

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: acide désoxyribonucléique
ABTS	: acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
AGP	: acides gras polyinsaturés
ALAT	: alanine amino transférase
ALP	: phosphatase alcaline
ASAT	: aspartate amino transférase
Asc	: acide ascorbique
CCM	: chromatographie sur couche mince
CMAE	: <i>Combretum micranthum</i> + acétate d'éthyle
CME	: <i>Combretum micranthum</i> + éthanol
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl
ERO	: espèce réactive de l'oxygène
GSH	: glutathion
GPx	: glutathion peroxydase
LDH	: lactates deshydrogénases
LDL	: lipoprotéines de basse densité
NADPH	: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
p	: valeur p
PI	: pourcentage d'inhibition
Quer	: quercétine
SOD	: superoxyde dismutase
UV	: ultraviolet
VDAE	: <i>Vitex doniana</i> + acétate d'éthyle
VDE	: <i>Vitex doniana</i> + éthanol

LISTES DES FIGURES

Figure 1: <i>Combretum micranthum</i> G. Don	8
Figure 2: Feuilles et fruits de <i>Combretum micranthum</i> G.Don « photographie Miura ».....	10
Figure 3 : Arbre (B) ; feuilles (C) ; fruits avant maturité et mur (A) du <i>Vitex doniana</i>	17
Figure 4:Port de <i>Vitex doniana</i>	19
Figure 5 : Origine des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	29
Figure 6 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	35
Figure 7 : Structure de base des flavonoïdes.....	38
Figure 8 : Sites d'action de divers antioxydants	40
Figure 9 : Mécanisme en chaine de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	44
Figure 10 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	44
Figure 11 Solvants utilisés pour l'extraction	48
Figure 12: Protocole de l'extraction à l'éthanol.....	50
Figure 13: Protocole de l'extraction à l'acétate d'éthyl.....	51
Figure 14: Evaporation des extraits à l'évaporateur rotatif	52
Figure 15: Bouteilles opaques contenant les filtrats	52
Figure 16: PI du mélange acétate d'éthyl + <i>Vitex doniana</i> + <i>Combretum micranthum</i> à 50 µg/ml testé avec l'ABTS	61
Figure 17: PI du mélange éthanol + <i>Vitex doniana</i> + <i>Combretum micranthum</i> à 8 µg/ml testé avec l'ABTS.....	61
Figure 18 : PI du mélange acétate d'éthyl + <i>Vitex doniana</i> + <i>Combretum micranthum</i> à 50 µg/ml testé avec le DPPH.....	62

Figure 19: PI du mélange éthanol + *Vitex doniana* + *Combretum micranthum* à
8 µg/ml testé avec le DPPH 62

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition chimique des différentes parties de <i>Combretum micranthum</i>	12
Tableau II : Valeurs nutritives des feuilles de <i>Vitex doniana</i>	20
Tableau III : Composition en acides aminés des feuilles de <i>Vitex doniana</i>	21
Tableau IV : La composition du fruit de <i>Vitex doniana</i> en acides aminés.	22
Tableau V: Rendements de l'extraction	55
Tableau VI: Pourcentages moyens d'inhibition de l'absorbance de DPPH· par les extraits du <i>Combretum micranthum</i>	57
Tableau VII: Pourcentages moyens d'inhibition de l'absorbance de DPPH· par le mélange des extraits d'acétate d'éthyle du <i>Combretum micranthum</i> et du <i>Vitex doniana</i>	58
Tableau VIII: Pourcentages moyens d'inhibition de l'absorbance de DPPH· par le mélange des extraits éthanolique du <i>Combretum micranthum</i> et du <i>Vitex doniana</i>	58
Tableau IX: Pourcentages moyens d'inhibition de l'absorbance de l'ABTS· par les différents extraits venant du <i>Vitex doniana</i> et du <i>Combretum micranthum</i>	59
Tableau X: Pourcentages moyens d'inhibition de l'absorbance de l'ABTS· par le mélange des extraits d'acétate d'éthyle du <i>Combretum micranthum</i> et du <i>Vitex doniana</i>	60
Tableau XI: Pourcentages moyens d'inhibition de l'absorbance de l'ABTS· par le mélange des extraits du <i>Combretum micranthum</i> et du <i>Vitex doniana</i>	60

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	5
I. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES <i>COMBRETACEES</i>	6
I.1. Place en systématique	6
I.2. Etude spécifique de <i>Combretum micrantum</i>	8
I.3. Etude descriptive	9
I.3.1. Le port.....	9
I.3.2. Les feuilles.....	9
I.3.3. Les fruits	9
I.3.4. Les fleurs.....	10
I.3.5. Répartition géographique.....	10
I.4. Composition chimique de <i>Combretum micrantum</i>	11
I.4.1. Composition chimique des feuilles.....	11
I.4.2. Composition chimique de l'écorce.....	12
I.4.3. Composition chimique des racines	12
I.5. Utilisation traditionnelle	13
I.5.1. Les feuilles.....	13
I.5.2. Les racines	13
I.5.3. Les écorces.....	13
I.6. Etudes pharmacologiques	13
II. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES <i>VERBENACEES</i>	16
II.1. Place en systématique	16
II.2. Etude spécifique de <i>Vitex doniana</i>	17
II.3. Etude descriptive du <i>Vitex doniana</i>	18
II.3.1. Le port.....	18
II.3.2. Les feuilles.....	18
II.3.3. Les fleurs et les fruits.....	18
II.3.4. Répartition géographique	19
II.4. Composition chimique de <i>Vitex doniana</i>	20

II.4.1. Composition chimique des feuilles	20
II.4.2. Composition chimique de l'écorce	21
II.4.3. Composition chimique du fruit.....	21
II.5. Utilisations traditionnelles	23
II.5.1. Les feuilles.....	23
II.5.2. Les écorces.....	23
II.5.3. Les fruits	23
II.6. Etudes pharmacologiques	24
III. RAPPELS SUR LE STRESS OXYDANT.....	28
III.1. Définition du stress oxydant	28
III.2. Définition du radical libre.....	28
III.2.1. Sources endogènes des Radicaux Libres.....	28
III.2.2. Sources Exogènes de radicaux libres	29
III.3. Prise en charge des Radicaux Libres dans l'organisme	32
III.3.1. Système enzymatique de lutte contre les radicaux libres	32
III.3.2. Système non enzymatique de lutte contre les radicaux libres	35
III.4. Mécanisme d'action des antioxydants.....	40
III.5. Action délétère des radicaux libres sur l'organisme.....	42
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIEMENTAL	45
I. OBJECTIF DE L'ETUDE.....	46
I.1. Objectif général	46
I.2. Objectifs spécifiques.....	46
II. CADRE DE L'ETUDE	46
III. MATERIEL ET METHODES	47
III.1. Matériel.....	47
III.1.1. Matériel végétal	47
III.1.2. Appareillage et verrerie	47
III.1.3. Réactifs utilisés pour l'extraction.....	47
III.2. Méthode d'Etude	48

III.2.1. Récolte du matériel végétal	48
III.2.2. Traitement du matériel végétal.....	49
III.2.3. Extraction par solvants	49
III.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits	53
III.2.5. Méthodologie d'analyse des résultats.....	54
IV. RESULTATS	55
IV.1. Rendement de l'extraction avec les différents solvants	55
IV.2. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits :	56
IV.2.1. Résultat du test au DPPH	56
III.5.1. Test à l'ABTS.....	59
V. DISCUSSION	63
V.1. Extraction.....	63
V.2. Evaluation de l'Activité Anti Oxydante	64
CONCLUSION.....	69
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	74

INTRODUCTION

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques. Actuellement, environ 25 à 30% des médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont des dérivés de produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons) ou des produits obtenus par hémisynthèse à partir de produits naturels. En dépit de cela, dans les dernières décennies, principalement en raison de l'avancée de la chimie de synthèse, la recherche sur les produits naturels dans l'industrie pharmaceutique a connu un déclin. Toutefois, des données récentes de l'industrie pharmaceutique montrent que, pour certaines maladies complexes, les produits naturels représentent toujours une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques [15,53].

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 65 à 80% de la population mondiale dans les pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales pour leurs soins de santé primaires. Et malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes [54,19].

Parmi ces efficacités prouvées, le terme antioxydant est populairement utilisé par les nutritionnistes et autres professionnels de santé. En effet, de nombreuses plantes ont montré des effets notables sur le stress oxydant produit par les radicaux libres. Ils peuvent être définis comme étant des atomes ou des molécules portant un électron non apparié qui les rend très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairier, déstabilisant ainsi d'autres molécules.

Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne qui endommage les cellules de notre organisme. La production des radicaux libres est physiologique et naturelle. Ils sont produits par nos propres cellules lors de la respiration dite cellulaire. Si les

radicaux libres sont nécessaires au bon fonctionnement de notre organisme, leur excès devient problématique en ce sens qu'ils abîment les lipides et les membranes des cellules, et altèrent la communication intercellulaire. Cela peut créer en outre des lésions au niveau de l'ADN des cellules et donc de leur patrimoine génétique.

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux [75]. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies. Les radicaux libres sont également impliqués dans le développement de nombreuses pathologies telles que l'obésité, le cancer, le diabète, l'inflammation, l'athérosclérose et les maladies dégénératives [67-23].

Les causes essentielles du stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans le cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants, etc.) soit d'origines génétiques. Les radicaux libres oxygénés (RLO) sont impliqués dans beaucoup de maladies. Ces radicaux libres qui causent des dégâts aux tissus à travers le stress oxydatif sont générés par la respiration aérobie, l'inflammation et la peroxydation lipidique [24].

Les antioxydants constituent une famille de substances susceptibles de neutraliser les radicaux libres et prévenir ainsi la survenue des maladies liées au stress oxydant [70]. Parmi les antioxydants naturels les plus connus, nous pouvons citer l' α -tocopherol (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les composés phénoliques [46]. Les plantes médicinales traditionnelles ainsi qu'une alimentation équilibrée représentaient les principales sources d'antioxydants qui protégeaient nos ancêtres des lésions engendrées par les radicaux libres [64].

De nombreuses plantes médicinales telle *Vitex doniana* (Verbenacées) appartenant à la flore sénégalaise, sont utilisées dans le traitement des pathologies impliquant le stress oxydant [61,44]. En outre, le *Combretum micrathum* (Combretaceae) présente des propriétés similaires. A toutes les concentrations testées, les extraits éthanoliques des feuilles de *Combretum micranthum*, de *C. glutinosum*, de *C. aculeatum* et de *Guiera senegalensis* présentent une activité antioxydante significative ($p < 0,05$). Cette activité est dose dépendante [56]. Par ailleurs ces deux plantes sont très utilisées sous forme de décoction par les populations.

C'est dans ce contexte que nous avons choisi d'étudier l'activité antioxydante *in vitro* du mélange composé du *Vitex doniana* et du *Combretum micranthum*.

Ce travail est présenté en deux parties :

- Une synthèse biographique sur le *Combretum micranthum* et le *Vitex doniana* ;
- Un rappel sur le stress oxydant ;
- Une évaluation de l'activité antioxydante du mélange des extraits totaux de *C. micranthum* et de *V. doniana*.

PREMIERE PARTIE :
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES COMBRETACEES

La famille des Combrétacées a été établie par M. Rob. Brown en 1804 ; sa formation avait été déjà indiquée en 1804 dans les annales Muséum et en 1805 par M. Jaune, dans son exposition des plantes, en la bornant aux genres sans pétales. M. de Jussieu a admis en 1804 la circonscription de la famille a peu près telle que M. Brown l'avait établie mais en le donnant le nom de Myrobalaneae. Le nom de Combretaceae est déduit du genre excentrique et qui fait exception à quelques-uns de la famille [20].

I.1. Place en systématique

➤ Classification selon Engler [56]

La famille des Combrétacées comporte deux sous familles dont celle des *Strephonematideae* avec un seul genre (*Strephonema*) et celle des *combretoideae* [28].

La sous famille des *Combretoideae* comporte quatre tribus dont celle des *Combretineae* comportant seize genres répartis dans trois sous tribus bien définis.

- Sous tribu des *Combretineae* avec les genres : *Combretum* le plus répandu, guiera en Afrique ;
- Sous tribu des *Terminalia* avec huit genres dont *Terminalia* est pantropical, *Conacarpus* en Afrique et en Amérique du sud ;
- Sous-groupe des *Pteleopsidineae* avec un seul genre *Pteleopsis* en Afrique tropicale [28].

➤ Classification selon KOED [28]

Selon KOED [17], la famille comporte vingt genres et quatre cent trente-quatre espèces rencontrées en Amérique, en Asie et particulièrement en Afrique

tropicale subtropicale ; en Afrique de l'ouest, la famille comporte neuf genres et quatre-vingt espèces.

Le genre *Combretum* comporte trois sous genres :

- le sous-genre *Combretum* avec des écailles ;
- le sous-genre *Cacousia* avec des « STALKED GLANGS » (poils glanduleux) qui existent tous deux en Afrique en Asie et en Amérique et ;
- le sous-genre *Apetanthum* avec à la fois des écailles et des poils glanduleux.

➤ Classification selon Cronquist [14,28]:

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Classe : Dicotylédones
Sous-classe : Rosidae
Ordre : Myrtales
Famille : Combrétacée
Genre : Combretum
Espèces : *Combretum micranthum*, *C. glutinosum*, *Anogeissus*,
leiocarpus, *Guiera senegalensis*
Synonyme : [14]
Combretum album G. et Perr ;
C. floribundum Eng et gels
C. raimbaultii Heck

I.2. Etude spécifique de *Combretum micranthum*



Figure 1: *Combretum micranthum* G. Don

➤ Quelques noms vernaculaires

Noms vernaculaires [15,18] :

Bambara	: kolobéngolobé
Diola	: Butik
Manding	: Baro- barairo
Peul	: Tailli
Sérère	: Séсед
Wolof	: Sexéo
Français	: Kinkéliba
Bassari	: ambed
Toucouleur	: tallik

I.3. Etude descriptive

Petit arbuste buissonnant, haut de 2 à 5 m, à feuilles opposées par 2: l'extrémité des rameaux ayant facilement une tendance volubile [34]. Le nom de la famille vient du genre *Combretum*. Cette famille, assez nombreuse, comprend de grands arbres, à feuilles alternes la plupart du temps; mais aussi beaucoup d'arbustes sarmenteux ou volubiles : ceux-ci ont très souvent les feuilles opposées, Les fleurs, à part quelques exceptions, sont petites et en épis ou en capitules [14].

I.3.1. Le port

Le port est un petit arbuste buissonnant, haut de 2 à 5m [14,47].

I.3.2. Les feuilles

Les feuilles sont toujours simples ou périnerves, entières ou légèrement dentées, souvent munies de glandes vers le sommet du pétiole dépourvue de stipules [20]. Le limbe est elliptique et long de 5 à 8 cm, large de 25 à 50 mm. La base en coin ou arrondie, sommet en coin, ou parfois atténué en pointe [56]. Elle porte cinq (5) à six (6) nervures latérales ayant en général, une petite touffe de poils à l'aisselle ; sous le limbe on retrouve des nervures tertiaires fines et parallèles entre elles. Le pétiole est généralement court mesurant entre 5 et 10 mm, [14].

I.3.3. Les fruits

Les fruits sont souvent ailés et indéhiscent. Ces épis sont axillaires ou terminaux, souvent disposés en panicule. On retrouve fréquemment des *combrétacées* où les fleurs d'un même épi ont les unes hermaphrodites et les autres males par l'avortement des parties males [14]. Ils sont à 4 ailes, glabres, longues et larges de 15 mm, facilement un peu moins larges que longs [45].



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

I.3.4. Les fleurs

Les principales combrétacées ont un calice dont le tube est adhérent par sa base avec ovaire et épanoui par le sommet en limbe a quatre ou cinq dents ;

- **Les pétales** sont petites insérées sur le calice entre les dents ou manquent ;
- **Les étamines** sont presque en nombre double des pétales ou des dents du calice insérés alternativement devant et entre ces dents ;
- **L’ovaire** est surmonté de style simple et offre à l’intérieur une loge ;
- **La graine** est dépourvue d’albumen, a sa radicule dirigée vers le sommet du fruit et ses cotylédons : tantôt roulés en spirale l’un sur l’autre, tantôt repliés ou ridés de diverses manières [20].

I.3.5. Répartition géographique

Répandu à travers le Sénégal sur les cuirasses latéritiques, il forme des peuplements assez denses dans la région de Thiès précisément à Mbour, au

massif de Diass, au Mont-Rolland et dans la Casamance [35]. Il existe aussi autour des mares du sahel, dans les ravins, les galeries soudaniennes, les rebords des carapaces ferrugineuses, dans les forêts Guinéennes [14].

I.4. Composition chimique de *Combretum micranthum*

Selon Kerharo [45] les travaux de Heckel et Schlagdenhauffen ont montré dans les feuilles la présence d'un tanin, d'un plobaphène, d'un sel de nitrate. Selon le même auteur, Jentzsch avait isolé la vitexine cristallisée avec la saponarétine dans les feuilles [23].

I.4.1. Composition chimique des feuilles

Dans l'état actuel de notre connaissance, on peut estimer que les principes chimiques de la drogue appartenant aux groupes suivants :

- **Les flavonoïdes** : ce sont des C-hétérosides, de la vitexine et de son isomère, la saponarétine ;
- **Les bases amines quaternaires** (0,125% dans les feuilles sèches) : deux alcaloïdes majeurs, les combrétines A et B, de forme brute $C_7H_{13}NO_3$, qui sont stéréo-isomères de la batonicine ou methylbétaine de l'hydroxy-D-proline ; la troisième base dénommée Base C, existe seulement en très faible quantité ;
- **la choline** présente dans les boutons floraux ;
- **l'acide gallique** libre et combiné ;
- **les tanins catéchiques** et **catéchols** ;
- **les acides organiques** : malique, citrique, oxalique, tartrique, glycérique, glycolique ;
- **les matières minérales** telles $CaCl_2$, $NaCl$, KCl , SO_4Na_2 [45].

I.4.2. Composition chimique de l'écorce

À notre connaissance, l'écorce n'avait jusqu'à présent fait l'objet d'une investigation. Aussi est-il intéressant de noter qu'en 1968 Popp [64] a obtenu avec des extraits d'écorces des réactions positives concernant la présence d'alcaloïdes [72].

I.4.3. Composition chimique des racines

Popp. [64] a initié l'étude de la composition chimique des racines de kinkéliba ; ils en ont isolés des composés qui réagissent avec les réactifs généraux des alcaloïdes : acides myristique, palmitique, palmitoleique, stéarique, oléique, arachidonique, linoléique [72].

En Casamance, dans des forêts humides des environs d'Oussouye, on peut le rencontrer sous formes de grande liane à tronc de 15cm, et s'élevant jusqu'à 10 et 15m de hauteur dans les arbres voisins [14].

Tableau I: Composition chimique des différentes parties de *Combretum micranthum* [12]

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

I.5. Utilisation traditionnelle

I.5.1. Les feuilles

Les feuilles de cet arbuste donnent en infusion un thé rafraichissant de couleur rouge qu'on appelle « kinkéliba » ; cet infusion produit une faible hypotension et augmente la diurèse et l'amplitude cardiaque [12].

Le kinkéliba est utilisé dans la toux, les bronchites, le paludisme, la fièvre bilieuse hématurique, toutes les affections hépatobiliaires comme médicament d'appoint [28]. On mâche les feuilles fraîches pour apaiser les maux de ventre et la diarrhée ; dans le Sine, on l'associe avec *Heeria insignis* et *Gardenia triacantha* pour soigner les diarrhées infantiles [35].

Les feuilles de *Combretum micranthum* sont utilisées dans le traitement de l'hépatite sous forme d'Hépatisane, produit de la pharmacopée malienne [32].

I.5.2. Les racines

Les racines bouillies servent en fumigation et ablution chaudes contre les fièvres et les courbatures ; le décocté de racines est considéré comme vermifuge et sert aussi à laver les plaies [35]. Les racines sont utilisées également dans le traitement de la constipation, les gastrites, les indigestions [37].

I.5.3. Les écorces

La poudre d'écorces dissoute dans l'huile de palme ou mélangée au beurre de karité est employée en massage dans les contusions et les entorses [28].

I.6. Etudes pharmacologiques

Le *Combretum micranthum* ou Kinkéliba est une plante très utilisée en médecine traditionnelle dans toute l'Afrique de l'Ouest. Outre les propriétés diurétiques dues vraisemblablement à une présence importante de nitrate de potassium ainsi que de divers acides-alcools, car cette plante est connue depuis

fort longtemps pour son utilisation contre les fièvres bilieuses de toute nature, en association avec un antipyrétique [27]. Il est utilisé dans le traitement des maux de ventre, des diarrhées infantiles, des rhumes, des infections parasitaires [29]. Les feuilles du *Combretum micranthum* manifestent une action diurétique. Les expériences de **Balanchard** [8] réalisée sur le lapin, ont montrées que la diurèse provoquée par l'injection par voie parentérale d'un décocté porte d'une part sur l'élimination aqueuse et d'autre part l'excrétion de l'urée et des chlorures. Les feuilles de kinkéliba possèdent une action cholagogue mise à profit dans le traitement des affections hépatobiliaires. Les feuilles de l'extrait fluide de kinkéliba sont actives vis-à-vis des staphylocoques, des streptocoques et de l'entamoeba coli [72]. Les feuilles possèdent une action cholagogue et émétique puissante [56].

Administrée à la dose de 5mg/kg, la drogue agit sur la circulation sanguine et le cœur : elle produit une faible hypotension accompagnée d'une légère augmentation d'amplitude cardiaque ; elle est capable de doubler et même de tripler le volume urinaire, ce qui est une caractéristique des flavones [45].

Pour étudier l'effet **anti-diabétique** des feuilles de *Combretum micranthum*, trois doses (100, 50 et 20mg/kg), ont été administrés à des rats [22]. Parmi les doses testées, celle de 100 mg/kg de l'extrait est la plus efficace. Elle produit un effet hypoglycémiant significatif. Son activité anti-diabétique est comparable à celle de référence qui est la glibenclamide (0,6mg/kg glibenclamide).

Quant à l'**activité diurétique** : les expériences réalisées sur le lapin ont montré que la diurèse provoquée par l'injection par voie parentale d'un décocté porte d'une part sur l'élimination aqueuse et d'autre part, l'excrétion de l'urée et des chlorures [8].

Activité antibactérienne : l'extrait fluide des feuilles de kinkéliba est actif sur des staphylocoques, streptocoques et *Entamoeba coli*. Les extraits de racines de l'espèce nigériane sont actifs contre les organismes Gram (+) et (-) [45].

Activité antitumorale : les écorces des racines de l'espèce nigériane ont des propriétés antitumorales [80].

II. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES *VERBENACEES*

II.1. Place en systématique

Le *Vitex doniana* est ainsi classé [55]

Règne	: végétal
Embranchement	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Ordre	: Lamiales
Famille	: Verbenaceae
Genre	: <i>Vitex</i>
Espèce	: <i>Vitex doniana</i> ;

Synonymes :

<i>V. umbrosa</i>	G. Don ex Sabine
<i>V. cuneata</i>	Schum. et Thonn.
<i>V. cienkowskii</i>	Kotschy et Peyr.
<i>V. paludosa</i>	Vatke
<i>V. chariensis</i>	Chev.

II.2. Etude spécifique de *Vitex doniana*



Figure 3 : Arbre (B) ; feuilles (C) ; fruits avant maturité et mur (A) du *Vitex doniana* [41]

➤ Quelques noms vernaculaires

Cette plante possède plusieurs appellations selon les langues [41,60].

Baïnouk	: Tihan, Kitinam
Bambara	: Koro, Koroba, Karofin, Koto
Bassari	: atiouganalar, atiougé
Diakhanké	: koutoufingo
Diola	: boudink
Diola fogny	: koukek
Malinké	: kosoba, sokoro, koutoundimo, koudou, kodo, kodomba
Peul	: boummé
Sérére	: diob, ngap
Socé	: koutoufingo

Tenda bandé	: guitiougue
Wolof	: Leng, Leungue, heul
Tanzanie	: Mfuru, Mgwobe
Ouganda	: Munyamazi
Français	: Prune noire
Anglais	: Black plume

II.3. Etude descriptive du *Vitex doniana*

Le genre *Vitex* comprend plus de 270 espèces, majoritairement constitué d'arbres et d'arbustes, et réparti dans les régions tropicales et subtropicales bien que certaines espèces soient également trouvées dans les zones tropicales. Le *Vitex doniana* est un arbre (ou arbuste) à cime arrondi dont la taille moyenne se situe entre 1 et 35 m de haut [30].

II.3.1. Le port

Arbre de 5 à 15 m de hauteur, à tronc souvent tortueux, à écorce grise ou brun clair, lisse ou finement fendillée, à tranche granuleuse beige pâle, devenant rapidement jaune pâle à l'air.

II.3.2. Les feuilles

Ses feuilles sont opposées, digitées, palmées, ou en tri-feuillages et pétiolées. Les folioles sont elliptiques, obovées, arrondies au sommet, quelquefois très légèrement marginées ou acuminées et mesurent 10 cm de long et 6 cm de large tandis que les pétioles peuvent mesurer jusqu'à 9 cm de long [41,30].

II.3.3. Les fleurs et les fruits

Cymes axillaires constituées de petites fleurs parfumées, blanches ou jaunâtres avec le centre rouge-bleu [41]. Ses petites fleurs roses, violettes ou blanches axillaires sont à l'origine de fruits de formes ovoïdes. Les fruits sont verts

tachetés de blanc et noirâtres à maturité [7,40]. Drupes ovoïdes pouvant atteindre 3 cm de longueur sur 2,5cm de diamètre avec le calice entourant le tiers inférieur pendant la maturation mais se détachant à maturité. Les fruits sont d'abord verts et deviennent noirs à maturité piquetés de brun. Ils renferment un gros noyau scléreux contenant quatre graines [41].



Figure 4:Port de *Vitex doniana* [30

II.3.4.Répartition géographique

Vitex doniana est un arbre répandu dans le monde et plus particulièrement dans les zones tropicales. Il supporte les milieux arides mais est absent au Nord et au centre de l'Asie. En Afrique, l'espèce est présente dans la savane boisée en zone soudano-guinéenne et soudanienne [48].

Au Sénégal il est commun dans les sols frais de la Casamance maritime, dans les boqueteaux et à proximité des rizières. Espèces recherchant les endroits humides, très abondantes en Casamance et dans le Sénégal Oriental notamment dans le Niokolo Koba [41].

Il suit les galeries soudaniennes et les sols humides jusqu'au nord de Dakar. Il peut résister à une certaine sécheresse du sol sous les climats relativement pluvieux (Kédougou), mais il s'échappe alors sur les versants des collines et vers les ravins ombragés dans les forêts secs. Son habitat préféré reste cependant les vallées humides où il se développe normalement [47].

II.4. Composition chimique de *Vitex doniana*

Les études préliminaires réalisées sur les feuilles, les écorces de tronc et les fruits ont révélé la présence de la phytine, de tanins, de vitamines (A, B, E), de terpènes, de stéroïdes, de sucres (carbohydratés), de saponosides, de flavonoïdes et d'antraquinones [77,16].

II.4.1. Composition chimique des feuilles

BUSSON a réalisé une étude complète de la chimie des feuilles.

Tableau II : Valeurs nutritives des feuilles de *Vitex doniana* [41].

Composants	Teneur dans 100g
Cellulose (g)	28.1
Extrait éthéré (g)	4.7
Glucides (g)	53.9
Insoluble formique (g)	52.2
Protides (N×6.25) (g)	7.3
Cendres (g)	6.0
Calcium (g)	1.55
Potassium (g)	0.60
Magnésium (g)	0.40
Sodium (g)	0.01
Phosphore (g)	0.85

Tableau III : Composition en acides aminés des feuilles de *Vitex doniana* [41].

Acides aminés	Quantités (N=16%)	Acides aminés	Quantités (N=16%)
Arginine	4,9	Tryptophane	---
Cystéine	1,6	Tyrosine	3,4
Histidine	1,9	Valine	6,3
Isoleucine	4,7	Acide aspartique	9,1
Leucine	8,3	Acide glutamique	9,2
Lysine	4,6	Alanine	5,0
Méthionine	2,0	Glycine	5,3
Phénylalanine	4,6	Proline	4,8
Thréonine	4,6	Serine	4,6

II.4.2. Composition chimique de l'écorce

Les effets de l'administration orale et IV de l'extrait d'écorce de tige de *Vitex doniana* sur la pression sanguine a été investi chez des rats normo et hypertensifs. Les résultats obtenus montrent un effet hypotensif dose dépendant chez les rats normo et hypertensifs. La pression sanguine était significativement réduite et ce niveau était maintenu sur une longue durée quand l'extrait était administré en IV chez des rats hypertensifs [41].

II.4.3. Composition chimique du fruit

Selon **Olusola [59]**, le fruit est comestible et largement consommé en Afrique occidentale. Ce fruit est riche en vitamine C. Sa teneur en cendres est de 37,5 g/kg et est située dans la fourchette indiquée pour les fruits et quelques noix [78]. La teneur brute en lipides est de 49,5 g/kg et est supérieure à celle des fruits mais inférieure à celle des écrous [78]. La teneur brute en protéines est de

273 g/kg et est plus élevée que pour la plupart des fruits charnus (dattes, raisin sec, etc.) [18]. La teneur brute en fibres est de (44 ±2) g/kg, glucose (25±8) g/kg, autres sucres (592±12) g/kg. La composition du fruit en acides aminés est décrite dans le tableau ci-après.

Tableau IV : La composition du fruit de *Vitex doniana* en acides aminés [30].

Acides aminés	Teneur en g/kg de matière sèche
Isoleucine	3,80±0,01
Leucine	7,80±0,21
Lysine	4,60±0,01
Méthionine	0,27±0,01
Thréonine	5,6±0,35
Phénylalanine	6,30±0,20
Valine	3,80±0,25
Tyrosine	1,70±0,15
Tryptophane	1,4±0,10
Arginine	2,60±0,20
Histidine	3,20±0,05
Alanine	6,5±0,45
Serine	5,80±0,20
Proline	4,80±0,10
Glucine	6,20±0,20
AC glutamique	9,60±0,40
AC aspartique	10,60±0,45
Cystéine	2,20

II.5. Utilisations traditionnelles

II.5.1. Les feuilles

En Afrique de l'Est, les jeunes feuilles sont utilisées comme remède pour les troubles oculaires : les feuilles sont pilées et le jus est instillé dans les yeux [30]. Les feuilles mâchées sont utilisées en application locale pour soigner les blessures, les soins de la conjonctivite purulente, le soin intime des femmes avant et après l'accouchement [30]. Elles sont également utilisées par les sérères du Saloum sous forme de macérât en bains contre le rachitisme et application sur le corps d'enfant fébrile [41]. Le décocté de tiges feuillées, de couleurs noirâtres, est très estimé des baïnouk, en usage externe, contre la variole et les éruptions cutanées en général [30].

II.5.2. Les écorces

Les écorces du tronc et les feuilles sont utilisées en décoction pour traiter l'ictère, les douleurs abdominales, les maux de ventres, la lèpre, les diarrhées infantiles, les faiblesses, les courbatures, les affections des voies respiratoires et les maux de tête [30].

Les racines, les écorces et les feuilles sont fortement conseillées comme anti asthénique par les Wolofs et les Sérères [47]. L'effet anti asthénique pourrait s'expliquer par un effet antioxydant. Le décocté de tige feuillée, de couleur noirâtre est très estimé par les Baïnouk, en usage externe, contre la variole et les éruptions cutanées en générale [30].

II.5.3. Les fruits

En Sierra Leone, les fruits sont regardés comme un bon remède pour les avitaminoses A et B associées à des ulcérations sur la commissure des lèvres et aux yeux et parfois des symptômes de paralysie dans les cas avancées [7].

Les fruits sont non seulement une source de vitamines (A et C) mais ils seraient recommandés pour le traitement de l'amibiase. Les feuilles associées aux écorces de tronc et aux racines sont utilisées pour traiter l'épilepsie et les morsures de serpent. Les jeunes feuilles et les fruits sont comestibles [48].

II.6. Etudes pharmacologiques

Activité antioxydante : Les radicaux libres oxygénés (RLO) sont impliqués dans beaucoup de maladies. Ces radicaux libres qui causent des dégâts aux tissus à travers le stress oxydatif sont générés par la respiration aérobie, l'inflammation et la peroxydation lipidique [24]. **Agbafor [3]** a étudié l'activité antioxydante des feuilles de *Vitex doniana*. Les extraits éthanolique et aqueux ont été examinés pour rechercher la présence des métabolites secondaires. L'inhibition de la 2,2 diphényle -1-picryle hydrazyl (DPPH) a été évaluée pour mesurer l'activité antioxydante. Les niveaux hépatiques de malondialdéhyde (MDA) la super oxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) chez les rats albinos traités par le tétrachlorure de carbone (CCl_4) ont été aussi utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de cette plante.

Vingt-huit rats albinos adultes mâles pesant 102-120 g ont été utilisés. Ils ont été placés en sept groupes de A à G. Des doses de 250 mg/kg de l'extrait et 20 mg/kg de vitamine C étaient données par voie orale aux groupes A, B, C, D et E respectivement, tandis que F et G recevaient de l'eau distillée pendant six jours consécutifs. Au septième jour les groupes A à F étaient traités avec une seule dose de 2,5 ml/kg de CCl_4 et de l'huile d'olive. Le groupe G a eu de l'eau distillée et huile d'olive. Les résultats de l'extrait montrent une augmentation significative ($P < 0,05$) en MDA du foie et baisse de l'activité en SOD et CAT du groupe F traité avec le CCl_4 par rapport au groupe non traité. Ce résultat reflète l'hépatotoxicité de CCl_4 comme l'a déjà observé **Singh [73]**. Ces résultats contrastent avec ceux obtenus lorsque les rats sont prétraités avec les extraits de feuilles de *Vitex doniana* ou la vitamine C. La concentration en MDA des

groupes prétraités était significativement inférieure à celle des rats non traités. D'autre part les activités de SOD et CAT étaient significativement supérieures dans les groupes prétraités par rapport au contrôle positif. Ces observations corroborent la propriété antioxydante des extraits de feuilles de *Vitex doniana*. L'extrait a aussi montré la présence dans les feuilles de *V. doniana* des flavonoïdes et des tanins qui sont des composés phénoliques. Les composés phénoliques sont un groupe de composés majeurs qui agissent comme antioxydant ou piègeur de radicaux libres [65]. De même, les terpénoïdes agissent comme des régulateurs de métabolisme et jouent un rôle protecteur comme les antioxydants [74]. Les saponines ont des propriétés hypotensives et cardiodépressives [58].

Activité sur la reproduction : Plusieurs auteurs ont suggéré que la consommation de composés végétaux peut avoir des effets directs sur la reproduction biologique des primates. Des études ont présenté des preuves physiologiques de ces effets. En effet, deux troupes de babouins olive (*Papio hamadryas Anubis*) à Gashako-gumti (parc national au Nigeria) ont connu une grande augmentation saisonnière des niveaux de métabolites fécaux de progestérone chez les femelles suite à la consommation de substances végétales naturelles. L'augmentation de l'excrétion fécale progestative se manifeste de façon saisonnière chez toutes les femelles. Des données détaillées sur l'étude de l'alimentation des animaux ont montré que seule une espèce d'aliment est consommée par les troupes au moment des pics observés de progestérone : c'est la prune noire d'Afrique (*Vitex doniana*). Ces données suggèrent que la consommation naturelle de *Vitex doniana* était la cause probable de l'augmentation observée des progestatifs. L'excrétion de progestatifs pendant ces périodes est plus élevée que celle trouvées pendant la grossesse et permet de prévenir l'enflure sexuelle qui est associée à l'activité de l'ovulation. *Vitex doniana* semble agir sur les femmes à la fois comme un moyen de contraception physiologique (simulation de certaines formes de la pilule contraceptive

humaine) et un moyen de contraception sociale réduisant l'association et la copulation avec des mâles [44].

Activité antidiarrhéique : Le potentiel anti diarrhéique du fruit de *Vitex doniana* a été étudié. Les fruits ont été séchés à l'air et râpés sous forme de poudre à l'aide d'une râpe construite localement, 40 g de poudre de fruit sont extraits au soxhlet avec 200 ml d'eau distillée. Les tests ont été effectués tel que décrit par **Malone [49]**. Brièvement les souris réparties au hasard en quatre groupes de trois animaux chacun, reçoivent quotidiennement l'extrait par voie orale à 150, 350, 650 et 1000 mg/kg respectivement. Après deux semaines de traitement, les cobayes ont été sacrifiés par un coup sur la tête et leur abdomen découpé, le segment de l'iléon est retiré et disséqué puis suspendue dans un bain nutritif. Après fixation sur un appareil à organe isolé, les effets spasmogènes de l'acétylcholine et de l'histamine ont été évalués. Ensuite, des concentrations de l'extrait (0,3 à 2,4 mg/ml) ont été testées. L'extrait de *Vitex* réduit la contraction intestinale de l'iléon induite par l'histamine et l'acétylcholine de manière dose dépendante de même que le temps de transit intestinal des souris nourris par la farine du charbon de bois. Les médicaments qui affichent de telles propriétés sont connus pour être de bons agents anti-diarrhéiques [1].

Activité antipaludique : Il a été démontré que les plantes constituent une source potentielle de composés antipaludéens ou la source matrice pour la synthèse de molécules antipaludiques. Des expériences *in vitro* ont montré que l'extrait des feuilles et l'écorce de la tige de *Vitex doniana* (Verbénaceae) ont inhibé de moitié la croissance des espèces plasmodiales à des concentrations allant de 2,3 à 16, 9 pg/ml avec une bonne sélectivité pour ces parasites. Ainsi l'activité antiplasmodiale de *Vitex doniana* contre le Plasmodium a été signalée récemment pour la première fois dans l'ethnomédecine nigériane [62].

Activité sur le muscle utérin : L'activité de *Vitex doniana* sur la réponse du muscle utérin a été étudiée. L'écorce de *Vitex doniana* était extraite à l'eau

bouillie à 100°C et la solution extraite est filtrée, refroidie et centrifugée. L'extrait a été analysé, il contenait du potassium (k⁺) et du phosphate beaucoup plus que du calcium et du fer. La présence d'ions potassium en excès peut être en partie responsable de l'activité sur le muscle utérin. Dans une autre étude l'extrait de *Vitex doniana* induit des contractions musculaires de l'utérus et aussi potentialise les effets contractiles de prostaglandines, de l'ergométrine et de l'ocytocine. Cependant l'effet de potentialisation n'était pas significatif sur les réponses contractiles de l'acétylcholine. L'étude suggère donc que l'extrait de *Vitex doniana* peut agir via les récepteurs utero toniques. Par conséquent, l'utilisation de *V.doniana* pour contrôler les saignements du post partum peut être justifiée [53]. Il est connu depuis longtemps que les plantes du genre *Vitex* possèdent des propriétés ocytociques et sont utilisées pour faciliter le travail d'une manière similaire à l'extrait de feuilles de *Piper guineense* [79].

III. RAPPELS SUR LE STRESS OXYDANT

III.1. Définition du stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par un déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » [38].

III.2. Définition du radical libre

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule [2].

III.2.1. Sources endogènes des radicaux libres

Les ERO peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques. En effet, toute réaction impliquant de l'oxygène et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO, mais dont l'intensité demeure controversée. D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des

ERO, notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO [9].

III.2.2. Sources exogènes de radicaux libres

Elles sont surtout d'origine physique et chimique (ex. radiations X ou gamma, UV (315-400 nm), radiolyse de l'eau, réactions photochimiques) [33]. L'Oxydation met en jeu la molécule d'oxygène dont la production par des voies métaboliques non contrôlées engendre la formation d'espèces réactives de l'oxygène (E.R.O) tels que les radicaux libres superoxydes $O_2^{\bullet-}$, hydroxyl $HO\cdot$, alkoxy $RO\cdot$ et peroxy RO_2 [70].

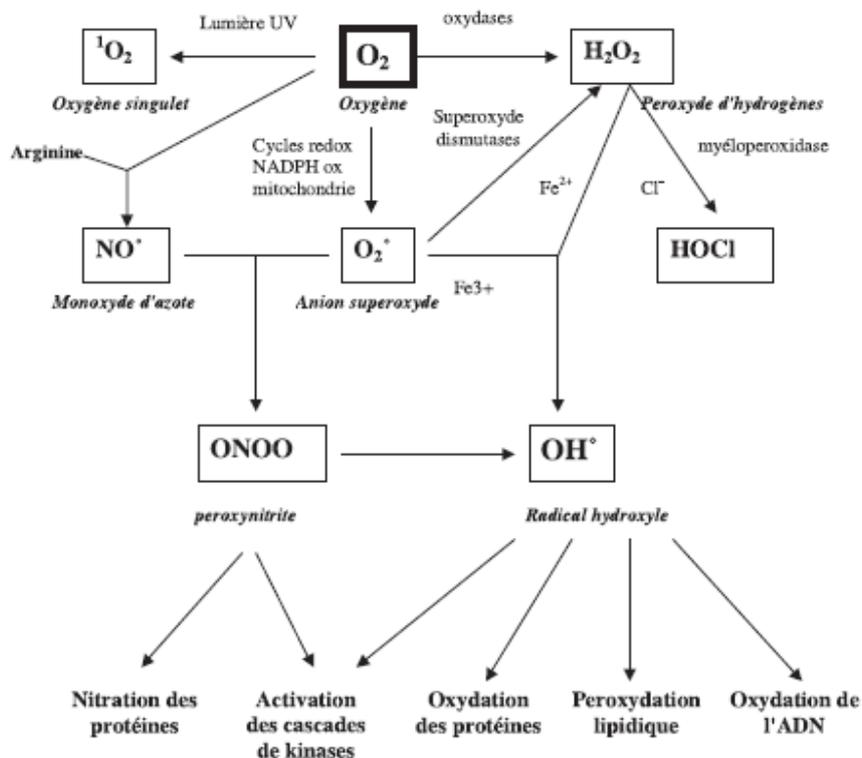


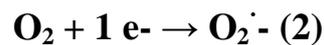
Figure 5 : Origine des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie [33].

L'oxygène est nécessaire aux animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle

existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes. La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction (**réaction (1)**) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par le *cytochrome oxydase*, accepteur terminal d'électrons, présent dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale.

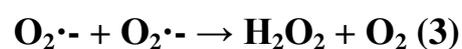


Toutefois, cette chaîne de transport peut laisser « fuir » une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 2% de l'oxygène subit une réduction mono électronique (**réaction (2)**) conduisant à la formation du radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$, au niveau de l'*ubiquinone* ou *coenzyme Q*.



De même, la *NADH-déshydrogénase* située dans la membrane mitochondriale interne, tout comme la *NADPH oxydase* présente au niveau des cellules vasculaires endothéliales, peuvent conduire à la formation de radicaux $\text{O}_2^{\cdot-}$.

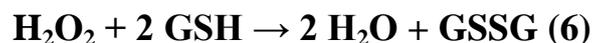
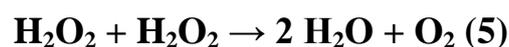
Par ailleurs, l'apparition de radicaux superoxydes peut résulter de l'auto-oxydation (oxydation par l'oxygène) de composés tels que des neuromédiateurs (adrénaline, noradrénaline, dopamine...), des thiols (cystéine), des coenzymes réduits (FMNH_2 , FADH_2), mais aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système des cytochromes P450 présents au niveau du réticulum endoplasmique. Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des enzymes appelées *superoxydes dismutases* (*SOD*) qui catalysent sa disparition par dismutation (**réaction (3)**).



L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène, H₂O₂) ainsi formée n'est pas elle-même un radical libre mais une molécule (ayant tous ses électrons périphériques appariés). Sa production peut également résulter de la réduction bioélectronique de l'oxygène (**réaction (4)**) en présence d'**oxydases (aminoacides oxydases, glycolate oxydase, urate oxydase...)** qui se trouvent principalement dans des organites cellulaires bien individualisés comme les peroxysomes. Par ailleurs, la membrane mitochondriale externe renferme une **monoamine oxydase** capable de catalyser la désamination oxydative de certaines amines, avec production simultanée de H₂O.



L'eau oxygénée est un intermédiaire réduit de l'oxygène qui est relativement toxique. Sa concentration est régulée par des enzymes telles que la *catalase* (présente dans les peroxysomes) et les *glutathions peroxydases* (essentiellement localisées dans le cytosol). La catalase accélère la réaction de dismutation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau (**réaction (5)**), tandis que la **glutathion peroxydase** accélère la réaction d'oxydation du glutathion (thiol peptidique, symbolisé ici par GSH) par l'eau oxygénée (**réaction (6)**).



La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle HO[·] en présence de cations métalliques tels que les ions ferreux Fe²⁺ ou cuivreux Cu⁺ (**réaction (7)**), dite réaction de Fenton. Le radical hydroxyle est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques comme nous le verrons par la suite.



Cette réaction de Fenton produit aussi bien le radical hydroxyle HO· que l'anion basique HO⁻. Toutefois, ces deux espèces chimiques sont nettement distinctes, puisque l'anion HO⁻ possède tous ses électrons périphériques appariés tandis que le radical HO· dispose d'un électron célibataire sur sa couche périphérique. Leur différence de réactivité est directement corrélée à cette différence de structure électronique.

D'un point de vue formel, la réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de 4 électrons qui peuvent s'additionner un par un, successivement sur la molécule de dioxygène (O₂), en conduisant aux intermédiaires respectifs O₂^{-·}, H₂O₂ et HO·. Ces intermédiaires sont appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou encore espèces activées de l'oxygène, car ils ont une réactivité beaucoup plus importante que l'oxygène qui leur a donné naissance. Dans certaines conditions, il apparaît un déséquilibre provoqué par une production exagérée de radicaux libres ou par une diminution des systèmes de défense antioxydante (enzymatiques et non enzymatiques) ou encore par une association de ces deux phénomènes. Un tel déséquilibre entre systèmes producteurs d'ERO et systèmes de défense antioxydante caractérise l'état de stress oxydant, sans qu'il soit aisé de déterminer si ce dernier est causal ou s'il constitue seulement une réponse de l'organisme à des stimuli, notamment inflammatoires [33,36].

III.3. Prise en charge des radicaux libres dans l'organisme

III.3.1. Système enzymatique de lutte contre les radicaux libres

L'organisme a des réserves d'antioxydants pour lutter contre les effets néfastes de ces molécules. Mais lorsqu'on a une surproduction de radicaux libres, ces réserves deviennent insuffisantes et il s'ensuit certaines complications dont la plus connue et la plus populaire est le vieillissement prématuré.

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en

effet de très nombreuses fonctions utiles qui, à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement des certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes par le contrôle redox [33].

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la *superoxyde dismutase*, la *catalase* et la *glutathion peroxydase*. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire [51].

➤ **Les superoxydes dismutases**

Les *superoxydes dismutases (SOD)* éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H_2O_2 et en HO^+ et HO^- . Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc [38].

➤ **La catalase**

Le peroxyde d'hydrogène, produit par la réaction de dismutation, peut subir une réaction de Fenton. Il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase qui transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables [51].

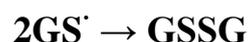
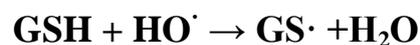
➤ **La glutathion peroxydase**

La *glutathion peroxydase* (GPx) est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydro peroxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras. La GPx se trouve dans le cytoplasme et dans les mitochondries, elle nécessite la présence de deux cofacteurs importants : le glutathion réduit et le sélénium.

En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduite, la glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau. Au fur et à mesure de sa consommation par la glutathion peroxydase, le glutathion doit être régénéré, cela est rendu possible par une glutathion réductase qui consomme une molécule de NADPH fournie par la voie des pentoses phosphates [13].

➤ **Le glutathion**

Au cœur des défenses antioxydantes, le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants [13].



➤ **L'acide urique**

L'*acide urique* est un piègeur de l'oxygène, des radicaux peroxydes et hydroxyles (RO_2^\cdot et HO^\cdot), de l'ozone et de l'acide hypochloreux (HClO). La réaction de l'acide urique avec ces ERO génère des radicaux moins réactifs que HO [13].

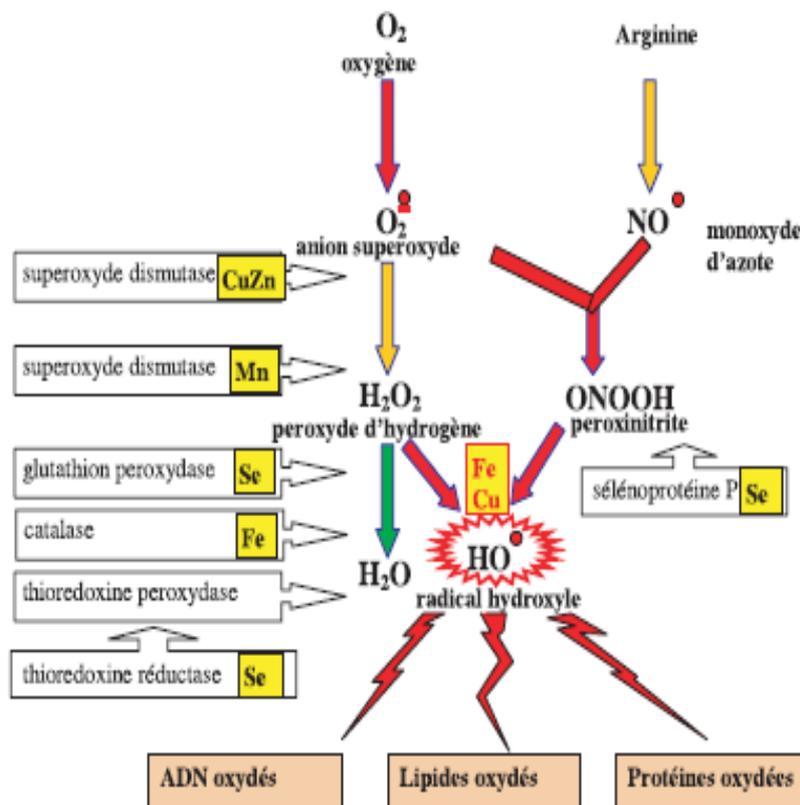


Figure 6 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques [33].

III.3.2. Système non enzymatique de lutte contre les radicaux libres

Les antioxydants exogènes sont très nombreux et des livres entiers ont été publiés sur leurs différents rôles ainsi que sur l'importance d'avoir une alimentation saine et équilibrée. Parmi les antioxydants exogènes, nous pouvons citer les polyphénols, la β -carotène, le zinc, le sélénium, ainsi que les vitamines A, B6, C et E [4].

➤ La vitamine E (ou α -tocophérol)

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celle de la famille des tocophérols. Elle a besoin d'interagir avec d'autres composés pour agir correctement. Elle se trouve dans tous nos tissus.

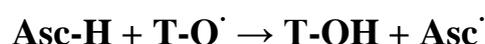
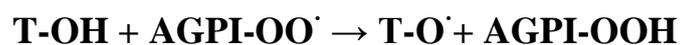
L'α-tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les lipoprotéines de basse densité (LDL). Chaque particule de LDL contient en moyenne de 6 à 12 molécules de vitamine E. La vitamine E interrompt la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI). En effet, la cinétique de cette étape de propagation étant lente, la vitamine E peut l'arrêter, en réparant le radical peroxy (AGPIOO·) par la formation d'hydroperoxyde (AGPI-OOH). Dans cette réaction de piégeage, la vitamine E devient à son tour radicalaire et la vitamine C la régénère.

La vitamine E est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ERO, soit en régulant à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la GPx, la catalase du foie, la glutathion-transférase et la NADPH réductase [13].

La vitamine E n'est pas biosynthétisée. Elle est présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. On la trouve aussi en moindre quantité dans les céréales, les amandes, les légumes verts, le beurre, la margarine et les poissons gras [13].

➤ **La vitamine C (ou acide ascorbique)**

La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ERO (majoritairement les espèces $O_2^{\cdot -}$ et $l'ONOO^{\cdot -}$). Elle est aussi capable de recycler l'α-tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique :



La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intra- et extra-cellulaires (compartiments hydrophiles). Ses activités biologiques viennent de son puissant potentiel réducteur ($E^\circ = - 0,29 \text{ V}$). Cependant, un effet prooxydant a été constaté en présence d'ions ferreux Fe^{3+} . Alors que la plupart des mammifères sont capables de la synthétiser, la majorité des primates (dont l'être humain), le cochon d'Inde et certains oiseaux ou poissons en sont incapables. Ceci est le résultat d'une mutation génétique, survenue il y a 40 millions d'années, bloquant la transformation du glucose en acide ascorbique. Les animaux dépourvus de cette capacité de synthèse de la vitamine C doivent donc la puiser dans leur alimentation [13].

➤ **Le sélénium**

C'est l'oligo-élément le plus « à la mode » pour ses propriétés antioxydantes avérées. Jadis considéré comme un toxique, les effets bénéfiques du sélénium sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait également une action préventive contre certains cancers [4].

➤ **La β -carotène**

Outre l'activité pro vitaminique A, la β -carotène possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes [4].

➤ **Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont considérés comme des composés quasi-universels des végétaux. Structurellement, ils se répartissent en plusieurs classes allant de composés présentant un simple noyau phénolique (ex. : acide gallique) à des composés polymériques complexes comme les tanins. Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils

peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits [57].

Il existe de nombreux composés phénoliques dont certains sont présentés ci-après.

✓ Les flavonoïdes

Ce sont les composés polyphénoliques les plus abondants contenus dans les végétaux. Leur structure comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (A et B) porteurs de plusieurs fonctions phénol et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone, ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène [39].

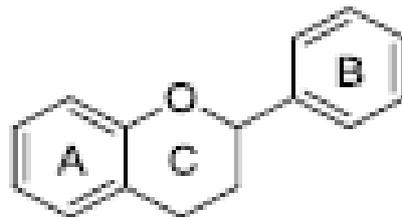


Figure 7 : Structure de base des flavonoïdes [35]

La présence de plusieurs fonctions phénol confère à ces composés des propriétés antioxydantes ou oxydantes, suivant la position des phénols et le milieu où la réaction prend place. Leur abondance dans divers aliments et boissons, dont la consommation est réputée avoir des effets protecteurs contre différentes affections chroniques, notamment l'athérosclérose (et par conséquent les accidents vasculaires cérébraux et coronariens qu'elle peut entraîner) et les maladies neurodégénératives, conduit légitimement à s'interroger sur la contribution des flavonoïdes alimentaires à ces effets protecteurs avérés ou supposés [76].

✓ **Les tanins**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente, ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines [51].

Les tanins se fixent à la quasi-totalité des protéines formant ainsi des complexes insolubles à pH physiologique. Selon leur structure biochimique, il est usuel de distinguer deux classes de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. La structure chimique des tanins présente de nombreux groupements hydroxyles et phénoliques qui leur confèrent la propriété de former des complexes avec de nombreuses macromolécules, telles que des protéines et des hydrates de carbones, ou encore avec des ions métalliques. Les propriétés biologiques des tanins découlent de leurs propriétés physico-chimiques. L'une des conséquences directes de la capacité des tanins à complexer les protéines est l'inactivation des enzymes soit directement, par fixation aux sites actifs, soit indirectement par l'encombrement stérique créé par la fixation des molécules de tanins sur l'enzyme [17].

De nombreux tanins présentent des propriétés antioxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions prooxydants.

Grâce à leurs fonctions phénoliques, qui ont un fort caractère nucléophile, les tanins sont d'excellents piègeurs de radicaux libres. Ainsi, des activités antimutagènes et anticancéreuses ont été attribuées à certains tanins en raison de leur propriété antioxydante [17].

✓ **Les coumarines**

Les coumarines sont des substances naturelles présentes en faibles quantités dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclarée et la lavande. On la retrouve également dans le miel, le thé vert, etc.

Les coumarines sont des composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo-(2H) -1-pyrannone-2. Elles présentent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrone. Certains dérivés coumariniques possèdent principalement des propriétés anticoagulantes ; les plus connus étant le dicoumarol et l'esculoside. Ces deux derniers sont également veinotoniques et vasculo-protecteurs [31].

Les sites d'action de divers antioxydants sont présentés sur la figure 8.

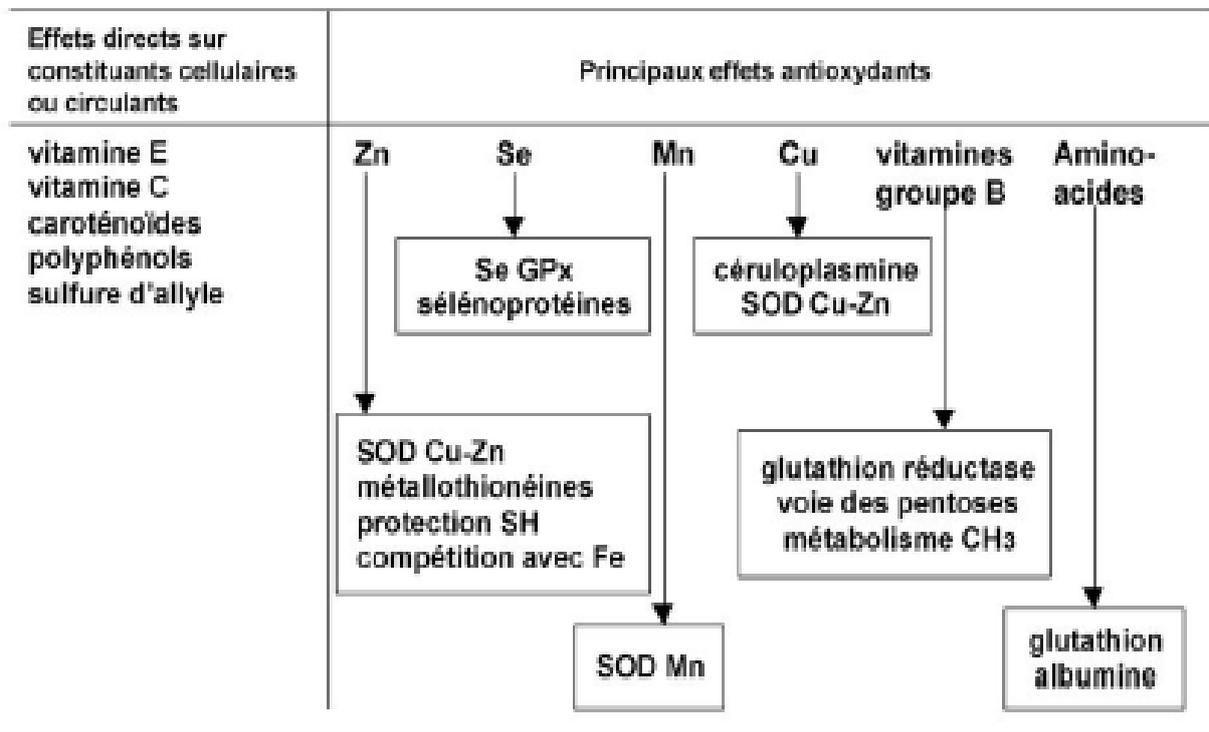


Figure 8 : Sites d'action de divers antioxydants [33]

III.4. Mécanisme d'action des antioxydants

Tout d'abord, les antioxydants lutteraient contre la production d'ERO. Une expérience *in vitro* a été menée avec des cultures de chondrocytes issus de cartilage épiphysaire d'oiseaux. Le milieu était enrichi avec des acides gras et de la vitamine E. Le stress oxydatif a été induit par l'ajout de sulfate de fer. En supplémentant en vitamine E, la valeur des substances réactives à l'acide

thiobarbiturique (TBARS) et l'activité des lactates déshydrogénases (LDH) ont été diminués (le TBARS et l'activité des LDH sont des marqueurs du stress oxydatif). La vitamine E permet donc une bonne protection contre le stress oxydant. Enfin, lors de la même expérience, la supplémentation en vitamine a permis aussi de restaurer partiellement la synthèse de collagène et donc de retarder la perte osseuse [63].

Les antioxydants agiraient également sur les cytokines. Comme nous l'avons vu chez le chien sportif, la vitamine E inhibe la production de prostaglandine E2. Les eïcosanoïdes, telle la prostaglandine E2, sont connus pour leurs actions stimulantes sur les ostéoclastes. En diminuant la quantité de telles molécules, la vitamine E protégerait la formation de l'os et entraverait sa résorption [63].

Il existe deux types d'antioxydants :

- Les **antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais**, qui permettent l'interruption de la chaîne auto-catalytique : $AH + R\cdot \rightarrow A\cdot + RH$.

La molécule AH est antioxydante si le radical formé $A\cdot$ est plus stable. La stabilité de ce dernier radical peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires : $A^* + A' \rightarrow A-A$ ou $A\cdot + R^* \rightarrow A-R$.

- Les **antioxydants secondaires ou préventifs** qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres.

Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcool, des thiol (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des rayons UV, comme les carotènes, des chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines, ou enfin de séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique [69].

III.5. Action délétère des radicaux libres sur l'organisme

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.

➤ Action sur les protéines

Les protéines cellulaires sont une cible idéale de l'attaque radicalaire qui se situe à différents niveaux. 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. Les acides aminés peuvent être modifiés. Par exemple, l'action de l'oxygène singulet sur la méthionine donne la méthionine sulfoxyde [42]. Le radical hydroxyle réagit avec la phénylalanine (PHE) et donne l'ortho-tyrosine, la méta-tyrosine ou la para – tyrosine.

➤ Action sur les acides nucléiques

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 [43]. 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.

➤ **Action sur les lipides**

Cette action se fait au niveau des acides gras polyinsaturés des phospholipides et détermine la lipido-péroxydation 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 [33].

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides.

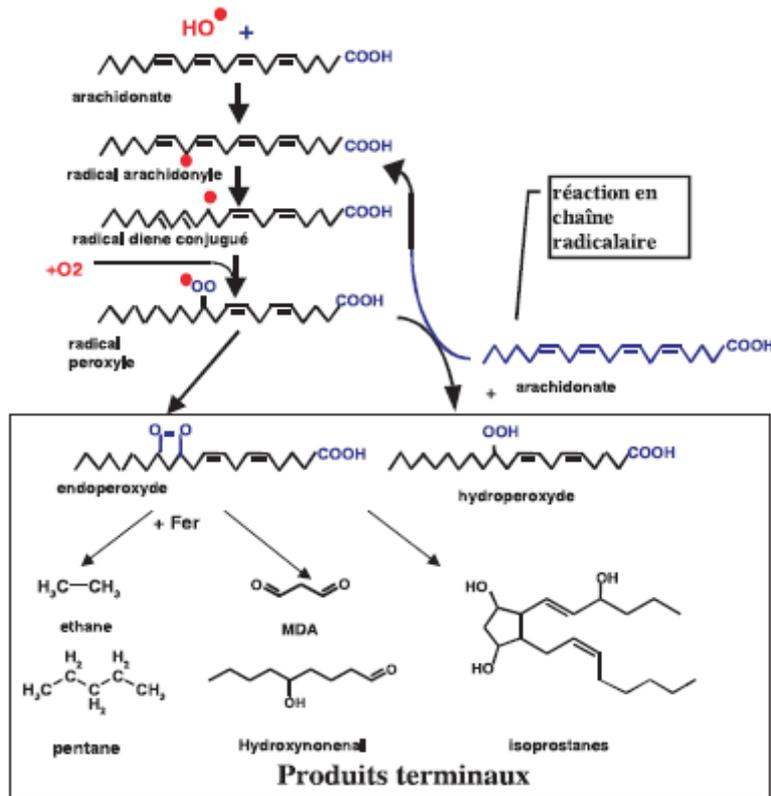


Figure 9 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés [35]

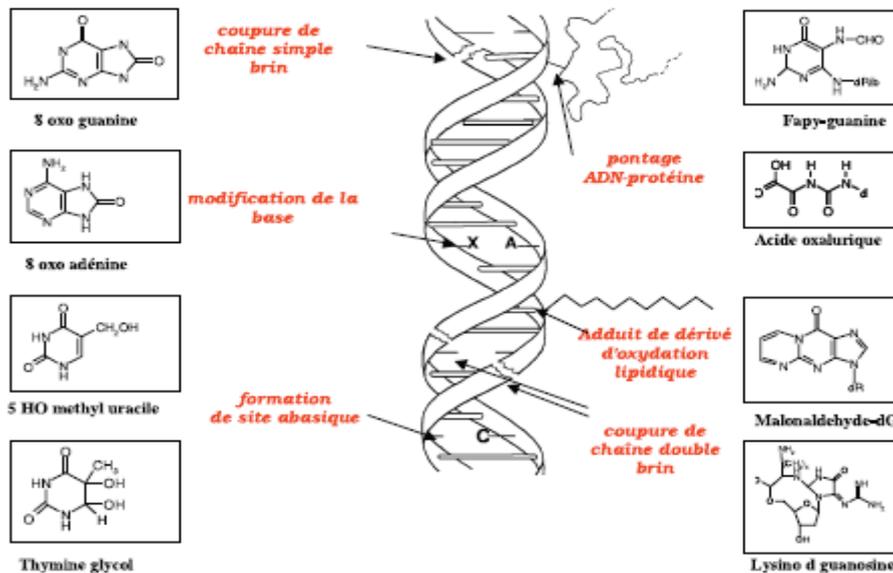


Figure 10 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules [35].

DEUXIEME PARTIE :
TRAVAIL EXPERIMENTAL

I. OBJECTIF DE L'ETUDE

I.1. Objectif général

L'objectif général de la présente étude a été d'évaluer l'activité antioxydante du mélange d'extraits de feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*.

I.2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques ont été de :

- Effectuer l'extraction de la poudre des feuilles de *Vitex doniana* et *Combretum micranthum*, en utilisant l'éthanol et l'acétate d'éthyle ;
- Evaluer l'activité antioxydante *in vitro* des différents extraits totaux ;
- Evaluer l'activité antioxydante *in vitro* du mélange des extraits totaux des deux (02) plantes.

II. Cadre de l'étude

L'étude a été principalement réalisée au Laboratoire de Chimie Analytique et Bromatologie de la Faculté de Médecine de Pharmacie et Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Nous avons aussi utilisé le plateau technique du Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de ladite Faculté.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée au Laboratoire National de Contrôle de Médicaments. Notre étude s'est déroulée du 2 Novembre 2015 au 09 Aout 2016.

III. Matériel et Méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par la poudre de feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*.

III.1.2. Appareillage et verrerie

Les appareils et verrerie suivants ont été utilisés :

- Spectrophotomètre UV/visible (JASCO, modèle v-570) pour la lecture des absorbances des solutions préparées
- Ballon de 500 mL
- Broyeur Brabenderg OHG Dursburg.
- Verre de montre
- Eprouvette graduée
- Balance de précision Sartorius
- Evaporateur rotatif de marque Büchi 461
- Bain ultrason
- Agitateur magnétique
- Centrifugeuse (Centifugette 4206).

III.1.3. Réactifs utilisés pour l'extraction

Pour l'extraction des feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*, ont été utilisés les solvants suivants :

- Ethanol 95° (VALDAFRIQUE ®) Lot N° 6422
- Acétate d'éthyle (SIGMA-ALDRICH ®) Lot N° SZBD1230V



Figure 11 : Différents solvants utilisés pour l'extraction

III.2. Méthode d'Etude

III.2.1. Récolte du matériel végétal

Les feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* ont été récoltées en novembre 2015 dans la commune de Mekhé (Département de Tivaouane, Région de Thiès) et dans la commune de Cagnout Ebrouye (Département d'Oussouye, Région de Ziguinchor). Elles ont été identifiées au Laboratoire de

pharmacognosie et de biologie végétale de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

III.2.2. Traitement du matériel végétal

Le séchage a été effectué à la température ambiante pendant trois semaines. Les feuilles ont été ensuite pulvérisées à l'aide d'un broyeur de marque Brabenderg OHG Dursburg. Ce qui a permis l'obtention d'une poudre mise dans un flacon opaque puis stocké dans un dessiccateur.

III.2.3. Extraction par solvants

➤ Extraction à l'éthanol

Un échantillon de 250g de poudre de feuilles de *C micranthum* a été mis en macération à température ambiante avec 1L de d'éthanol pendant 24h. Une quantité de 250g de poudre de feuille de *V. doniana* a été aussi macérée avec le même procédé pendant 24h.

Après la macération, une filtration a été réalisée. Le filtrat est conservé dans une bouteille de verre opaque à l'abri de la lumière et le retentât est remis en contact avec 1L de solvant pour la deuxième fois. L'opération est reprise pour la troisième fois au bout de 24h de la seconde macération.

Après les filtrations, les phases liquides sont mises ensemble dans des bouteilles différentes selon les types de poudres de plante utilisée et du solvant d'extraction. Les phases liquides sont par la suite évaporées au l'évaporateur rotatif pour produire un résidu sec d'extrait éthanolique de *C. micranthum* et de *V. doniana*.

L'extraction a été faite selon le protocole ci-après (figure 12) :

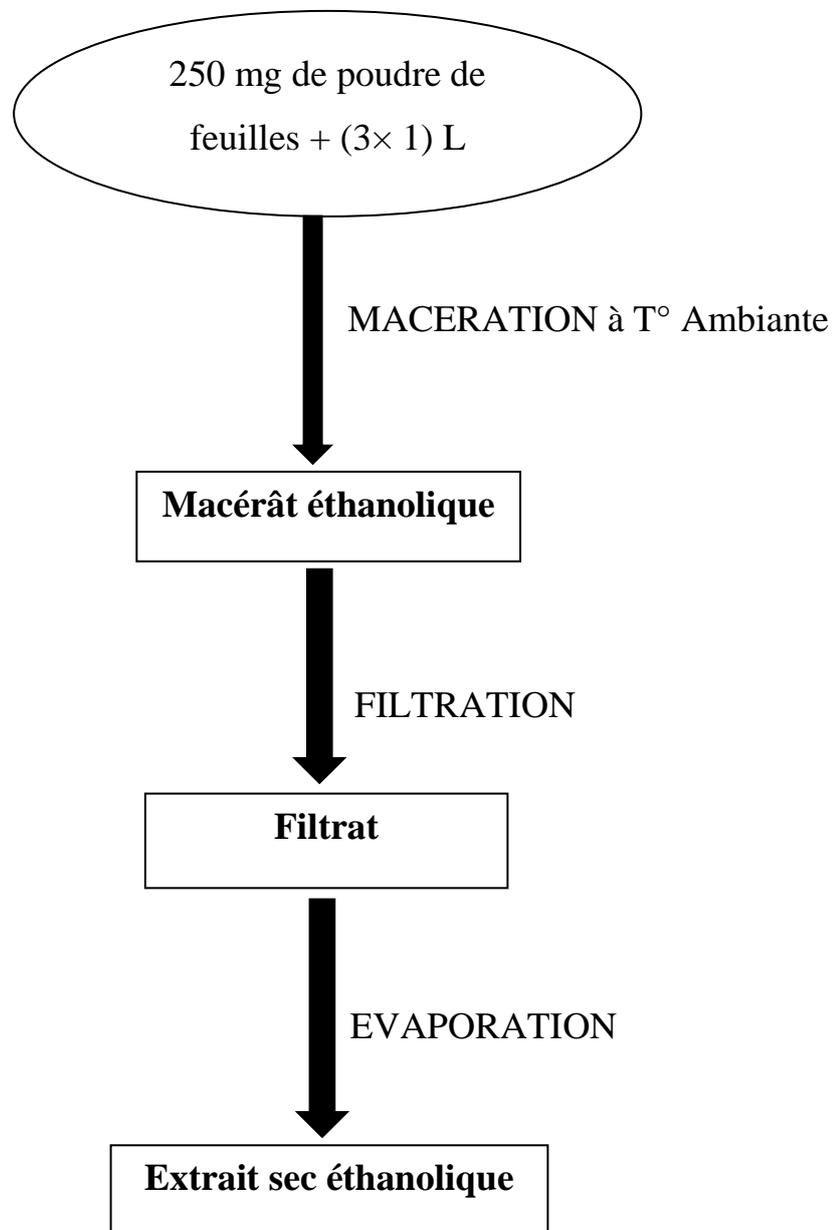


Figure 12: Protocole de l'extraction à l'éthanol

➤ **Extraction à l'acétate d'éthyle**

Environ 250g de poudre de feuilles de *Combretum micrantum* ont été mis en macération avec 1L d'acétate d'éthyle pendant 24h. Le même procédé est utilisé pour la poudre du *Vitex doniana* avec environ 250g mis dans une autre bouteille de verre opaque et avec 1L d'acétate d'éthyle pendant 24h.

Après macération pendant 24h, nous avons procédé à la filtration. Le filtrat est conservé dans une bouteille de verre opaque à l'obscurité. Le marc est remis en contact avec 1L de solvant pour la deuxième fois. Ce procédé est fait pour le *V. doniana* et le *C. micranthum*. Nous avons repris l'opération pour la troisième fois au bout de 24h de la seconde macération.

Après les filtrations, les phases liquides sont mises ensemble dans des bouteilles différentes selon les types de poudres de plante utilisée pour produire un résidu sec d'extrait d'acétate d'éthyle de *C. micranthum* et de *V. doniana*.

L'extraction a été faite selon le protocole ci-après (figure 13) :

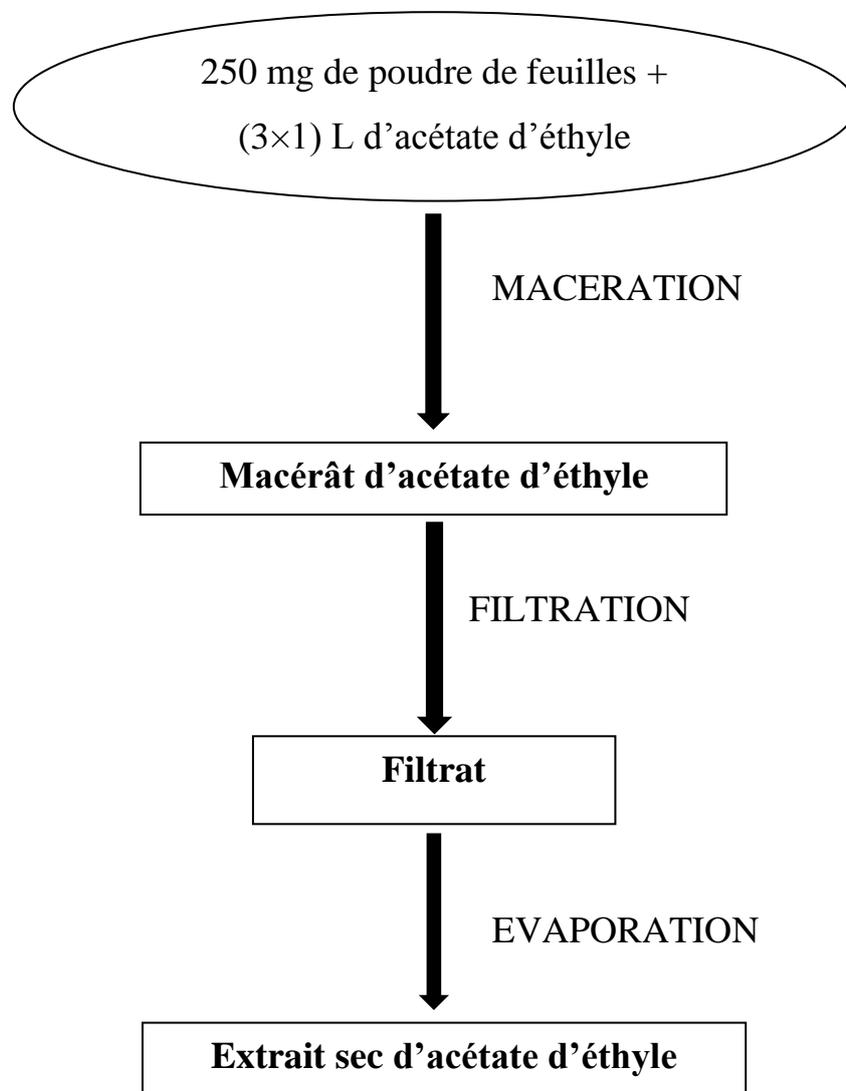


Figure 13: Protocole de l'extraction à l'acétate d'éthyle

Les schémas suivant montrent les bouteilles opaques dans lesquelles les filtrats ont été mis et l'évaporation à l'évaporateur rotatif.



Figure 15: Bouteilles opaques contenant les filtrats

III.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

➤ Protocole expérimentale du test au DPPH :

La méthode utilisée a été décrite par Sarr [10]. Une quantité de 4 mg de poudre de DPPH• a été dissoute dans 100 mL d'éthanol et la solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière pendant 12 h. Dans chaque tube à essai contenant 0,8 mL d'une solution éthanolique de l'extrait testé à différentes concentrations initiales, la solution de DPPH• (3,2 mL) a été rajoutée. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 30 minutes au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée (n=3).

➤ Protocole expérimental du Test à l'ABTS :

La méthode utilisée a été celle décrite par Sarr [10]. Une quantité de 38,40 mg d'ABTS a été préalablement dissoute dans 10 mL d'eau avant ajout de 6,75 mg de persulfate de potassium. Le mélange obtenu a été conservé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 H avant usage. Il a été par la suite dilué avec de l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de l'ordre de 0,7 à 734 nm. L'activité antioxydante a été mesurée en additionnant 2 mL d'une solution éthanolique de l'extrait testé à 2 mL de la solution d'ABTS+•. Les extraits ont été testés à différentes concentrations. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 2 minutes au spectrophotomètre à 734 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée (n=3).

Dans les deux tests décrits ci-avant, l'activité antioxydante a été exprimée par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance du radical qui correspond à :

$$PI = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

➤ A₀ : absorbance de la solution d'ABTS+• ou de DPPH• pure

- A1 : absorbance de la solution d'ABTS+• ou de DPPH• après ajout de l'extrait testé à une concentration donnée et après un temps donné.

III.2.5. Méthodologie d'analyse des résultats

Les analyses statistiques ont été effectuées par le test de Student, à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007. Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance des radicaux sont significatifs si la valeur p est inférieure à 0,05.

IV. RESULTATS

IV.1. Rendement de l'extraction avec les différents solvants

L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Vitex doniana* par l'éthanol à 95° a donné un extrait sec de 17,9225 g soit un rendement de 7,169 %.

L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Vitex doniana* par l'acétate d'éthyle a donné un extrait sec de 5,6112 g soit un rendement de 2,2448 %.

L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Combretum micranthum* par l'Ethanol à 95° a donné un extrait sec de 36,1473 g soit un rendement de 14,45892 %. L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Combretum micranthum* par l'acétate d'éthyle a donné un extrait sec de 8,7537 g soit un rendement de 3,50148 %.

Les solvants qui ont été utilisés pour les extractions ainsi que les résidus secs sont répertoriés dans le tableau suivant (Tableau V) :

Tableau V: Rendements de l'extraction

	<i>Masse de l'Extrait (g)</i>	<i>Rendement de l'extraction (%)</i>
<i>V. doniana + EtOH</i>	17,9225	7,16892
<i>C. micranthum + EtOH</i>	36,1473	14,4589
<i>V. doniana + AE</i>	5,6112	2,24448
<i>C. micranthum + AE</i>	8,7537	3,50148

Les rendements ont été calculés à partir du produit de départ :

- La poudre de feuilles de plantes à 250g pour la macération ;
- 3 L d'éthanol à 95°
- 3 L d'acétate d'éthyle.

Les pâtes que nous avons obtenues aussi étaient de coloration verte foncée.

IV.2. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

IV.2.1. Résultat du test au DPPH

Les Pourcentage d'Inhibition (PI) de l'absorbance du radical DPPH[·], par le *Vitex doniana* et le *Combretum micranthum* avec les différents extraits venant des deux solvants utilisés sont présentés dans le tableau suivant (Tableaux VI, VII et VIII).

Tableau VI : Pourcentages moyens d'inhibition (moyennes \pm écart-type en%) de l'absorbance du DPPH \cdot par les extraits du *Combretum micranthum* et du *Vitex doniana*.

	<i>10 μg/ml</i>	<i>20 μg/ml</i>	<i>30 μg/ml</i>	<i>40 μg/ml</i>	<i>60 μg/ml</i>	<i>70 μg/ml</i>	<i>80 μg/ml</i>		
CMAE	31,44 \pm 8,09E-04	35,20 \pm 7,45E-03	43,58 \pm 2,12E-03	47,35 \pm 2,09E-03	52,718 \pm 1,34E-03	61,72 \pm 8,12E-04	64,84 \pm 9,92E-03		
	<i>0,1 μg/ml</i>	<i>1 μg/ml</i>	<i>2 μg/ml</i>	<i>3 μg/ml</i>	<i>5 μg/ml</i>	<i>6 μg/ml</i>	<i>7 μg/ml</i>	<i>10 μg/ml</i>	<i>20 μg/ml</i>
CME	20,97 \pm 2,74E-03	23,97 \pm 2,04E-03	35,12 \pm 3,10E-03	39,19 \pm 3,48E-03	45,01 \pm 1,22E-03	53,70 \pm 2,08E-03	58,46 \pm 2,18E-03	59,79 \pm 9,23E-03	88,74 \pm 4,79E-04
	<i>30 μg/ml</i>	<i>40 μg/ml</i>	<i>50 μg/ml</i>	<i>60 μg/ml</i>	<i>70 μg/ml</i>	<i>80 μg/ml</i>	<i>90 μg/ml</i>	<i>100 μg/ml</i>	
VDAE	34,93 \pm 6,03E-04	40,35 \pm 2,95E-03	44,36 \pm 5,64E-04	48,52 \pm 2,97E-03	52,98 \pm 2,33E-03	56,58 \pm 1,07E-03	59,97 \pm 3,07E-03	60,34 \pm 3,93E-03	
	<i>1 μg/ml</i>	<i>2 μg/ml</i>	<i>3 μg/ml</i>	<i>4 μg/ml</i>	<i>5 μg/ml</i>	<i>10 μg/ml</i>	<i>15 μg/ml</i>	<i>20 μg/ml</i>	
VDE	21,95 \pm 1,08E-03	23,89 \pm 5,83E-03	26,30 \pm 7,81E-04	27,52 \pm 6,34E-03	29,50 \pm 2,71E-03	39,01 \pm 2,67E-03	56,07 \pm 2,67E-03	59,25 \pm 2,17E-03	

Les PI de l'absorbance du radical DPPH par le mélange *Vitex doniana* et *Combretum micranthum* sont présentés dans le tableau après.

Tableau VII: Pourcentages moyens d'inhibition (moyennes \pm écart-type en%) de l'absorbance du DPPH \cdot par le mélange des extraits d'acétate d'éthyle du *Combretum micranthum* et du *Vitex doniana*.

	<i>0,1 μg/ml</i>	<i>0,2 μg/ml</i>	<i>0,3 μg/ml</i>	<i>0,4 μg/ml</i>	<i>0,5 μg/ml</i>	<i>0,6 μg/ml</i>	<i>0,7 μg/ml</i>	<i>0,8 μg/ml</i>
<i>PI VDAE + CMAE à</i>	31,41 \pm	37,82 \pm	44,24 \pm	52,41 \pm	58,56 \pm	62,11 \pm	64,29 \pm	68,17 \pm
<i>50 μg/ml</i>	2,14E-03	5,26E-03	5,23E-03	6,15E-03	5,36E-03	3,06E-04	5,03E-04	3,78E-03

Tableau VIII: Pourcentages moyens d'inhibition (moyennes \pm écart-type en%) de l'absorbance du DPPH \cdot par le mélange des extraits éthanolique du *Combretum micranthum* et du *Vitex doniana*.

	<i>0,1 μg/ml</i>	<i>0,2 μg/ml</i>	<i>0,3 μg/ml</i>	<i>0,4 μg/ml</i>	<i>0,5 μg/ml</i>	<i>0,6 μg/ml</i>	<i>0,7 μg/ml</i>	<i>0,8 μg/ml</i>	<i>0,9 μg/ml</i>	<i>1 μg/ml</i>
<i>PI VDE + CME</i>	21,66 \pm	23,02 \pm	24,40 \pm	25,89 \pm	27,53 \pm	29,04 \pm	31,18 \pm	44,48 \pm	56,14 \pm	70,19 \pm
<i>à 8 μg/ml</i>	6,82E-03	4,09E-03	6,16E-03	2,95E-03	2,26E-03	3,35E-03	1,80E-03	2,52E-04	2,52E-04	3,00E-04

IV.2.2. Test à l'ABTS

Les PI de l'absorbance du radical ABTS[•], par les différents extraits de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* sont présentés dans le tableau suivant (Tableaux IX, X et XI).

Tableau IX: Pourcentages moyens d'inhibition (moyennes ± écart-type en%) de l'absorbance de l'ABTS[•] par les différents extraits venant du *Vitex donaina* et du *Combretum micranthum*.

	<i>0,01µg/ml</i>	<i>0,1 µg/ml</i>	<i>0,25 µg/ml</i>	<i>1 µg/ml</i>	<i>2 µg/ml</i>	<i>3 µg/ml</i>	<i>4 µg/ml</i>	<i>5 µg/ml</i>	<i>10 µg/ml</i>
CMAE	48,55 ± 2,61E-03	50,17 ± 5,20E-04	50,62 ± 2,36E-03	50,85 ± 2,69E-03	52,56 ± 2,95E-03	52,28 ± 2,97E-03	51,54 ± 2,90E-03	61,95 ± 9,17E-04	70,02 ± 3,88E-03
VDAE	48,99 ± 3,21E-04	49,05 ± 2,31E-03	49,52 ± 1,00E-03	50,55 ± 3,44E-03	51,25 ± 3,16E-03	52,86 ± 6,03E-04	53,95 ± 1,54E-03	59,89 ± 5,03E-03	62,33 ± 7,79E-04
CME	50,68 ± 5,55E-03	51,24 ± 2,42E-03	56,09 ± 2,40E-03	61,46 ± 9,02E-04	68,95 ± 2,02E-03	74,39 ± 4,02E-03	79,42 ± 2,98E-04	95,05 ± 3,46E-03	99,37 ± 9,54E-04
VDE	50,23 ± 1,28E-03	51,18 ± 3,70E-03	52,16 ± 2,08E-03	54,25 ± 1,50E-03	56,66 ± 1,35E-03	60,11 ± 3,20E-03	64,05 ± 1,39E-03	68,74 ± 2,06E-03	80,03 ± 8,02E-04

Les PI de l'absorbance du radical ABTS par le mélange *Vitex doniana* et *Combretum micranthum* sont présentés dans le tableau après.

Tableau X : Pourcentages moyens d'inhibition (moyennes \pm écart-type en%) de l'absorbance de l'ABTS \cdot par le mélange des extraits d'acétate d'éthyle du *Combretum micranthum* et du *Vitex doniana*.

	<i>0,001</i>	<i>0,002</i>	<i>0,003</i>	<i>0,004</i>	<i>0,005</i>	<i>0,006</i>	<i>0,007</i>	<i>0,008</i>
	<i>$\mu\text{g/ml}$</i>							
<i>PI VDAE + CMAE à</i>	60,07 \pm	61,24 \pm	65,21 \pm	68,91 \pm	77,20 \pm	79,47 \pm	81,24 \pm	83,01 \pm
<i>50 $\mu\text{g/ml}$</i>	8,33E-04	1,73E-03	5,03E-04	5,29E-04	1,07E-03	2,61E-03	9,64E-04	2,93E-03

Tableau XI: Pourcentages moyens d'inhibition (moyennes \pm écart-type en%) de l'absorbance de l'ABTS \cdot par le mélange des extraits éthanoliques du *Combretum micranthum* et du *Vitex doniana*.

	<i>0,001</i>	<i>0,002</i>	<i>0,003</i>	<i>0,004</i>	<i>0,005</i>	<i>0,006</i>	<i>0,007</i>	<i>0,008</i>	<i>0,009</i>	<i>0,01</i>	<i>8 $\mu\text{g/ml}$</i>
	<i>$\mu\text{g/ml}$</i>										
<i>PI VDE + CME</i>	56,11 \pm	58,58 \pm	62,58 \pm	64,47 \pm	67,97 \pm	77,84 \pm	79,54 \pm	80,57 \pm	82,07 \pm	81,62 \pm	99,62 \pm
<i>à 8 $\mu\text{g/ml}$</i>	7,00E-04	6,11E-04	7,64E-04	7,00E-04	6,11E-04	9,07E-04	4,04E-04	2,85E-03	1,55E-02	4,04E-04	3,61E-04

Les courbes de variation des PI (%) en fonction de la concentration ($\mu\text{g/ml}$) du mélange des extraits avec les radicaux ABTS et DPPH sont présentées sur les figures suivantes (Figures 16, 17, 18 et 19).

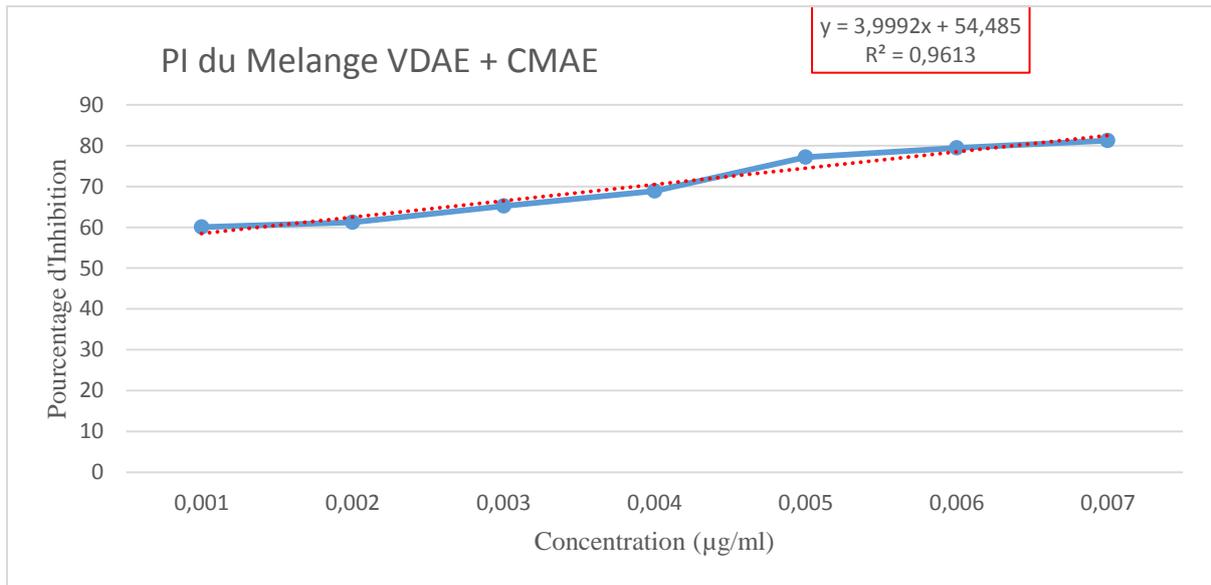


Figure 16: PI du mélange acétate d'éthyle + *Vitex doniana* + *Combretum micranthum* à 50 µg/ml testé avec l'ABTS

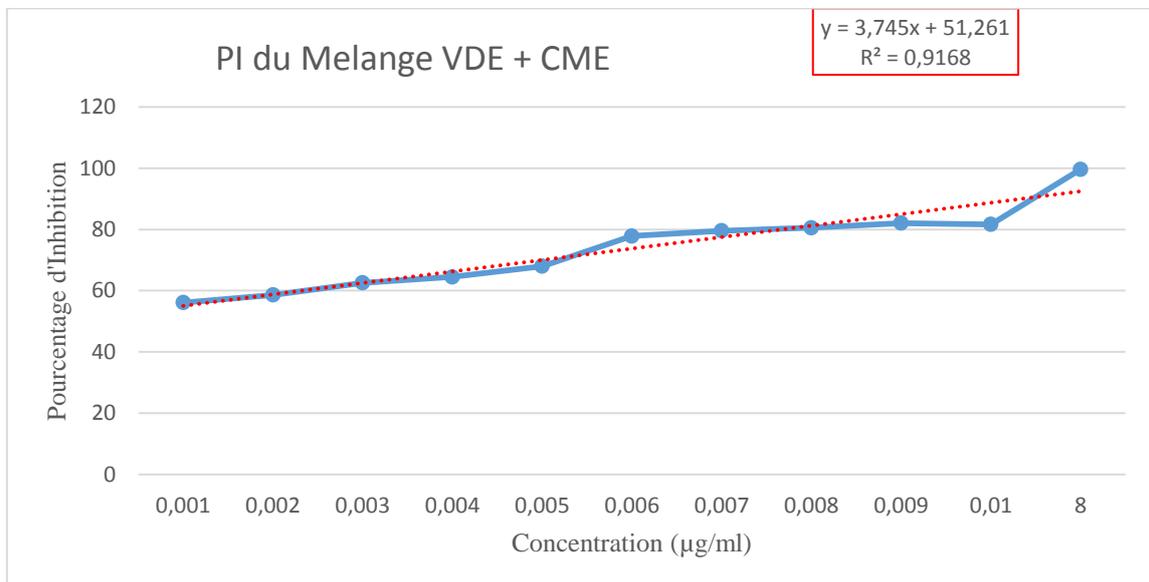


Figure 17: PI du mélange éthanol + *Vitex doniana* + *Combretum micranthum* à 8 µg/ml testé avec l'ABTS

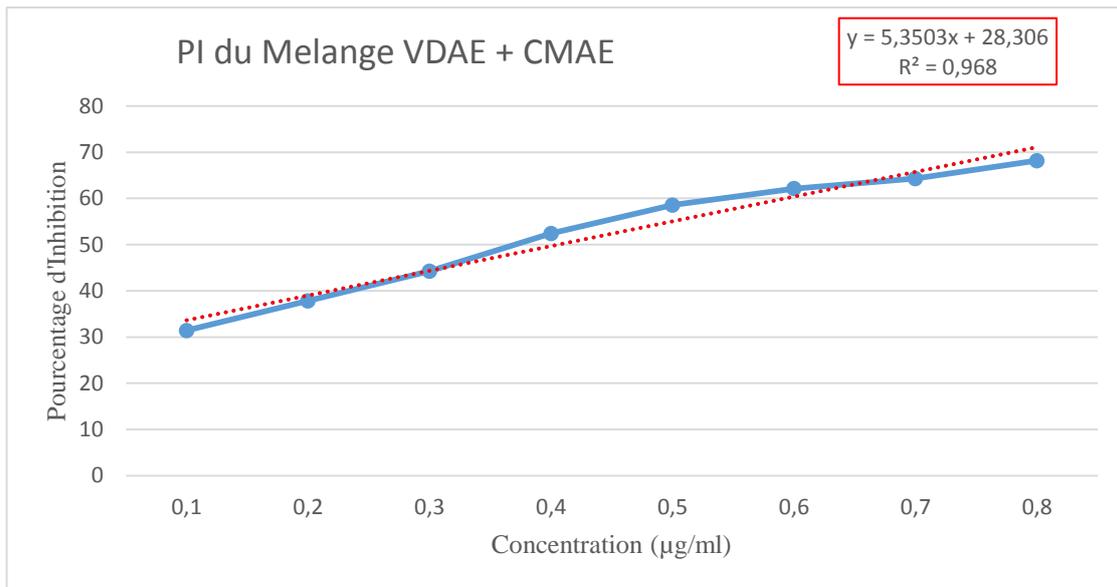


Figure 18 : PI du mélange acétate d'éthyle + *Vitex doniana* + *Combretum micranthum* à 50 µg/ml testé avec le DPPH

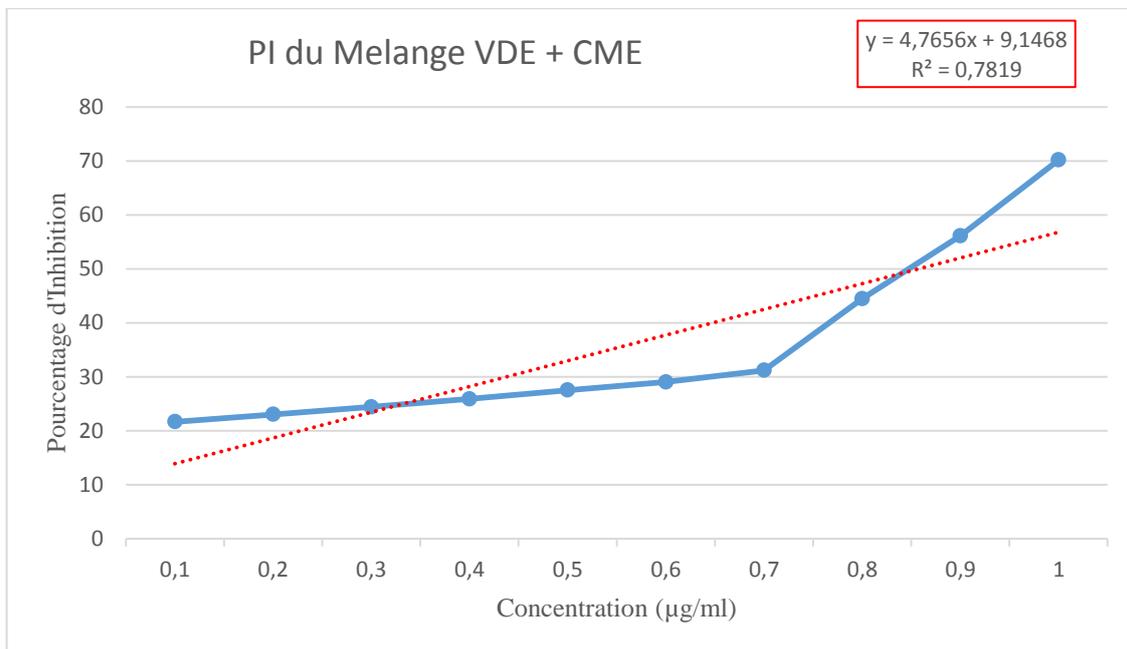


Figure 19: PI du mélange éthanol + *Vitex doniana* + *Combretum micranthum* à 8 µg/ml testé avec le DPPH

V. DISCUSSION

V.1. Extraction

Un rendement de l'ordre 7% a été obtenu lors de l'extraction éthanolique de 250g de poudre des feuilles de *Vitex doniana* par macération. Ce résultat est augmenté, presque du double, par rapport au rendement obtenu par **Ndiaye [52]** qui avait effectué une extraction avec 500 g de poudre et a obtenu 9% de rendement par macération. Ce résultat est diminué, presque de moitié, par rapport au rendement obtenu par **Diop [30]** qui avait effectué une extraction par chauffage au reflux et obtenu 16%. Cette dernière méthode semble extraire une quantité plus importante de constituants.

L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Vitex doniana* par l'acétate d'éthyle a donné un extrait sec de 5,6112 g soit un rendement de 2,2448 %. Ce rendement est inférieur à celui que **Ndiaye [52]** avait obtenu à partir de 500 mg de poudre de feuille 7%. Ce rendement est aussi inférieur au rendement obtenu par **Diop [30]** dont le fractionnement de 24 g d'extrait éthanolique sec a donné 0,64 g pour la fraction acétate d'éthyle. L'extraction des feuilles de *Vitex doniana* par l'acétate d'éthyle a fourni un rendement inférieur à celui de l'extraction éthanolique. La différence pourrait provenir de la différence de polarité entre les deux solvants.

L'éthanol qui est un solvant polaire a été utilisé pour l'extraction des feuilles de *Combretum micranthum* [28]. Ce solvant a été choisi pour sa capacité d'extraire des composants polaires tels que les polyphénols qui sont bien représentés dans les feuilles de Combrétacées [28]. **Niang [56]** a mené des études sur les feuilles de 4 *Combretaceae* dont *Combretum aculeatum*, *Combretum micranthum* et *Combretum glutinosum*. Il en ressort que le rendement d'extraction des feuilles de ces trois plantes est respectivement de 9,7% ; 22,8% et 15,23%. Il a été établi que les teneurs en principes actifs des drogues végétales peuvent varier suivant plusieurs facteurs [56]. Certains facteurs liés aux conditions écologiques tels que

le type de sol et la pluviométrie peuvent influencer sur la teneur en principes actifs [52]. Le rendement d'extraction que nous avons obtenu c'est-à-dire 14,46 % avec l'éthanol est supérieur à celui obtenu cet auteur. Ceci justifie le fait de partir d'une grande quantité de poudre de feuilles pour pouvoir produire assez d'extrait et de fractions en vue de réaliser des essais.

V.2. Evaluation de l'Activité Anti Oxydante

A toutes les concentrations testées, les différents extraits présentent une activité antioxydante dose dépendante sur le DPPH et l'ABTS. A toutes les concentrations testées, il a été noté une augmentation dose dépendante de l'activité inhibitrice de l'extrait ainsi que ses fractions et ces résultats sont identiques à ceux obtenus par **Diagne [25]**.

Les extraits éthanoliques testés séparément ont donné une forte activité antioxydante avec l'ABTS. A titre d'exemple, à 0,01µg/ml, les extraits éthanoliques de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* ont respectivement donné un PI de $(50,23 \pm 1,28E-03)$ % et de $(50,68 \pm 5,55E-03)$ %. Cette activité est moins importante sur le radical DPPH avec lesquels les CI50 sont de 5,82 µg/ml pour l'extrait éthanolique du *Combretum micranthum* et de 3,33 µg/ml pour l'extrait éthanolique du *Vitex doniana*. L'activité antioxydante que nous avons obtenue est plus importante que celle que **Diagne [25]** a obtenue et chez qui l'extrait éthanolique s'est montré significativement plus actif que toutes les fractions qu'ils ont testées avec une CI50 de l'ordre de $(38,33 \pm 0,61)$ %. Par ailleurs, les *Combrétacées* sont connues pour leur forte teneur en flavonoïdes et en tanins [10]. En effet, les études phytochimiques menées sur les *Combretum* y ont révélé la présence de plusieurs classes de composés comme les triterpènes, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes, des amino-acides non protéiques entre autres [68].

Les études chimiques menées sur *Combretum micranthum* y ont révélé la présence de certains composés chimiques comme les polyphénols. De manière

générale, les polyphénols sont réputés pour leur pouvoir antioxydant [71]. Les flavonoïdes agiraient principalement comme antioxydant en stabilisant les radicaux peroxydes ou bien en désactivant les espèces oxygénées : ion peroxyde, radical OH° , oxygène singulet [50]. Les feuilles de *Vitex doniana* sont composées de flavonoïdes, de tanins terpenoïdes, d'alcaloïdes, des vitamines A, E, C selon **Suleiman** [77].

Les résultats obtenus par **Agbafor** [3] confirment ceux que nous avons eus avec le test du DPPH. En effet, ces auteurs ont révélé lors de leurs études, l'activité antioxydante dose dépendante d'extrait aqueux et éthanolique des feuilles de *V. doniana*.

Les extraits d'acétate d'éthyle testés séparément ont donné une activité antioxydante avec l'ABTS plus forte qu'avec le DPPH. A $1\mu\text{g/ml}$, les extraits de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* ont respectivement donné un PI de $(50,55 \pm 3,44\text{E-}03)$ % et de $(50,85 \pm 2,69\text{E-}03)$ % avec l'ABTS. Ce pouvoir antioxydant est supérieur à celui obtenu par **Ndiaye** [52] ou l'activité a été évaluée après fractionnement alors nous avons déterminé l'activité antioxydante sur des extraits totaux.

A la concentration de $200\mu\text{g/ml}$ avec le test de DPPH et de l'ABTS, la fraction acétate d'éthyle présente la meilleure activité suivie de l'extrait éthanolique pour le DPPH [36].

Les concentrations que nous avons utilisées sont inférieures à celles généralement utilisées pour obtenir les PI du même ordre. Cette différence pourrait être due au fait que nos extraits ont été directement testés sans fractionnement. En effet le fractionnement n'est pas toujours favorable à l'obtention d'une activité physiologique meilleure par rapport aux extraits totaux.

Avec le DPPH, à une concentration de $60\mu\text{g/ml}$, l'extrait à l'acétate d'éthyle du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de $(52,718 \pm 1,34\text{E-}03)$ % et celui du *V. doniana* un PI de $(48,52 \pm 2,97\text{E-}03)$ %. Le mélange des deux

extraits à 0,4 µg/ml (50µg/ml chacun dilué aux 4/10ieme) donne un PI de (52,41 ± 6,15E-03) %. Ce PI est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits totaux à l'acétate d'éthyle pris individuellement (p<0,005).

Une concentration de 5µg/ml de l'extrait éthanolique du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de (45,01 ± 1,22E-03) % et la même concentration du *V. doniana* donne un PI de (29,50 ± 2,71E-03) % avec le DPPH. Le mélange des deux extraits à 8µg/ml chacun donne un PI de (70,19 ± 3,00E-04) %. Ce PI est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits totaux éthanoliques pris individuellement (p<0,005).

Avec le radical ABTS, à une concentration de 0,01µg/ml, l'extrait à l'acétate d'éthyle du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de (48,55 ± 2,61E-03) % et celui du *V. doniana* à 0,01µg/ml donne un PI de (48,99 ± 3,21E-04) %. Le mélange des deux extraits à 0,001 µg/ml (50µg/ml chacun dilué aux 1/5000ieme) donne un PI de (60,07 ± 8,33E-04) %. Ce PI est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits à l'acétate d'éthyle pris individuellement (p<0,005).

A la concentration de 0,1µg/ml, l'extrait à l'acétate d'éthyle du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de (50,17 ± 5,20E-04) % et celui du *V. doniana* à 0,1µg/ml donne un PI de (49,05 ± 2,31E-03) %. Le mélange des deux extraits à 0,1µg/ml (50µg/ml chacun dilué aux 1/500ieme) donne un PI de (83,01 ± 2,93E-03) %. Cette supériorité du pouvoir inhibiteur du mélange par rapport au pouvoir des extraits totaux à l'acétate d'éthyle est statistiquement significative (p<0,005).

Avec le radical ABTS toujours, à une concentration de 0,01µg/ml, l'extrait éthanolique du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de (50,68 ± 5,55E-03) % et celui du *V. doniana* à 0,01µg/ml donne un PI de (50,23 ± 1,28E-03) %. Le mélange des deux extraits éthanolique à 0,008µg/ml (8µg/ml chacun dilué aux 1/1000ieme) donne un PI de (80,57 ± 2,85E-03) % est

significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques pris individuellement ($p < 0,005$).

Aux concentrations de $0,1\mu\text{g/ml}$, l'extrait éthanolique du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de $(51,24 \pm 2,42\text{E-}03)$ % et celui du *V. doniana* à $0,1\mu\text{g/ml}$ donne un PI de $(51,18 \pm 3,70\text{E-}03)$ %. Le mélange des deux extraits à $0,1\mu\text{g/ml}$ ($8\mu\text{g/ml}$ chacun dilué aux $1/80$ ème) donne un PI de $(81,62 \pm 4,04\text{E-}04)$ %. Cette différence du pouvoir antioxydant est statistiquement significative ($p < 0,005$).

Il est bien connu que les composés phénoliques présentent une activité anti-radicalaire importante [65]. Similairement, les terpénoïdes comme les vitamines, agissent comme des régulateurs du métabolisme et jouent un rôle protecteur anti-radicalaire [74]. Cela peut être à l'origine des réactions obtenues avec les tests du DPPH et l'ABTS.

De manière générale, les polyphénols sont réputés pour leur pouvoir antioxydant [71]. Les flavonoïdes agiraient principalement comme antioxydant en stabilisant les radicaux peroxydes ou bien en désactivant les espèces oxygénées : ion peroxyde, radical OH, oxygène sigulet [50]. Ainsi il peut être suggéré que l'activité des extraits d'acétate d'éthyle et aqueuse soit due à la présence de composés polaires dans les feuilles de *Vitex doniana* tels que les hétérosides flavoniques. En effet, d'après Suleiman [77] les feuilles de *Vitex doniana* contiennent des flavonoïdes. Ces flavonoïdes agiraient principalement comme antioxydant en stabilisant les radicaux peroxydes ou bien en désactivant les espèces oxygénées : ion peroxyde, radical OH°, oxygène singulet [50].

Nous avons constaté pour les plantes étudiées par la méthode au DPPH et à l'ABTS en même temps, que les pourcentages d'inhibition de l'ABTS sont supérieurs à ceux obtenus par la méthode au DPPH. Ce constat a été aussi fait lors des travaux de Ndiaye [52]. L'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol

(vitamine E) et les composés phénoliques font partie des antioxydants les plus répandus [46].

CONCLUSION

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant.

Dans l'organisme, les radicaux libres peuvent avoir des effets nocifs. Leurs effets destructeurs, au niveau cellulaire, s'expliquent par la présence d'électron(s) célibataire(s) très réactif(s) sur une de leurs orbitales, susceptibles de s'apparier aux électrons des composés environnants. Ces composés ainsi spoliés deviennent à leur tour des radicaux et amorcent une réaction en chaîne. Les molécules cibles sont les protéines, les acides nucléiques et les acides gras polyinsaturés, en particulier ceux des membranes cellulaires et des lipoprotéines. Ce stress oxydatif est impliqué dans de nombreuses pathologies comme l'obésité, le diabète de type 2, l'athérosclérose, les cancers, les maladies infectieuses bactériennes et virales, mais aussi dans le vieillissement. Nous vivons dans une atmosphère riche en oxygène, et les radicaux, ceux qui réagissent particulièrement avec l'oxygène, sont des sous-produits naturels de la respiration.

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

C'est dans ce contexte que de nombreuses équipes de recherche explorent la capacité antioxydante de diverses espèces végétales.

L'objectif de notre travail de thèse consistait à évaluer l'activité antioxydante du mélange d'extraits de feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*, appartenant à la flore sénégalaise. Nous avons plus précisément travaillé sur les feuilles de ces deux plantes.

En effet, les propriétés antioxydantes du mélange des extraits des deux plantes ont été évaluées par spectrophotométrie en utilisant les méthodes de piégeage

des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle (DPPH•) et acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS+•).

A cet effet, les feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* ont été récoltées en novembre 2015 respectivement dans la commune de Mekhé (Département de Tivaouane, Région de Thiès) et dans la commune de Cagnout Ebrouye (Département d'Oussouye, Région de Ziguinchor). Après séchage et pulvérisation des feuilles, la poudre obtenue a été soumise à une macération avec l'éthanol et l'acétate d'éthyle. Par la suite, le macérât obtenu a été évaporé à l'évaporateur rotatif pour obtenir un extrait sec éthanolique et un autre à l'acétate d'éthyle.

L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Vitex doniana* par l'éthanol à 95° a donné un extrait sec de 17,9225 g soit un rendement de 7,169 %. L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Vitex doniana* par l'acétate d'éthyle a donné un extrait sec de 5,6112 g soit un rendement de 2,2448 %.

L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Combretum micranthum* par l'éthanol à 95° a donné un extrait sec de 36,1473 g soit un rendement de 14,45892 %. L'extraction de 250 g de la poudre des feuilles de *Combretum micranthum* par l'acétate d'éthyle a donné un extrait sec de 8,7537 g soit un rendement de 3,50148 %.

Avec le DPPH, à une concentration de 60µg/ml, l'extrait à l'acétate d'éthyle du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de (52,718 ± 1,34E-03) % et celui du *V. doniana* un PI de (48,52 ± 2,97E-03) %. Le mélange des deux extraits à 0,4 µg/ml donne un PI de (52,41 ± 6,15E-03) %. Ce PI est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits totaux à l'acétate d'éthyle pris individuellement (p<0,005).

Une concentration de 5µg/ml de l'extrait éthanolique du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de (45,01 ± 1,22E-03) % et la même concentration du *V. doniana* donne un PI de (29,50 ± 2,71E-03) % avec le

DPPH. Le mélange des deux extraits à 8µg/ml chacun donne un PI de $(70,19 \pm 3,00E-04)$ %. Ce PI est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits totaux éthanoliques pris individuellement ($p < 0,005$).

Avec le radical ABTS, à une concentration de 0,01µg/ml, l'extrait à l'acétate d'éthyle du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de $(48,55 \pm 2,61E-03)$ % et celui du *V. doniana* à 0,01µg/ml donne un PI de $(48,99 \pm 3,21E-04)$ %. Le mélange des deux extraits à 0,001 µg/ml donne un PI de $(60,07 \pm 8,33E-04)$ %. Ce PI est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits à l'acétate d'éthyle pris individuellement ($p < 0,005$).

A la concentration de 0,1µg/ml, l'extrait à l'acétate d'éthyle du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de $(50,17 \pm 5,20E-04)$ % et celui du *V. doniana* à 0,1µg/ml donne un PI de $(49,05 \pm 2,31E-03)$ %. Le mélange des deux extraits à 0,1µg/ml donne un PI de $(83,01 \pm 2,93E-03)$ %. Cette supériorité du pouvoir inhibiteur du mélange par rapport au pouvoir des extraits totaux à l'acétate d'éthyle est statistiquement significative ($p < 0,005$).

Avec le radical ABTS toujours, à une concentration de 0,01µg/ml, l'extrait éthanolique du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de $(50,68 \pm 5,55E-03)$ % et celui du *V. doniana* à 0,01µg/ml donne un PI de $(50,23 \pm 1,28E-03)$ %. Le mélange des deux extraits éthanolique à 0,008µg/ml donne un PI de $(80,57 \pm 2,85E-03)$ % est significativement supérieur au pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques pris individuellement ($p < 0,005$).

Aux concentrations de 0,1µg/ml, l'extrait éthanolique du *C. micranthum* donne un pourcentage d'inhibition (PI) de $(51,24 \pm 2,42E-03)$ % et celui du *V. doniana* à 0,1µg/ml donne un PI de $(51,18 \pm 3,70E-03)$ %. Le mélange des deux extraits à 0,1µg/ml donne un PI de $(81,62 \pm 4,04E-04)$ %. Cette différence du pouvoir antioxydant est statistiquement significative ($p < 0,005$).

Il ressort de notre étude que le mélange des extraits de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* possède un fort pouvoir antioxydant à des concentrations inférieures à celles des extraits testés seuls. Ils ont inhibé de

manière significative et dose-dépendante l'absorption des radicaux DPPH et d'ABTS+• par rapport aux extraits totaux testés seuls.

L'ensemble des extraits de ces deux plantes contiennent une ou plusieurs familles de molécules à propriété antioxydante telles que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les alcaloïdes. Ceux-ci pourraient être responsables de l'activité observée pour l'ensemble des mélanges testés étant donné la polarité des solvants utilisés.

Il serait intéressant d'approfondir l'étude de la composition chimique du mélange des feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*. À la suite de ces travaux, des études complémentaires seront orientées vers l'isolement et la caractérisation de molécules impliquées dans l'activité antioxydante des différents extraits. Une étude toxicologique du mélange de plante favoriserait également une meilleure sécurité d'emploi par les populations vu le fort pouvoir antioxydant. Par ailleurs, la fabrication d'un phytomédicament peu onéreux, au profit des populations démunies, pourrait être envisagée à partir des feuilles des deux plantes mélangées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Adzua B., Tarfab F., Gamaniel K.** The efficacy of *Sphaeranthus senegalensis* Vaill extract against diarrhoea in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004 ; 95 : 173–176.
- [2] **Afonso V., Champy R., Mitrovic D.** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxy des dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*. 2007 ; 74 : 636-64.
- [3] **Agbafor K., Nwachukwu N.** Phytochemical analysis and antioxidant property of leaf extract of *Vitex doniana* and *Mucunapruriens*. *Biochemistry Research International*. 2011 ; ID : 459839, 1-4.
- [4] **Ahamet S.** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèse de doctorat d'état en Pharmacie. Université de Bamako, 2003.
- [5] **Ahmed Z., Fahmy I.** The effect of environment on the growth and alkaloid content of *Hyoscyamus meticus* L. *Journal of the American Pharmacist Association*. 1949; 38 (9): 484-497.
- [6] **AlLaith A.** Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmanianivea*) from various Middle Eastern origins. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2010 ; 23(1) :15-22.
- [7] **Arbonnier M.** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Centre de coopération Internationale pour la Recherche Agronomique et le Développement (CIRAD), Muséum Nationale d'histoire Naturelle (MNHN), Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN). 2000 ; 541.
- [8] **Balanchard J., Arnoux M.** Diurèse et kinkéliba ; les facteurs responsables de l'action diurétique. *Bulletin de la Société de Pharmacie, Marseille*. 1952 ; 25-30.
- [9] **Barouki R.** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/Sciences*. 2006 ; 22 : 266-272.

- [10] **Bassene E.** Etude chimique de *Combretum micranthum* G. Don, Université de Dakar. Thèse de Doctorat en sciences pharmaceutiques, 1985.
- [11] **Bassene E., Olschwang D., Pousset J.** Plantes médicinales : XXIII. Flavonoïdes du *Combretum micranthum* G. Don. Plantes médicinales et phytothérapie. 1987 ; 12 (2) :173-6.
- [12] **Baumer M.** Arbres, arbustes et arbrisseaux nourricières en Afrique Occidentale. Dakar : Enda-Edition. 1995, 260p.
- [13] **Belkheiri N.** Dérivés phénoliques à activité antiathérogènes. Thèse d'Université. Université de Toulouse III, 2010.
- [14] **Berhaut J.** Flore illustrée du Sénégal. Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement Rural, Direction des Eaux et Forêts. 1974.
- [15] **Boldi A.** Libraries from natural product-like scaffolds. Current Opinion in Chemical Biology. 2004 ;8 : 281-286
- [16] **Bouquet A.** Plantes médicales du Congo-Brazzaville : Uvariopsis, Pauridiantha, Fiospyros. Travaux et Documents de l'Office de la Recherche Scientifique Outre-Mer (ORSTM actuel IRD). Paris .1972 ; 13.
- [17] **Brunet S.** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse d'Université. Université de Toulouse III, 2008.
- [18] **Bush D., Robertson J.** In Manual of Nutrition. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Her Majesty's Stationery Office (HMSO), London, UK. 1984; 104-106.
- [19] **Calixto J.** Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. Journal of Ethnopharmacology. 2005 ; 100 : 131 - 134.
- [20] **Candole A.** Mémoire sur les Combrétacées, à la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève. Mars 1827, 42p.

- [21] **Cardin G.** Rôle des espèces réactives de l'oxygène dans l'induction de mécanismes d'adaptation au cadmium dans les cellules caco-2. Mémoire de biologie. Université du Québec à Montréal, 2008.
- [22] **Chika A., Bello S.** The antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of *Combretum micranthum* in normal and alloxan-induced diabetic rats, Nigeria. 2010 ; 129(1), 7-34.
- [23] **Codoñer-Franch P., Valls-Bellés V., Arilla-Codoñer A., Alonso E.** Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. Translational Research. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 2011; 158(6): 369-384.
- [24] **Craig W.** Health-promoting properties of common herbs, American Journal of Clinical Nutrition. 1999 ; 70, 3, 491–499.
- [25] **Diagne S.** Activité antioxydante des feuilles de *Combretum aculeatum* Vent (Combrétacées) : recherches de fractions actives. Thèse de doctorat d'état en Pharmacie. Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, N° 55, 2014.
- [26] **Diallo A.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* (Myrtaceae). Thèse de doctorat d'état en Pharmacie. Université de Bamako, 2005.
- [27] **Diame A.** Conservation et utilisation durable de quatre Combretaceae de la pharmacopée traditionnelle Sénégalaise : *Anogeissus leiocarpus* Guill. et Perr., *Combretum glutinosum* Perr., *C. micranthum* G. Don, *Guiera Senegalensis* J.F. Gmel. Thèse de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N °10, 2015.
- [28] **Dione D.** Etude bio-systématique et chimyotaxonomique de sept espèces affines du genre *Combretum* au Sénégal. Thèse de doctorat de 3e cycle biologie végétale. UCAD, 1996, 149p.

- [29]**Diop M., Kaya B., Niang A., Olivier A.** Les espèces ligneuses et leurs usages. Les préférences des paysans dans le cercle de Ségou, au Mali. Programme Régional Sahel. 2005 ; 29p.
- [30]**Diop N.** Recherche de l'activité antioxydante des feuilles d'une plante de la pharmacopée sénégalaise : *Vitex doniana*. Thèse de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N °20, 2013.
- [31]**Djemoui D.** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah Ouargla, 2012.
- [32]**Djiguiba M.** Evaluation de trois recettes dans le traitement traditionnel de l'hépatite B au Mali. Thèse de Pharmacie. Université de Bamako, 2005.
- [33]**Favier A.** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique. 2003 ; 270 : 108-115.
- [34]**Fortin D., Lo M., Maynard G.** Plantes médicinales du Sahel. Dakar enda-edition. 1988 ; 280p.
- [35]**Fortin D., Lo M., Maynard G.** Plantes médicinales du Sahel. Dakar enda-edition. 2000, 280p.
- [36]**Gardès A., Bonnefont R., Abedinzadeh Z., Jore D.** Espèces réactive à l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. Novembre - Décembre 2003 ; 91-96.
- [37]**Gbodossou E.** La santé par les plantes. Tome I Edition Diaspora Noire, Octobre. 2012, 40p.
- [38]**Goudable J., Favier A.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. 1997 ; 11 :115-20.
- [39]**Gueye R.** Conception, synthèse et évaluation biologique de nouveaux dérivés flavonoïques inhibiteurs potentiels de la cyclooxygénase-2. Thèse d'Université. Université de Limoges, 2013.

- [40] **Guignard J.** Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, 1996, Paris P160 p.
- [41] **Haddad C.** Fruitiers sauvages du Sénégal. Thèse de pharmacie, Université de Montpellier 1, N°189, 2000.
- [42] **Halliwell A., Gutteridge J.** The antioxidant of human extracellular fluids. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1990; 280: 1-8.
- [43] **Hoff H., O'neil J.** Oxidation of LDL role in atherogenesis. Klinische wochenschrift. 1991; 69 (21-23):1032-1038.
- [44] **James D., Sheneni V., Kadejo O., Yatai, K.** Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities in different solvent extracts of *Vitex doniana* leaves, stem bark and root bark. American Journal of Biomedical Sciences. 2014 ; 2(1) : 22-27.
- [45] **Kerharo J.** Pharmacopée Traditionnelle Sénégal. Plantes médicinales et toxiques. Paris, édition Vigot Frères. 1974 ; 994p.
- [46] **Kulawik P., Özogul F., Glew R., Özogul Y.** Significance of antioxidants for seafood safety and human health. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2013 ; 61(3) : 475-491.
- [47] **Mahamat J.** Contribution à l'étude des Combrétacées du Sénégal : Comparaison de l'activité antibactérienne de trois espèces : *Terminalia avicennioides* Guil., *Combretum micranthum* G.Don, *Guiera senegalensis* T.FGmel. Thèse de Doctorat en Pharmacie, N°44, 1990, 84p.
- [48] **Malagas D.** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes Maliennes. ACCT – Karthala. 1992 ; 232.
- [49] **Malone M.** Pharmacological approaches to natural products and evaluating. In: Wagner H, Wolff P Jr, eds., New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutically Activity. Berlin, Springer. 1977 ; 23–56.

- [50] **Monica G., Sandra V., Patricia I., Cesar G.** Antioxidant actions of flavonoïds: Thermodynamic and kinetic analysis. Archives of biochemistry and biophysics. 2010 ; 501.
- [51] **Mourad D.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif d'Algérie, 2011.
- [52] **Ndiaye S.** Etude de l'activité antioxydante et caractérisation phytochimique d'extraits de feuilles de *Vitex Doniana* (Verbénacée). Thèse de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N °92, 2015.
- [53] **Newman D., Cragg G., Snader K. M.** The influence of natural products upon drug discovery. Natural Product Report. 2000 ; 17 : 215 - 234.
- [54] **Newman D., Cragg G., Snader K.** Natural products as sources of new drugs over the period 1981 - 2002. Journal of Natural Products. 2003 ; 66 : 1022 - 1037.
- [55] **Ngwamashi E.** Inventaire des espèces ligneuses locales pour le reboisement à des fins énergétiques Master de Géographie de Kinshasa. 2009 [en ligne] Disponible sur le <<http://www.memoireonline.com/03/10/3243/Inventaire-des-especes-ligneuses-locales-pour-le-reboisement-a-des-fins-energet.html>> (consulté le 09 Mars 2013).
- [56] **Niang M.** Etude de l'activité antioxydante des feuilles de quatre Combrétacées de la flore sénégalaise : *Combretum micranthum* G.Don, *Combretum glutinosum* Perr.ex DC, *Combretum aculeatum* Vent. et *Guiera senegalensis* J.F.Gmel. Thèse de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N°74, 2013.

- [57] **Nkhili E.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse d'Université. Université Cadi Ayad et Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 2009.
- [58] **Olaleye M.** Cytotoxicity and antibacterial activity of Methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2007 ; 1, 1, 9–13.
- [59] **Olusola L., Okoye Z.** Department of Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, University of Jos, Jos, Nigeria. *Journal of Food Science and Agriculture*. 1993 ; 63, 483-484.
- [60] **Olusola L., Udoh V., Okoye Z.** Activity of aqueous extract of the bark of *Vitex doniana* on uterine muscle response to drugs. *Phytotherapy Research*. 2005 ; 19(9) : 804-806.
- [61] **Osum F., Okonkwo T., Okafor G.** Effect of processing methods on the chemical composition of *Vitex doniana* leaf and leaf products. *Food Sciences and Nutrition*. 2013; 1(3): 241-245.
- [62] **Oyindamola A., Gbotosho G., Ajaiyeoba E., Happi T., Falade M., Sergio Wittlin S., Sowunmi A., Brun R., Oduola A.** In vitro antiplasmodial activity and toxicity assessment of some plants from Nigerian ethnomedicine. 2011 ; 9-14.
- [63] **Pastre J.** Intérêt de la supplémentation en Antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse vétérinaire. Université de Toulouse, 2005.
- [64] **Popp F., Weffer J., Chakraborty D., Rosen G., Casey A.** Investigation of African plants for alcaloïdes antimalarial agents and antineoplastic agents. *Planta Medicinal*. 1990 ; 16(3) :343-347.
- [65] **Potterat O.** Antioxydants and free radical scavengers of natural origin. *Current Organic Chemistry*. 1997 ; 1, 4, 415–440.
- [66] **Pousset J.** Plante médicinales d'Afrique, Paris, Edition 2004 ; 243-244.

- [67]**Rahman E., Hossain M. M., Paul N., Sohrab M., Rashid M.** Antibacterial activity of *Vitex trifolia*. *Fitoterapia*.2001 ; 72 : 695-697.
- [68]**Rogers C., Verotta L.** Chemistry and Biological Properties of the African Combretaceae. In *Chemistry, Biological and Pharmacological Properties of African Medicinal Plants*; Eds. University of Zimbabwe Publications, Harare 1996.
- [69]**Rolland Y.** Antioxydants naturels végétaux. Oilseeds and fats, Crops and Lipids (OCL). Novembre -Décembre 2004; 11(6):419-424.
- [70]**Sarr S., Fall A., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Ndiaye B., Diop Y.** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex Doniana* (Verbénacée). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2015; 9 (3): 1263-1269.
- [71]**Scalbert A., Johnson I., Saltmarsh M.** Polyphenols: antioxidants and beyond. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81(1).
- [72]**Sene B.** Contribution à l'étude de l'activité pharmacologique de *Combretum micranthum* : principes antibactériens de l'extrait des feuilles. Thèse de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, N° 94, 1994.
- [73]**Singh S., Tutejaet N.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010 ; 48, 909 - 930.
- [74]**Soetan K.** Pharmacological and other beneficial effects of anti-Nutritional factors in plants a review. *African Journal of Biotechnology*. 2008 ; 7, 25, 4713–4721.
- [75]**Sohal R., Mockett R., Orr W.** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free Radical Biology and Medicine*. 2002 ; 33(5), 575.
- [76]**Stoclet J., SchiniKerth V.** Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2011 ; 69 : 78-90.

- [77]**Suleiman M., Yusuf S.** Antidiarrheal Activity of the Fruits of *Vitex doniana* in Laboratory Animals. *Pharmaceutical Biology*.2008 ;46: 387 - 392.
- [78]**Temple V., Ojobe T., Kapu M.** Chemical analysis of Tiger nut. Chemical Analysis of the Fruit of *Vitex doniana* (Verbenacée) *Journal of Food Science and Agriculture*.1990; 50, 261-263.
- [79]**Udoh F., Akpan J., Ufaruna N.** Effect of extract of leaf and seed of *Piper guineense* on some smooth muscle activity in rat, guinea pig and rabbit. *Phytotherapy Research*. 1996 ; 10 : 596–599.
- [80]**Vignoli L., Delphaut D.** Recherches pharmacologiques sur l'extrait fluide de kinkéliba. *Travaux de la Société Pharmaceutique, Montpellier*.1945.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :

Le président de jury

Vu :

Pour le doyen

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, président de l'assemblée de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

Et par délégation

Le doyen

**EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DU MELANGE DES
EXTRAITS DE FEUILLES DE *VITEX DONIANA* ET DE *COMBRETUM
MICRANTHUM* (G. DON)**

RESUME

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant. Ce stress oxydatif est impliqué dans des pathologies comme l'obésité, le diabète de type 2, l'athérosclérose, les cancers, les maladies infectieuses et le vieillissement.

L'objectif général de notre thèse consistait à évaluer l'activité antioxydante du mélange d'extraits de feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*, appartenant à la flore sénégalaise.

Les propriétés antioxydantes ont été évaluées par spectrophotométrie en utilisant la méthode au DPPH celle à l'ABTS.

Le mélange (VDAE+CMAE) à 0,4 µg/ml donne un PI de 52,41 % avec le DPPH et à 0,004 µg/ml donne un PI de 68,91 % avec l'ABTS. Le mélange (VDE+CME) à 1 µg/ml donne un PI de 70,19 % avec le DPPH et à 0,01 µg/ml donne un PI de 81,62 % avec l'ABTS.

Il ressort de notre étude que le mélange des extraits totaux de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum* possède un fort pouvoir antioxydant à des concentrations inférieures à celles des extraits testés seuls. Ils ont inhibé de manière statistiquement significative et dose-dépendante l'activité oxydante des radicaux DPPH et d'ABTS par rapport aux extraits totaux testés seuls. L'ensemble des extraits des deux plantes contiennent une ou plusieurs familles de molécules à propriété antioxydante telles que les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les alcaloïdes. Celles-ci pourraient être responsables de l'activité observée pour l'ensemble des mélanges testés.

Il serait intéressant d'approfondir l'étude de la composition chimique du mélange des extraits des feuilles de *Vitex doniana* et de *Combretum micranthum*. A la suite de nos travaux, des études complémentaires pourront être orientées vers l'isolement et la caractérisation des molécules impliquées dans l'activité antioxydante des différents extraits.

Mots clés : activité antioxydante, DPPH, ABTS, *Vitex doniana*, *Combretum micranthum*