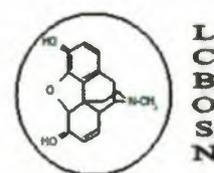


République de Côte d'Ivoire
Union – Discipline – Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Unité de Formation et de Recherche des Sciences Fondamentales et
Appliquées (UFR-SFA)

Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles
(LCBOSN)

Année Académique : 2016-2017

MEMOIRE DE MASTER DES SCIENCES FONDAMENTALES ET APPLIQUEES
MENTION : CHIMIE

Spécialité : Chimie et Physico-Chimie des Substances Naturelles

SUJET :

**Investigations phytochimique et antioxydante de
teintures issues de *Heterotis rotundifolia* (Sm.)
Jacq.-Fél. (Melastomataceae) de Côte d'Ivoire**

Présenté par ETEKPO Dossou Sylvestre

Soutenu le 08 Janvier 2018

Devant le jury d'examen composé de :

M. BOA David, PT (UNA)
M. BEKRO Yves-Alain, PT (UNA)
M. KOUAME Bosson Antoine, MC (UNA)
M^{me} N'GAMAN Kohué C. Epse Kouassi, MA (UNA)

Président
Directeur scientifique
Examineur
Encadrant

TABLE DES MATIÈRES	
AVANT-PROPOS	3
DEDICACE	4
REMERCIEMENTS	5
ABREVIATIONS ET SYMBOLES	7
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	9
INTRODUCTION	10
1. APERÇU DE LA BIBLIOGRAPHIE	12
1.1. Généralités sur l'espèce d'étude	12
1.1.1. Melastomataceae.....	12
1.1.2. <i>Heterotis rotundifolia</i> (Sm.) Jacq.-Fél.	12
1.1.3. Usages traditionnels	13
1.2. Polyphénols	14
1.2.1. Coumarines.....	15
1.2.2. Flavonoïdes	16
1.2.3. Tanins	18
1.3. Stress oxydatif	19
1.3.1. Définition	19
1.3.2. Antioxydants	20
1.3.3. Evaluation de l'aptitude antioxydante : Test de réduction du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH')	21
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	24
2.1. Matériel	24
2.1.1. Matériel végétal.....	24
2.1.2. Matériel chimique et technique	24
2.2. Méthodes	24
2.2.1. Extractions	24
2.2.2. Analyses phytochimiques	25
2.2.2.2. Tests quantitatifs	26
2.2.3. Test antioxydant.....	27
3. RESULTATS ET DISCUSSION	29
3.1. Rendements des extractions	29
3.2. Composition qualitative des teintures	30
3.4. Activité antioxydante des teintures de <i>H. rotundifolia</i> vis-à-vis du DPPH'	32
3.4.1. Réduction du DPPH' en fonction du temps.....	32
3.4.2. Pouvoir antiradicalaire des teintures	33
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	43
REFERENCES	44
WEBOGRAPHIE	52
RESUMÉ	53

AVANT-PROPOS

En vue de l'obtention du Diplôme de Master des Sciences Fondamentales et Appliquées, Mention chimie, spécialité Chimie et Physico-chimie des Substances Naturelles, ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN) au sein de l'UFR-SFA de l'Université NANGUI ABROGOUA (UNA), sous la direction scientifique du Professeur BÉKRO Yves-Alain (PT), Directeur dudit laboratoire, et sous l'encadrement du Docteur N'GAMAN Christelle Épouse KOUASSI (MA).

DEDICACE

À mes parents

Aux Enseignants

À mes frères et mes sœurs

À mes amis

REMERCIEMENTS

Je ne saurai introduire ce mémoire de Master sans exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont soutenu dans sa préparation.

Je remercie particulièrement :

Monsieur BÉKRO Yves-Alain, mon directeur scientifique, Professeur Titulaire à l'UNA, Vice-Président honoraire de l'UNA, Doyen honoraire de l'UFR-SFA, Directeur du LCBOSN, pour m'avoir confié le sujet qui a fait l'objet du présent mémoire de Master. Merci pour votre dynamisme, votre disponibilité, votre aide, vos précieux conseils, votre rigueur et votre sens du travail bien fait. Merci de m'avoir choisi comme votre disciple. Vous êtes ma source d'inspiration et mon modèle.

Madame MAMYRBEKOVA Janat Akhanovna Epse BÉKRO, Professeur Titulaire à l'UNA, Directrice du pôle de recherche Pharmacopée Africaine et Substances Naturelles (PASN) et Sous-Directrice du LCBOSN. Vous êtes notre maman, vous êtes toujours à notre écoute. Merci pour votre patience, votre gentillesse, vos précieux conseils, et pour votre expertise scientifique.

Madame N'GAMAN Christelle Épouse KOUASSI, Maître-Assistant à l'UNA. Merci infiniment pour votre aide, votre soutien, vos conseils, votre entière disponibilité. Merci de m'avoir encadré tout au long de mes travaux. Vous avez toujours répondu présente lorsque j'ai sollicité votre aide.

Monsieur David BOA, Professeur Titulaire à l'UNA, Doyen de l'Unité de Formation et de Recherche des Sciences Fondamentales et Appliquées (UFR-SFA). Qu'il me soit ici permis de vous remercier très sincèrement pour avoir donné un avis scientifique à ce travail malgré vos nombreuses obligations, en tant que président du jury. Je suis très honoré d'avoir pu bénéficier de vos remarques éclairées et tiens à vous assurer ma grande estime.

Monsieur KOUAME Bosson Antoine Maître de Conférences à l'UNA. Je reste sensible à vos grandes qualités humaines et admire votre sens de gestion des affaires. Je ne trouverai pas certainement la formule pour vous exprimer ma

sincère reconnaissance pour avoir donné un avis scientifique à ce travail malgré vos nombreuses obligations, en tant qu'examineur et membre du jury.

Monsieur les Maîtres de Conférences KODJO Charles Guillaume, BENIE Anoubilé, BOUA Boua Benson ; les Maîtres Assistants OUATTARA Zana Adama et KONAN Koffi Marcel. J'adresse mes sincères remerciements aux Docteurs KADJA Amani Brice et KABRAN Mida Guy Roger pour leurs enseignements, leurs disponibilités, aides et conseils lors des manipulations.

Le doctorant KONAN Kouassi Pierre Alain, qui a bien voulu suivre toutes les étapes de mon travail. Je voudrais lui exprimer ma profonde reconnaissance.

Tous les doctorants du laboratoire LCBOSN, merci de votre collaboration.

Tous collègues et amis de Master de la promotion 2016 - 2017 qui ont, chacun à leur façon, et ce, à différentes étapes de notre cheminement, contribué à la réalisation de ce travail.

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

% : Pourcentage
µg /g : Microgramme par gramme
µg /ml : Microgramme par Millilitre
µg : Microgramme
µl : Microlitre
¹O₂ : Oxygène Singulet
ABTS* : 2,2'-Azino-Bis-3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulfonique
A_{ext} : absorbance de la teinture
A_q : absorbance de la quercétine
BHA : Butylhydroxyanisole
BHT : Butylhydroxytoluène
C : concentration de l'extrait
CE₅₀ : Demi-Concentration Efficace
C_{ext} : concentration de l'extrait
CI_{50, t} : Demi-Concentration d'Inhibition
CNF : Centre National de Floristique
CPCSN : Chimie et Physico-chimie des Substances Naturelles
d : dilution
DF : Décoction feuilles
DFTR : Décoction (feuilles + tiges + racines)
DP : Décoction plante
DPPH* : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
DPPH-H : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine
DTR : Décoction (tiges + racines)
EAG : équivalent d'acide gallique
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
EtOH : Ethanol
FeCl₃ : Chlorure de Fer (III)
FRAP : Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
FT : Flavonoïdes Totaux
g/jour : Gramme par Jour
GPX : Glutathion Peroxydase
h : Heure
H₂O : Eau
HCl : Acide chlorhydrique
KOH : Hydroxyde de potassium
LCBOSN : Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles

m : masse de matière sèche du matériel végétal hydrolysé
m/v : Masse par volume
MeCOMe : Acétone
MeOH : Méthanol
MF : Macération feuilles
Mg : magnésium
min : Minute
mL : Millilitre
mm : Millimètre
MP : Macération plante
MTR : Macération (tiges + racines)
Na₂CO₃ : Carbonate de sodium
NaNO₃ : Nitrate de Sodium
NaOH : Hydroxyde de Sodium
nm : Nanomètre
O₂ : Oxygène
O₂⁻ : Anion Superoxyde
OH[•] : Hydroxyle
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity
PT : Phénols Totaux
R[•] : Radical
ROO[•] : Peroxyde
SFA : Sciences Fondamentales et Appliquées
SOD : Superoxyde Dismutase
TRAP : Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter
UNA : Université NANGUI ABROGOUA
V : volume final de l'extrait
v/v : Volume par volume

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAUX

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques.....	19
Tableau 2 : Rendements des extractions alcooliques.....	29
Tableau 3 : Résultats de la caractérisation <i>in vitro</i> des phytocomposés	30
Tableau 4 : CI ₅₀ et CE ₅₀ des extraits de <i>H. rotundifolia</i>	40

FIGURES

Figure 1 : <i>Heterotis rotundifolia</i> (Melastomataceae) (Source personnelle)	13
Figure 2 : Voies de biosynthèse des structures polyphénoliques [26]	15
Figure 3 : Structure moléculaire de la coumarine	16
Figure 4 : Squelette carboné de base des flavonoïdes	16
Figure 5 : Structures moléculaires de quelques flavonoïdes.....	17
Figure 6 : Structures moléculaires des acides digallique (a) et ellagique (b), précurseurs respectifs des gallo- et ellagitanins	18
Figure 7 : structures moléculaires d'antioxydants de type flavonoïde	21
Figure 8 : Schéma réactionnel de la réduction du DPPH'	23
Figure 9 : Schéma synoptique de l'obtention des teintures par macération (A) et par décoction (B).....	25
Figure 10 : Squelettes de base des flavanones (A) et des dihydroflavonols (B)	30
Figure 11 : Teneurs en phénols et flavonoïdes totaux contenus dans les teintures	31

INTRODUCTION

Les plantes ont été, et sont une source d'inspiration pour la découverte, et la mise au point de nouveaux candidats médicaments. De tous temps, les médicaments d'origine végétale, contribuent hautement, et significativement au maintien de la santé humaine. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale s'adonnent à la phytothérapie traditionnelle dans la couverture des soins de santé primaire [1]. À ce jour, cette pratique médicale a droit de se faire citer dans toutes les cultures et civilisations mondiales, en raison de son efficacité, son accessibilité, sa disponibilité, sa faible toxicité, et de son acceptabilité [2].

L'efficacité avérée des plantes médicinales, est due en partie, aux métabolites secondaires (alcaloïdes, polyphénols, coumarines, flavonoïdes, tanins, entre autres) qu'elles renferment. Ces matrices végétales constituent dans la réalité, un véritable réservoir inépuisable de substances naturelles bioactives [3].

Les métabolites secondaires sont des principes actifs végétaux en général, et font l'objet de nombreuses recherches tous azimuts. Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition plus ou moins limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches et sont largement utilisés en thérapie comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires. On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques [4]. En effet, les plantes pour la plupart, sont dotées de vertus antioxydantes qui sont des moyens préventifs dans la lutte contre le stress oxydant.

Ces dernières années, une attention particulière est portée sur le concept antioxydant, au regard de son importance dans la prévention de diverses affections (obésité, diabète, athérosclérose, vieillissement précoce, cancers, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire

aigu, œdème pulmonaire, neurodégénérescence, rhumatismes et maladies cardiovasculaires) [5].

En chimie et en pharmacologie la teinture se définit comme une préparation médicinale, obtenue par macération de plantes fraîches dans de l'alcool ou la dissolution d'une substance dans l'alcool, dans l'éther, etc. [6].

Les bases de données bibliographiques que nous avons consultées, laissent à penser que l'espèce *Heterotis rotundifolia* de Côte d'Ivoire, n'a pas été étudiée à ce jour. C'est pourquoi, la présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes à vertus médicinales de Côte d'Ivoire. L'objectif principal est de mener des investigations phytochimique et antioxydante sur des teintures obtenues à partir de *Heterotis rotundifolia* issue de la flore bio diverse de Côte d'Ivoire. Pour atteindre cet objectif, deux (2) objectifs spécifiques ont été fixés, à savoir :

1) Réaliser le criblage phytochimique sur ses teintures par des tests de détection ;

2) Mesurer les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux, et l'activité antioxydante desdites teintures, vis-à-vis du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•).

Outre l'introduction et la conclusion, le mémoire se subdivise en trois (3) principales parties :

1) Un aperçu de la bibliographie sur la plante d'étude et le stress oxydant ;

2) Le matériel et les méthodes d'étude ;

3) Les résultats et la discussion.

1. APERÇU DE LA BIBLIOGRAPHIE

1.1. Généralités sur l'espèce d'étude

1.1.1. Melastomataceae

Les Melastomataceae constituent une famille de plantes angiospermes, qui comprend 185-190 genres et 5000 espèces environ [7]. Les Melastomataceae d'Afrique comptent 25 genres et 279 espèces. Les espèces sont des arbres (rarement grands), des arbustes, des herbes, des lianes, et des épiphytes avec des tiges souvent quadrangulaires [8]. Le genre *Heterotis* de la famille des Melastomataceae, renferme 14 espèces environ, principalement réparties dans les régions d'Afrique (Côte d'Ivoire, Bénin, Burkina Faso, Sénégal et Nigéria) [9]. Seulement 5 espèces dudit genre, poussent en Côte d'Ivoire : *Heterotis amplexicaulis*, *Heterotis antennina*, *Heterotis jacquesii*, *Heterotis rotundifolia*, et *Heterotis rupicola* [10].

1.1.2. *Heterotis rotundifolia* (Sm.) Jacq.-Fél.

Heterotis rotundifolia est connu en Côte d'Ivoire sous des noms locaux : *cocoti ohué* (en baoulé) [11], *hindjimpè*, (en Akyé) [12, 13], Cette plante présente plusieurs caractéristiques botaniques. Sa position systématique est présentée ci-dessous :

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermatophytes
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Rosidae
Ordre :	Myrtales
Famille :	Melastomataceae
Genre :	<i>Heterotis</i>
Espèce :	<i>Heterotis rotundifolia</i>

C'est une plante herbacée vivace (**Figure 1**), à tiges couchées puis ascendantes, s'enracinant aux nœuds, mesurant jusqu'à 40 cm de hauteur. Elle

possède des feuilles simples et opposées. Le pétiole est pubescent. Le limbe ovale et lancéolé, mesure 1,5 à 6 cm de long, et 1 à 2,5 cm de large. Il est parcouru par 3 nervures principales marquées. Les fleurs, solitaires ou groupées par 2 à 3, sont bisexuelles, de couleur rose, mesurant 4 à 5 cm de diamètre. Les sépales sont soudés en un tube (d'une longueur supérieure à 5 mm). Les 5 pétales ovales de 25 mm de long, sont de couleur allant du rose au rose violacé. Les étamines sont jaunes et violettes. Le fruit est une capsule non saillante qui renferme de nombreuses petites graines. La graine de 0,6 mm, présentant une dépression centrale, est ornée de rides concentriques. En Côte d'Ivoire, *H. rotundifolia* pousse au bord des pistes, sur les terrains vagues, et dans les anciennes cultures [13].

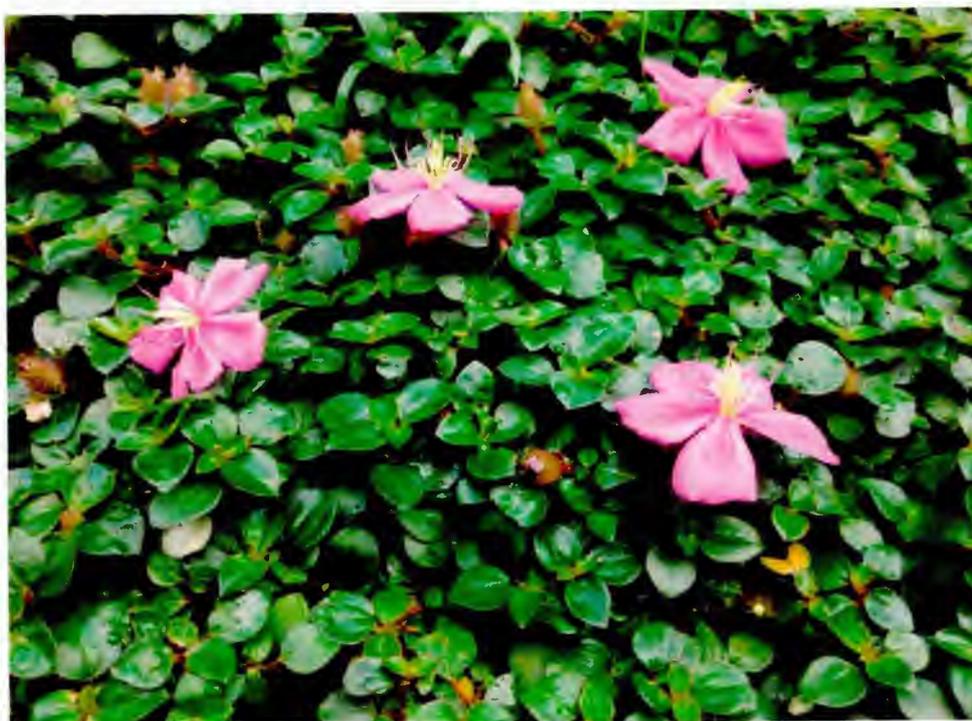


Figure 1 : *Heterotis rotundifolia* (Melastomataceae) (Source personnelle)

1.1.3. Usages traditionnels

Heterotis rotundifolia est utilisé comme couche ornementale et couverture terrestre pour la stabilisation du sol [14]. En Afrique, il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter des affections rhumatismales et diarrhéiques [15]. La décoction de feuilles est utilisée pour traiter la rougeole [16]. Elle est

vendue dans les marchés de Cotonou et d'Abomey-Calavi pour le traitement du diabète chez les femmes enceintes [17]. *H. rotundifolia* permet de hâter les premiers pas du bébé, et de traiter les hémorroïdes, la toux [18, 19]. Elle est utilisée dans le traitement de l'hypertension et de l'obésité en Côte d'Ivoire [20].

Une étude ethnobotanique réalisée sur les espèces médicinales, utilisées en médecine traditionnelle au Nigéria, montrent l'emploi de *H. rotundifolia* comme antimicrobien, dans le traitement des maladies vénériennes, et de la toux [21].

1.2. Polyphénols

Les composés phénoliques représentent l'ensemble des molécules mono, di et polyphénoliques, dont un ou plusieurs groupes hydroxyles (OH) sont liés au noyau benzénique [22].

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. Au nombre des phytosubstances naturelles issues du métabolisme secondaire, les phénols constituent un des groupes les plus nombreux, et largement distribués dans le règne végétal. Neuf mille (9000) structures moléculaires appartenant à cette famille végétale, ont été élucidées à ce jour [23]. Ces structures polyphénoliques résultent de deux (2) voies biosynthétiques principales (Figure 2) : les voies du shikimate et de l'acétate [24].

Les polyphénols peuvent être classés en 10 groupes différents au moins, et ce, selon leur structure chimique de base **tableau I**. Les phénols représentent un groupe très hétérogène de métabolites secondaires. Sous ce nom, sont rassemblées toutes les molécules porteuses d'au moins un groupe OH, lié ou libre, rattaché à un noyau benzénique [25]. Les différentes classes de phénols et dérivés, se distinguent en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs, et d'autre part, sur la structure du squelette de base. Elles s'étendent des molécules simples, tels les phénols simples, à celles fortement polymérisées, tels les tanins [24]. Leurs rôles biologiques les placent également

au cœur de phénomènes d'interactions de défense face aux pressions biotiques (herbivores, microorganismes, etc.).

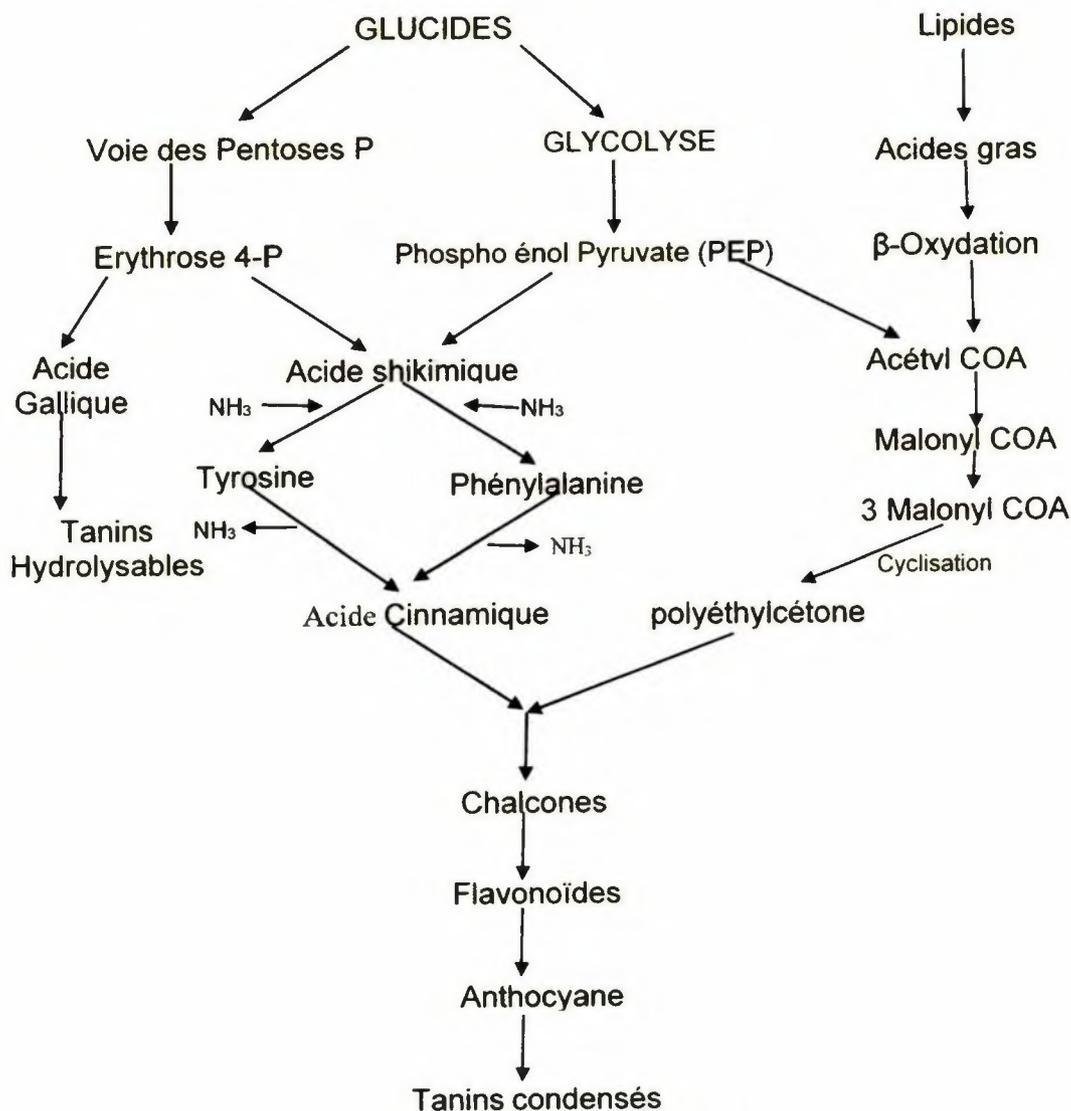


Figure 2 : Voies de biosynthèse des structures polyphénoliques [26]

1.2.1. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Wild, Fabaceae) d'où fut isolée pour la première fois, en 1820, la coumarine [27]. Le squelette de base des coumarines est constitué de 2 cycles accolés de types C₆-C₃ (Figure 3). Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels. La structure de la coumarine se trouve dans environ 150 espèces, appartenant à 30 familles de

plantes différentes, laquelle donne une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement coupé [28, 29]. Les coumarines manifestent diverses activités biologiques : antifongique, antimicrobienne, anti-tumorale, anti-agrégation plaquettaire, inhibitrice de plusieurs enzymes, antivirale, anti-inflammatoire, anticoagulante, diurétique et analgésique [30].

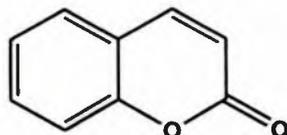


Figure 3 : Structure moléculaire de la coumarine

1.2.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Les flavonoïdes ont un squelette de base, constitué de 2 cycles en C_6 (A et B), reliés entre eux par une chaîne en C_3 qui peut évoluer en un hétérocycle. Le chaînon propyle C_3 peut être complété par une fonction éther, formant ainsi un cycle central C, appelé cycle pyranique (**Figure 4**).

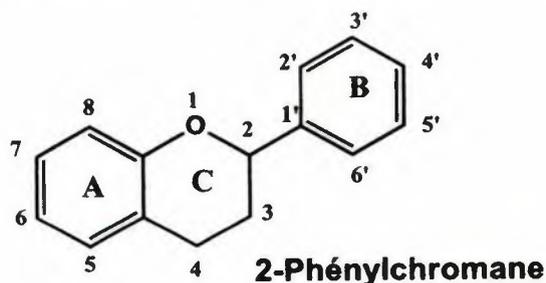


Figure 4 : Squelette carboné de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif. Ils sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), dans l'alcool et dans les autres solvants organiques polaires, mais insolubles dans les solvants organiques apolaires. Les génines sont peu solubles dans l'eau et dans l'éther. Les flavonoïdes sont solubles dans les solutions alcalines (ammoniaque ou lessive potassique). Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation, et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C alors que les composés individuels au sein d'une classe, diffèrent par la substitution des

cycles A et B. Les principales classes de flavonoïdes sont : les anthocyanes, les flavanols, les flavones, les flavanones, les isoflavones et les proanthocyanidols (**Figure 5**) [31].

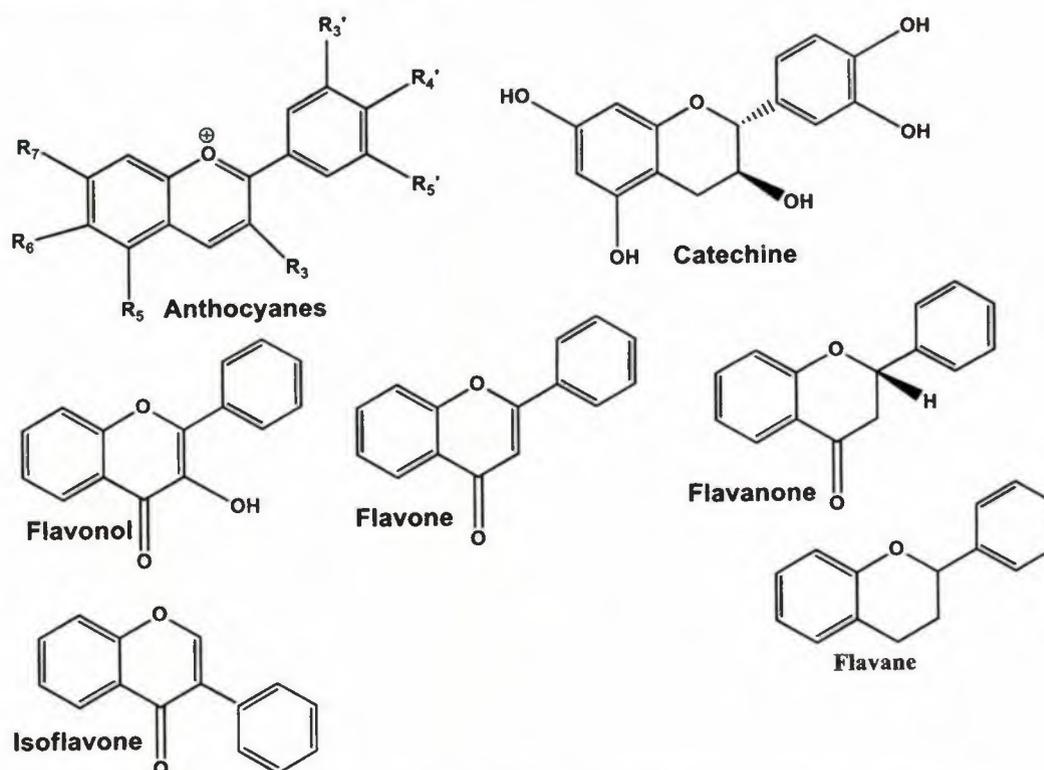


Figure 5 : Structures moléculaires de quelques flavonoïdes

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où leurs activités antivirales, antitumorales, anti-inflammatoires [32], antiallergiques, anti-cancéreuses [33, 34] sont reconnues. Par exemple, les proanthocyanidols présents dans le vin rouge et peu dans le vin blanc, ont une activité protectrice contre l'infarctus du myocarde, et s'opposeraient aux processus de formation des plaques athéromateuses dans les artères [35]. Quant aux flavones, elles possèdent une action dilatatrice des coronaires [36]. Les flavonols manifestent une activité antioxydante [37]. Par ailleurs, il a été prouvé que les anthocyanes ont une activité anti-cancéreuse, réduisent la fatigue oculaire, contrôlent le diabète par action sur la glycémie, améliorent la circulation sanguine [38]. Ils sont également dotés de vertus aphrodisiaques [39].

1.2.3. Tanins

On appelle « Tanins » les substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénolique, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau. Ils se distinguent en 2 principales classes : les tanins condensés (encore appelés tanins catéchiques ou proanthocyanidols) et les tanins hydrolysables (ou tanins vrais).

- Les tanins hydrolysables sont des esters d'un sucre ou d'un acide phénol, ou de dérivés d'acides phénols. La molécule glucidique est en général, du glucose, mais dans certains cas, peut être des fragments polysaccharides. On les classe en gallotanins et ellagitanins (**Figure 6**).

- Les tanins condensés sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités supérieures et terminales de flavan-3-ols et/ou de flavan-3,4-diols, liées entre elles par des liaisons C-C [27]. Les tanins condensés se divisent ainsi, en plusieurs classes, au nombre desquelles les prodelphinidines, constituées de épigallocatechine, et des procyanidines, dérivés de épicatechine.

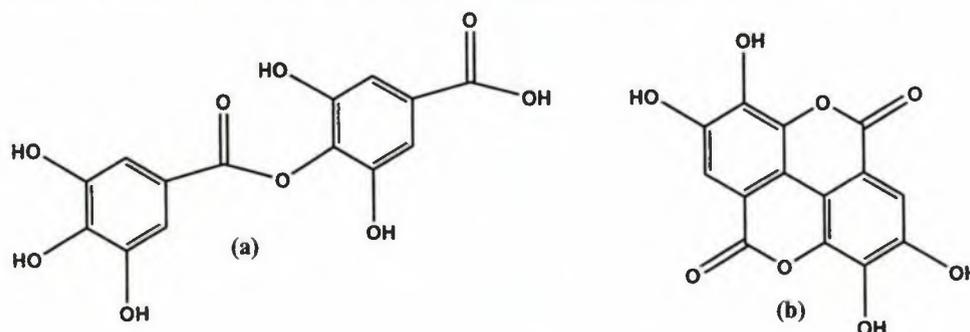


Figure 6 : Structures moléculaires des acides digallique (a) et ellagique (b), précurseurs respectifs des gallo- et ellagitanins

Outre leurs propriétés astringentes, les tanins manifestent des propriétés antidiarrhéique, cicatrisante, vasoconstrictrice, antibactérienne, antivirale, antiinflammatoire. Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhinite, d'infections internes ou externes, de blessures, de coupures et de brûlures.

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques [40]

Squelette carboné	Classe	Exemple
C ₆	Phénols simples	Catéchol
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone, plumbagine
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes Anthraquinones	Resvératrol Anthraquinones
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes, Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, Daidzéine
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Amentoflavone
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tannins	

1.3. Stress oxydatif

1.3.1. Définition

Le stress oxydant ou stress oxydatif est un phénomène biologique, résultant d'une agression chimique des cellules par des radicaux libres.

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe [41]. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade [42]. Ils sont susceptibles de dégrader par oxydation, les molécules biologiques, et seraient impliqués dans diverses pathologies : vieillissement accéléré, athérosclérose, cancers, neurodégénérescence (maladie d'Alzheimer, de Parkinson), rhumatisme inflammatoire, affections chroniques inflammatoires de l'appareil digestif, affections broncho-pulmonaires, affections cutanées, diabète, affections cardiovasculaires, virales chroniques, etc. [43].

Dans certaines conditions métaboliques, la réduction de l'oxygène (O_2) est incomplète, et aboutit à la formation de radicaux libres [44]. Actuellement, le terme de espèces réactives de l'oxygène (ERO) est employé pour désigner un ensemble plus large de molécules : anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), radicaux hydroxyle (OH^{\cdot}) et peroxyde (ROO^{\cdot}), et l'oxygène singulet (1O_2). Toutes ces ERO sont formées en faible quantité dans les conditions physiologiques, mais sont éliminées rapidement par le système antioxydant cellulaire.

On peut également parler de stress oxydatif dès qu'un organisme (ou un système) n'est plus capable de prévenir les dégâts occasionnés par les ERO.

1.3.2. Antioxydants

Les moyens de défense de l'organisme contre le stress oxydatif reposent essentiellement sur deux (2) voies : les moyens endogènes et exogènes. Les moyens endogènes représentent la capacité qu'a l'organisme à se défendre naturellement, et est basée sur l'action d'enzymes (le superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPX)) [44]. Les moyens exogènes qui permettent de se défendre, nécessitent un apport extérieur (antioxydants) en composés que l'organisme est incapable de synthétiser.

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables, et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [45]. Les antioxydants exogènes se retrouvent généralement dans les aliments. Les vitamines A (rétinol, rétinal, ou acide rétinoïque), E (α -tocophérol) ou C (acide ascorbique) ont un potentiel antioxydant. Ils se rencontrent dans de nombreux fruits et légumes. Des antioxydants naturels comme le β -carotène et le lycopène de la tomate préviennent les lésions cellulaires [46]. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes phénoliques dans leur structure. Les composés phénoliques naturels connus sont: les polyphénols, les flavonoïdes (catéchines, flavonols, antocyanidols) et les tanins que l'on retrouve en grande quantité dans le vin [47], et qui possèdent des propriétés antioxydantes (**Figure 7**). Les oligo-éléments (Cr, Cu, Fe, Mn, Se, Zn) ont aussi des propriétés antioxydantes. Ils ont une valeur protectrice du

fait de leur présence dans de nombreuses métalloenzymes (cofacteurs ou coenzymes) à action anti-radicalaire [48]. Il existe des antioxydants de synthèse tels que le Butylhydroxytoluène (BHT) et le Butylhydroxyanisole (BHA). Cependant, il a été prouvé que ces antioxydants de synthèse pourraient être toxiques [49].

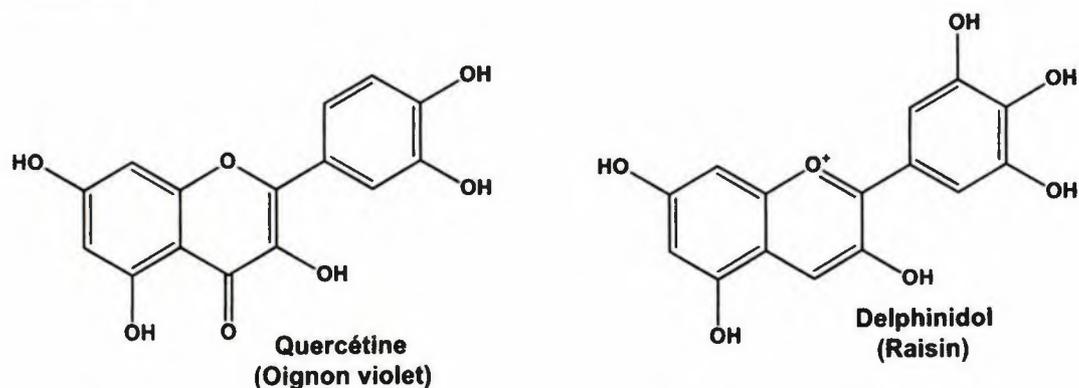


Figure 7 : structures moléculaires d'antioxydants de type flavonoïde

1.3.3. Evaluation de l'aptitude antioxydante : Test de réduction du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•])

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux libres divers :

- ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity / Capacité d'absorption de l'oxygène radicalaire) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter / Paramètre Antioxydant de Piégeage des Radicaux Totaux) pour les peroxydes (ROO[•]) [50, 51] ;
- FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter / Paramètre Antioxydant de Réduction de l'ion ferrique) [52, 51] pour les ions ferriques (Fe³⁺) ;
- Test aux radicaux ABTS[•] (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) [53] ;
- Test au DPPH[•] : cette méthode permet d'étudier la relation structure-activité antioxydante des composés pourvoyeurs de H [54, 51].

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants avec des composés, à la fois hydrophiles et

hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement avec précision. Le plus souvent, il faut combiner les réponses de différents tests complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester [55]. De point de vue méthodologique, le test au DPPH[•] est recommandé pour des composés contenant les groupes SH⁻, NH⁻ et OH⁻ [56, 51]. Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. La méthode de routine couramment utilisée pour la mesure de l'activité antioxydante, est le test de piégeage des radicaux libres stables DPPH[•] [51]. Cette méthode est largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante en raison de sa simplicité, sa rapidité, sa sensibilité et sa reproductibilité [57]. Le test est largement utilisé pour l'évaluation des extraits hydrophiles végétaux, riches en composés phénoliques [52].

Le DPPH[•] (**Figure 8**) est un radical libre stable caractérisé par une couleur violette, et qui présente un maximum d'absorption entre 515 nm et 517 nm dans une solution éthanolique ou méthanolique [58]. Le test de piégeage du DPPH[•], est une technique d'évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits végétaux à l'égard du DPPH[•]. Le piégeage des électrons par les extraits végétaux, est mis en évidence par le virage de la couleur initiale du DPPH[•] (violette) au jaune pâle (couleur de sa forme réduite) en solution alcoolique. Cette couleur pourpre diminue ou disparaît généralement lorsqu'un antioxydant est présent dans le milieu. Les molécules antioxydantes peuvent piéger les radicaux DPPH[•] par transfert de H ou d'e⁻, éventuellement via une attaque radicalaire, et les convertir en un produit réduit inactif le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, de couleur jaune pâle en solution, engendrant une diminution de l'absorbance à 515 nm [59].

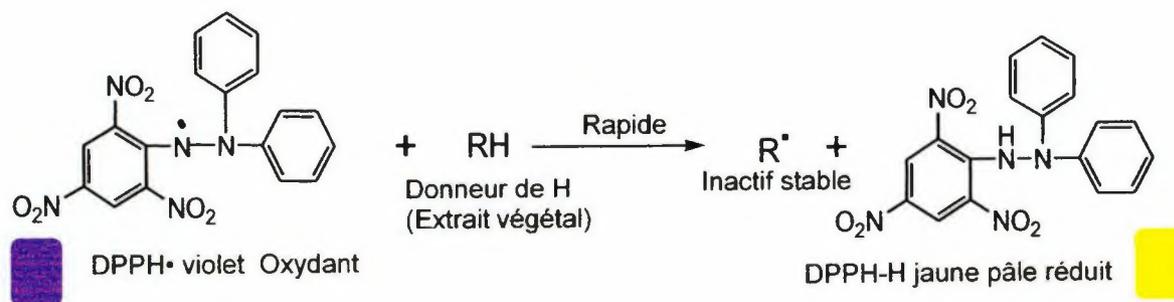


Figure 8 : Schéma réactionnel de la réduction du DPPH•

La stabilité de la molécule est assurée par la délocalisation des électrons sur l'ensemble de la molécule, ce qui rend la molécule non dimérisable. La réduction du radical DPPH• par un donneur de H (RH), conduit à la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) et au radical (R•).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal comprend les feuilles, les tiges et les racines de *Heterotis rotundifolia*. La plante a été récoltée à Abidjan, sur le campus de l'UNA (5° 23' 21" nord, 4° 01' 09" ouest), le 22 juin 2017. Après authentification de la plante au Centre National de Floristique (CNF) d'Abidjan, conformément à l'herbier disponible (référence *Malan 552*), les organes récoltés, ont été nettoyés à l'eau, puis laissés sécher dans une salle climatisée (16°) pendant (5 jours). Après séchage, ils ont été pulvérisés avec un broyeur électrique (Moulinex, type LM 2201) pour fournir des poudres, qui ont servi à préparer les différents extraits à analyser.

2.1.2. Matériel chimique et technique

- **Matériel chimique**

Les produits chimiques utilisés, ont achetés dans le commerce, et proviennent de chez Ryca-Pharma, Carlo Erba, Polychimie. Ils sont tous de qualité pour analyse.

- **Matériel technique**

Le matériel technique utilisé se compose comme suit : un broyeur électrique (Moulinex, LM 2201), une balance électronique (XY6002C (0,01-610g)), un évaporateur rotatif (BUCHI Waterbath B-480) ; un agitateur magnétique (OVAN (230V-500W ; 50/60Hz), un spectrophotomètre UV-visible (AL800 Spectro Direct), un extracteur de Soxhlet, une lampe UV (VL-6.LC (12W-230V ; 50/60Hz ; 254-365nm), un séchoir électrique.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extractions

- **Délipidation au Soxhlet**

Une cartouche contenant 40 g de poudre végétale, recouverte de coton, a été introduite dans une chambre d'extraction, connectée à un ballon

à col rodé (250 ml), contenant de l'hexane (150 ml). Un réfrigérant est adapté au-dessus de la chambre d'extraction. Le dispositif est chauffé à 68°C, sur une calotte chauffante pendant 8 h, pour procurer un marc délipidé.

• **Macération**

5 g de marc délipidé, repris dans 50 ml d'éthanol (EtOH, 96%), sont macérés à température ambiante (26°C), sous agitation pendant 2 h. Après filtration sous vide, le macéré est concentré (78°C) à l'évaporateur rotatif pour fournir l'extrait brut à analyser (**Figure 9A**).

• **Décoction**

5 g de marc délipidé, repris dans 50 ml d'EtOH (96%), ont été chauffés à ébullition pendant 15 min. Après filtration sous vide, le décocté est concentré (78°C) à l'évaporateur rotatif pour fournir l'extrait brut à analyser (**Figure 9B**).

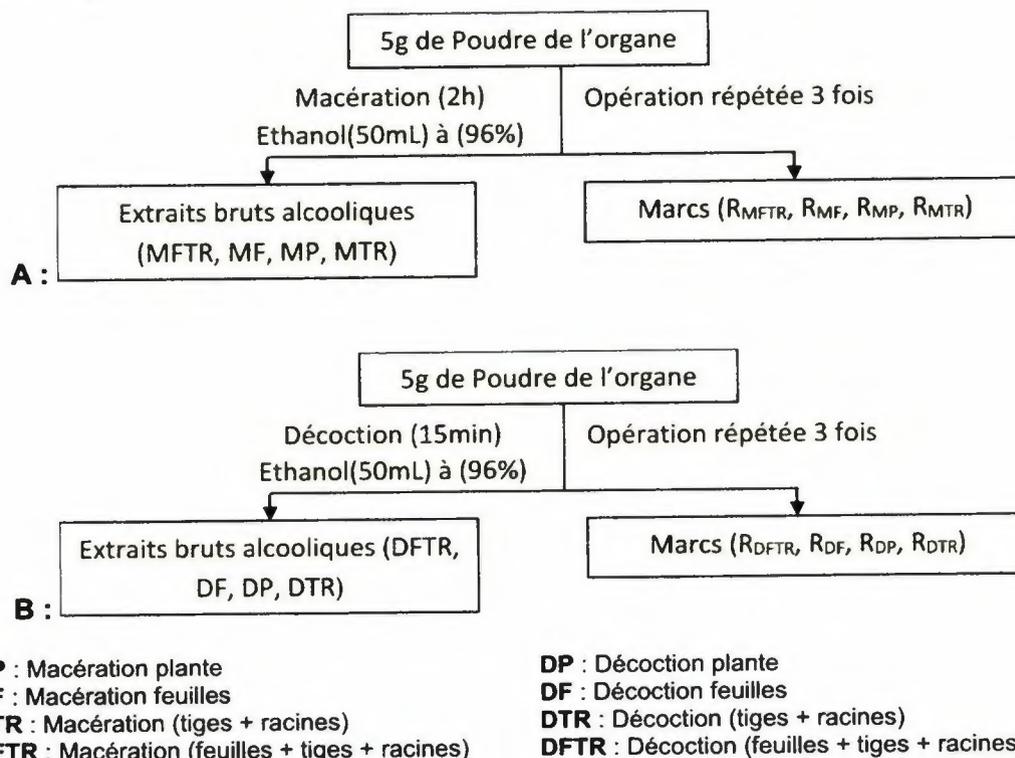


Figure 9 : Schéma synoptique de l'obtention des teintures par macération (A) et par décoction (B)

2.2.2. Analyses phytochimiques

2.2.2.1. Tests qualitatifs par réactions colorées

- **Détection des polyphénols**

À 2 ml de teinture, ont été additionnés quelques gouttes d'une solution aqueuse de chlorure de fer (III) (FeCl_3) à 2% (m/v). L'apparition d'une coloration bleu-noire ou vert-noire indique la présence de polyphénols [60].

- **Détection des flavonoïdes**

✓ **Test de Shinoda** : 5 à 7 gouttes de HCl concentré et 2 à 5 copeaux de magnésium (Mg) sont additionnés à 2 ml de teinture. Après 3 à 5 min, une coloration rose orangé est observée. Pour l'accélération de la réaction et le renforcement de la couleur, la masse réactionnelle est chauffée au bain-marie pendant 2 à 3 min [60].

- **Détection des coumarines**

✓ **Test sur le cycle lactonique** : Dans 2 tubes à essai, ont été introduits 2 ml de teinture. Dans un des tubes est additionné 0,5 ml de lessive sodique (NaOH) à 10% (m/v). Les tubes ont été ensuite chauffés dans un bain-marie jusqu'à ébullition. Après refroidissement, ont été rajoutés dans chaque tube à essai, 4 ml d' H_2O distillée. Si le liquide du tube à essai, dans lequel a été ajoutée la solution alcaline est transparent ou plus transparent (jaune) par rapport au liquide du tube à essai ne contenant pas d'alcali, la réaction est positive. En acidifiant la solution transparente avec quelques gouttes de HCl concentré, elle perd sa coloration jaune, se trouble ou il se forme un précipité [61].

- **Détection des tanins**

✓ **Test de Stiasny** : 5 ml de réactif de Stiasny [30% de CH_2O dans HCl concentré 2/1 (v/v)] ont été additionnés à une quantité aliquote d'extrait reprise au méthanol (MeOH), puis évaporé. La formation de flocons après refroidissement, indique une réaction positive. La solution a été ensuite filtrée et saturée avec du nitrate de sodium (NaNO_3). À ce mélange ont été ajoutées quelques gouttes de FeCl_3 à 2% (m/v). La réaction est positive pour les tanins galliques si une coloration bleue noirâtre apparaît [60].

2.2.2.2. Tests quantitatifs

- **Dosage des phénols totaux (PT)**

La quantité de PT dans les teintures, a été mesurée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu [61, 62]. Les PT ont été quantifiés dans les teintures (différentes concentrations), et incubés à 40°C, par addition de 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (0,5N) et de 1,5 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (17%, m/v). L'absorbance a été déterminée à 760 nm contre un blanc de référence, dépourvu d'extrait à analyser. La quantification des PT a été faite en fonction d'une droite d'étalonnage ($y = ax + b$), tracée à partir d'un extrait d'acide gallique (pris comme étalon) à 100 µg/ml, à différents volumes (0 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par g de masse sèche de la plante. La quantité de PT est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Quantité } (\mu\text{g/g}) = (V \times C \times d) / m \text{ (en } \mu\text{g EAG/g matière sèche)}$$

Equation 1

V : volume final de l'extrait (mL) ; **C** : concentration de l'extrait (µg/mL) ;
d : dilution ; **m** : masse de matière sèche du matériel végétal hydrolysé (g)

- **Dosage des flavonoïdes totaux (FT)**

La quantification des FT a été réalisé selon la méthode de **Hariri et al.**, [63] modifiée par **Konan Marcel**. 2 ml d'extrait (obtenu après concentration de la teinture), dilués au 1/20^{ème} et 100 µl de réactif de Neu ont été mélangés. L'absorbance a été lue à 404 nm, et comparée à celle du quercétine, pris comme standard (0,05 mg/ml), dilué dans les mêmes conditions et traité avec la même quantité de réactif. Le pourcentage des flavonoïdes totaux est calculé en équivalent quercétol selon la formule suivante :

$$F = (0,05 \times A_{\text{ext}} / A_{\text{q}}) \times 100 \times d / C_{\text{ext}} \text{ (en \%)}$$

Equation 2

Où, **A_{ext}** : absorbance de la teinture ; **A_q** : absorbance de la quercétine ;
C_{ext} : concentration de l'extrait (mg/ml) ; **d** : facteur de dilution.

2.2.3. Test antioxydant

La méthode décrite par **Espin et al.**, [64] modifiée par **Slandjana et al**, a servi à mesurer l'activité antioxydante des teintures de *H. rotundifolia* vis-à-vis du DPPH•. La détermination en pourcentage, de l'indice résiduel du DPPH•

((DPPH[•])_R) (réduction du DPPH[•] à la température ambiante sans ajout d'extrait), a été faite pour une concentration choisie pour la réalisation des tests. La réaction a été suivie au cours du temps jusqu'à l'obtention d'un plateau au temps t = 30 min (temps final). L'indice résiduel du DPPH[•] a été évalué par rapport à l'absorbance initiale du [DPPH[•]] à t = 0 selon l'expression ci-après [65] :

$$\text{Le pourcentage à inhiber} \\ (\text{DPPH}^{\bullet})_R = \frac{(\text{DPPH}^{\bullet})_{t=\text{Teq}}}{(\text{DPPH}^{\bullet})_{t=0}} \times 100 \quad \text{Equation 3}$$

Le mélange constitué de 0,5 ml d'une solution méthanolique d'extrait végétal de concentrations variables (0,8 ; 1,2 ; 1,6 ; 2 ; 2,4 ; 2,8 ; 3,2 ; 3,6 ; 4 mg/ml) et de 1,5 ml d'une solution méthanolique de DPPH[•] (0,03 mg/ml) a été agité vigoureusement, ensuite incubé à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance du mélange réactionnel a été lue à 517 nm avec le spectrophotomètre UV-visible, et a été mesurée à différents intervalles de temps (t = 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 min) contre un blanc (préparé dans les mêmes conditions que l'extrait à analyser sans l'oxydant).

Protocole :

Mélange réactionnel : 0,5 ml extrait + 1,5 ml DPPH[•] + 3 ml MeOH

Contrôle : 0,5 ml eau distillée + 1,5 ml DPPH[•] + 3 ml MeOH

Blanc : 0,5 ml eau distillée + 4,5 ml MeOH

Le pourcentage d'inhibition du DPPH[•] a été calculé selon l'équation :

$$\text{Le pourcentage inhibé} \\ \% \text{ inhibition du DPPH}^{\bullet} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance extrait}}{\text{Absorbance contrôle}} \right) \times 100 \quad \text{Equation 4}$$

où, Absorbance de l'extrait mesurée aux différents temps t indiqués.

La demi-concentration efficace (CE₅₀) à différent temps t, a été calculée selon l'équation :

$$\text{CE}_{50, t} (\text{mg d'extrait} / \text{mg de DPPH}^{\bullet}) = \frac{\text{CI}_{50, t}}{[\text{DPPH}^{\bullet}]_{t=0}} \quad \text{Equation 5}$$

où, CI_{50, t} est la demi concentration d'inhibition du DPPH[•] à différents temps t.

La vitamine C, la quercétine et l'acide gallique ont été les standards utilisés.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Rendements des extractions

Dans cette étude, nous avons utilisé 2 types d'extraction (macération et décoction). Les rendements sont présentés dans le **Tableau 1**.

Tableau 2 : Rendements des extractions

Teinture	Masse extrait (g)	Rendement (%)
MP	0,38	7,6
DP	0,44	8,8
MF	0,24	4,8
DF	0,22	4,4
MFTR	0,23	4,6
DFTR	0,45	9
MTR	0,38	7,6
DTR	0,43	8,6

MP : Macération plante

MF : Macération feuilles

MTR : Macération (tiges + racines)

MFTR : Macération (feuilles + tiges + racines)

DP : Décoction plante

DF : Décoction feuilles

DTR : Décoction (tiges + racines)

DFTR : Décoction (feuilles + tiges + racines)

Les rendements des extractions obtenus, varient d'un extrait à un autre. Le rendement de DFTR est le plus élevé, tandis que celui de DF est le plus faible. Ce qui paraît normal puisque la décoction a été faite avec un mélange à masse équivalente trois organes végétaux (feuilles, tiges, racines). Nous constatons par ailleurs, qu'à l'exception du rendement de DF, tous les décoctés ont été obtenus avec des rendements plus élevés que ceux des macérés. En effet, la décoction est une préparation obtenue en faisant bouillir de manière prolongée, une ou des substances pour en extraire les principes actifs. De ce point de vue, nous pouvons expliquer ce constat, par l'action d'énergie thermique (sous forme de chaleur) pendant un laps de temps court (15 min) au cours de l'extraction, qui d'une part, augmente l'agitation thermique du solvant (hausse du pouvoir d'extraction de l'ETOH) et du soluté (matrice végétale), et d'autre part, accroît davantage la solubilité des principes actifs végétaux, et leur bonne diffusion dans l'éthanol.

3.2. Composition qualitative des teintures

Nous avons utilisé des tests de détection par réactions colorées pour mettre en évidence l'existence des métabolites secondaires phénoliques, contenus dans les différentes teintures de *H. rotundifolia*. Les résultats sont consignés dans le **tableau 2**.

Tableau 3 : Composition qualitative des teintures issues d'organes de *H. rotundifolia*

Test	Principe actif	MP	DP	MF	DF	MFTR	DFTR	MTR	DTR
FeCl ₃	Polyphénols	+	+	+	+	+	+	+	+
Shinoda	Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	+
*Cycle lact.	Coumarines	+	+	+	+	+	+	+	+
Stiasny	Tanins	+	+	+	+	+	+	+	+

*Cycle lactonique (+) = Présence

Le **tableau 2** présente la composition phénolique qualitative des teintures de *H. rotundifolia*. De façon plus précise, il met en évidence la coprésence entre autres, principes actifs phénoliques de *H. rotundifolia*, des flavonoïdes, des coumarines et des tanins. Par ailleurs, le test de Shinoda (Mg dans HCl concentré), réaction dite à la cyanidine, est spécifique pour caractériser des sous-groupes de flavonoïdes [66]. Ainsi, au vu du tableau 2, toutes les teintures ont réagi positivement au test à la cyanidine. En conséquence, nous certifions la coexistence de flavanones et de dihydroflavonols (**Figure 10**) [66], au nombre des flavonoïdes présents dans *H. rotundifolia*.

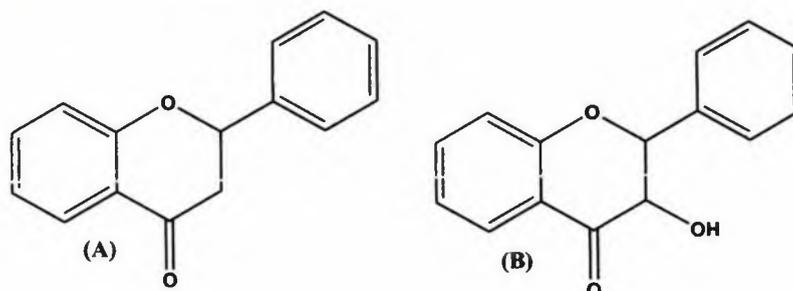


Figure 10 : Squelettes de base des flavanones (A) et des dihydroflavonols (B)

Au demeurant, la coprésence des métabolites secondaires phénoliques dans les teintures, pourrait expliquer l'utilisation de *H. rotundifolia* en médecine non conventionnelle dans le traitement de certaines pathologies locales.

3.3. Composition quantitative phénolique des teintures de *H. rotundifolia*

Les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux, ont été déterminées suivant les méthodes déjà décrites [61-63]. Les résultats (Figure 11) montrent des teneurs variables en PT et en FT contenus dans les teintures d'organes de *H. rotundifolia*.

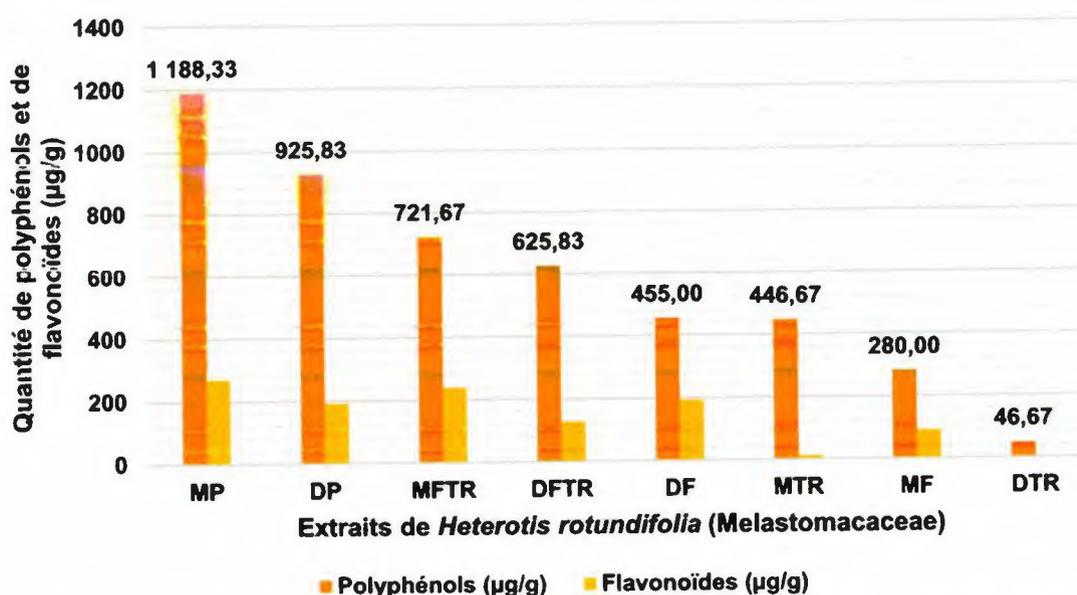


Figure 11 : Teneurs en phénols et flavonoïdes totaux contenus dans les teintures

La quantification des composés phénoliques a révélé que MP présente une proportion élevée de PT et FT que les autres teintures. DTR, en revanche, montre les teneurs les plus faibles en PT et FT. Les feuilles renferment une teneur plus importante en PT par rapport aux mélanges (racines + tiges), et ce, en proportions variables. La solubilité des composés phénoliques végétaux, dépend de leur nature chimique, qui varie de structures moléculaires simples à structures fortement polymérisées. Les matrices végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, de phénylpropanoïdes, d'anthocyanes, et de tanins [67]. Cette diversité structurale est à l'origine de la

variabilité des propriétés physico-chimiques, qui influencent l'extraction des phytophénols [68, 69]. La variabilité de la composition phénolique des teintures de *H. rotundifolia*, pourrait s'expliquer entre autres, par les facteurs biogénétiques et/ou environnementaux. Les phytophénols sont des composés importants car ils font partie des phytomicronutriments. En effet, ce sont des antioxydants les plus abondants dans les aliments, puisque l'homme en consomme environ 1g/jour, soit près de dix fois plus que de vitamine C, et 100 fois plus que la vitamine E [70-72]. Les polyphénols neutralisent les radicaux libres, et contribuent ainsi à prévenir diverses pathologies dégénératives.

On note cependant, une répartition variable des flavonoïdes totaux selon les échantillons et leur quasi absence dans MTR (11,60 µg/g) et DTR (2,24 µg/g). D'une manière générale, les teneurs en flavonoïdes totaux sont plus élevées dans les feuilles que dans les tiges et les racines. Les plantes synthétisent les flavonoïdes grâce au rayonnement solaire pour se protéger de l'oxydation ; plus l'exposition aux rayons solaires augmente, et plus les teneurs en flavonoïdes augmentent, surtout dans les parties les plus exposées. Aussi, les flavonoïdes assurent-ils la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire [73, 74].

3.4. Activité antioxydante des teintures de *H. rotundifolia* vis-à-vis du DPPH[•]

Pour mieux apprécier l'activité antiradicalaire des teintures de *H. rotundifolia*, se traduisant par leur pouvoir antiradicalaire, nous avons suivi la réduction du DPPH[•] en fonction du temps (toutes les 3 min pendant 30 min).

3.4.1. Réduction du DPPH[•] en fonction du temps

La détermination du pourcentage de [DPPH[•]]_R calculé, montre une réduction naturelle du DPPH[•] à la température ambiante, jusqu'à atteindre un plateau à t = 30 min (**Figure 12**).

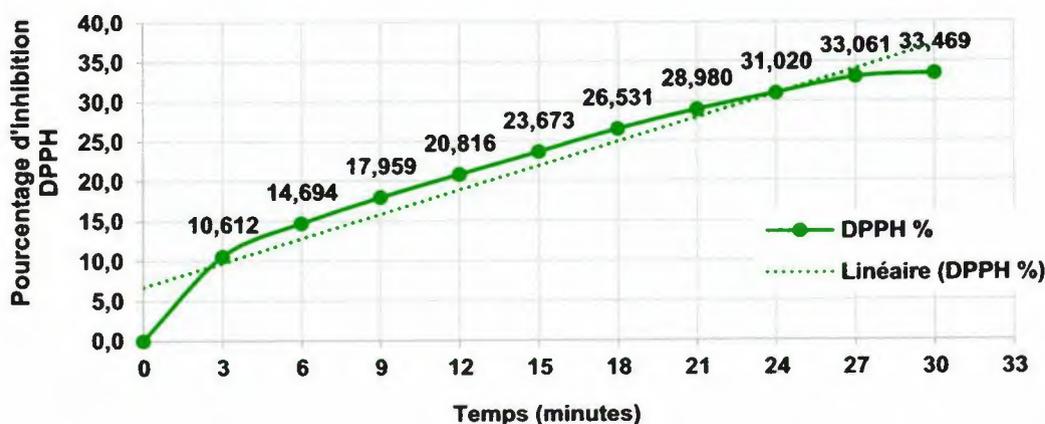


Figure 12 : Pourcentages de réduction du DPPH'

Nous constatons des variations des pourcentages de DPPH' qui traduisent une réduction du DPPH' pendant 30 min d'incubation. Nous notons une réduction du DPPH' de 33,5% environ en solution. Ce pourcentage est à prendre en compte dans l'analyse des échantillons de *H. rotundifolia* testés. Cette différence d'absorbance reste négligeable lorsque le DPPH' en solution est incubé à l'obscurité. Une étude antérieure a rapporté que l'absorbance du DPPH' à 517 nm dans les solvants tels que le méthanol (MeOH), et l'acétone (MeCOMe) a baissé, respectivement de 20% et 35% à 25°C à la lumière. Cependant, à l'obscurité, aucun changement significatif n'a été observé pendant 150 min [75]. Le test au DPPH' permet de comparer différents extraits entre eux, et ce, selon leur capacité de piégeage du DPPH' et ainsi, d'apprécier les variations qualitatives des composés phénoliques. L'évaluation de l'activité antiradicalaire doit être interprétée avec précaution du fait que l'absorbance du DPPH' à 515-520 nm diminue sous l'action de la lumière, de l'oxygène, en fonction du pH et du type du solvant [76, 51].

3.4.2. Pouvoir antiradicalaire des teintures

En vue d'évaluer par spectrophotométrie, l'activité antioxydante des teintures issues de *H. rotundifolia*, nous avons réalisé une étude comparative de leur activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH', avec celle de 3 antioxydants de référence que nous avons choisis, à savoir : la vitamine C (acide L-ascorbique), l'acide gallique (phytophénol), et la quercétine (phytophénol flavonoïde), dont les sites actifs sont mis en évidence dans la **figure 13**. Toutes

les expériences ont été réalisées dans les mêmes conditions. Les figures 14-16 traduisent les résultats que nous avons obtenus.

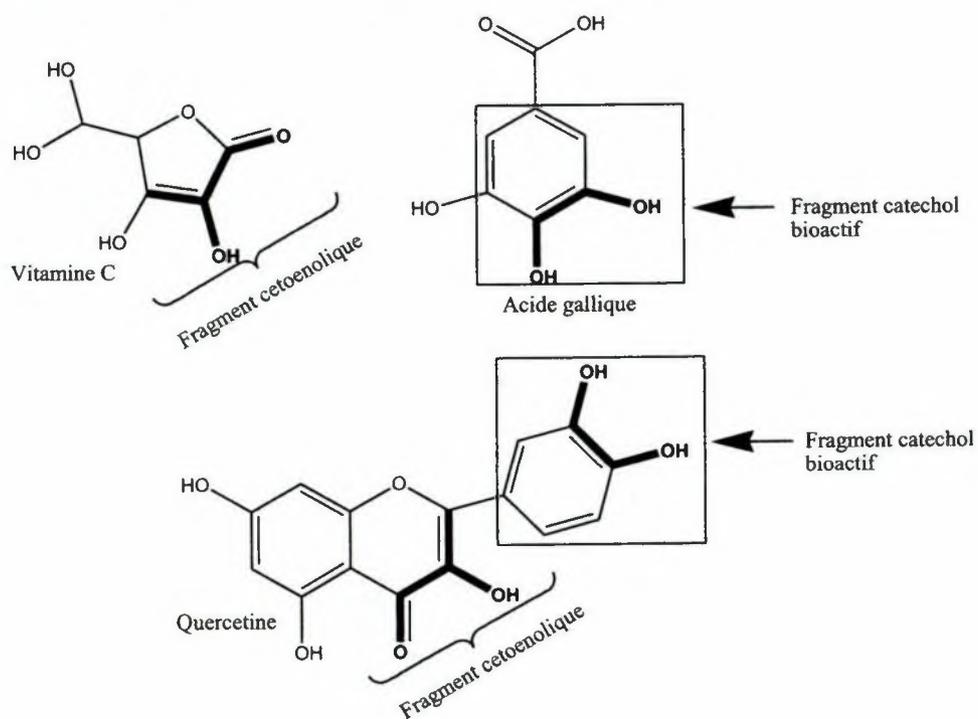


Figure 13 : Structures moléculaires de la vitamine C, de l'acide gallique et de la quercétine

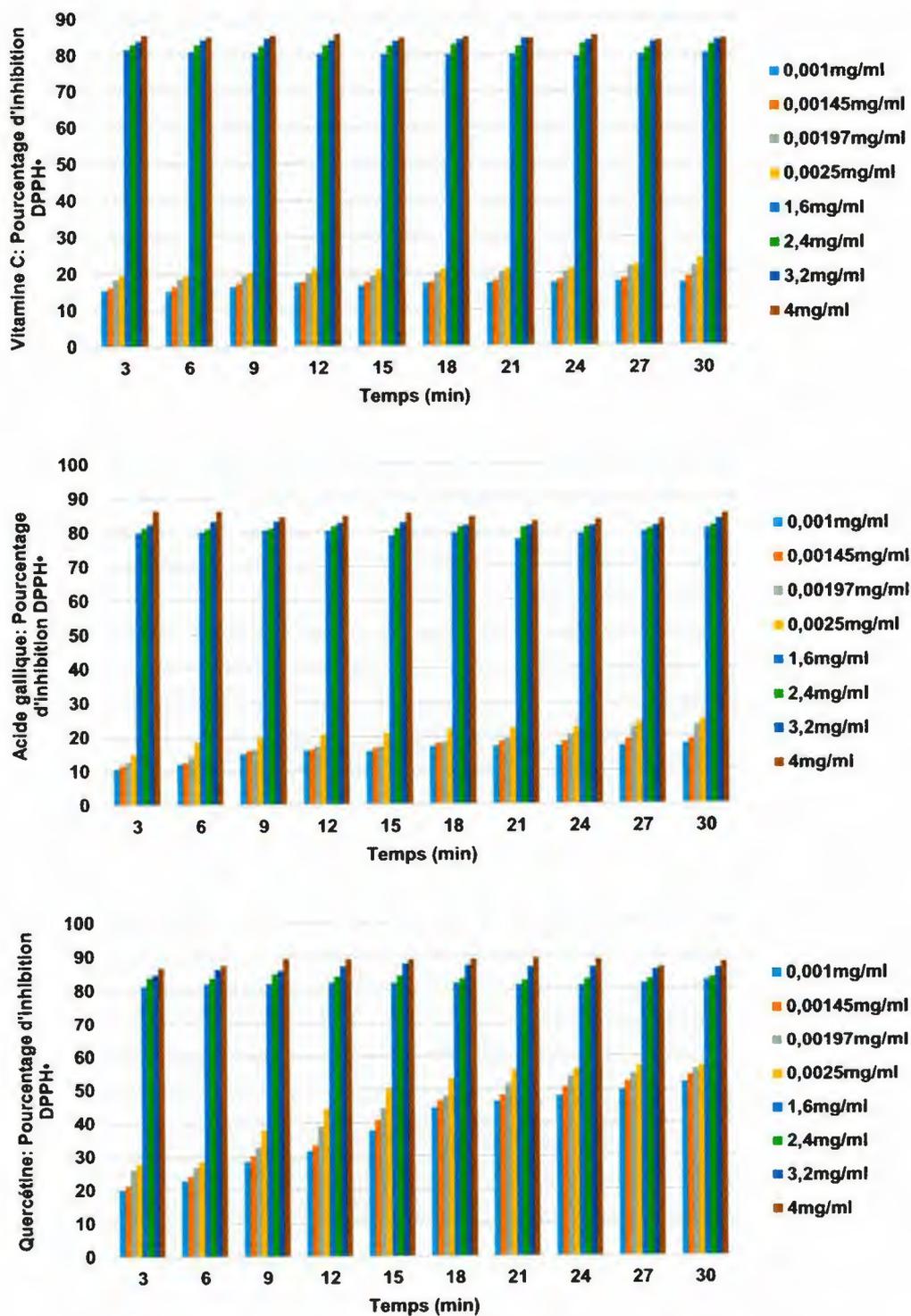


Figure 14 : Pouvoir antioxydant de la vitamine C, de l'acide gallique et de la quercétine

En général, par rapport aux 3 antioxydants de référence (Figure 14), toutes les teintures de de *H. rotundifolia*, obtenues par macération et par

décoction, exhibent un effet antiradicalaire aux différentes concentrations, et ce, à l'égard du DPPH[•] (**Figures 15, 16**). Nous pouvons donc affirmer que la manifestation de l'activité antioxydante est avérée.

Les absorbances de la vitamine C, l'acide gallique et la quercétine ont été lues dans les mêmes conditions que celles des extraits testés pour une meilleure appréciation de leurs activités antioxydantes. La **figure 14** montre un pouvoir antioxydant maximal à 4 mg/ml, de plus de 80%, minimal à 0,001 mg/ml de 17,33, 17,77 et de 52% respectivement pour la vitamine C, l'acide gallique et la quercétine. Nous notons cependant, que l'activité antioxydante de la quercétine à 0,001mg/ml, est plus élevée que celle de la vitamine C et de l'acide gallique ; ce qui s'explique par la relation structure-activité. En effet, la structure moléculaire de la quercétine (**Figure 13**), renferme à la fois, les sites à l'origine de la réactivité antioxydante (donneur de H) de la vitamine C et de l'acide gallique.

Globalement, les résultats obtenus indiquent que pour certains échantillons d'extraits végétaux, la réduction des radicaux libres stables DPPH[•] est perceptible dès les premières minutes, alors que chez d'autres, elle se fait de façon progressive dans le temps jusqu'atteindre un maximum et se stabiliser. Les teintures de macérés MP, MF, MTR, et MFTR manifestent une activité antiradicalaire plus ou moins variable. Toutefois, L'activité antiradicalaire de MTR, demeure la plus basse (pourcentage d'inhibition allant de 2,542 à 36,087%). Quant aux teintures de décoctés, DP, DF, DTR, DFTR, elles ont présenté une inhibition significative des radicaux libres stables DPPH[•].

Se référant aux résultats obtenus, nous pouvons dire que les pourcentages d'inhibition (réduction) du DPPH[•] des teintures de *H. rotundifolia*, évoluent de la même manière dans le temps. Ce qui permet en conséquence, selon le temps nécessaire de réduction de plus de la moitié du DPPH[•], de les classer en 3 catégories A, B et C, respectivement à activité antioxydante rapide (80% d'inhibition en 3 min), intermédiaire (80% d'inhibition en 15 min), et lente (moins de 50% d'inhibition après 15 min).

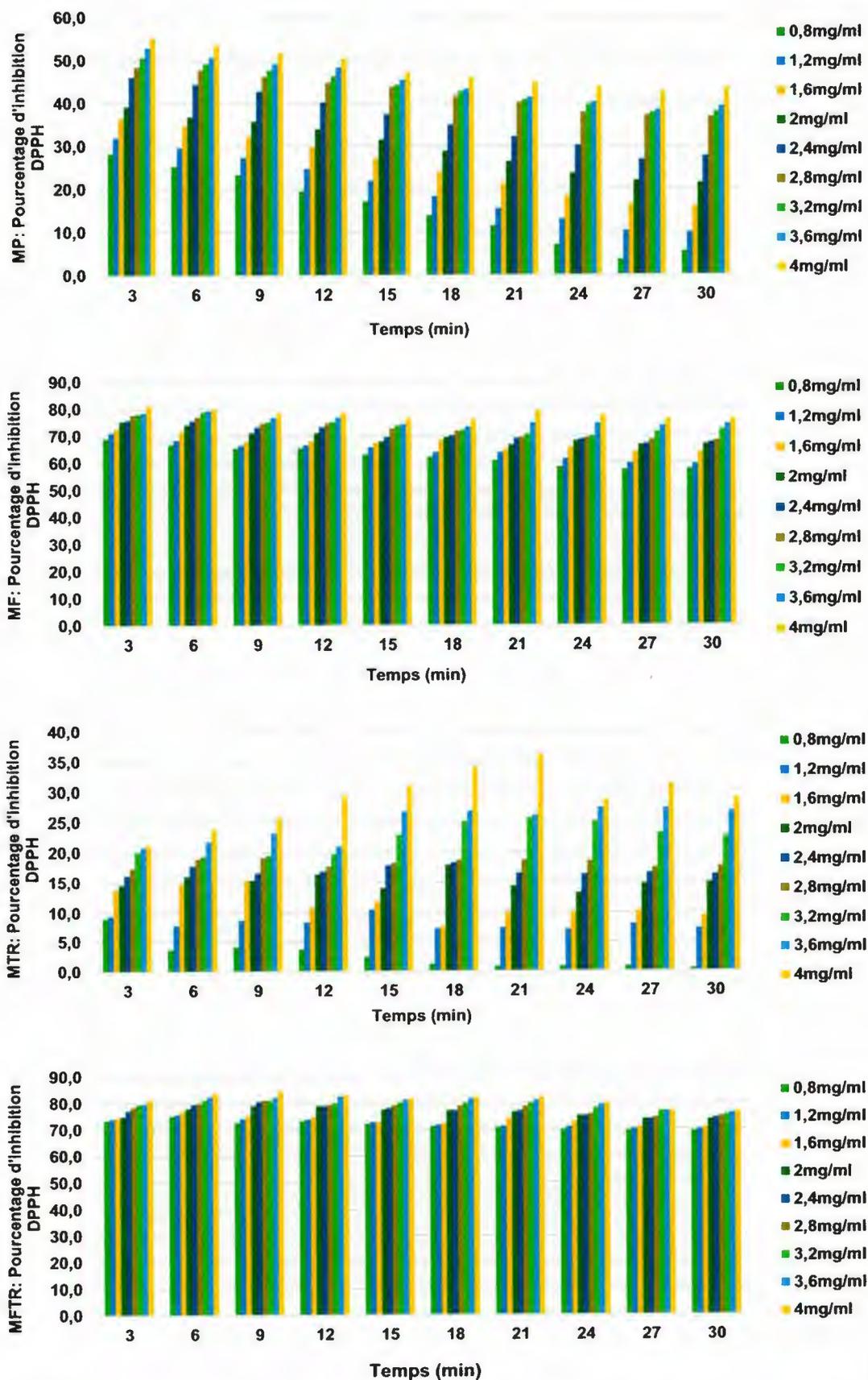


Figure 15 : Activités antioxydantes des macérés de *H. rotundifolia*

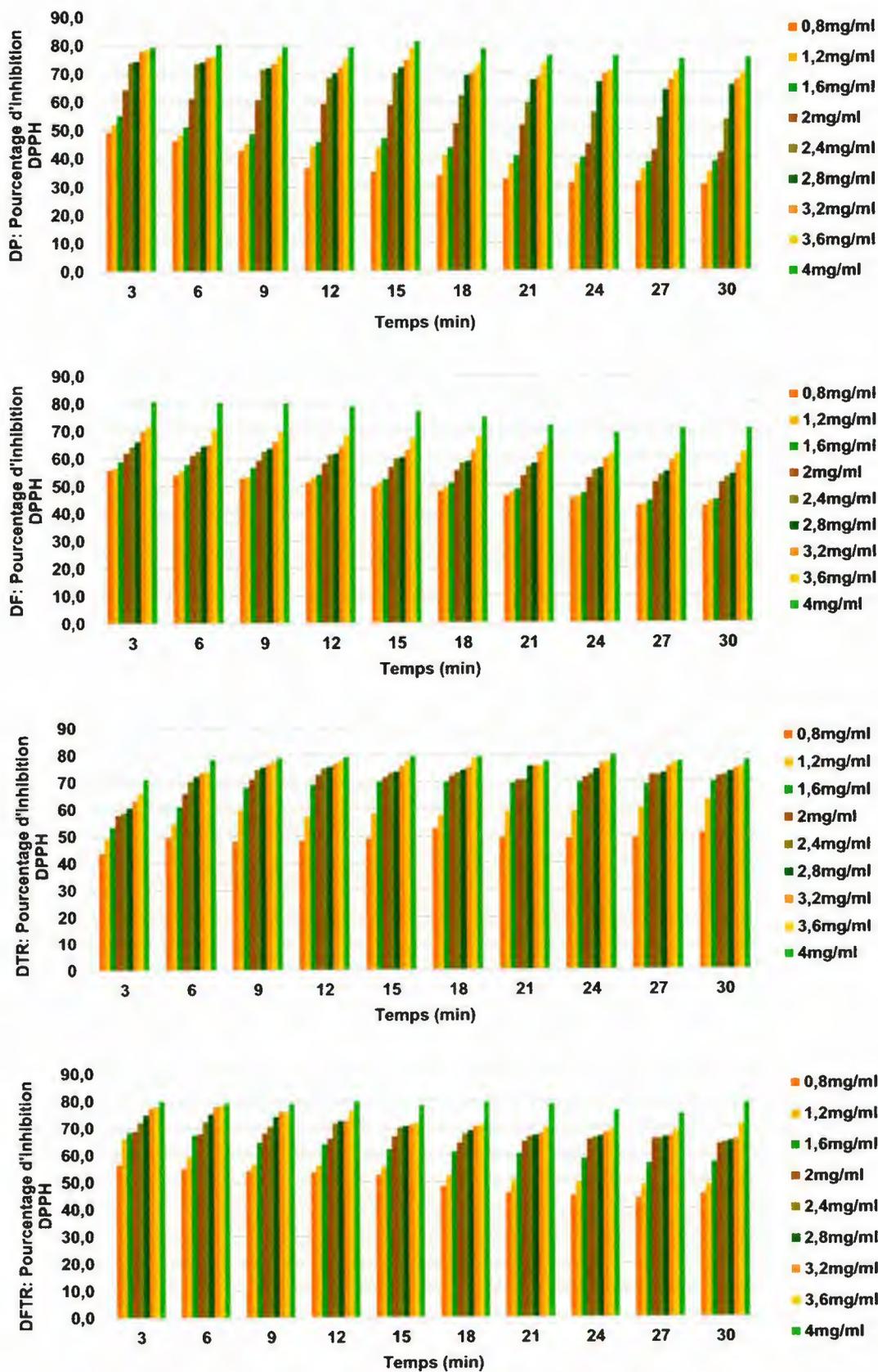


Figure 16 : Activités antioxydantes des décoctés de *H. rotundifolia*

Les teintures de la catégorie A sont MF (81,279%), MFTR (81,279%), DP (80,383%), DF (80,822%), DFTR (79,909%) ; celles de la catégorie B sont DTR (79,679%), et celle de la catégorie C est MTR (36,087%). La teinture MP peut être classée dans la catégorie A puisqu'elle cause l'inhibition maximale du DPPH[•] de 55,521% en 3 min pour ensuite se stabiliser. Par ailleurs, aux premières minutes, nous remarquons dans l'ensemble, une baisse rapide de l'absorbance chez toutes les teintures, suivie d'une étape lente jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. Ainsi, 2 zones de cinétique rapide et lente de piégeage du DPPH[•] [58, 77]. En outre, les profils cinétiques des teintures révèlent une activité antiradicalaire tributaire du rapport [Antioxydant] / [DPPH[•]], en d'autres termes, plus l'antioxydant est concentré, plus la baisse de l'absorbance du DPPH[•] est importante. MP, MF, MFTR, DP, DF et DFTR de la catégorie A, présentent également de teneurs très significatives en PT et FT. Ce qui confirme la corrélation entre teneur en composés phénoliques et activité antiradicalaire, laquelle a été mise en évidence dans d'autres travaux publiés [78, 79]. En effet, il est démontré que l'activité antiradicalaire de phytophénols, dépend du nombre, de la position et de la nature des substituants sur le cycle B (fragment catéchol) et l'hétérocycle C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation [80,81, 51, 82].

Une meilleure appréciation de l'efficacité de la réduction du DPPH[•] par les teintures, est mise en relief par la détermination de la CI₅₀ (demi-concentration inhibitrice) et de la CE₅₀ (demi-concentration efficace). Toutefois, La détermination du pourcentage d'inhibition seule, ne permet pas de clarifier l'efficacité de réduction des radicaux libres par un quelconque composé. La CI₅₀ est déterminée graphiquement alors que la CE₅₀ se mesure par le rapport $CI_{50} / [DPPH^{\bullet}]_{t=0}$. C'est un paramètre qui se traduit comme étant la demi concentration d'un composé, qui cause la perte de l'activité du DPPH[•] [83]. Plus la CE₅₀ est faible, et plus le composé manifeste une bonne activité antioxydante. Elle est donc inversement proportionnelle à la CI₅₀. La CI₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre

de 50%. Les valeurs des Cl_{50} et CE_{50} des teintures de *H. rotundifolia* sont présentées dans le **Tableau 3**.

Tableau 4 : Cl_{50} (mg/ml) et CE_{50} des teintures de *H. rotundifolia* et des 3 antioxydants de référence

Extrait		3 min	6 min	9 min	12 min	15 min	18 min	21 min	24 min	27 min	30 min
Vit C	Cl_{50}	0,35	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
	CE_{50}	11,67	12,23	12,33	12,33	12,23	12,33	12,33	12,33	12,23	12,23
AG	Cl_{50}	0,45	0,42	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
	CE_{50}	15,00	13,90	12,77	12,77	12,77	12,77	12,77	12,77	12,67	12,77
QTN	Cl_{50}	0,317	0,317	0,267	0,217	0,150	0,050	0,017	0,007	0,005	0,001
	CE_{50}	10,567	10,567	8,900	7,233	5,000	1,667	0,557	0,217	0,167	0,033
MP	Cl_{50}	3,03	3,25	3,55	3,87	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
	CE_{50}	101,00	108,33	118,33	129,00	133,33	133,33	133,33	133,33	133,33	133,33
DP	Cl_{50}	0,93	1,50	1,60	1,62	1,67	1,85	1,95	2,13	2,23	2,28
	CE_{50}	31,10	50,00	53,33	54,00	55,67	61,67	65,00	71,00	74,33	76,00
MF	Cl_{50}	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	CE_{50}	26,67									
DF	Cl_{50}	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	1,18	1,62	1,73	2,15	2,23
	CE_{50}	26,67	26,67	26,67	26,67	26,67	39,33	54,00	57,67	71,67	74,33
MTR	Cl_{50}	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
	CE_{50}	133,33									
DTR	Cl_{50}	1,27	0,83	0,85	0,88	0,83	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	CE_{50}	42,33	27,77	28,33	29,43	27,77	26,67	26,67	26,67	26,67	26,67
MFTR	Cl_{50}	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	CE_{50}	26,67									
DFTR	Cl_{50}	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,90	1,03	1,07	1,15	1,15
	CE_{50}	26,67	26,67	26,67	26,67	26,67	30,00	34,33	35,67	38,33	38,33

Vit C : Vitamine C

MP : Macération plante

DF : Décoction plante

MFTR : Macération feuilles tiges et racines

AG : Acide gallique

DP : Décoction plante

MTR : Macération tiges et racines

DFTR : Décoction feuilles tiges et racines

QTN : Quercétine

MF : Macération feuilles

DTR : Décoction tiges et racines

Les valeurs graphiquement déterminées des Cl_{50} et les CE_{50} calculées des antioxydants de référence, sont plus petites que celle des différentes teintures de *H. rotundifolia*. Nous remarquons par ailleurs, que la quercétine a une activité antioxydante plus prononcée (Cl_{50} = 0,001 mg/ml ; CE_{50} = 0,033) que la vitamine C (Cl_{50} = 0,37 mg/ml ; CE_{50} = 12,23), et que de l'acide gallique (Cl_{50} = 0,38 mg/ml ; CE_{50} = 12,77). L'explication de cette efficacité réactive, réside dans la nature du site de réactivité intrinsèque de chaque composé, que

nous avons déjà expliqué plus haut, en nous référant à la **figure 12**. Par ailleurs, d'autres auteurs l'expliquent par le nombre, la position et la nature des groupes OH présents dans les cycles, constituant la structure moléculaire de base de chaque composé [84, 55].

Au nombre des teintures testées, Seules MF, DTR, MFTR et DFTR dont les valeurs CE_{50} (obtenues entre 3 - 30 min), respectivement 0,8 ; 0,8 ; 0,8 ; 1,15 mg/ml pour les CI_{50} , de 26,67 ; 26,67 ; 26,67 ; 38,33 mg/ml pour les CE_{50} , se rapprochent des valeurs des CI_{50} , et CE_{50} des antioxydants de référence. DF possède une $CE_{50} = 0,8$ relativement basse jusqu'à 15 min, puis passe à 2,23 à 30 min. L'efficacité antiradicalaire de DF, est donc réduite après 15 min. De ce qui précède, nous déduisons que *H. rotundifolia* signe une activité antioxydante variable selon que la teinture est obtenue par macération ou bien par décoction. Nous constatons au demeurant, que DP ($CI_{50} = 2,28$ mg/ml ; $CE_{50} = 76,00$) est plus efficace vis-à-vis du DPPH^{*} que MP ($CI_{50} = 4,00$ mg/ml ; $CE_{50} = 133,33$) ; ce qui laisse à penser que la décoction a permis d'extraire plus de phytocomposés antioxydants que la macération. Cette observation ne contredit pas les résultats obtenus (**Figure 14**).

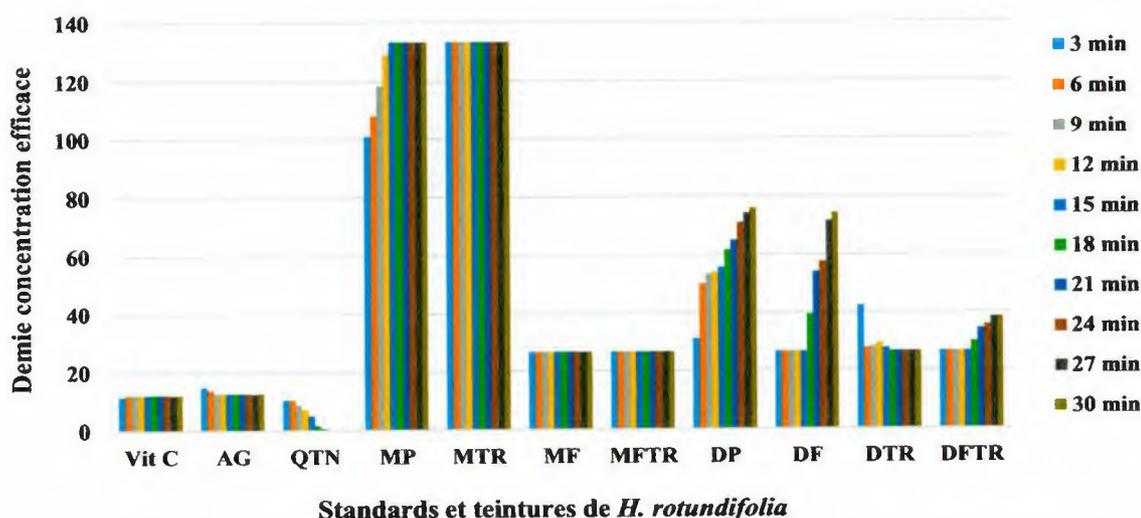


Figure 17 : Activités antioxydantes de macérât éthanolique *H. rotundifolia*

In fine, la présente étude apporte une explication rationnelle du bien-fondé de l'usage médicinal en thérapie traditionnelle de *Heterotis rotundifolia* en Côte d'Ivoire.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail sur *Heterotis rotundifolia* de Côte d'Ivoire, est une première du genre.

La composition qualitative et quantitative phénolique et l'effet antioxydant de cette plante, ont été mis en relief par un criblage phytochimique par des réactions colorées de détection et antiradicalaire vis-à-vis des radicaux libres stables DPPH^{*}, de ses teintures, obtenues par macération et par décoction. Il apparaît que cette matrice végétale, au travers de ses teintures, exhibe des propriétés antioxydantes non négligeables, et ce, en comparaison aux trois antioxydants de référence qui ont été utilisés. Un lien corrélatif manifeste, entre le pouvoir antioxydant et les phytophénols contenus dans *H. rotundifolia*, a été établi.

Cette étude suggère une validation rationnelle de l'usage traditionnel de cette plante, et révèle par ailleurs, son intérêt dans le cadre d'une valorisation biotechnologique.

Pour la suite, il semble opportun d'isoler, d'approfondir la caractérisation des principes actifs phénoliques de la plante, et de faire une évaluation pharmacologique (*in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*) pour une meilleure compréhension de son mode d'action.

REFERENCES

- [1] **Pierangeli G. V. et Windell L. R.** (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *chromolaena odorata* (L.f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3 (7) 511-518.
- [2] **Akharaiyi F. C. et Boboye B.** (2010). Antibactériale and phytochemical Evaluation of three medicinal plants. *Journal of Natural Products*, (3): 27-34.
- [3] **Yousfi M., Djeridane A., Nadjemi B., Maamri S., Djireb F. et Stocker P.** (2006). Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21 (6) : 719-726.
- [4] **Kabran G. R. M.** (2014). Etude chimique et cytotoxique de dix plantes médicinales de Côte d'Ivoire, utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein. *Thèse unique de Doctorat, Université Nangui Abrogoua* : 265 p.
- [5] **Mohammedi Z.** (2013). Etude Phytochimique et Activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, Thèse de Doctorat, université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, Algérie, 169 p.
- [6] **Webographie**
- [7] **Almeda F. et Chuang T. I.** (1992). Chromosome Numbers and Their Systematic Significance in Some Mexican Melastomataceae. *Systematic Botany*, 17(4): 583-593
- [8] **Webographie**
- [9] **Webographie**
- [10] **Scoupe M.** (2011). Composition floristique et diversité de la végétation de la zone Est du Parc National de Taï (Côte d'Ivoire). Mémoire de Master, Université de Genève, Suisse, 194 p.
- [11] **Kouakou F. Y. A. et Kamagate A.** (2016). Contribution de la Médecine Traditionnelle Ivoirienne dans le Traitement de l'Obésité et du Diabète. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 18 (4): 1159-1166.
- [12] **Aké-Assi L.** (2001). Flore de la Côte d'Ivoire : Catalogue, biogéographie et écologie, 1 : 396 p.

- [13] **Aké-Assi L. (2011)** Abrégé de médecine et de pharmacopée africaines : Quelques plantes employées traditionnellement dans la couverture des soins primaires, Ed. NEI-CEDA, Abidjan, Côte d'Ivoire, 157 p.
- [14] **Webographie**
- [15] **Webographie**
- [16] **Ajibesin K. K. (2012).** Ethnobotanical survey of plants used for skin diseases and related ailments in Akwa Ibom State, Nigeria. *Ethnobotany Research & Applications*, 10: 463-522.
- [17] **Fah L., Klotoé J. R., Dougnon V., Koudokpon H., Fanou V. B. A., Dandjesso C. et Loko F. (2013).** Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète chez les femmes enceintes à Cotonou et Abomey-Calavi (Bénin). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 18 (1): 2647-2658.
- [18] **Issali A. E., Assi J. Y., Koné H. C. K. et Sibailly R. Y. (2015).** Floristic study of the protected area from yacolidabouo, located at soubré, Côte d'Ivoire. *Octa Journal of Environmental Research*, 3 (2): 196-203.
- [19] **Lagnika L., Adjileye R. A. A., Yedomonhan H., Amadou B. S. K. A. et Sanni A. (2016).** Ethnobotanical survey on antihypertensive medicinal plants in municipality of Ouémé, Southern Benin. *Advanced Herbal Medicine*, 2 (3): 20-32.
- [20] **Malan D. F., Danho F. R. N. et Kouakou L. K. (2015).** Medicinal plants and traditional healing practices in Ehotile people, around the aby lagoon (eastern littoral of Côte d'Ivoire). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11:21, 2-18.
- [21] **Chukwuma E. C., Soladoye M. O. et Feyisola R. T. (2015).** Traditional medicine and the future of medicinal Plants in Nigeria. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 3 (4): 23-29
- [22] **Macheix J. J., Fleuriot A. et Christian J. A. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, 181 p.

- [23] **Akowauh G. A., Zhari. I., Norgyati. I., Sadikun A. et Khamsah S. M.** (2004). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 87: 559-566.
- [24] **Lugasi A., Hóvári J., Sági K. V. et Bíró L.** (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47 (1-4): 119-125.
- [25] **Harborne J. B. et Simmonds N. W.** (1964). The natural distribution of phenolic aglycones. In J.B. Harborne (ed.), *Biochemistry of Phenolic Compounds*, 77-127.
- [26] **Chaouche T. M.** (2014). Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de Doctorat. Université Abou-Bakr-Belkaïd, Tlemcen, Algérie, 146 p.
- [27] **Bruneton J.** (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3^e Ed., TEC & Doc, EM inter, Paris, France 1120 p.
- [28] **Booth N. L., Dejan N., Richard B. et Geller S. E.** (2004). Confusion regarding anticoagulant coumarins in dietary supplements. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 76: 511-516.
- [29] **Deiana M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F. et Bonsignore L.** (2003). Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Daphne gnidium* L. *Journal of American Oil Chemists-Society*, 80: 65-70.
- [30] **Reddy N. S., Gumireddy K. et Mallireddigari M. R.** (2005). Novel coumarin-3-(N-aryl)carboxamides arrest breast cancer cell growth by inhibiting ErbB-2 and ERK1. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 13: 3141-3147.
- [31] **Harborne J. B. et Grayer R. J.** (1988). *The flavonoids, Advances in research since 1980*. Springer US, 539 p.
- [32] **Krenn L., Wollenweber E., Steyrlleuthner K., Görick C. et Melzig M. F.** (2009). Contribution of methylated exudate flavonoids to the anti-inflammatory activity of *Grindelia robusta*. *Fitoterapia*, 80: 267-269.

- [33] Wang C. Y., Chen C. T. et Wang S. Y. (2009). Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry*, 117: 426–431.
- [34] Yamaguchi L. F., Kato M. J. et Mascio P. D. (2009). Biflavonoids from *Araucaria angustifolia* protect against DNA UV-induced damage. *Phytochemistry*, 70 (5): 615-620.
- [35] Gray A. I. (1983). Chemistry, Chemical Taxonomy of the Rutales. *Academic press London, UK* 1: 146 p.
- [36] Samia A. (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle à l'étude de 57 plantes recommandées pas les herboristes. Mémoire de master. Tunis, Tunisie, 196p
- [37] Kokoska L. et Janovska D. (2009). Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: A review. *Phytochemistry*, 70 (7): 842–855.
- [38] Ayres D. C. et Loike J. D. (1990). Lignans Chemical and Biological Properties, University press Ed. Cambridge, 134 p.
- [39] Boua B. B. (2008). Etude de la phytochimie et du potentiel bioactif sur la dysfonction érectile de quatre plantes médicinales de Côte d'Ivoire, thèse de doctorat, Université d'Abobo-Adjamé, Abidjan, Côte d'Ivoire, 225 p.
- [40] Harborne J.B. (1980); Plant Phenolics: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New series,8, 329-402.
- [41] Hadi M. (2004). La quercétine et ses dérivés: Molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur. Strasbourg, France, 268 p.
- [42] Halliwell B. et Gutteridge J. M. C. (1999). Free radicals in biology and medicine. 3^e Ed, Oxford University Press. New York, 617-783.
- [43] Mevy J. P., Bessiere J. M., Greff S., Zombre G. et Viano J. (2006). Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34 (7): 549-553.
- [44] Fatope M. O., Adoum O. A. et Takeda Y. (2000). Oleanene palmitate from *Ximenia Americana*. *Pharmaceutical Biology*, 38 (5): 391-393.

- [45] **Comhair S. A. et Erzurum S. C.** (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 283 (2): 246-255.
- [46] **Krinsky N. I.** (2001). Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*, 17 : 815-817.
- [47] **Webographie**
- [48] **Januel C.** (2003). Stress antioxidant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète, Thèse de Doctorat., INSA Lyon, France, 51 p.
- [49] **Yu R., Mandlekar S. et Kong T. A. N.** (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Molecular Pharmacology*, 58: 431-437.
- [50] **Da S. R. J. M., Darmon N., Fernandez Y. et Mitjavila S.** (1991) Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 549-1552.
- [51] **Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B.** (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4: 25-39.
- [52] **Benzie I. F. et Strain J.** (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- [53] **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- [54] **Sharma O. P. et Bhat T.K.,** (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113 (4): 1202-1205.
- [55] **Tabart J., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J. et Dommes J.** (2009) Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113: 1226-1233
- [56] **Salah N., Miller N. J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G. P. et Rice-Evans C. A.** (1995), Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous

- phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 339-346.
- [57] **Villāno D., Fernández-Pachón M. S., Moyá M. L., Troncoso A. M. et García-Parrilla M. C.** (2007), Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71: 230
- [58] **Blois M. S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199–1200.
- [59] **Sladjana M. S., Gordana S. Ć., Jasna M. Č.-B. et Sonja M. D.** (2012). Comportement cinétique de l'activité de balayage des radicaux DPPH d'extraits de déchets de tomate. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77 (10): 1381-1389
- [60] **N'gaman K. C. C.** (2013). Étude phytochimique et effet d'extraits de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire sur la stabilité osmotique d'érythrocytes. Thèse de doctorat, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, 152 p.
- [61] **Singleton V. L., Ortofer R. et Lamuela-Raventos R. M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299: 152-178.
- [62] **Heilerová L., Bučkova M., Tarapčík P., Silhár S. et Labuda J.** (2003). Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), Oregano (*Origanum vulgare* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.) and Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. *Czech Journal Food Science*, 21 (2): 78-84 p.
- [63] **Hariri E. B., Sallé G. et Andary C.** (1991). Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). *Protoplasma*: 162 (1): 20-26.
- [64] **Espin J. C., Soler-Rivas C. et Wichers H. J.** (2000). Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil

- Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48 (3), 648-656.
- [65] **Scherer R. et Godoy H. T.** (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112 : 654-658
- [66] **Bruneton J.** (2016), Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 5^e Ed., Lavoisier, TEC & Doc, Paris, France : 1487 p
- [67] **Garcia-Salas, Morales-Soto A., Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A.** (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15: 8813- 8826.
- [68] **Koffi E., Sea T., Dodehe Y. et Soro S.** (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty-three Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 5: 550-558.
- [69] **Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N.** (2012). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature et Technologie*, 35-40.
- [70] **Scalbert A. et Williamson G.** (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130: 2073-2085.
- [71] **Grolier P., Borel P., Scalbert A. et Remesy C.** (2001). Les phyto micronutriments. In: Traité de nutrition clinique de l'adulte. Médecine-Sciences. *Flammarion*, 165-177.
- [72] **Abi A. R.** (2007). Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier: Propriétés technologiques des coagulum obtenus. Paris: Agro Paris Tech; 195 p.
- [73] **Gehin A., Guyon C. et Nicod L.** (2006). Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22: 27-34.
- [74] **N'Guessan A. H. O., Dago D. C. E., Mamyrbékova-Békro, J. A. et Békro, Y-A.** (2011). Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de Génie Industriel*, (6) 55-61.

- [75] **Ozcelik O., 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.
- [76] **Hua L., Xiaoyu W., Peihong L., Yong L. et Hua W.** (2008). Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16 (6): 67-73.
- [77] **Khoudali S., D. Benmessaoud left, Essaqui A, Zertoubi M., Azzi M. et Benaissa M.** (2014). Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Materials. Environnemental. Science*, 5 (3): 887-898
- [78] **Berrin B., Goksel T. et Derya O.** (2008). Study on polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antioxydant activity. *Food chemistry*, 209: 426-430
- [79] **Louaileche H., Hammiche D. et Hamoudi F.** (2015). Total phenolic, flavonoid contents and in vitro antioxidant activity of Algerian date palm varieties: A comparative study. *American journal of food science and health*, 1(3): 63–68.
- [80] **Pannala A. S., Chan T. S., O'Brien P. J. et Rice-Evans C. A.** (2001). Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282: 1161-1168
- [81] **Karamac M., Kosicska A. et Pegg R. B.** (2005). Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 14/55 (2), 165-170
- [82] **Tae-Dong Jung T. D., Shin G. H., Kim J. M., Choi S. I., Lee J. H., Lee S. J., Park S. J., Woo K. S., Oh S. K. et Lee O. H.** (2017). Comparative Analysis of -Oryzanol, -Glucan, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Fermented Rice Bran of Different Varieties. *Nutrients*, 9 (6) : 1-12

- [83] **Falleh H., Ksouri R. et Abdelly C.** (2006). Activité antioxydante et contenu en polyphénols dans les différents organes de l'artichaut sauvage *Cynara cardunculus*. *Revue des Régions Arides*, 341-344.
- [84] **Nanjo F., Goto K., Seto R., Suzuki M., Sakai M. et Hara Y.** (1996). Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Free Radical Biology & Medicin*, 21 (6): 895-902

WEBOGRAPHIE

- [6] **Dictionnaire français : Microsoft Encarta 2007.** (Consulté le 08 janvier 2018). Tous droits réservés. 1993-2006 Microsoft Corporation ou **Wiktionary.org version 3.7.** (Consulté le 13 janvier 2018). Dictionnaire de l'académie française. *Huitième édition*, 1932-1935
- [8] **Woodgyer E. M.** (consulté le 8 juillet 2017). Melastomataceae néotropical. Neotropikey - Ressources clés et d'information interactives pour la floraison des plantes des Neotropics [ed. Milliken, W.\Klitgard, B.\Baracat, A.]. Richmond,RoyaumeUni:KewBot.Garden.[Http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Melastomataceae.html](http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Melastomataceae.html)
- [9] **Webmaster.** (Consulté le 23 juillet 2017). *Heterotis decumbens* (P. Beauv.) Jacq.-Fél. Flore de La Réunion. Famille : Melastomataceae. http://www.miaime-a-ou.com/heterotis_decumbens.php.html
- [14] **Pier.** (Consultée le 13 juillet 2017). Écosystèmes en péril des îles du Pacifique. Honolulu, Hawaii, USA: HEAR, Université d'Hawaï. <Http://www.hear.org/pier/index.html>
- [15] **Prota4U.** (Consulté le 5 juillet 2017). Base de données web PROTA4U. Grubben GJH, Denton OA, eds. Wageningen, Pays-Bas: ressources végétales de l'Afrique tropicale. <Http://www.prota4u.org/search.asp.html>
- [47] **Anonyme:** www.inter_rhone.com site visité le 29 - 10 - 2008

RESUMÉ

Cette étude s'inscrit dans un contexte de contribution à la valorisation rationnelle de la flore médicinale de Côte d'Ivoire. Pour ce faire, nous avons choisi l'espèce médicinale *Heterotis rotundifolia* (Melastomacaceae) pour des investigations phytochimiques et antiradicalaires de ses teintures. Le criblage phytochimique (tests de détection et dosage) et la mesure par spectrophotométrie de l'activité antioxydante desdites teintures obtenues par macération et décoction, vis-à-vis du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•]) ont été effectués. Les tests de détection ont montré la coprésence de polyphénols, notamment de flavonoïdes, de coumarines et de tanins. Les teneurs en composés phénoliques totaux (PT) et en flavonoïdes totaux (FT) ont montré que MP présente une bonne proportion de PT et FT avec 1188,33 µg/g équivalent d'acide gallique et à 269,48 µg/g équivalent de quercétine respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante par le test réduction du DPPH[•], a montré que seules MP, DTR, MFTR et DFTR ont des valeurs de CE₅₀ proches de la quercétine. Par ailleurs, DP (CE₅₀ = 76,00) est plus efficace contre le DPPH[•] que MP (CE₅₀ = 133,33) ; ce qui suppose que la décoction a permis d'extraire plus de phytocomposés antioxydants que la macération.

Mots clés : *Heterotis rotundifolia*, phytochimie, activité antioxydante, CE₅₀, Côte d'Ivoire