles séchées au soleil, un effet hypoglycémiant comparable à celui obtenu avec la tolbutamine. Selon Karuna et *al.* (2011) les propriétés antidiabétique, hypolipémiante et antioxydante de *P. amarus* pourrait faire de cette espèce un médicament à base de plantes pour le traitement potentiel du diabète et des problèmes rénaux.

L'évaluation de l'effet des extraits aqueux et éthanolique de *P. amarus* a montré que ces extraits possèdent une activité anti-mycobactérienne marquée sur la croissance *in vitro* de *Mycobacterium ulcerans*. *P. amarus* contiendrait donc une substance inhibitrice de la croissance de *M. ulcerans*. Cette étude confirme l'utilisation traditionnelle de cette plante dans le traitement de la tuberculose, de l'ulcère de Buruli et de plusieurs autres pathologies (Coulibaly et *al.*, 2011).

D'après des études réalisées par Kiemer et *al.* (2003), l'extrait éthanolique de *P. amarus* possède un potentiel anti-inflammatoire.

L'extrait méthanolique de *Phyllanthus amarus* inhibe certaines souches bactériennes pathogènes et résistantes aux antibiotiques. L'action antibactérienne serait due principalement à la phyllanthine (Mazumder et *al.*, 2006). Une étude menée par Adebo et *al.* (2008), a démontré l'activité

antibactérienne de l'extrait aqueux de *phyllanthus amarus* sur la croissance in vitro de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* isolés au cours des surinfections des ulcérations cutanées chroniques telles que l'ulcère du Burili.

Les travaux de Kassuya et *al.* (2006) ont montré que les lignanes contenus dans cette plante en particulier la niranthine, ainsi que l'extrait à l'hexane sont doués d'activité anti-inflammatoire.

D'après Coulibaly et *al.* (2010), *P. amarus* aurait un effet cardioprotecteur sur le lapin. Mahmood et *al.* (2010) ont montré l'existence d'une activité de l'extrait des feuilles contre les lésions gastriques induites par l'éthanol chez le rat.

I-4-6- Emplois

Depuis de nombreuses années, *P. amarus* a donné de bons résultats dans le traitement des affections de la peau notamment les lésions crouteuses, les hématomes, les plaies de la gale, les ulcérations et les plaies offensives, les gonflements œdémateux, les ulcérations tuberculeux, les affections dues à des teignes. La plante entière est utilisée dans le traitement de la jaunisse, la gonorrhée, les menstruations fréquentes et le diabète. La plante est amère, astringente, diurétique, stomachique et antiseptique. Elle est appliquée de manière efficace dans les fièvres intermittentes (Joseph et Raj, 2011).

Phyllanthus niruri est une plante aux vertus médicinales. Il est souvent utilisé pour traiter le paludisme et l'élimination des calculs rénaux. La poudre de feuilles, mise en pâte par addition d'eau et introduite dans le vagin, traiterait les polypes. Le décocté des tiges et des feuilles récoltés tôt le matin est réputé anti dysentérique par voie orale. La plante est considérée comme antidiurétique et astringente. La plante entière est utilisée dans certaines infections génito-urinaires.

Le jus de tous les *Phyllanthus* herbacées est prescrit en boisson, contre la tachycardie, ainsi que comme antiblennorragique, antidiarrhéique, et contre la stérilité des femmes.

Le jus de feuilles, avec ou sans huile de palme, s'applique en instillation auriculaire, il sert à traiter les otites. L'infusion de tige et de feuilles s'emploie en collyre pour traiter les infections oculaires. En application locale, il ferait mûrir les furoncles et les abcès. Les graines, ainsi que les fruits, auraient des propriétés vermifuges.

Son efficacité dans le traitement des troubles gastro-intestinaux comme la dyspepsie, les coliques, la diarrhée, la constipation et la dysenterie est incontestée. Chez les femmes, elle est galactagogue et est utilisée contre la leucorrhée, la ménorragie et les abcès des mammaires. Les polypes se traitent avec un suppositoire de pâte de feuilles dans le vagin. La plante possède des propriétés urolytiques (Joseph et Raj, 2011).

I-4-7- Etude sur la toxicité

D'après Povi et *al.* (2008), les extraits de feuilles de *P. amarus* sont légèrement toxiques sur la lignée cellulaire d'adénocarcinome humain.

Une étude a été effectuée afin de déterminer si l'extrait aqueux de feuilles de *P. niruri* administré à des rats Sprague-Dawley serait dépourvu de toxicité. L'examen des divers organes du corps ne présente aucune anomalie (Karuna et *al.*, 2011).

Adepapo et *al.* (2005) ont étudié les effets pathologiques de l'extrait des feuilles sur le rat et ont conclu que la plante avait des potentiels toxiques

Les extraits de la plante sont toxiques pour les poissons et les grenouilles. La dose minimum tolérée oralement par la souris correspond à 1 g/kg de plante entière en extrait.

Mahmood et *al.* (2008) ont montré que les extraits de la plante étaient sans danger jusqu'à une dose de 5 g/kg de poids corporel.

Adjene et Nwose (2010) ont observé, lors d'une administration chronique de *P. amarus*, chez les rats Wistar adultes un degré variable de distorsion, une perturbation dans la micro-anatomie du rein, un œdème interstitiel et une nécrose tubulaire.

CHAPITRE II : RAPPELS SUR LES RADICAUX LIBRES (RL)

II-1- Toxicité des radicaux libres

Les effets destructeurs des radicaux libres au niveau cellulaire s'expliquent par la présence d'électron(s) célibataire(s) très réactif(s) sur une de leurs orbitales, susceptible(s) de s'apparier aux électrons des composés environnants. Ces composés, ainsi spoliés, deviennent à leur tour des radicaux et amorcent des réactions en chaîne. Les molécules cibles sont :

- les protéines ;
- les acides nucléiques ;
- les acides gras polyinsaturés, en particulier ceux des membranes cellulaires et des lipoprotéines.

II-1-1- Action sur les protéines

Les protéines cellulaires sont une cible idéale de l'attaque radicalaire qui se situe à différents niveaux. Les groupements sulfhydryles, présents dans de nombreux enzymes, subissent, sous l'action des RL, une déshydrogénation avec création de ponts disulfures et inactivation de ces enzymes (Chio et Tappel, 1969 ; Logani et Davies, 1980). On peut aussi rencontrer des cas d'activation enzymatique, lors de l'inactivation d'un inhibiteur spécifique.

Les protéines de structure sont dépolymérisées (acide hyaluronique) sous l'action des RL ou polymérisées de façon anarchique. Ainsi, le collagène est dégradé avec une malformation des fibres et une fragilisation des vaisseaux sanguins (Halliwall et Gutteridge, 1989).

Les acides aminés peuvent être modifiés. Par exemple, l'action de l'oxygène singulet sur la méthionine donne la méthionine sulfoxyde (Halliwall et Gutteridge, 1989).

Le radical hydroxyl réagit avec la phénylalanine (PHE) et donne l'ortho-tyrosine, la méta-tyrosine ou la para -tyrosine.

II-1-2- Action sur les acides nucléiques

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des RL qui créent des sites radicalaires au sein de la molécule et peuvent ainsi induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications (Logani et Davies, 1980). La toxicité des carcinogènes et des radiations ionisantes est, entre autres, due à l'action des radicaux libres au niveau de l'ADN cellulaire.

Outre cette action directe sur l'ADN, les radicaux libres altèrent la synthèse et la transcription de l'ARN (Hoff et O'neil, 1991). Cette attaque provoque une baisse de concentration intracellulaire de la coenzyme NAD⁺, secondaire à son clivage par l'enzyme poly (ADP-ribose)-synthétase, avec transfert de l'ADP-ribose sur la protéine nucléaire.

II-1-3- Action sur les lipides

Cette action se fait au niveau des acides gras polyinsaturés des phospholipides et détermine la lipidopéroxydation des membranes et des lipoprotéines, en particulier les lipoprotéines de faible densité (LDL). La nature des acides gras polyinsaturés issus de notre alimentation, contribue dans une large mesure à modifier les équilibres en induisant l'action peroxydante des neutrophiles dans les cellules endothéliales. Cette augmentation de l'activité des neutrophiles, provoque des dommages au niveau des tissus correspondants. Il a été largement démontré, que l'acide arachidonique, principal acide gras des phospholipides des membranes cellulaires est facilement peroxydé donnant lieu à une variété de substances comme les prostaglandines, les leucotriènes les lipoxines et des molécules de faible poids moléculaires. Ces substances diffusant dans le sang sont nuisibles pour la santé car provoquant des processus inflammatoires (Morelle et *al.*, 1998).

II-2- Conséquences du stress oxydant sur l'organisme

Le stress oxydant conduit à la production de molécules biologiques défaillantes voire cancéreuses et à la surexpression de certains gènes. De ce fait, il est à l'origine de très nombreuses maladies telles que la cataracte, la sclérose, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'oedème pulmonaire ainsi que le vieillissement accéléré des tissus, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. De plus, le stress oxydant entraîne des complications diabétiques au niveau macro ou micro-vasculaire produisant ainsi augmentation de la résistance à l'insuline. Les ROS (espèces réactives oxygénées) seraient impliquées dans les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer où la mort neuronale pourrait être liée à un phénomène d'apoptose impliquant les radicaux libres.

La maladie de Parkinson serait quant à elle due à un dysfonctionnement mitochondrial et un défaut de l'élimination des protéines oxydées. Enfin, le stress oxydant joue un rôle non négligeable dans la cancérogénèse. En effet, les radicaux libres interviennent dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes. Ces molécules carcinogènes créent des lésions de l'ADN, amplifient les signaux de prolifération et inhibent des gènes suppresseurs de tumeurs.

Les radicaux libres sont produits *in vivo* sous l'action de plusieurs systèmes biochimiques, mais également sous l'influence d'autres facteurs endogènes, notamment le stress intellectuel ou thermique. Des facteurs exogènes liés à l'environnement ou au mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans l'organisme. Parmi ces facteurs exogènes, on peut citer : l'exposition prolongée au soleil, aux rayons UV, la pollution et les gaz atmosphériques, le contact avec des agents cancérogènes (amiante), le tabagisme, la prise de médicaments.

II-3- Système de protection contre les radicaux libres

L'homme est un être aérobie et sa survie dans un environnement riche en oxygène dépend d'un équilibre vital, entre la production physiologique de RL, et la capacité de l'organisme à les éliminer. Toute surproduction de RL, entraîne des désordres biologiques qui sont à l'origine de nombreuses pathologies. 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

II-3-1- Les moyens de défense endogènes

II-3-1-1- Les systèmes enzymatiques

Ils comprennent les superoxydes dismutases (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase, pour l'essentiel comme l'atteste la figure 6.

- **Les superoxydes dismutases :**

Ce sont des métalloprotéines qui accélèrent 10^9 fois la vitesse spontanée de dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée et en oxygène moléculaire,

la réaction est la suivante : $\text{O}_2^{\bullet} + \text{O}_2^{\bullet} + 2\text{H}^+ \xrightarrow{\text{SOD}} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$

- **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.

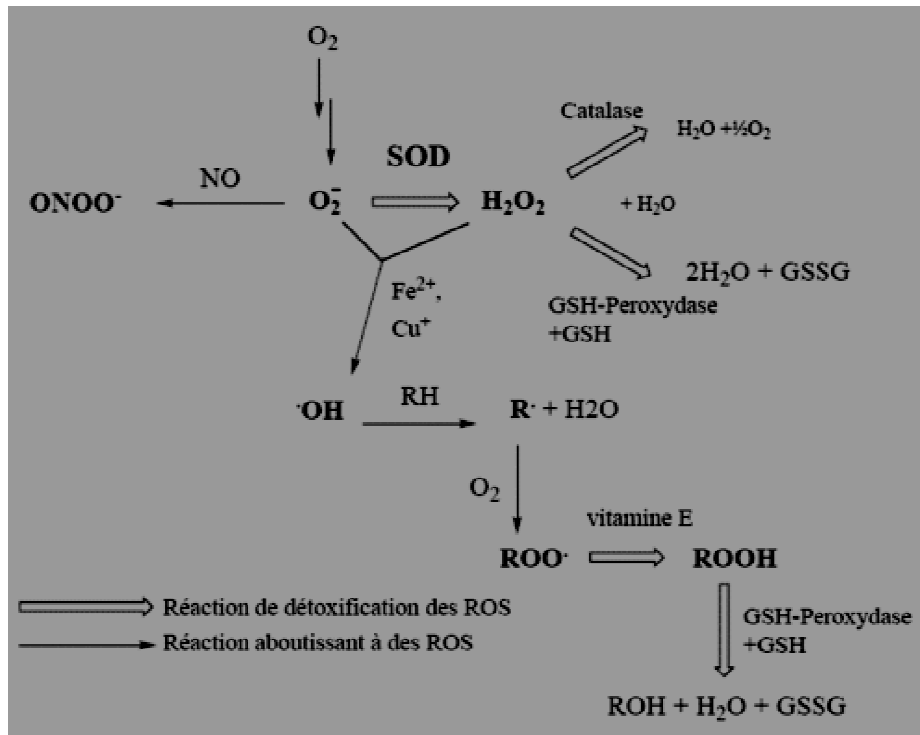


Figure 6 : système de détoxification des ROS

II-3-1-2- 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.

II-3-2- Les moyens de défense exogènes

L'organisme dispose de divers moyens de défense contre le stress oxydant. L'une des voies de lutte contre le stress oxydant est la consommation adéquate d'aliments riches en antioxydants. Les meilleurs antioxydants exogènes sont la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les polyphénols.

Ils sont constitués par toutes les substances d'origine alimentaire ou médicamenteuse capables 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 abondant dans les germes de blé, les légumes verts, les corps gras et qui, *in vitro*, va se localiser, grâce à sa lipophilie, dans les doubles

couches lipidiques des membranes cellulaires, points stratégiques pour arrêter la lipidopéroxydation. Elle joue notamment un rôle antioxydant primordial pour empêcher les LDL (mauvais cholestérol) de s'oxyder et de se déposer dans les artères. Elle diminue donc le risque des troubles cardiaques et des accidents cérébrovasculaires

➤ **La vitamine C ou acide ascorbique :**

Elle est abondante dans les agrumes, les fruits rouges, les pommes de terre. 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. Il s'agit d'un antioxydant assez extraordinaire en ce sens qu'il travaille doublement. Cet antioxydant protège de nombreux tissus contre la détérioration. Il est particulièrement utile pour contrer les radicaux libres qui engendrent les cataractes. Il protège aussi les tissus contre les radicaux libres de la fumée du tabac. Mais la vitamine C présente également un autre avantage dans la lutte contre les radicaux libres: elle vient aider un autre antioxydant à mieux jouer son rôle. . En effet, la vitamine C redonne à la vitamine E sa possibilité d'agir à nouveau comme antioxydant après que cette dernière eut déjà rempli ce rôle.

➤ **La vitamine A :**

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

➤ **Les polyphénols :**

Il existe de nombreux autres antioxydants. Parmi ces substances, certaines sont regroupées dans le grand groupe des polyphénols, 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. Les flavones et flavonoïdes sont retrouvées dans les fruits, le vin, le thé. Les caroténoïdes sont présents dans les carottes, les fruits rouges et

jaunes, les légumes verts (β -carotène peut être transformée en vitamine A dans l'organisme). Mais il s'agit aussi d'un puissant antioxydant. Il protège les tissus contre les radicaux libres et prévient ainsi plusieurs formes de cancers, en particulier le cancer de la peau. Il est également fort utile dans la prévention des troubles cardiovasculaires. Un autre caroténoïde, le lycopène que l'on trouve notamment dans la tomate, est également reconnu pour sa propriété anticancéreuse (particulièrement contre le cancer de la prostate).

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

Il existe différentes méthodes pour déterminer le potentiel antioxydant d'extraits de plantes, de produits alimentaires, d'actifs ou ingrédients, etc ... (Blois, 1958).

On peut proposer 3 types d'analyses : le test TEAC (**T**rolox **E**quivalent **A**ntioxydant **C**apacity) / ABTS+ Decolorization Assay, le test DPPH (1,1 **d**iphenyl-2-**p**icryl-**h**ydrazyl), le test ORAC (**O**xygen **R**adical **A**bsorbance **C**apacity). Les antioxydants peuvent réduire les radicaux primaires par 2 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 utilisées 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 ABTS/TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity)

Trolox Equivalent Antioxydant Capacity ou test ABTS+ Decolorization Assay. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS+ 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 (acide 6-hydroxy-2,5,7,8 tétraméthylchroman-2-

carboxylique, analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer le radical ABTS^{•+}.

L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine ou horseradish peroxidase) en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS^{•+}, en contact avec un donneur de H[•] conduit à l'ABTS⁺ et à la décoloration à 734 nm de la solution.

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 la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une concentration. Le résultat est donné en μ M ou mM d'équivalent Trolox par g de produit ou par ml s'il s'agit d'un liquide. La méthode a été standardisée, avec un temps fixe d'incubation qui 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.

III-2- Test DPPH (1, 1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl)

La méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron Singulet au radical synthétique DPPH de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'EC₅₀, temps au bout duquel, 50% de coloration est perdue. Les résultats sont généralement interprétés sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50%, la quantité initiale de DPPH (EC₅₀). Des comparaisons d'EC₅₀ peuvent être réalisées et le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale.

En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox. Cette méthode est

beaucoup utilisée pour étudier des extraits végétaux alimentaires, pour mesurer la capacité antioxydante totale. C'est cette méthode, dans sa version qualitative, que nous allons utiliser dans nos travaux.

- Principe

La stabilité du radical DPPH (1,1-Diphényl-2-Picryl-Hydrazyl) résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux (figure 7). D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution éthanolique ou méthanolique caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm. L'addition du radical DPPH à une solution éthanolique (ou méthanolique) contenant un composé potentiellement antioxydant et pouvant céder un atome d'hydrogène, entraîne une diminution ou une disparition de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH.

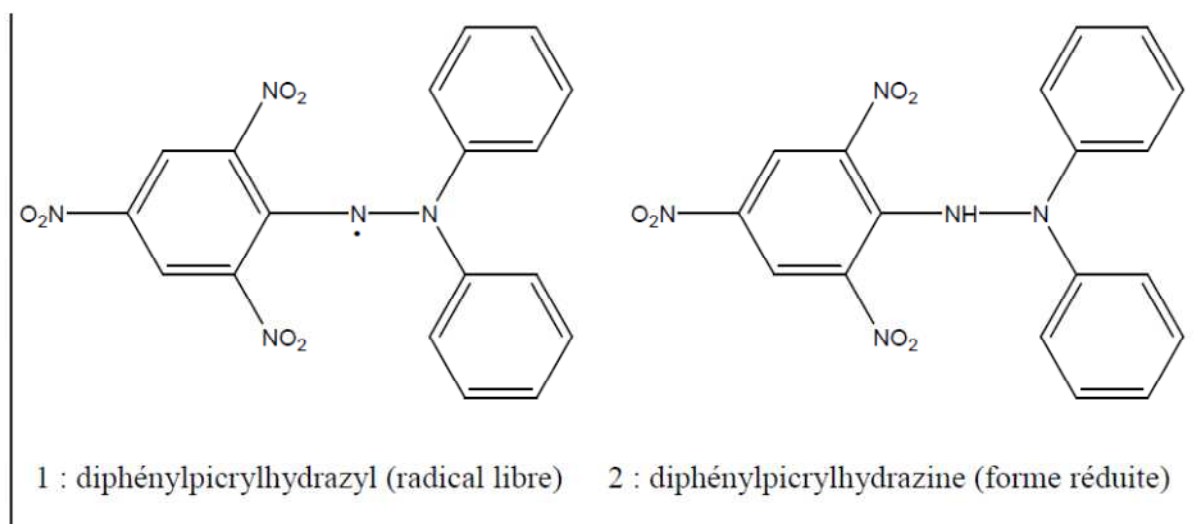


Figure 7: Structure du radical 1,1-Diphényl-2-Picryl-Hydrazyl et de sa forme réduite.

III-3- Test ORAC : (Oxygen radical absorbance capacity)

La méthode est basée sur la décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en présence d'un oxydant chimique l'AAPH (un radical péroxyl libre stable). Le produit à tester peut être capable de protéger la fluorescéine et réduire la vitesse de dégradation de la fluorescence. Il possède alors un pouvoir antioxydant. La méthode est réalisée en microplaques dans lesquelles on mesure, en parallèle, le déclin de la fluorescéine 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.

On peut ainsi, 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 donne une mesure 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 valeurs entre les méthodes, selon que les sources de radicaux libres soient différentes, et que les antioxydants répondent différemment aux méthodes de mesure.

Selon les matrices testées, l'une ou l'autre méthode est applicable. Par exemple, pour des extraits végétaux, les 3 tests sont applicables. En revanche, pour du plasma sanguin, la méthode ORAC semble plus indiquée, du fait que les radicaux péroxyl utilisés dans le test ORAC sont les plus couramment rencontrés dans le corps humain. La valeur en est de fait plus significative.

Nous allons utiliser la méthode de DPPH pour étudier l'activité antioxydante de quatre Euphorbiacées de la flore sénégalaise.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

I-1- Matériels et réactifs

I-1-1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles, d'écorces et de parties aériennes de quatre Euphorbiacées.

Les feuilles de *Phyllanthus acidus* ont été récoltées au niveau du Technopole de Pikine. Les écorces de *Euphorbia balsamifera* sont récoltées à la forêt de Malika.

Les parties aériennes de *Euphorbia hirta* et celles de *Phyllanthus amarus* sont quant à elles obtenues au niveau du Jardin Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

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

Tableau I : Liste des plantes à étudier

Binôme Latin	Parties utilisées
<i>Euphorbia balsamifera</i> (Linn)	Ecorces de la tige
<i>Euphorbia hirta</i> (Linn)	Parties aériennes
<i>Phyllanthus acidus</i> (Linn)	Feuilles
<i>Phyllanthus amarus</i> (Schum et Thonn)	Parties aériennes

I-1-2- Matériel de laboratoire

- ✓ broyeur "Brabender OHG Duisburg"
- ✓ verre de montre,
- ✓ balance de précision "SartoriusP",
- ✓ évaporateur rotatif de marque "Buchi" 461,
- ✓ spatule,
- ✓ ballon 500ml,
- ✓ dessiccateur,
- ✓ spectrophotomètre UV/Vis (BTS-350),
- ✓ pierre ponce,

I.1.3. Réactifs

- ✓ DPPH : 1, 1, diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma Aldrich)
- ✓ acide L (+) ascorbique (Panreac)
- ✓ éthanol,

I.2. Méthodes D'études

I.2.1. Obtention de l'extrait éthanolique des différentes plantes

Les drogues séchées à l'ombre pendant 3 semaines sont broyées pour obtenir une poudre.

Ensuite 30 g de poudre de chaque plante sont portés à ébullition sous reflux dans 375 ml d'éthanol pendant 30 minutes. De la pierre ponce est ajoutée pour stabiliser l'ébullition. Après filtration, l'extrait éthanolique ainsi obtenu est évaporé au rotavapor pour donner un résidu sec. Ce résidu est ensuite repris avec de l'éthanol pour les tests pharmacologiques.

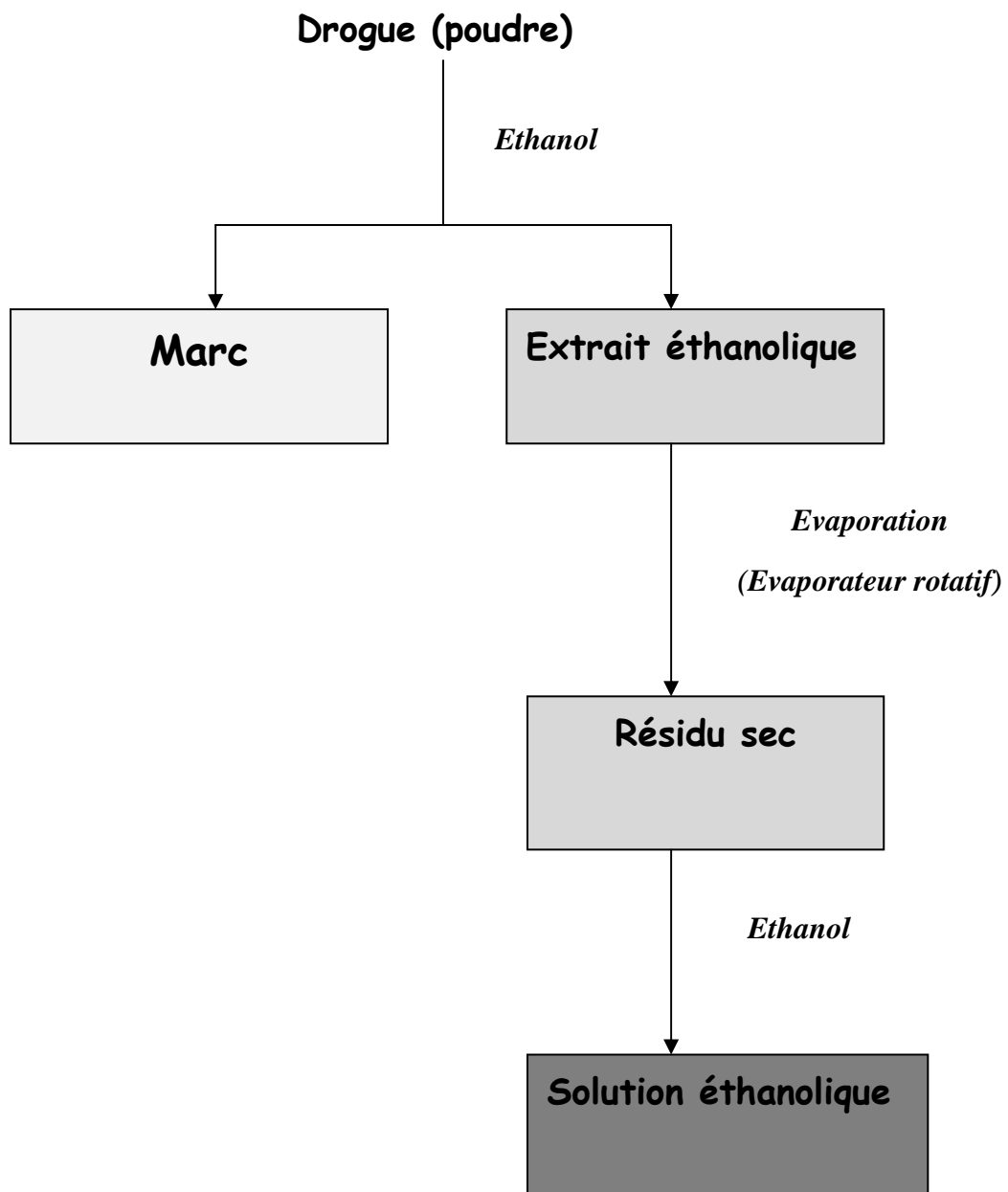


Figure 8 : Protocole d'obtention des différents extraits de drogue à tester

I.2.2. Activité antioxydante

I.2.2.1- Protocole opératoire de la méthode au DPPH

La méthode utilisée est celle de Molyneux (2003). 4 mg de poudre de DPPH sont dissous dans 100 ml d'éthanol. La conservation de la solution se fait à l'abri de la lumière pendant 12h.

Puis dans une série de tubes 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 à ces mêmes concentrations.

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

La densité optique de la solution de DPPH est relevée à T_0 .

I.2.2.2. Expressions des résultats et analyses statistiques

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

A_0 =absorbance du DPPH

A_1 =absorbance après ajout de l'extrait à une concentration donnée après un temps donné.

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le test de Fisher. La différence est considérée comme significative si $p < 0,05$ par rapport au témoin.

CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. RESULTATS

II .1.1. EXTRACTION

L'extraction de 30 g des différentes plantes a donné un extrait sec dont les valeurs et les rendements correspondants pour chaque plante sont dans le tableau suivant :

Tableau II: Rendement des extraits éthanolique des différentes plantes

Plantes	<i>Euphorbia balsamifera</i>	<i>Euphorbia hirta</i>	<i>Phyllanthus acidus</i>	<i>Phyllanthus amarus</i>
Parties utilisées	Ecorces de la tige	Parties aériennes	Feuilles	Parties aériennes
Poids extrait sec	1,872g	3,12g	2,71g	3,70g
Rendement	6,24%	10,4%	9,13%	12,33%

II.1.2. ACTIVITE ANTIOXYDANTE: Test au DPPH

II.1.2.1. Activité antioxydante de *Euphorbia balsamifera*.

A toutes les concentrations testées, l'extrait éthanolique de *Euphorbia balsamifera* inhibe significativement le DPPH de manière dose dépendante comme l'atteste la figure 9. A une concentration de 12,5µg/ml, l'extrait de *E. balsamifera* présente un pourcentage d'inhibition de $31,42 \pm 2,22\%$. A 50 µg/ml, il présente une activité avec un PI de $52,75 \pm 1,24\%$. La plus forte activité est observée avec les concentrations de 100 et 200 µg/ml qui ont des PI respectifs de $84,93 \pm 0,55\%$ et $86,21 \pm 0,12\%$. Les analyses statistiques ne montrent pas de différence significative entre les effets de ces deux concentrations ($p > 0,05$). L'activité obtenue avec les concentrations de 12,5-25-50 -100 µg/ml montre une différence significative ($p < 0,05$).

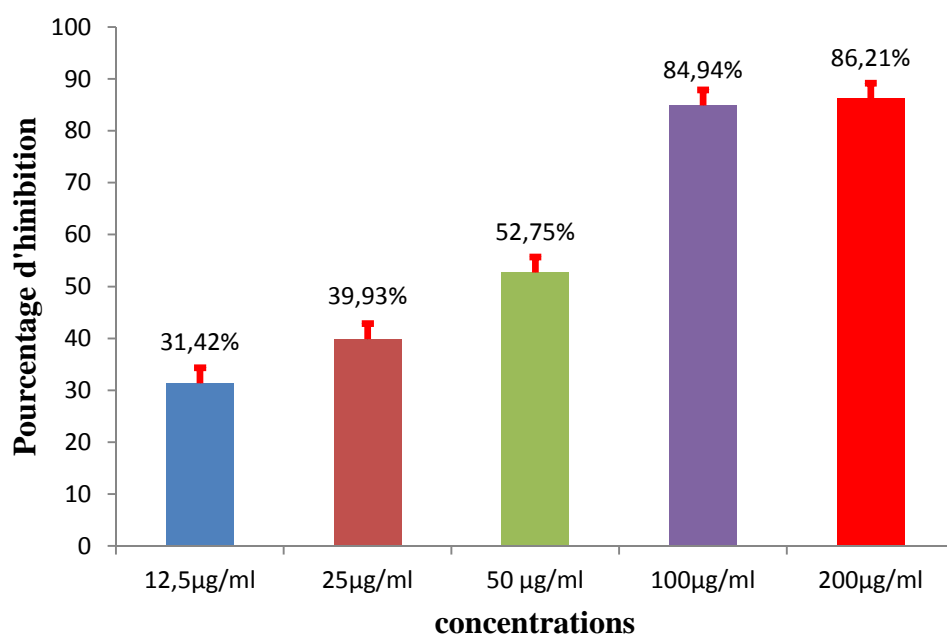


Figure 9: Action de l'extrait éthanolique de *Euphorbia balsamifera* sur le DPPH.

II.1.2.2. Activité antioxydante de *Euphorbia hirta*

La figure 10 montre l'action de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Euphorbia balsamifera* sur le DPPH. L'extrait éthanolique de *Euphorbia hirta* inhibe de manière significative le DPPH à toutes les concentrations testées et ceci de façon dose dépendante ($p < 0,05$). A une concentration de 12,5 µg/ml, il présente un PI de $36,72 \pm 2,07\%$. A 50 µg/ml, il présente une forte activité antioxydante avec un PI de $71,41 \pm 1,57\%$.

La meilleure activité est obtenue à 100 µg/ml avec un PI de $92,51 \pm 0,09\%$. A 200 µg/ml, une légère diminution du PI ($91,99 \pm 0,31\%$) est observée par rapport à la concentration précédente. Par contre, il n'y a pas de différence significative entre les effets de ces deux dernières concentrations ($p > 0,05$).

De 12,5 à 100 µg/ml, les analyses statistiques montre une différence significative entre les effets de ces différentes concentrations ($p < 0,05$).

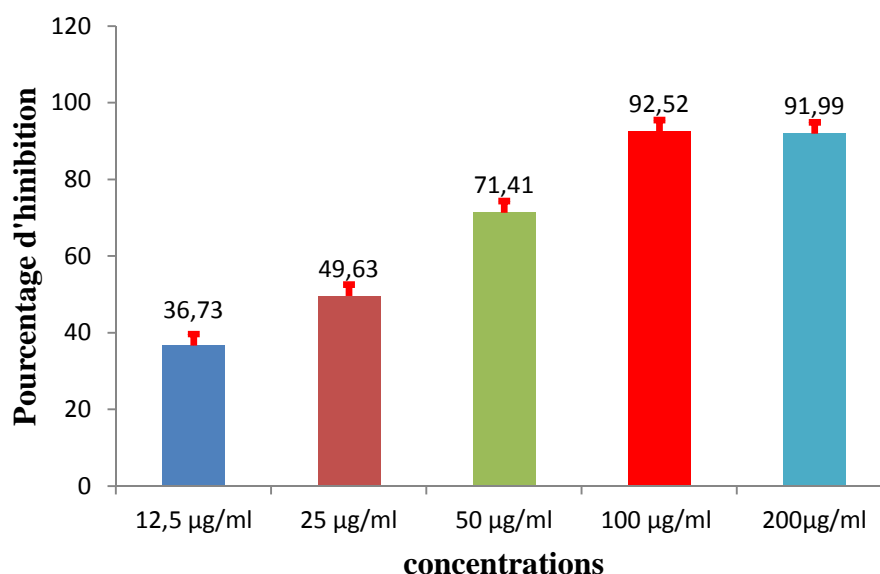


Figure 10: Action de l'extrait éthanolique de *Euphorbia hirta* sur le DPPH.

II.1.2.3. Activité antioxydante de *Phyllanthus acidus*

L'extrait éthanolique de *Phyllanthus acidus* inhibe significativement le DPPH ($p < 0,05$) à toutes les concentrations testées et ceci de manière dose dépendante comme le montre la figure 11. A 12,5µg/ml, il présente une faible activité antioxydante avec un PI de $20,02 \pm 0,80$ %. Pour les deux plus faibles concentrations (12,5 et 25 µg/ml), il n'y a pas de différence significative entre les PI ($p > 0,05$). Elles présentent une activité plus ou moins similaire avec des PI respectifs de $20,02 \pm 0,80$ % et $21,63 \pm 2,06$ %. La meilleure activité est obtenue à 200 µg/ml avec un PI de $44,81 \pm 1,09$ %.

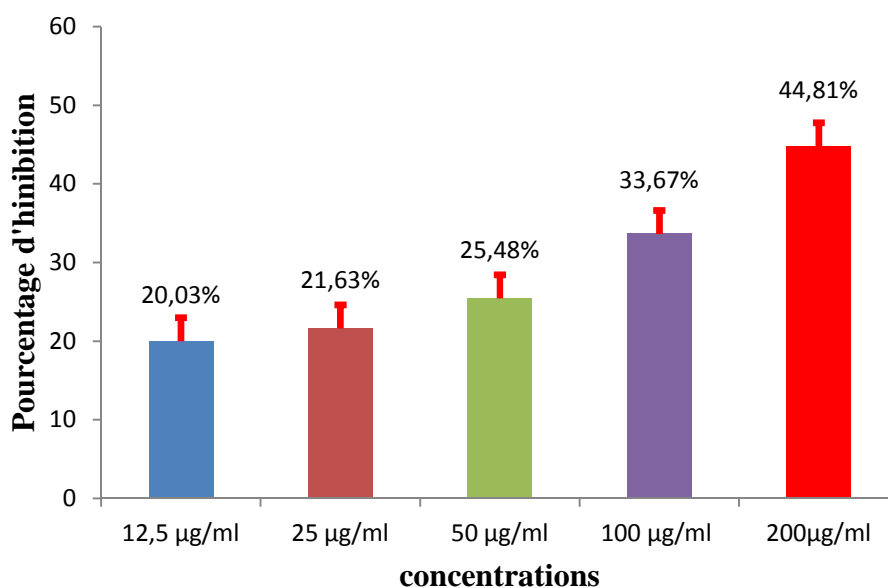


Figure 11: Action de l'extrait éthanolique de *Phyllanthus acidus* sur le DPPH.

II.1.2.4. Activité antioxydante de *Phyllanthus amarus*

L'action de l'extrait éthanolique de *Phyllanthus amarus* illustrée par la figure 12, montre une inhibition significative du DPPH ($p < 0,05$). A 12,5 µg/ml, *Phyllanthus amarus* présente une forte activité avec un PI de $44,63 \pm 3,83\%$. Cette activité est dose dépendante et on obtient un plateau à 50 µg/ml avec un PI de $82,84 \pm 0,44\%$. La plus forte activité est obtenue à 200 µg/ml avec un PI de $88,66 \pm 0,11\%$. Cette activité est proche de celle obtenue à 100 µg/ml ($88,30 \pm 0,07\%$). La comparaison des concentrations de 12,5 à 100 µg/ml montre une différence significative ($p < 0,05$). Cependant, pour les deux plus grandes concentrations (100 et 200 µg/ml), il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$).

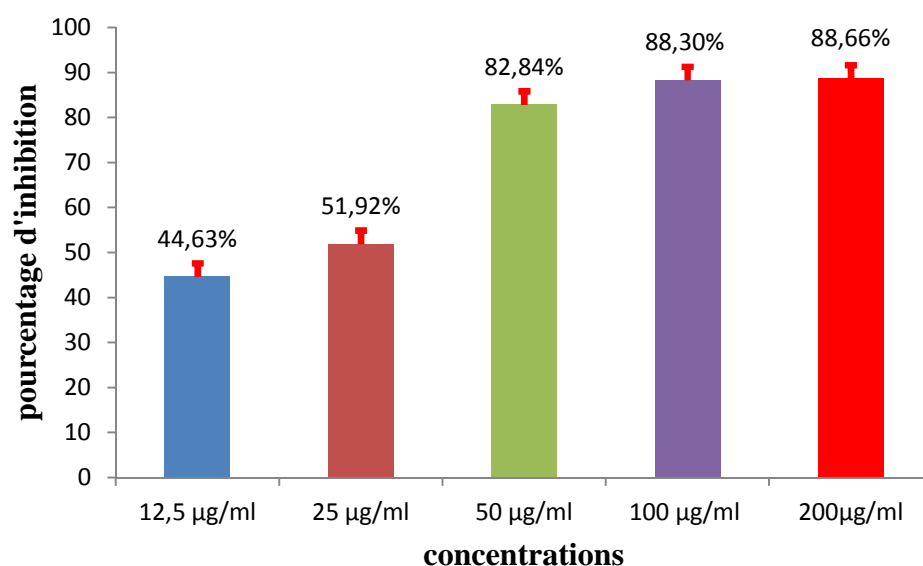


Figure 12: Action de l'extrait éthanolique de *Phyllanthus amarus* sur le DPPH.

II.1.2.5. Activité antioxydante de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique choisi comme référence a été testé à des concentrations plus faibles que celles utilisées pour les extraits. La solution éthanolique de l'acide ascorbique inhibe significativement le DPPH à toutes les concentrations testées et de manière dose dépendante comme l'atteste la figure 13. A la plus faible concentration (0,78 µg/ml), elle présente une activité antioxydante avec un PI de $31,42 \pm 0,67\%$. A 3,12 µg/ml, une activité importante est notée avec un PI de $65,94 \pm 1,09\%$. A la plus forte concentration testée (12,5 µg/ml), la meilleure activité se confirme avec un PI de $94,17 \pm 0,035\%$. La différence est significative entre les effets des quatre premières concentrations (0,78-1,56-3,125-6,25 µg/ml). Par contre elle n'est pas significative ($p > 0,05$) entre les effets des deux plus fortes concentrations (6,25 et 12,5 µg/ml).

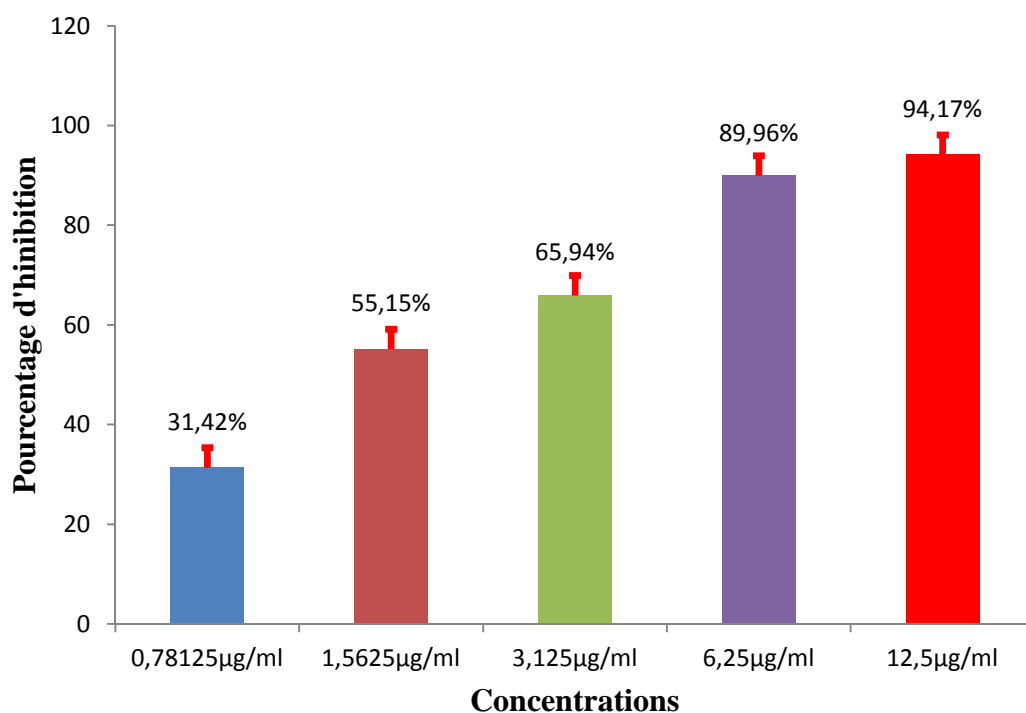


Figure 13: Action de la solution éthanolique d'acide ascorbique sur le DPPH.

Le tableau IV et la figure 14 représentent la capacité antioxydante, exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, des extraits éthanoliques des quatre plantes étudiées ainsi que celle de la référence.

Tableau III : Pourcentage d'inhibition du DPPH (moyenne \pm écart type) par les différents produits testés.

	C1	C2	C3	C4	C5
<i>E. balsamifera</i>	31,42 \pm 2,22*	39,93 \pm 0,94*	52,75 \pm 1,24*	84,93 \pm 0,55*	86,21 \pm 0,12*
<i>E. hirta</i>	36,72 \pm 2,07*	49,63 \pm 0,57*	71,41 \pm 1,57*	92,51 \pm 0,09*	91,99 \pm 0,31*
<i>P. acidus</i>	20,02 \pm 0,80*	21,63 \pm 2,06*	25,47 \pm 0,51*	33,66 \pm 0,97*	44,81 \pm 1,09*
<i>P. amarus</i>	44,63 \pm 3,83*	51,91 \pm 0,70*	82,84 \pm 0,44*	88,30 \pm 0,07*	88,66 \pm 0,11*
Acide ascorbique	31,42 \pm 0,67*	55,15 \pm 2,20*	65,94 \pm 1,09*	89,96 \pm 1,37*	94,17 \pm 0,35*

Pour *E. balsamifera*, *E. hirta*, *P. acidus* et *P. amarus* : C1=12,5 μ g/ml ; C2= 25 μ g/ml ;

C3=50 μ g/ml ; C4=100 μ g/ml et C5=200 μ g/ml

Pour l'acide ascorbique : C1=0,78 μ g/ml C2=1,56 μ g/ml ; C3=3,125 μ g/ml ; C4=6,25 μ g/ml ; et C5=12,5 μ g/ml.

* : différence significative versus témoin négatif (solution de DPPH) ; n=3 pour chaque concentration testée.

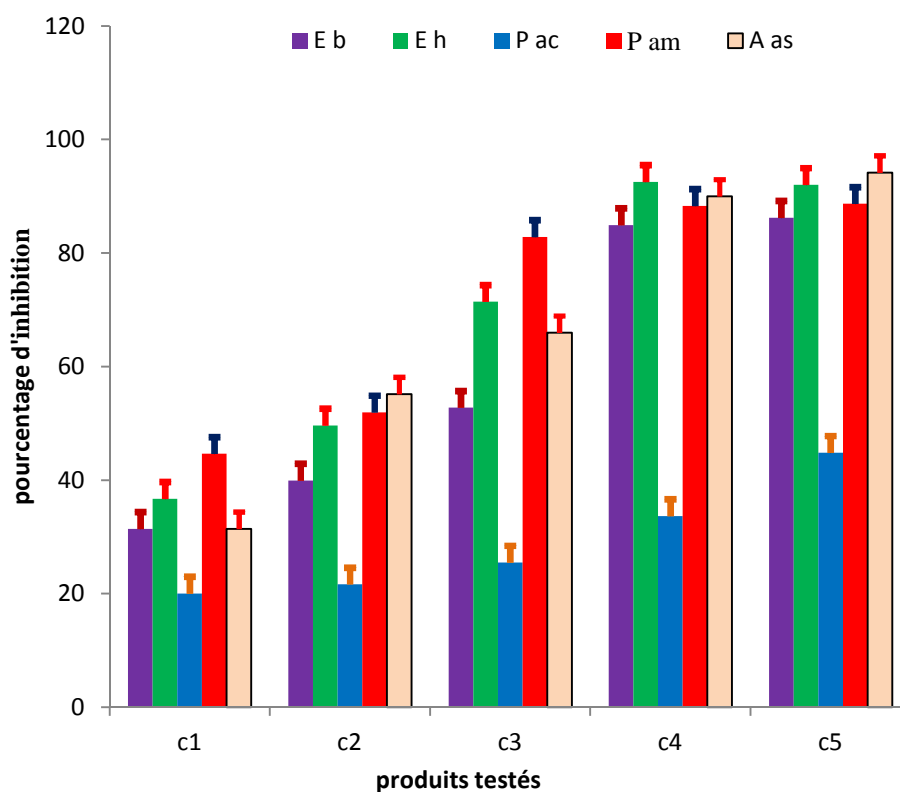


figure 14: Evaluation du pourcentage d'inhibition du DPPH par rapport aux produits testés

Pour *E. balsamifera* (Eb), *E. hirta*(Eh), *P. acidus*(Pac) et *P. amarus* (Pam): C1=12,5 µg/ml ; C2= 25 µg/ml ; C3=50 µg/ml ; C4=100 µg/ml et C5=200 µg/ml

Pour l'acide ascorbique : C1=0,78 µg/ml C2=1,56 µg/ml ; C3=3,125 µg/ml ; C4=6,25 µg/ml ; et C5=12,5 µg/ml.

* : différence significative versus témoin négatif (solution de DPPH) ; n=3 pour chaque concentration testée.

II.2.DISCUSSION

II.2.1. 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 écorces de tiges de *Euphorbia balsamifera*, dans les parties aériennes de *Euphorbia hirta* et de *Phyllanthus amarus* ainsi que dans les feuilles de *Phyllanthus acidus*. Il permet aussi d'extraire des composants non hétérosidiques tels que les alcaloïdes qui sont également identifiés dans les parties aériennes de *E. hirta* et de *P. amarus* et dans les écorces de *E. balsamifera* (Gueye, 2010).

Cependant, bien que toutes les plantes utilisées soient de la même famille (Euphorbiacée), une variation des rendements d'extraction est remarquée pour ces plantes étudiées. Pour une quantité de 30 g de poudre, *E. balsamifera* présente le rendement le plus faible de 6,24%.

Par ailleurs *E. hirta* et *P. amarus* qui présentent les meilleurs rendements d'extraction (10,4% et 12,33%) proviennent du même lieu de récolte qui est un milieu conservé (le Jardin Botanique de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar). *P. acidus* qui a été récolté dans un milieu où il pousse spontanément (au niveau du Technopole de Dakar), présente un rendement de 9,13%.

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).

II.2.2 Activité antioxydante

A toutes les concentrations testées, les extraits éthanoliques des différentes plantes présentent une activité antioxydante significative ($p < 0,05$). Cette activité est dose dépendante avec le test de DPPH utilisée.

L'extrait éthanolique des écorces de tiges de *E. balsamifera* présente une activité dose dépendante aux concentrations de 12,5-25-50-100 $\mu\text{g/ml}$ et 200 $\mu\text{g/ml}$. A 200 $\mu\text{g/ml}$ il possède une très forte activité avec un PI de $86,21 \pm 0,12\%$. Ceci pourrait être lié à une teneur importante en polyphénols. En effet, les écorces de tige de *Euphorbia balsamifera* contiennent composés polyphénoliques (les flavonoïdes et les tanins), des alcaloïdes et des hétérosides cardiotoniques (Gueye, 2010).

La meilleure activité est observée avec l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Euphorbia hirta* à 100 $\mu\text{g/ml}$ avec un PI de $92,51 \pm 0,09\%$. Ce PI est proche de celui de l'acide ascorbique à 12.5 $\mu\text{g/ml}$ ($94,16 \pm 0,35\%$). Cette activité plus importante notée par rapport aux autres plantes étudiées pourrait s'expliquer par la présence en quantité suffisante de polyphénols. En effet la teneur en tanins pyrogalliques de la plante entière est estimée à 2,30 g/kg selon Ridet et Chartol (1964). De plus, la plante est riche en composés flavoniques (la quercetine, la quercetrine et le kaempférol) et en acides phénols (l'acide gallique, ellagique, chlorogénique etc.) selon De Sacqui-sannes (1971). Ces flavonosides agiraient principalement comme antioxydant en stabilisant les radicaux peroxydes ou bien en désactivant les espèces oxygénés : ion peroxyde, radical OH., oxygène singulet (Monica et al., 2010). *E. hirta* présente une activité dose dépendante à des concentrations de 12,5-25-50 et 100 $\mu\text{g/ml}$. Par contre à 200 $\mu\text{g/ml}$, on observe une légère diminution du pourcentage d'inhibition ($91,99 \pm 0,31\%$). Ceci pourrait être lié à des phénomènes de saturation ou à une cinétique d'inhibition en cloche.

L'extrait éthanolique des feuilles de *P. acidus* bien que pourvu d'une activité antioxydante significative, présente une activité moins importante par rapport aux autres plantes. Il présente la plus faible activité à 200 µg/ml avec un PI de $44,81 \pm 1,09\%$. Cette activité pourrait être liée à une teneur en flavonoïdes, en tanins et en saponosides des feuilles de *P. acidus* (Gueye, 2010). En effet l'acide caféique, l'acide hypogallique, et le kaempférol ont été isolés à partir de l'extrait des feuilles par Sengupta et *al.* (1966). L'absence de données suffisantes sur la composition chimique des feuilles de *P. acidus* lors de nos recherches bibliographiques constitue un obstacle pour la justification de sa faible activité antioxydante.

A 12,5 µg/ml, l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Phyllanthus amarus* présente la meilleure activité antioxydante avec un PI de $44,63 \pm 3,83\%$. A 200 µg/ml, elle montre une forte activité avec un PI de $88,66 \pm 0,11\%$. Cette activité, proche de celle de l'acide ascorbique à 6,25 µg/ml ($89,96 \pm 1,37\%$), pourrait être liée à une teneur importante en flavonoïdes (rutine, quercétine, quercétrine, astragaline, nirurine, etc.), en terpènes et en tannins comme l'amariline, l'acide amarilinique, l'amarurone, l'acide répandusinique et la géranine (Londhe et *al.*, 2009 ; Ogata et *al.* 1992).

L'étude confirme une certaine corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-radicalaire, mise en évidence dans certains travaux tels ceux de Makris et *al.* (2007), Iacopini et *al.* (2008).

Cependant, ce test peut poser des difficultés d'interprétation dans la mesure où le DPPH[•] n'est soluble que dans des solvants organiques, en particulier les alcools, et non en milieu aqueux. Ce qui empêche toute analyse d'antioxydants hydrophiles (Arnao, 2000).

Le dernier problème que pose ce radical est son instabilité à la lumière. Son absorbance à 515 nm décroît sans l'intervention d'un quelconque antioxydant

(Ozcelik *et al.*, 2003). C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH^{*} doivent impérativement se faire à l'obscurité.

CONCLUSION

L'utilisation des plantes dans le traitement des maladies est une pratique qui date de l'antiquité. Les recherches concernant les plantes et les recettes des pharmacopées traditionnelles ont mis en évidence les richesses de celles-ci. Elles ont également permis une connaissance plus approfondie des plantes, tant au point de vue de leur composition chimique, que de leur activité pharmacologique.

Les radicaux libres sont utiles dans certains métabolismes mais aussi dans la lutte contre certains xénobiotiques (bactéries). Cependant, en cas de surproduction dépassant les capacités d'élimination de l'organisme, 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.

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (Popovici et *al.*, 2010).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\bullet$) et superoxydes ($\text{O}_2\bullet$), Rice-Evans et *al.* (1995).

Notre étude a pour but de rechercher la propriété antioxydante ou anti-radicalaire de quatre euphorbiacées de la flore Sénégalaise. Parmi les antioxydants végétaux, certains sont regroupés dans la famille des polyphénols,

c'est-à-dire les flavonoïdes et les tanins. Ce sont d'importants agents protecteurs de notre santé, en diminuant les risques de cancer.

Bien que non essentielles, ces substances jouent pourtant un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydatif. Des études chimiques antérieures réalisées sur les quatre plantes ont révélé la présence de ces composés polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins.

L'objectif de notre étude est de rechercher les propriétés antioxydantes de l'extrait éthanolique des écorces de tige de *Euphorbia balsamifera*, des parties aériennes de *Euphorbia hirta*, des feuilles de *Phyllanthus acidus* et des parties aériennes de *Phyllanthus amarus*.

Ainsi après extraction par ébullition lente sous reflux de 30 g de poudre de chaque plante dans 375 ml d'éthanol, les extraits obtenus sont séchés. Après pesée, les résidus secs ont donné différents rendements : 6,24% pour *E. balsamifera*; 10,4% pour *E. hirta*; 9,13% pour *P. acidus* et 12,33% pour *P. amarus*. Des facteurs tels que le milieu de récolte, le type de sol, la teneur en principes actifs ainsi que les différents types de drogues ont contribué à cette variation des rendements.

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de chaque plante est évaluée par la méthode de DDPH. L'acide ascorbique connu pour sa propriété antioxydante, est utilisé comme témoin positif.

L'addition d'un antioxydant à une solution du radical cation du DPPH entraîne une réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance qui est mesurée au spectrophotomètre.

A toutes les concentrations testées, l'extrait éthanolique des plantes présente une activité antioxydante significative ($p < 0,05$). Cette activité est dose dépendante.

A une concentration de 12,5 µg/ml, les extraits éthanoliques de *E. balsamifera*, de *E. hirta* et de *P. amarus* présentent une activité antioxydante proche de celle de l'acide ascorbique ($31,42 \pm 0,67\%$) à 0,78 µg/ml avec des PI respectifs de $31,42 \pm 2,22\%$; $36,72 \pm 2,07\%$ et $44,63 \pm 3,83\%$; alors que *P. acidus* montre une activité beaucoup plus faible ($20,02 \pm 0,80\%$).

Cette activité des extraits utilisés augmente avec la concentration. Ainsi à 50 µg/ml, *E. hirta* et *P. amarus* présentent une forte activité avec des PI respectifs de $71,41 \pm 1,57\%$ et de $82,84 \pm 0,44\%$. *E. balsamifera* montre une activité avec un PI de $52,75 \pm 1,24\%$. La plus faible activité est enregistrée avec l'extrait des feuilles de *P. acidus* ($25,47 \pm 0,51\%$).

A 200 µg/ml, les extraits de *E. balsamifera*, de *E. hirta* et de *P. amarus* présentent une importante activité antioxydante avec des PI respectifs de $86,21 \pm 0,12\%$; $91,99 \pm 0,31\%$ et $88,66 \pm 0,11\%$. Cette activité est proche de celle de l'acide ascorbique ($94,17 \pm 0,35\%$) à 12,5 µg/ml. Seul l'extrait de *P. acidus* montre une activité moins intéressante ($44,81 \pm 1,09\%$).

Cette étude confirme la capacité antioxydante des écorces de la tige de *E. balsamifera*, des parties aériennes de *E. hirta* et de *P. amarus* ainsi que des feuilles de *P. acidus*.

Les substances antioxydantes peuvent permettre de réduire les effets négatifs du stress oxydatif rencontré dans de nombreuses maladies cardiovasculaires. Il a également été établi que certains principes actifs antioxydants isolés de plantes médicinales stimuleraient l'immunité (Lee et al., 2009).

Autant de facteurs qui justifient la recherche et l'emploi de ces plantes à activité antioxydante.

Ainsi les études en perspectives doivent s'orienter vers l'isolement des principales molécules impliquées dans cette activité notée notamment au niveau des parties aériennes de *Euphorbia hirta* et de *Phyllanthus amarus*. Une étude sur la pharmacovigilance s'avère nécessaire dans le but de garantir une sécurité d'emploi de ces plantes et une préparation de phytomédicaments pour l'amélioration de la posologie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1-ADEPAPO A., ADEGBAYIBIA Y. and EMIKPE B.O. (2005):

Some clinico-pathological changes associated with aqueous extract of the leaves of *Phyllanthus amarus* in rats. *Phytother. Res.*, 19: 971-976.

2- AHMED Z.F., FAHMY I.R. (1949):

The effect of environment on the growth and alkaloid content of *Hyoscyamus meticus* L. *Journal of the American Pharmaceutical Association*; 38(9):484-97.

3- ARBONIER M. (2002):

Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest, 2ème édition CIRAD, MNHN, 573p.

4- ARNAO M.B. (2000):

Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 419-421.

5- ASARE G.A., ADDO P., BUQYEI K., GYAN B., ADJEI S., OTU-NYARKO L.S., WYREDU E.K., NYARKO A. (2011):

Acute toxicity studies of aqueous leaf extract of *Phyllanthus niruri*. *Interdiscip Toxicol.*, 4(4):206-10.

6- BAGAVAN A., RAHUMAN A.A., KAMARAJ C., KAUSHIK N.K., MOHANAKRISHNAN D., SAHAL D. (2011) :

Antiplasmodial activity of botanical extracts against *Plasmodium falciparum*. *Parasitology research*, 108(5):1099-109.

7- BARUS C. (2008):

Etude électrochimique de molécules anti oxydantes et de leur association en milieu homogène et biphasique. Application aux produits dermocosmétiques. Thèse doctorale, Université Paul Sabatier de Toulouse, 235 pages.

8- COULIBALY B., N'GUESSAN K R., AKA N'guetta, EKAZA E., N'GOLO D. C., TRÉBISSOU Noël, OUATTARA L., BAH I C., COULIBALY A., ASSANDÉ J M, MOHUI P., YAO H., DJAMAN A. J & DOSSO M. (2011) :

Activité anti-mycobactérienne in vitro des extraits de *Phyllanthus amarus* (Schum et Thonn) sur les souches de *Mycobacterium ulcerans* en Côte d'Ivoire. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80:759 –771.

9-COULIBALY F.A., DJIH B.N., DOUMBIA I., YAPI H.F., DJAMAN A.J. (2010) :

Evaluation des marqueurs sériques enzymatiques du cœur chez les lapins traités par *Phyllanthus amarus* (Euphorbiacée). Phytothérapie,8(6):348-352.

10- DE SACQUI-SANNES (1971) :

Etude chimique des polyphénols naturels. Données structurales et pharmacologiques des principes actifs de *Euphorbia hirta*.L. Thèse Doct. Université Paul Sabastier, Toulouse.

11-DIEME F. A. (1995) :

Pharmacopée traditionnelle et odontologie : le cas de *Euphorbia balsamifera* Thèse Doct.Odontol., n°1, Dakar, 60 p.

11- ENDA TIERS MONDE, 1986 :

Encyclopédie médicale de l'Afrique, Edition CECI, 1050 p.

12- FAYE M. (1994) :

Contribution à l'étude de l'activité anti-inflammatoire de *Euphorbia hirta*-L. (*Euphorbiaceae*). Thèse Doct.Pharm., n°3, Dakar, 60 pages.

13- FORTIN D., LÔ M., MAYNART G. (1990):

Plantes Médicinales du SAHEL. Edition CECI, 280p.

14- FRESCOTT D.M., CARRIER R.F. (1964):

Experimental procedures and cultural methods for *Euplotes eurystomus* and *Amoeba proteus*, in : “Methods in Cell Physiology” (Ed. Prescott D.M.), vol. I, Academic Press, New-York.

15- GUEYE A. (2007):

Etude de la composition chimique de dix sept plantes de la pharmacopée Sénégalaise récoltées dans la zone des Niayes. Thèse Doct. Pharm., n°14, 103 pages, Dakar.

16- GUEYE D. (2010) :

Recherche Bio-autographique de l’activité antioxydante de neuf plantes de la flore Sénégalaise. Thèse Doct. Pharm., n°32, 106 pages, Dakar.

17- GUISSOU J.P; MILLOGO-KONE H. KABORE I.Z (1992) :

Etude comparative de l’activité Pharmacologique de *Euphorbia hirta* L. (*Euphorbiaceae*) et *Holarrhena floribunda* G. Don (*Apocynaceae*) vis-a-vis d’amibes non pathogènes du genre *Amoeba proteus*. Médecine d’Afrique Noire, 39 (5) : 358-63.

18- GUPTA I.C., GUPTA S.K. (1992):

Concept S Dictionary of Agricultural Sciences. Concept Publishing Company, New Delhi, 500 pages.

19- JAIN NK, LODHI S, JAIN A, NAHATA A, SINGHAI AK (2011) :

Effects of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels fruit on carbon tetrachloride-induced acute oxidative damage in livers of rats and mice. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 9(1):49-56.

20- KABORE I.Z. et al. (1989):

De la nécessité de la standardisation chimique. Journées Portes ouvertes sur les Plantes Médicinales et Pharmacopée Traditionnelle au Burkina Faso, Ouagadougou.

21-KARUNA R., BHARATHI V.G., REDDY S.S., RAMESH B., SARALAKUMARI D. (2011):

Protective effects of *Phyllanthus amarus* aqueous extract against renal oxidative stress in Streptozotocin -induced diabetic rats. Indian J Pharmacol., 43(4):414-18.

22- KERHARO J., J.G. ADAM. (1973):

La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle, Plantes médicinales et toxiques, Ed. Vigot Frères, Paris , 1012p.

23- KIEMER A.K., HARTUNG T., HUBER C., VOLLMAR A.M. (2003):

Phyllanthus amarus has anti-inflammatory potential by inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the NF-kappaB pathway. J Hepatol., 38(3):289-97.

24- IACOPINI P., BALDI, M., STORCHI P., SEBASTIANI L. (2008):

Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, *in vitro* antioxidant activity and interactions. Journal of Food Composition and Analysis, 21:589-598.

25- LEEYA Y., MULVANY M.J., QUEIROZ E.F., MARSTON A. HOSTETTMANN K., JANSAKUL C. (2010).

Hypotensive activity of an n-butanol extract and their purified compounds from leaves of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels in rats. European Journal of Pharmacology, 649 (1–3): 301–13.

26- MAKRIS D.P., BOSKOU G., ANDRIKOPOULOS N.K. (2007):

Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. Bioresource Technology, 98:2963-2967.

27- MARC F., DAVIN A., DEGLENE-BENBRAHIM L., FERRAND C., BACCAUNAUD M. et FRITSCH (2004) :

Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Médecine Sciences, 20(4):458-463.

28- MAZUMDER A., MAHATO A., MAZUMDER R. (2006):

Antimicrobial potentiality of *Phyllanthus amarus* against drug resistant pathogens. Nat Prod Res., 20(4):323-6.

29- MBAYE A.L. (2000):

Évaluation de l'activité antifongique de *Cassia alata*, de *Misca* et de *Phyllanthus amarus* sur la croissance *in vitro* d'*Aspergillus flavus*. DEA, Université de Cocody, Abidjan, 35p.

30- M'EFOUA A.M, (2005) :

Contribution à l'étude de l'activité antiulcéreuse de *Euphorbia hirta*(L) (Euphorbiacées) Thèse Doct. Pharm., n°8, Dakar, 77 p.

31- NDIR O. ET POUSSET J.L. (1981):

Plantes médicinales africaines, essais *in vitro* de *E. hirta* sur *Entamoeba histolytica*. Plantes médicinales et phytothérapie, 15(2):113-125.

32- NIASSE A. (2010) :

Recherche bio-autographique de l'activité antioxydante de quelques *Cceasalpiniaceae* et *Meliaceae* de la flore sénégalaise.

Thèse Doct. Pharm., n°25, Dakar, 80p.

33- OGATA T., HIHUCHI H., MOCHIDA S., MATSUMOTO H., KATO A., ENDO T., KAJI H. (1992):

HIV-1 reverse transcriptase inhibitor from *Phyllanthus niruri*. AIDS. Res. Hum. Retroviruses, 8:1937-1944.

34- OZCELIK, B., LEE, J.H. ET MIN, D.B. (2003) :

Effects of light, oxygen and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Journal of Food Science, 68:487-490.

35- POPOVICI C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B. (2009) :

Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie industriel, 4 :25-39.

36- PORTES E. (2008) :

Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse Doct., n°3695, Université de Bordeaux, 244 p.

37- POUSSET J.L. (2004):

Plantes médicinales d'Afrique. Edisud, Paris, 287p.

38- POWER F.B., BROWNING H. (1963):

Chemical examination of *Euphorbia pilulifera*. Pharm.J.and Pharmacist, 36:506-510.

39- PRAMYOTHIN P., NGAMTIN C., POUNGSHOMPOO S., CHAICHANTIPYUTH C. (2007):

Hepatoprotective activity of *Phyllanthus amarus* Schum.et Thonn .extract in ethanol treated rats: *in vitro* and *in vivo* studies. J Ethnopharmacol.; 114(2):169-73.

40- RAO M.V., SHAH K.D., RAJANI M. (1998):

Contraceptive effects of *Phyllanthus amarus* extract in the male mouse (*Mus musculus*), Phytotherapy Research, 11(8)594-596.

41- RAU O, WURGLICS M, DINGERMANN T, ABDEL-TAWAB M, SCHUBERT-ZSILAVECZ M. (2006):

Screening of herbal extracts for activation of the human peroxisome proliferator-activated receptor. *Die Pharmazie*, 61(11):952-6.

42- RICE-EVANS C.A., MILLER N.J., BOLWELL P.G., BRAMLEY P.M., PRIDHAM J.B (1995):

The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22:375-383.

43- RIDET J. et CHARTOL A. (1964) :

Les propriétés antidysentériques de *Euphorbia hirta*. *Med. Tropicale*, 24(2):119-144.

44- SATYANARAYANA P., VENKATESWARLU S. (1991): Isolation structure and synthesis of new diaryl-butane lignanes from *P. niruri*, synthesis of 5'-desmethoxy niranthine and an antitumour extractive. *Tetrahedron*, 47: 8931-8940.

45- SAMB N.S. (2012):

Composition chimique et actions pharmacologiques de *Phyllanthus amarus* Shum. et Thonn. (*Euphorbiaceae*)- Etude de l'espèce vivante au Sénégal.
Thèse Doct. Pharm., n°15, Dakar, 88 p.

46- SENAPATI S.K., APARAJITA. S., ROUT G.R. (2011):

Identification of species-diagnostic inter simple sequence repeat markers for ten *Phyllanthus* species. *Z Naturforsch C*, 66(3-4):167-72.

47- SENGUPTA P. AND MUKHOPADHYAY J. (1996):

Terpenoids and related compounds-VII: triterpenoids of *Phyllanthus acidus*. *Skeels. Phytochemistry*, 5(3) 531-534.

48- SCHMELZER G.H., GURIB F.(2008):

A Plant Resources of Tropical Africa, Medicinal plants 1. Barkhuys Publishers, Wegenin, pp 225 – 228.

49- SOUSA M.; OUSINGSAWAT J.; SEITZ R.; PUNTHEERANURAK S.; REGALADO A.; SCHMIDT A.; GREGO T.; JANSAKUL C., AMARAL M.D., SCHREIBER R., KUNZELMANN K. (2006):

An Extract from the Medicinal Plant *Phyllanthus acidus* and Its Isolated Compounds Induce Airway Chloride Secretion: A Potential Treatment for Cystic Fibrosis. *Molecular Pharmacology*, 71(1):366-376.

50- SRIRAMA R., DEEPAK H.B., SENTHILKUMAR U., RAVIKANTH G., GURUMURTHY B.R., SHIVANNA M.B., CHANDRASEKARAN C.V., AGARWAL A., SHAANKER R.U. (2012):

Hepatoprotective activity of Indian phyllanthus. *Pharm Biol.*, 50(8):948-53.

51- TAYLOR L. (2002):

Secrets des plantes des forêts tropicales 2ème édition. Edition ?, ville ?, page 16.

52- THOMPSON JD, CHALCHAT JC, MICHET A, LINHART YB, EHLERS B. (2003):

Qualitative and quantitative variation of monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*; 29(4):859-80.

53- THYAGARAJAN S. P., SUBRAMANIAN S., THIRUNALASUN T.DARI (1988):

Effects of *Phyllanthus amarus* on chronic carriers of hepatitis B virus. *The Lancet*, 332(8614):759-764.

54- UEDA H. and HSU CH. (1948): A chemical study of *E. hirta*. *Journ Taïwan Pharm. Assoc*, 1: 40-43.

55- YAM A.A., GAYE F., DIEME F.A., BASSENE E., BA I. (1997) :

Application of phytotherapy in odontology: the case of *Euphorbia balsamifera*.
Endodontic clinical trial. Dakar Médical; 42(2):169-71.

56- ZOHOUM S.I. (1997) :

Monographies de quatre plantes médicinales sénégalaises : *Cassia occidentalis* L., *Euphorbia hirta* L., *Guiera senegalensis* J.F GMEL, *Tinospora bakis* (A-Rich) MIERS

Thèse doct. n°39, Dakar, 108 p.

<http://books.google.com/books>.

<http://www.erudit.org/apropos/utilisation.html>.