

BURKINA FASO

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU



**Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé
(UFR/SDS)**

Section Pharmacie

Année Universitaire : 2011-2012

Thèse n° 070

**ETUDE COMPAREE DES PROPRIETES
ANTIOXYDANTES DES EXTRAITS D'ECORCES DE
TRONC, DES FEUILLES ET DES FRUITS (COQUES
ET GRAINES) DE *KHAYA SENEGALENSIS* (Desr.) A.
JUSS (Meliaceae)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 3 mai 2012

Pour l'obtention du **Grade de Docteur en pharmacie (Diplôme d'Etat)**

Par :

MANE Sonnonguebwaoga

Né en 1975 à Pilimpikou / Yako (Burkina Faso)

Directeur de thèse :

Pr Pierre Innocent GUISSOU

Jury :

Président : Pr Jean-Baptiste NIKIEMA

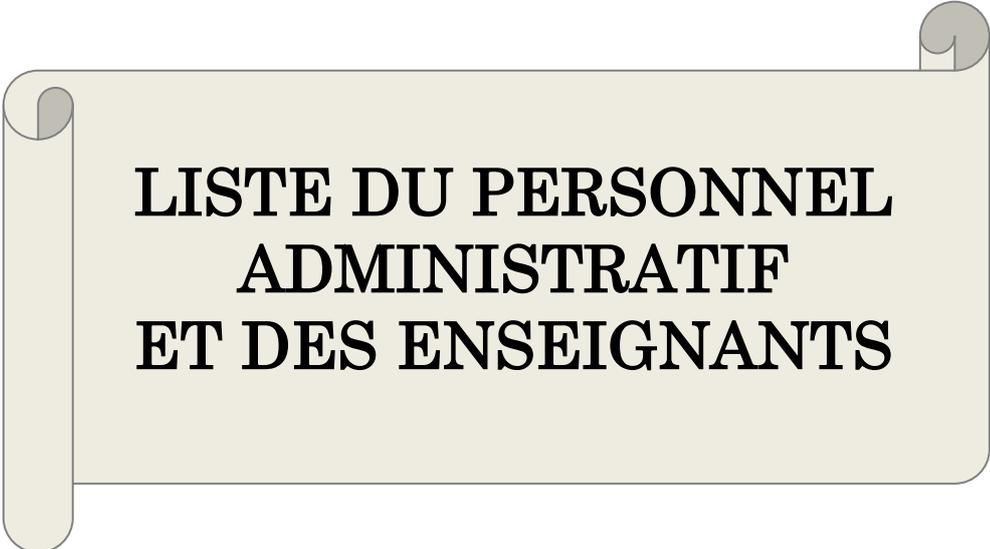
Codirecteur :

Dr Marius LOMPO

Membres : Dr Marius LOMPO

Dr Felix Bondo KINI

Dr Charlemagne GNOUHA



**LISTE DU PERSONNEL
ADMINISTRATIF
ET DES ENSEIGNANTS**



DEDICACES

En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :

➤ **A DIEU** tout puissant, pour m'avoir donné la santé et le courage de bien mener ce travail.

➤ **A mes ancêtres et à toute la famille MANE à Kourono**

Ce travail est le fruit de vos bénédictions. Je compte toujours sur vous.

➤ **A mon père**

Ne dit on pas souvent que si longue soit la nuit viendra le jour ? Pour vos énormes et inestimables efforts consentis à mes études. Puissiez – vous bénéficier encore longtemps de ce modeste travail.

C'est le fruit de votre patience et de vos conseils. Profonde affection papa.

➤ **A ma mère (in mémorium)**

Vous nous avez quitté au moment où nous avons besoin de vous. Soyez rassurée au plus profond de votre sommeil éternel que nous n'oublierons jamais vos modestes conseils. Nous resterons unis et solidaires. Ce travail est le vôtre. Reposez en paix.

➤ **A mes oncles et tantes**

Pour vos soutiens et vos encouragements durant ces longues années d'études. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude.

➤ **A mes tantes Timpoko et Ouampoko (in mémorium)**

Je n'oublierai jamais vos conseils. Que vos âmes reposent en paix.

➤ **A mes frères et sœurs (Pascal, Madeleine, Norbert, Martin, Sylvain, Zounli)**

Vos soutiens et conseils me vont droit au cœur. Ce travail est aussi le vôtre. Restons unis et solidaires.

➤ **A mon frère Ernest**

Courage et persévérance.

➤ **A tonton Gabriel Sondo et famille à Koudougou.**

Pour vos conseils et votre soutien au cours de mes études. Ce travail est aussi le vôtre. Soyez rassurés de ma profonde gratitude et de ma reconnaissance.

➤ **A Koutou Aminata (in mémorium)**

Pour ta compréhension et ton soutien. Au delà de ta disparition physique, tu demeures toujours dans mon cœur. Du très haut du ciel rassures toi que ton fils aura l'éducation et l'affection dignes d'un père comme tu l'as souhaité de ton vivant. Repose en paix.

➤ **A mon fils Tindamanégré G. Ghislain Ulrich**

Tu es venu au monde dans des conditions les plus dures ou tu n'as pas bénéficié de la tendresse et l'affection maternelles. Je ne ménagerai aucun effort pour t'offrir le bonheur paternel.

- **A mes amis Laurent, Issaka, Isdine, Mamadou, Fatoumata, Biba, Noura, Benjamin, Adams, Ben, Tasséré, Pascal.**

Recevez mes sincères et fraternels remerciements. Je souhaite à tous bonne carrière et beaucoup de joie dans vos foyers respectifs. Ce travail est le fruit d'une longue collaboration.

Je ne vous oublierai jamais.

- **A Vincent Sawadogo**

Tu as été plus qu'un frère pour moi au cours de ces longues années. Courage à toi et que l'aventure te procure le bonheur. Reçois ici l'expression de ma profonde gratitude. Ce travail est aussi le tien. Bonne chance à toi.

- **A tous mes promotionnaires**

Pour ces belles années que nous avons passées ensemble, je vous souhaite plein succès dans vos carrières.

- **A Nestor Ouédraogo (in mémorium)**

Que la terre te soit légère.

- **A toute la famille Koutou**

Pour votre soutien inestimable et vos conseils. Je traduis toute ma compassion et ma gratitude. Nul n'est infaillible.

- **A mon maître Abdoulaye**

Où que vous soyez, ce travail est le votre. C'est grâce à vous que je suis ainsi aujourd'hui. Toute ma reconnaissance.



REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Mes remerciements s'adressent particulièrement :

- **A tous les enseignants de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé (UFR/SDS)**

Merci pour les enseignements reçus.

- **Au personnel du laboratoire de Médecine – Pharmacopée Traditionnelle et Pharmacie (MEPHATRA/PH) de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) de Ouagadougou.**

Merci pour votre soutien et votre esprit de collaboration qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

- **A notre maître, Dr KINI Félix**

Merci pour votre soutien et votre contribution à l'aboutissement de ce travail. Profonde gratitude et sincère reconnaissance.

- **A Mr YARO Boubacar**

Merci pour votre soutien et votre entière disponibilité tout au long de ce travail malgré vos multiples préoccupations. Profonde gratitude.

➤ **A Mr KABORE Roger**

Merci pour votre soutien et vos encouragements.

➤ **A mes collaborateurs de laboratoire (MEPHATRA/PH)**

Salfo, Armel, Hermann, Lazare, Noufou, Pierre, sincère remerciement pour votre esprit de collaboration et d'amitié.

➤ **A tonton Jules SAWADOGO (in mémorium)**

Pour votre soutien de tout genre et vos encouragements. Sincèrement merci.
Que votre âme repose en paix.

➤ **A mes cousins SAMA Ali et Aguirata**

Sincères remerciements pour votre soutien.

➤ **A mes amis (Modeste, Léopold, Somsaoguegnan, Hamidou, Eloi, Mohamed, Michel, Dieudonné)**

Merci pour votre soutien et votre esprit d'amitié. Restons unis et solidaires.

➤ **A Dr COULIBALY et à tout le personnel de la pharmacie de Silmissin**

Pour la franche collaboration et le soutien inestimable.

➤ **A tout le personnel de UBIPHARM BURKINA**

Pour le soutien et les conseils. Profonde gratitude.

➤ **A Philippes DJIGUEMDE**

Merci sincèrement pour tout ton engagement pour l'aboutissement de ce travail. Tu es plus qu'un ami pour moi. Que le seigneur t'accompagne dans ton combat quotidien et que le succès soit au bout de tes efforts. Restons amis. A travers toi je dis également merci à **Mr ONADJA**.



**A NOS MAITRES
ET
JUGES**

A notre maitre et directeur de thèse

Professeur Innocent Pierre GUISSOU

Professeur titulaire de Pharmacologie et Toxicologie à l'UFR/SDS l'UO

Chef de service de la Pharmacie hospitalière et des laboratoires du CHU/YO.

Directeur de l'Ecole Doctorale en Science de la Santé

Honorable Maitre,

Vous m'avez fait honneur en acceptant de diriger ce travail malgré vos diverses occupations. Votre rigueur scientifique et votre amour du travail bien fait sont des qualités qui nous ont beaucoup inspiré. Nous avons pu bénéficier de vous un enseignement de qualité.

Recevez ici cher maitre l'expression de notre profonde gratitude.

➤ **A notre maître et président de jury**

Professeur Jean-Baptiste NIKIEMA

Professeur titulaire de pharmacognosie à l'UFR/SDS

Chef de département des sciences pharmaceutiques appliquées à l'UFR/SDS

Directeur Général de la Pharmacie, du Médicament et des laboratoires(DGPML)

Expert de l'OMS

Honorable maitre,

Nous sommes très comblés de l'immense honneur que vous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples responsabilités. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos enseignements durant notre cursus universitaire. Votre rigueur dans le travail, la qualité de vos enseignements et le souci de toujours bien faire, sont des qualités qui nous ont beaucoup inspiré au cours de notre formation.

Veillez trouver ici cher maitre, l'expression de notre plus grand respect.

xiv

➤ **A notre maître et co-directeur de thèse,**

Docteur LOMPO Marius

Maitre de recherche en Pharmacologie à l'IRSS

Directeur Adjoint chargé de Programmes de l'IRSS.

Honorable maître,

Vous nous avez fait confiance en nous confiant ce travail et vous vous êtes entièrement associés à sa réalisation avec une disponibilité inestimable.

Votre rigueur, votre amour du travail bien fait et votre esprit d'ouverture ont suscité notre admiration au cours de ce travail.

Merci pour tout l'intérêt que vous avez accordé à ce travail.

Puisse ce travail être à la hauteur de vos attentes.

Recevez ici, l'expression de notre profonde considération.

➤ **A notre maitre et juge**

Docteur Félix Bondo KINI

Maître de recherche à l'IRSS

Chef de département de ME PHA TRA/PH de l'IRSS

Honorable Maître,

Malgré vos diverses préoccupations, vous avez accepté de juger ce travail ; cela nous honore particulièrement. Nous avons pu bénéficier de vos enseignements au cours de notre cursus universitaire. Vos connaissances scientifiques et votre expérience professionnelle contribueront à l'amélioration de la qualité de ce travail.

Croyez honorable maître à nos sentiments de respect, de reconnaissance et d'admiration.

A Notre Maître et Juge

Docteur Charlemagne GNOULA

Maître-assistant en chimie thérapeutique à l'UFR/SDS l'UO

Honorable maître,

Vous nous faites un très grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos nombreuses préoccupations. Nous n'avons pas eu le privilège de bénéficier de vos enseignements mais nous vous remercions pour ce grand honneur.

Acceptez honorable maître, le témoignage de notre profond respect, notre grande considération et notre sincère reconnaissance.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN	Acide Désoxyribonucléique
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HClO-	Acide Hypochloreux
OH-	Ion hydroxyde
O ₂ ⁻	Ion superoxyde
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
VIH/SIDA	Virus du Syndrome d'immunodéficience Acquise Humaine
mg	Milligramme
kg	kilogramme
CoQ 10	Coenzyme Q10
LDL	Lowdensitylipoprotein
Fe ³⁺	Ion ferrique
ROS	Reactive oxygen species (espèces réactives de l'oxygène)
PV/VIH/SIDA	Personne Vivant avec le VIH/SIDA
Pr	Professeur
IRSS	Institut de Recherche en Sciences de la Santé
SU.VI.MAX	Supplémentation en vitamine et minéraux antioxydants
µg	Microgramme
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
cm	Centimètre
mm	Millimètre
p.	Pourcent
g	Gramme
p/v	Poids/volume
mmHg	Millimètre de mercure
µl	Microlitre
ORL	Oro-rhino-laryngologie

CNRST	Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique
FeCl ₃	Chlorure ferrique
KOH	Hydroxyde de potassium
%	Pourcentage
DMSO	Dimethylsulfoxyde
DPPH	Diphényl-2-2-picryl hydrazyl
CCM	Chromatographie sur couche mince
UV	Ultra violet
V/V	Volume / volume
ml	Millilitre
CH ₂ Cl ₂	Dichlorométhane
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
nm	Nanomètre
IC50	Concentration inhibitrice 50%
RE	Rendement d'extraction
THR	Taux d'humidité résiduelle
MeOH/Eau	Méthanol / eau
min	minute
h	Heure
<i>K. senegalensis</i>	<i>Khaya senegalensis</i>
AA	Acide ascorbique
PG	Propyl galate
Vit.	vitamine

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Aliments riches en composés antioxydants.....	21
Tableau II : Solvants de migration et réactifs de révélation.....	51
Tableau III : Rendement des opérations d'extraction et le taux d'humidité résiduelle des extraits secs de <i>Khaya senegalensis</i>	55
Tableau IV : Groupes chimiques caractérisés dans les extraits hydro alcooliques de <i>Khaya senegalensis</i>	56
Tableau V : Les résultats des tests d'oxydation sur les extraits aqueux des écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i>	67
Tableau VI: Les résultats des tests d'oxydation sur les extraits méthanoliques A des écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i>	69
Tableau VII : Les résultats des tests d'oxydation sur les extraits méthanoliques B des écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i>	71
Tableau VIII : Les résultats des tests d'oxydation effectués sur les extraits d'acétate d'éthyle (A E) d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i>	73

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme de neutralisation d'un radical libre par la vitamine E.....	12
Figure 2 : Mécanisme de réduction du peroxyde d'hydrogène par la vit.C.....	15
Figure 3 : Voie enzymatique pour la détoxication des espèces réactives de l'oxygène.....	15
Figure 4: Structure d'un poly phénol antioxydant (resveratrol).....	20
Figure 5: Noyau de base des tanins galliques.....	38
Figure 6 : Noyau de base des tanins ellagiques.....	38
Figure 7 : Catéchol (noyau de base des tanins condensés).....	39
Figure 8 : Quercétol (génine du rutoside).....	39
Figure 9 : Structure du DPPH.....	53
Figure 10 : Chromatogrammes de caractérisation des tanins.....	57
Figure 11 : Chromatogrammes de caractérisation des anthocyanes.....	58
Figure 12 : Chromatogrammes de caractérisation des anthraquinones.....	59
Figure 13 : Chromatogrammes de caractérisation des flavonoïdes.....	60
Figure 14 : Chromatogrammes de caractérisation des saponosides.....	61
Figure 15 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de <i>Khaya senegalensis</i> et de la quercétine.....	62
Figure 16 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH par l'extrait aqueux des feuilles de <i>Khaya senegalensis</i> (Desr.) A Juss et de la quercétine.....	63

Figure 17 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH par l'extrait aqueux des coques du fruit de <i>Khaya senegalensis</i> (Desr.) et de la quercétine.....	64
Figure 18 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH par l'extrait aqueux des graines du fruit de <i>Khaya senegalensis</i> (Desr.) et de la quercétine.....	65
Figure 19 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i> et de la quercétine.....	66
Figure 20 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique A d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i> et de la quercétine.....	68
Figure 21 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique B d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i> et de la quercétine.....	70
Figure 22 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de <i>Khaya senegalensis</i> et de la quercétine.....	72

SOMMAIRE

INTRODUCTION/ENONCE DU PROBLEME.....	2
PREMIERE PARTIE : GENERALITES.....	5
GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS.....	5
I-1-Définition.....	5
I-2- Historique.....	6
I-3-Les oxydants.....	7
I-4- Les métabolites.....	8
I-4-1- vue d'ensemble.....	8
I-4-2- Acide ascorbique.....	9
I- 4-3- Le glutathion.....	10
I - 4- 4- la mélatonine.....	11
I-4-5- Tocophérols et tocotriénols (vitamine E).....	12
I - 4 – 6 – La coenzyme Q10.....	14
I-5- Les activités pro-oxydantes.....	15
I-6- Le système enzymatique.....	15
I-7- Le stress oxydatif.....	16
I-8- Effets sur la santé.....	18
I-8-1- Traitement des maladies.....	18
I-8-2- Prévention des maladies.....	19
I-9 - Mesure et niveau dans les aliments.....	20
I-10 - Usage en technologie.....	22
I-10 -1-Conservation des aliments.....	22
I-10 -2- Usages industriels.....	22

II. GENERALITES SUR <i>KHAYA SENEGALENSIS</i>	24
II.1.Caractéristiques botaniques.....	24
II-1-1. La famille des Méliacées.....	24
II-1-2. Le genre <i>Khaya</i>	25
II-1 – 3. L'espèce <i>Khaya senegalensis</i> A. Juss.....	25
3-1. Nom vulgaires.....	25
3-2. Synonymies.....	25
3-3. Appellations locales au Burkina Faso.....	25
II -1 -4 .Description (Berhaut, 1967 ; Fortin et Coll., 1990 ; Marche-Marchad, 1965 ; Kerharo, 1974).....	26
4- 1- Le port.....	26
4- 2 –Les feuilles.....	26
4 – 3 – Les fleurs.....	26
4 – 4 - Les fruits.....	27
4- 5 – Aires de répartition.....	27
4- 6 – Stations (Von Maydell, 1983).....	27
II - 2- Chimie.....	27
II-3- Pharmacologie – Toxicologie.....	31
II – 4 – Emplois en médecine traditionnelle.....	34
II - 4 – 1 – Données bibliographiques.....	34
II-4-2–Données recueillies auprès des tradithérapeutes burkinabé (Lompo, 1995)..	36
III–LES GROUPES CHIMIQUES A PROPRIETES ANTIOXYDANTES.....	38
III – 1 – Les tanins.....	38
III-1-1 - Les tanins hydrolysables.....	38
III- 1 -2- Les tanins condensés.....	39
III -2- Les flavonoïdes.....	39

III-3- Les saponosides.....	40
III – 4 – Les anthocyanosides.....	40
III – 5 – Les coumarines.....	41
III - 6- Les composés triterpéniques.....	41
DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE.....	42
I- OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	42
I-1- Objectif général.....	42
I-2- Objectifs spécifiques.....	42
II – CADRE DE L'ETUDE.....	43
III - MATERIELS ET METHODES.....	44
III-1- Matériels d'étude.....	44
III –1-1 – Produits chimiques et réactifs.....	44
III-1-2- Matériels divers de laboratoire.....	45
III-1-3- Matériel végétal.....	46
III-2- Méthodes d'étude.....	46
III-2-1- Préparation des extraits	46
III-2-2-Rendement de l'extraction (RE) et le taux d'humidité résiduelle (THR).....	47
III-2-3- Analyse phytochimique.....	47
III-2-3-1- Les réactions de caractérisation en milieu liquide.....	48
III-2-3-2- La chromatographie sur couche mince (CCM).....	50
III-2- 4- La détermination des propriétés antioxydantes.....	52
III-2-5 Mesure de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH.....	54
IV - RESULTATS DE L'ETUDE.....	55
IV -1- Le rendement d'extraction (RE) et les taux d'humidité résiduelle (THR).....	55
IV - 2- Les résultats de l'analyse phytochimique.....	56
IV - 2-1 – Les résultats de la caractérisation en milieu liquide.....	56
IV-2-2 - Résultats de la chromatographie sur couche mince.....	57

IV-3- Résultats du test antioxydant des extraits.....	62
V- DISCUSSION.....	74
V –1- Les limites de l'étude.....	74
V –2 - L'analyse phytochimique.....	74
V – 2 – 1 – Le rendement d'extraction (RE) et la teneur en eau des extraits.....	74
V – 2 – 2 – Le screening phytochimique.....	75
V – 2 – 3- L'analyse CCM des extraits de <i>Khaya senegalensis</i> (Desr.)...	76
V -3 – Les activités antioxydantes des extraits des différentes parties de la plante	77
CONCLUSION.....	79
PERSPECTIVES.....	80
REFERENCES.....	81

« Par délibération, l'UFR/SDS a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation »



**INTRODUCTION/
ENONCE DU
PROBLEME**

INTRODUCTION/ENONCE DU PROBLEME

La production excessive des espèces réactives de l'oxygène est responsable de dégâts cellulaires importants notamment l'induction de ruptures et de mutations de l'ADN, la modification de structures protéiques, la peroxydation des lipides, l'inactivation de diverses enzymes et de l'oxydation des sucres (Christen Y 2000). Le déséquilibre résultant d'une production accrue des espèces réactives de l'oxygène et d'une altération des défenses antioxydantes entraîne le stress oxydatif (Christen Y 2000). Ce stress oxydatif peut être à l'origine de nombreuses pathologies telles que le cancer, la cataracte, la sclérose artérielle amyotrophique, les bronchopneumopathies, les insuffisances respiratoires, la maladie de Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Aviram M. 2000).

Il peut être aussi la conséquence de certains troubles métaboliques comme le diabète ou de processus infectieux comme le sida, qui en aggravent l'évolution (Aviram M. 2000). Le stress oxydatif est d'un grand intérêt, d'autant plus que les pathologies dans lesquelles il est incriminé sont de véritables fardeaux en matière de santé publique.

Ainsi les maladies cardiovasculaires constituent la première cause de mortalité dans le monde. Ils représentent 17,3 millions des décès dans le monde soit 30% ou 1/3 des décès (Reiter R. 1995). Plus de 80% des décès interviennent dans des pays à revenu moyen ou faible et touchent presque également hommes et femmes (Lenaz G. 2001). Tandis que le cancer est la deuxième cause de mortalité, représentant 7,6 millions de décès dans le monde.

Afin de contrôler les effets délétères des espèces réactives de l'oxygène, l'organisme à développer un système de défense antioxydante. Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et en systèmes non enzymatiques. Les systèmes enzymatiques sont spécifiquement endogènes et sont constitués principalement du superoxyde dismutase (SOD), de la catalase, de la glutathion peroxydase (GP), du complexe thioredoxine/thioredoxine réductase. Quant aux systèmes de défenses non enzymatiques, ils renferment de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles nous pouvons citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque ainsi que les protéines chélatrices de métaux de transition comme l'haptoglobine, la

ferritine, l'albumine et la céruloplasmine. Puis des substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q(ubiquinone), les oligoéléments (sélénium, cuivre, zinc, manganèse), les caroténoïdes, les polyphénols et les phytates, les flavonoïdes...

Cependant le déficit nutritionnel en antioxydant, la surproduction endogène d'origine inflammatoire, l'exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants tels que la pollution, le tabagisme, l'exposition immodérée au soleil, la pratique du sport de haut niveau, entraînent l'altération des systèmes de défense. En effet des enzymes pro-inflammatoires telles que les lipooxygénases et les cyclooxygénases sont des oxydases sources endogènes des espèces réactives de l'oxygène. Par le tabagisme est une source importante de stress oxydant. Il augmente la proportion de radicaux libres de 10^{19} radicaux libres par bouffée.

Pour prévenir la survenue de pathologies liées au stress oxydatif, il n'est donc pas irrationnel de penser qu'un apport d'antioxydants indépendant de l'alimentation puisse révéler bénéfique pour l'organisme.

Ainsi de récentes études sur les plantes médicinales ont été menées afin d'extraire des antioxydants naturels et peu coûteux qui puissent remplacer les antioxydants synthétiques. Ces antioxydants synthétiques comprennent le butyl hydroxy-anisol(BHA), le butyl hydroxy-toluène (BHT) le propyl gallate et le butylhydroxyquinone tertiaire proposés dans l'industrie alimentaire afin d'améliorer la conservation des aliments (Iverson F. 1995). Cependant ces antioxydants synthétiques peuvent se révéler cancérigènes (Iverson F. 1995) et même toxiques.

Les plantes médicinales constituent une source importante de substances ayant des activités biologiques et pharmacologiques très variées, à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes... Ces métabolites secondaires sont des antioxydants naturels qui peuvent réduire l'accès des oxydants et d'autres molécules délétères par leur capacité à piéger les radicaux libres, à activer les enzymes antioxydantes et à inhiber les oxydases telles les lipooxygénases et les cyclooxygénases.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à *Khaya senegalensis* (Meliaceae), une plante médicinale, utilisée au Burkina Faso par les tradithérapeutes, pour le traitement de diverses maladies telles que les plaies chroniques, la fièvre,...

Le Burkina Faso à l'instar de nombreux autres pays en voie de développement ont longtemps souffert de nombreuses maladies infectieuses, cardiovasculaires... qui constituent de nos jours un problème de santé publique. La prise en charge de ces différentes pathologies est très onéreuse pour la majorité de la population. Face à un tel problème de nombreux patients se tournent vers la médecine traditionnelle. Selon l'OMS en 2002, plus de 80 % des populations africaines ont recours à la médecine et pharmacopée traditionnelles.

Les écorces du tronc ou de s racines, les feuilles les fruits de *Khaya senegalensis* constituent la cible de ces guérisseurs traditionnels. L'utilisation massive de ces différentes parties de la plante entraîne à long terme une disparition de l'espèce. Sa surexploitation lui vaut d'ailleurs d'être classer parmi les espèces protégées au Burkina Faso. Plusieurs plantes comestibles ont montré des activités antioxydantes intéressantes *in vitro*. Des études ont montré que l'activité antioxydante est due à la présence des composés phénoliques dans les plantes.

Les polyphénols sont des composés fortement hydroxylés que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux dont la caractéristique principale est de précipiter les protéines et les polyamines. Une des propriétés des polyphénols est leur capacité à «absorber» les radicaux libres dans le système biologique. Ce qui fait d'eux de potentiels agents antioxydants.

Notre étude consiste en une comparaison des propriétés antioxydantes des feuilles, des écorces du tronc et des fruits de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. (Meliaceae) afin d'établir une possibilité de substituer les écorces par les fruits ou les feuilles qui sont facilement renouvelés par la plante.



PREMIERE PARTIE: GENERALITES

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I – GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS

I-1- Définition

Un antioxydant est une molécule capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres substances chimiques. C'est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation dans notre corps et régule la formation des radicaux libres en protégeant nos cellules contre le vieillissement accéléré. L'oxydation est une réaction d'oxydoréduction qui transfère les électrons d'une substance à un agent oxydant.

Les réactions d'oxydation peuvent donner des radicaux libres qui entraînent des chaînes de réactions conduisant à la destruction des cellules. Les antioxydants sont capables de stopper ces chaînes de réaction en captant les radicaux libres intermédiaires et en devenant eux-mêmes des oxydants. Les antioxydants sont souvent des agents réducteurs comme les thiols et les polyphénols. Bien que les réactions d'oxydation soient importantes pour la vie, elles peuvent aussi être destructrices. Par conséquent, les plantes et les animaux maintiennent des systèmes complexes de plusieurs types d'antioxydants comme le glutathion, les vitamines C et E et aussi bien des enzymes comme la catalase, le superoxyde dismutase et certaines peroxydases pour se protéger contre ces réactions d'oxydation. Une déficience ou absence de production d'enzymes antioxydantes conduit au stress oxydatif qui endommage ou détruit les cellules.

Comme le stress oxydatif pourrait être une cause importante de plusieurs maladies humaines, l'utilisation des antioxydants a été profondément étudiée en pharmacologie pour traiter notamment les accidents vasculaires cérébraux et les maladies neurodégénératives.

Toutefois, on ne sait pas encore si le stress oxydatif est la cause ou la conséquence de ces maladies.

Les antioxydants sont aussi largement utilisés comme ingrédients importants dans la supplémentation alimentaire dans le but de maintenir la santé et de prévenir certaines maladies comme le cancer ou les maladies coronariennes.

Même si des études (SU.VI.MAX en 1994) avaient suggéré que les compléments d'antioxydants ont des effets bénéfiques sur la santé, de larges études cliniques ne leur ont pas trouvé d'avantages particuliers et ont même retrouvé qu'un excès de suppléments (ou compléments) en antioxydants pouvait par fois avoir des effets négatifs.

En plus de ces utilisations en médecine, les antioxydants ont plusieurs utilisations industrielles comme conservateurs pour les aliments et produits de beauté et empêchent la dégradation du caoutchouc ou de l'essence.

I-2- Historique

Le terme antioxydant (ou antioxygène) était à l'origine employé pour désigner spécifiquement les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. A la fin du 19^è et au début du 20^è siècle, des études extensives étaient consacrées à l'usage des antioxydants dans un important processus industriel comme la suppression des métaux corrosifs, la vulcanisation du caoutchouc et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion (Matill HA., 1947)

En biologie, les premières recherches sur les antioxydants concernèrent la réduction de l'oxydation des graisses insaturées, cause du rancissement. L'activité antioxydante peut être simplement mesurée en enfermant les graisses dans des récipients hermétiques avec de l'oxygène et on mesure la vitesse de consommation de l'oxygène. Cependant, ce n'est que l'identification des vitamines A, C et E comme antioxydants qui a révolutionné le domaine et conduit à la réalisation de l'importance des antioxydants dans la biochimie des organismes vivants (Jacob R., 1996 ; Knight J., 1998). Les mécanismes possibles des antioxydants ont été étudiés à partir du moment où l'on a compris qu'une substance antioxydante devait être elle-même facilement oxydable. Les recherches sur l'action de la vitamine E dans la limitation de l'oxydation des lipides ont démontré son rôle dans l'élimination des molécules.

I-3-Les oxydants

Un paradoxe du métabolisme de la vie sur Terre est que la majorité des êtres vivants ont besoin de l'oxygène pour assurer leur existence alors que l'oxygène est une molécule hautement réactive qui produit des dégradations sur les organismes vivants par la production d'espèces réactives de l'oxygène (Davies K., 1995). Cependant, les organismes possèdent un réseau complexe de métabolites antioxydants et des enzymes qui agissent ensemble pour empêcher les dégâts de l'oxydation aux composants cellulaires comme l'ADN, les protéines et les lipides (Sies H., 1997). En général, les systèmes antioxydants empêchent ces espèces réactives de l'oxygène d'être ou les reconverti avant qu'ils endommagent les composants vitaux de la cellule (Sies H., 1997 ; Davies K., 1995).

Les espèces réactives de l'oxygène produites dans les cellules incluent les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HClO) et des radicaux libres comme le radical hydroxyle ($OH\cdot$) et l'anion superoxyde ($O_2\cdot^-$) (Valko M. et al., 2007). Le radical hydroxyle est particulièrement instable et va réagir rapidement et non spécifiquement avec plus de molécules biologiques. Cette espèce est produite à partir du peroxyde d'hydrogène. Ces oxydants peuvent endommager les cellules en commençant des chaînes de réactions chimiques comme la peroxydation des lipides l'oxydation de l'ADN ou des protéines (Sies H., 1997). La détérioration de l'ADN entraîne des mutations et une possibilité de cancer.

L'utilisation de l'oxygène comme une partie du processus pour générer de l'énergie métabolique produit des espèces réactives de l'oxygène (Raha H, Robinson B., 2000). Dans ce processus, l'anion superoxyde est produit comme un dérivé de plusieurs pas dans la chaîne de transport d'électrons (Lenaz G, 2001).

Ce qui est particulièrement important est la réduction du coenzyme Q en complexe III, depuis un radical libre hautement réactif est formé comme un intermédiaire Q. Cette intermédiaire instable peut conduire au linkage de l'électron quand les électrons sautent directement sur l'oxygène et forment l'anion superoxyde au lieu de se déplacer à travers des séries normales de réaction bien contrôlées de la chaîne de transport des électrons (Finkel T, Holbrook NJ., 2000).

Dans une série de réactions semblables dans les plantes, les espèces réactives de l'oxygène sont aussi produites pendant la photosynthèse dans des conditions de hautes intensités lumineuses. Cet effet est compensé par la mise en jeu des caroténoïdes dans la photoinhibition qui impliquent la réaction de ces antioxydants avec d'autres formes réduites des réactions photosynthétiques pour empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène (Krieger-Liszkay A., 2005).

I - 4- Les métabolites

I - 4-1- Vue d'ensemble

Les antioxydants sont classés en deux grands groupes en fonction de leur solubilité dans l'eau (hydrosolubles) ou dans les lipides (liposolubles).

En général, les antioxydants hydrosolubles réagissent avec les oxydants du cytoplasme cellulaire et du plasma sanguin alors que les antioxydants liposolubles protègent la membrane cellulaire contre les peroxydations lipidiques (Sies H., 1997). Ces composés antioxydants peuvent être synthétisés dans l'organisme ou obtenus à partir de l'alimentation.

Les différents antioxydants sont présents sous une large gamme de concentration dans les fluides et les tissus de l'organisme comme la glutathion beaucoup présent dans les cellules pendant que d'autres comme d'acide urique sont plus éventuellement distribués.

L'importance relative et l'interaction entre ces différents antioxydants est une question très complexe, avec les différents métabolites et des systèmes enzymatiques ayant des effets synergétiques et interdépendants l'un à l'autre (Chaudière J., Ferrari-Iliou R., 1999 et Sies H., 1993).

L'action d'un antioxydant doit donc dépendre d'une fonction appropriée des autres membres du système des antioxydants. La somme de protection fourni par chaque antioxydant dépendra aussi de sa concentration, sa réactivité à l'égard des particules de l'espèce réactive de l'oxygène considéré et du statut de l'antioxydant avec qui il interagit (Vertuani S et al., 2004).

Certains composés contribuent aux défenses antioxydantes par la chélation des métaux de transition et les empêchent de catalyser la production des radicaux libres dans la cellule. Ce qui est particulièrement important, c'est la capacité de

séquestrer le fer qui a la fonction des protéines transporteurs du fer comme la transferrine et la ferritine (Imlay J., 2003). Le sélénium et le zinc sont généralement considérés comme des antioxydants alimentaires, mais ces éléments n'ont pas d'action antioxydante propre et ont besoin de l'activité de certaines enzymes antioxydantes comme discutés ci-dessus.

I-4-2- Acide ascorbique

La vitamine C ou acide ascorbique est un monosaccharide rencontrée chez les animaux et les plantes. Comme elle ne peut pas être synthétisée chez l'homme et doit être apportée par l'alimentation, c'est une vitamine essentielle (Smirnoff N., 2001). La plupart des animaux sont capables de produire ce composé dans le corps.

La vitamine C est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques (hydroxylation). Elle est requise dans la synthèse du collagène et des globules rouges et contribue au système immunitaire. Elle joue également un rôle dans le métabolisme du fer en tant que promoteur de son absorption; son utilisation est donc recommandée chez les patients porteurs d'une surcharge en fer et particulièrement d'une hémochromatose. Sous forme oxydée (acide dés hydroascorbique), elle traverse la barrière hémato-encéphalique pour accéder au cerveau et à plusieurs organes à forte concentration de vitamine C. Il s'agit d'un antioxydant. A cet effet, on emploie également la forme d- (Dextrogyre) de l'acide ascorbique qui, à l'inverse de la forme l- (Lévogyre), ne présente pas d'activité vitaminique. Dans les cellules, il est maintenu sous sa forme réduite par réaction avec le glutathion, qui peut être catalysé par la protéine isomérase bisulfite et glutarédoxine (Meister A., 1988 ; Wells W. et al., 1990).

La vitamine C permettrait d'augmenter les taux de glutathion des cellules sanguines. Le glutathion est un élément indispensable à la détoxification cellulaire : il permet de détoxifier divers polluants, cancérigènes et poisons, incluant plusieurs répertoriés dans les échappements de carburant et la fumée de cigarette. Il retarde les dommages des radiations telles que ceux rencontrés suite à la diminution de la couche d'ozone. Pour certains, cela confirmerait l'effet anti-cancer supposé de la vitamine C.

L'acide ascorbique est un agent réducteur et peut réduire et neutraliser les espèces réactives de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Padayatty S. et al., 2003).

En plus de ses effets antioxydants directs, l'acide ascorbique est aussi un substrat pour l'ascorbate per oxydase, enzyme antioxydante ayant une fonction qui est particulièrement importante dans la résistance du stress dans les plantes (Shigeoka S. et al., 2002). Une des maladies dont le traitement éventuel par des doses pharmacologiques d'ascorbate est le plus controversé est le SIDA. La controverse dure depuis plus de 16 ans, c'est-à-dire depuis la publication d'une étude montrant que l'ascorbate, en doses non toxiques pour l'homme, arrêtait la réplication du VIH, dans le journal les « Proceedings of National Academy of Sciences » des États-Unis. D'autres études ont suivi et ont étayé ces résultats, mais aucune étude clinique d'envergure n'a été entreprise.

I-4-3- Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine : gamma-L- Glutamyl- L-cystéine. A noter que le groupement amine de la cystéine se condense avec la fonction acide carboxylique en gamma de l'acide glutamique (Meister A., 1998). Il n'est pas requis dans les aliments et est synthétisé dans les cellules à partir des acides aminés qui le constituent. Pratiquement toutes les cellules en contiennent à des concentrations élevées.

Le glutathion a des propriétés antioxydantes puisque le groupement thiol dans sa moitié cystéine est un agent réducteur et peut être oxydé et réduite. Dans les cellules, le glutathion est maintenu sous sa forme réduite par le glutathion réductase et réduit d'autres métabolites et systèmes enzymatiques en réagissant directement avec des oxydants (Meister A., 1994). A cause de sa forte concentration et son rôle central dans le maintien de l'état redox des cellules, le glutathion est l'un des plus importants antioxydants de la cellule (Meister A., Anderson M., 1983).

Le glutathion est le principal antioxydant hydrosoluble du cytosol (l'intérieur aqueux des cellules) et participe directement à la destruction des composés oxygénés réactifs. Les deux principaux mécanismes antioxydants du glutathion reposent sur sa capacité à dét oxiquer le peroxyde d'hydrogène et d'autres organoperoxydases ainsi qu'à défendre l'intérieur même des cellules contre l'oxydation par un phénomène redox.

Il n'est pas seulement un puissant antioxydant mais joue aussi un rôle clé dans le réseau antioxydant en recyclant les formes oxydées de vitamine C, restaurant ainsi son pouvoir antioxydant.

I - 4 - 4- La mélatonine

La mélatonine est un puissant antioxydant qui peut facilement traverser les parois cellulaires ou la barrière hémato-encéphalique (Reister R.J. Et al., 1997). Elle détruit ou inhibe l'action de certains radicaux libres et éléments facteurs de stress oxydatif tels que le radical hydroxyl (OH^\cdot), le peroxyde d'hydrogène, le monoxyde d'azote, l'anion peroxydite, l'acide peroxyditeux, et de l'acide chlorhydrique. Les produits de chacune de ces réactions ont été identifiés dans les systèmes chimiques purs et dans un cas au moins *in vivo*. Les produits secondaires issus de l'interaction de la mélatonine avec l'ion O^\cdotH^- (3-hydroxymélatonincyclique) sont par exemple retrouvés dans l'urine des humains et des rats.

En outre, la mélatonine augmente l'activité de plusieurs enzymes antioxydantes, ce qui améliore sa capacité de protection des macromolécules contre le stress oxydatif. L'expérimentation animale a montré que la mélatonine acquise via des aliments végétaux comestibles élève le taux d'indole dans le sang. Le taux sanguin de mélatonine est corrélé avec l'activité antioxydante totale du sérum.

Contrairement à d'autres antioxydants (comme la vitamine C), la mélatonine ne subit pas de cycle redox qui est la capacité de la molécule de subir de façon répétée la réduction et l'oxydation. Elle est versatile.

Le cycle redox pourrait permettre à d'autres antioxydants de servir de pro-oxydants et de promouvoir la formation des radicaux libres.

La mélatonine, une fois oxydée ne peut plus être réduite sous sa forme initiale parce qu'il y a formation de produits stables réagissant avec les radicaux libres. D'où on lui a attribué le nom d'antioxydant suicidaire ou antioxydant terminal.

Une étude russe indique que l'administration de mélatonine chez le rat produit un effet aussi anxiolytique qu'un médicament de référence, le diazépam (Valium[®]), administré à la même dose (1mg/kg). La mélatonine semble avoir de multiples fonctions, autres que celles hormonales chez l'homme et chez les mammifères, en particuliers comme antioxydant. Elle semble jouer un rôle dans le système immunitaire.

On a récemment découvert que diverses algues et plantes produisent de la mélatonine. L'organisme peut en extraire à partir de nombreuses plantes (exemple le riz).

I - 4-5- Tocophérols et tocotriénols (vitamine E)

La vitamine E ou tocophérol est une vitamine liposoluble (c'est-à-dire soluble dans les lipides, mais insoluble dans l'eau). La vitamine E est reconnue comme étant essentiellement un antioxydant, elle freine le vieillissement cutané et assure la stabilité de ses structures cellulaires. Elle est présente en grande quantité dans les huiles végétales, et possède une activité antioxydante en conjugaison avec la vitamine C et le glutathion. On ne dénombre pas moins de huit formes de vitamine E (soit quatre tocophérols et quatre tocotriénols), dont la plus active est l'alpha-tocophérol (α -tocophérol). L' α -tocophérol a été la plus étudiée car elle a la meilleure biodisponibilité, avec l'organisme qui absorbe et métabolise préférentiellement cette forme (Brigelius-Flohé R., Traber M., 1999).

Il a été déclaré que l' α -tocophérol est le plus important antioxydant liposoluble et qu'il protège la membrane cellulaire contre les oxydants par réaction avec les radicaux libres lipidiques produits dans les chaînes de réaction de peroxydation des lipides (Herrera E., Barbas C., 2001). En effet l'organisme produit continuellement des radicaux libres, des composés très réactifs comportant des électrons célibataires. Les radicaux libres endommagent des composants cellulaires aussi divers que les protéines, les lipides ou l'ADN. Les réactions radicalaires se propagent en chaînes : les molécules déstabilisées par un électron célibataire deviennent à leur tour des radicaux libres. Les antioxydants ont pour rôles de stopper ce processus en neutralisant les radicaux libres, pour réduire leur nocivité. Ainsi la vitamine E a la capacité de capter et de stabiliser (par résonance) l'électron célibataire des radicaux libres, suivant la réaction :

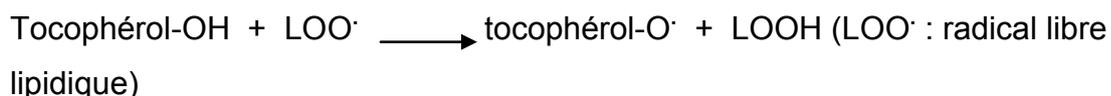


Figure I : Mécanisme de neutralisation d'un radical libre par la vitamine E

Cette réaction produit des radicaux α -tocophérol oxydés qui peuvent être recyclés en retour à des formes réduites actives à travers une réduction par d'autres antioxydants comme l'ascorbate, le rétinol ou l'ubiquinol (Wang X., Quin P., 1999).

Le tocophérol porteur d'un radical libre peut réagir avec un nouveau radical libre pour former une espèce neutre, ou être régénéré par la vitamine C, le glutathion ou le coenzyme Q10. La vitamine E joue principalement son rôle d'antioxydant dans les membranes biologiques. Les mitochondries qui sont génératrices de radicaux libres, contiennent de fortes teneurs de vitamine E dans leur membrane lipidique, constituée d'acides gras polyinsaturés et soumis au stress oxydatif. La vitamine E est souvent utilisée comme conservateur dans les aliments (E306 à E309) pour éviter le rancissement des aliments par les radicaux libres quel que soit le genre d'aliments, les produits de transformation industrielle. Cependant, les rôles et l'importance des différentes formes de la vitamine E sont présentement non élucidés et il a même été suggéré que la plus importante fonction de l' α -tocophérol est une molécule de signal, donc une molécule n'ayant aucun rôle significatif dans le métabolisme des antioxydants (Azzi A., 2007 et Zingg JM., Azzi A., 2004).

Les fonctions des autres formes de la vitamine E sont même moins bien comprises bien que le gamma-tocophérol est un nucléophile qui peut réagir avec les mutagènes électrophiles, et le tocophérol pourrait être important dans la protection des neurones contre les dommages (Sen C., Khanna S., Roy S., 2006).

En plus de son rôle antioxydant, la vitamine E évite l'agrégation excessive des plaquettes responsable de thromboses ; elle a également une action protectrice sur les globules rouges. Par ce biais, la vitamine E pourrait prévenir des maladies cardiovasculaires d'origine athéromateuse. En pratique cependant, aucune action en ce sens n'a été démontrée. Une action favorable sur la prévention de certains cancers a été suspectée dans un premier temps mais non confirmée par les études les plus récentes. La vitamine E a également un effet bénéfique sur le taux de cholestérol. Bien que les observations d'Evans aient montré l'importance de la vitamine E sur la fécondité de certains animaux, aucun effet n'a été mis en évidence chez l'homme.

La vitamine E pourrait aussi protéger contre la maladie de Parkinson en empêchant l'oxydation des acides gras oméga-3 et du fer.

Elle a également une certaine efficacité sur les stéatoses non alcooliques, permettant de freiner leur progression vers la cirrhose.

I - 4 – 6 – La coenzyme Q10

C'est un antioxydant puissant. En plus de sa fonction cruciale dans le métabolisme de l'énergie cellulaire, la coenzyme Q10 (CoQ10) joue un rôle important en tant qu'antioxydant très puissant. Elle offre une excellente protection contre les radicaux libres résultants par exemple du rayonnement ou de la pollution chimique (Zita C. et al., 2003).

La science a montré la contribution majeure des radicaux libres au développement des maladies cardiovasculaires. L'athérosclérose mieux connue sous le nom de plaques d'athérome survient à la suite de l'oxydation par les radicaux libres des acides gras du cholestérol LDL. Si ce processus d'oxydation n'est pas efficacement bloqué (par les antioxydants), les particules de LDL réussissent à pénétrer dans la paroi artérielle, en produisant des traînées grasses qui rétrécissent le passage et obstruent le flux sanguin. Ce ralentissement du flux sanguin est une menace pour la santé cardiovasculaire.

Avec la vitamine E, la coenzyme Q10 constitue un important antioxydant. Elles sont toutes les deux présentes dans les lipoprotéines telles que le cholestérol LDL où elles protègent les acides gras de l'oxydation par les radicaux libres. Certains chercheurs considèrent la coenzyme Q10 comme un antioxydant bien plus efficace que la vitamine E car la coenzyme CoQ10 est capable de recycler (réactiver) la vitamine E. La coenzyme CoQ10 représente ce qu'on peut appeler la « première ligne de défense » contre l'oxydation par les radicaux libres du cholestérol LDL. Des études biochimiques ont montré que lors de l'attaque des radicaux libres, les niveaux de CoQ10 baissent considérablement avant même que ne soient observées des diminutions des autres antioxydants. En d'autres termes, presque toute la CoQ10 doit être consommée par les mécanismes de défenses avant l'intervention et la participation des autres antioxydants. De façon générale, la coenzyme Q10 de par son action antioxydante, protège la membrane de toutes les cellules de l'organisme. Ainsi, la coenzyme Q10 peut se voir également attribuer un effet anti-âge.

I-5- Les activités pro-oxydantes

Les antioxydants qui sont des agents réducteurs peuvent aussi servir de pro-oxydants. Exemple : la vitamine C a une activité antioxydante quand elle réduit les substances oxydantes comme le peroxyde d'hydrogène (Darte TL., Lunec J., 2005) ; elle peut aussi réduire les ions métalliques qui conduisent à la génération des radicaux libres à travers les réactions suivantes (Carr A., Frei B., 1999):



Figure 2 : Mécanisme de réduction du peroxyde d'hydrogène par la vit.C

L'importance relative de l'activité antioxydante et pro-oxydante des antioxydants est un secteur de recherche courant. La vitamine C semble à nos jours avoir une activité antioxydante dans l'organisme contrairement aux autres antioxydants alimentaires comme les phénols antioxydants, le zinc et la vitamine E pour qui peu de données sont disponibles.

I-6- Le système enzymatique

Comme les antioxydants chimiques, les cellules sont protégées contre le stress oxydatif par un réseau d'interaction des enzymes antioxydants (Sies H., 1997 et Davies K., 1999). Ici, le superoxyde libéré par le processus comme la phosphorylation oxydative est convertie premièrement en du peroxyde d'hydrogène et par la suite réduit pour donner de l'eau.

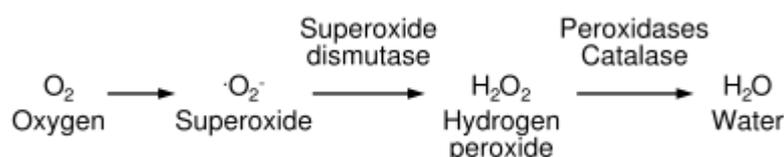


Figure 3 : Voie enzymatique pour la détoxification des espèces réactives de l'oxygène

Cette voie de détoxification est le résultat de multiples enzymes, avec une catalyse de superoxyde dismutase, puis des catalases et des différentes peroxydases supprimant les peroxydes d'hydrogène. Comme avec les métabolites antioxydants, la contribution de ces enzymes peut être à séparer l'une de l'autre (Ho Y. et al., 1997).

I-7- Le stress oxydatif

Le stress oxydant (ou stress oxydatif) est un type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives de l'oxygène (ROS, Réactive Oxygen Species en anglais) et azotées oxydantes. En effet, certaines cellules du système immunitaire fabriquent des radicaux libres qu'elles utilisent pour la destruction des microbes. Une production excessive ou hors de contrôle de radicaux libres peut être dommageable. Certains chercheurs pensent que la détérioration des os et des articulations observées chez les personnes atteintes d'arthrite est la conséquence, en partie, d'une production excessive de radicaux libres (Aviram M., 2000).

La production excessive de radicaux libres cause un état de stress oxydatif. Le stress oxydant devient une situation pathologique dès que le système de protection est submergé par les ROS et RONS.

Ceci peut être par exemple dû à :

- l'introduction dans la cellule de radicaux libres ou d'espèces réactives oxygénées (polluants photochimiques pénétrant l'organisme via le système respiratoire, l'alimentation ou les muqueuses).
- une surproduction de ROS et RONS induite par des processus de type ischémie-reperfusion qui sont à l'origine d'une partie des rejets des greffes ou à la présence de certains composés chimiques pro-oxydants tels que le méthyle viologène.
- un défaut du système de protection, par exemple une mutation inactivant une des enzymes du système de protection ou une carence en une des vitamines.
- l'introduction dans la cellule ou dans un organe de molécules hautement réactives, par exemple nanoparticules (très petite et à surface spécifique très développée). Si ces nanoparticules sont nombreuses, les macrophages n'arrivent plus à les traiter et peuvent libérer leurs oxydants dans l'organisme en provoquant une réaction inflammatoire exacerbée.

Le stress oxydant est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, mais il est aussi considéré comme une des principales causes de cancer et jouerait un rôle dans la maladie d'Alzheimer (Christen Y., 2000 ; Nunomura A. et al., 2006), comme dans plusieurs pathologies plus courantes telles que les maladies cardio-vasculaires, les accidents cérébro-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes (Hitchon C., El-Gabalawy H., 2004). Les antioxydants bien dosés pourraient théoriquement diminuer ces dégâts mais cela reste à démontrer. Selon des recherches, les PVVIH/Sida se trouvent dans un état de stress oxydatif qui peut diminuer la capacité de leur système immunitaire à maîtriser les infections. Pour se protéger contre les dommages dus au stress oxydatif, l'organisme peut faire appel à des antioxydants comme les vitamines C et E, et le beta-carotène. De même, grâce à des minéraux tels que le cuivre, le manganèse, le sélénium, le zinc et à des acides aminés comme la cystéine et la méthionine, les cellules peuvent fabriquer des enzymes antioxydants pour se protéger contre le stress oxydatif.

C'est depuis 1983 qu'un groupe de trois scientifiques australiens dont Eleni Papadopulos Eleopoulos ont émis l'hypothèse que les mécanismes du stress oxydatif jouent un rôle important dans la genèse du Sida. En effet, selon les résultats d'études et d'essais cliniques de ce groupe, le stress oxydatif chronique peut nuire à l'aptitude du système immunitaire à combattre le VIH, en causant les effets suivants :

- Multiplication accrue du virus ;
- Affaiblissement de la réponse immunitaire ;
- Autodestruction des lymphocytes-T ;
- Production de substances chimiques anormales dans les cellules ;
- Sensibilisation accrue de l'organisme à la toxicité de certains médicaments.

Selon le Pr Luc Montagnier, découvreur du virus, le stress oxydatif joue un rôle clé dans le processus du VIH (cf. interview Antioxydants nutriments and AIDS : exploring the possibilities du Pr Luc Montagnier avec Richard Passwater publié dans Whole food magazine. En effet, c'est le stress oxydatif (en l'occurrence les radicaux libres) qui va activer le NF-Kappa-B (facteur nucléaire Kappa-B) et favoriser la réplication virale. C'est cette réplication virale qui conduit à l'effondrement

immunitaire. Selon le Pr Luc Montagnier (cf. son interview dans la Revue de l'intelligence, janvier/février 2004), chez la personne infectée, il existe ce qu'on appelle " stress oxydatif", c'est-à-dire un déséquilibre entre d'une part, les radicaux libres produits par l'infection virale et par les réactions des cellules immunitaires et d'autre part, l'insuffisance des antioxydants absorbés ou fabriqués par l'organisme. Les suppléments nutritionnels antioxydants tels que les vitamines A, C et E sont particulièrement recommandées pour les personnes infectées par le VIH.

I-8- Effets sur la santé

I-8-1- Traitement des maladies

Le cerveau est le principal vulnérable aux blessures oxydatives à cause de son taux de métabolisme élevé et sa richesse en lipides polyinsaturés qui ont fait de lui la cible de peroxydation lipidique (Reister R. , 1995). Conséquence, les antioxydants sont couramment utilisés comme médication pour traiter les différentes formes de blessures du cerveau. Ici, le dismutase super oxyde mimétique (Warner D. et al., 2004), sodium thiopental and propofol sont utilisés pour traiter les blessures, reperfusion des blessures traumatiques du cerveau, alors que des principes actifs expérimentaux NXY- 059 (Lee T. et al., 2006) et Ebselem (Yamaguchi T. et al., 1998) vont être appliqués dans le traitement de congestion. Ces composés apparaissent pour empêcher le stress oxydatif dans les neurones et prévenir l'apoptose et les dommages neurologiques.

Les antioxydants vont aussi être utilisés comme traitement possible des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'ALZHEIMER, la maladie de PARKINSON (Di Matteo V., Esposito E., 2003).

I-8-2- Prévention des maladies

Les antioxydants peuvent supprimer les dégâts cellulaires des effets des radicaux libres (Sies H., 1997), et ceux qui consomment des fruits et légumes qui sont de bonnes sources d'antioxydants ont un faible risque de développer le cancer, des maladies cardiaques et certaines maladies neurologiques (Stanner S. A et al., 2004). Cette observation montre que les antioxydants peuvent aider à empêcher ces conditions. Il y a des preuves que les antioxydants peuvent empêcher des maladies comme la dégénérescence musculaire, supprimé l'immunité due à l'une des pauvres nutriments et de la neurodégénération (Bartlett H., Esperjesi F., 2003). Cependant en dépit du rôle clair du stress oxydatif dans les maladies cardiovasculaires, des études contrôlées utilisant des vitamines antioxydantes n'ont pas observé de réduction dans l'un ou l'autre, le risque de développer des maladies cardiovasculaires, ou le taux de progression des maladies existantes.

Cela suggère que d'autres substances dans les fruits et légumes (flavonoïdes) ou un complexe de mélange de substance peuvent contribuer à la meilleure santé cardiovasculaire de ceux qui consomment beaucoup de fruits et légumes (Lotito S. B. Frei B., 2006). On a pensé que l'oxydation des LDL dans le sang contribue à la maladie cardiaque, et des études d'observation ont trouvé que des gens prenant la vitamine E en supplément avaient un faible risque de développer une maladie cardiaque, conséquence, sept grands essais cliniques étaient conduites pour tester les effets des antioxydants en supplément avec la vitamine E, dans une gamme de doses de 50 à 600 mg/jours. Mais aucun de ces essais n'a trouvé d'effets statistiquement significatifs de la vitamine E sur le nombre total de morts ou les morts dû à la maladie cardiaque. Il n'est pas clairement établi que les doses utilisées dans ces essais ou dans la plupart de suppléments alimentaires sont capables de produire une diminution significative du stress oxydatif (Vivekananthan D.P. et al., 2003).

Alors que plusieurs essais avaient examiné les suppléments avec des doses élevées d'antioxydants, la « supplémentation en vitamine et minéraux antioxydants » (SU.VI.MAX) a testé l'effet de la supplémentation avec des doses comparables à celles d'une alimentation saine (bonne alimentation).

Plus de 125 000 français (homme et femmes) prenaient chaque fois une dose d'antioxydants (120 mg d'acide ascorbique, 30 mg de vitamine E, 6 mg de β -carotène, 100 μ g de sélénium et 20 mg de zinc) ou des pilules de placebo pour en moyenne 7,5 ans (Hercberg S. et al., 2004). Les observateurs avaient trouvé qu'il n'y avait pas d'effets statistiquement significatifs des antioxydants sur l'ensemble de la survie, le cancer ou la maladie cardiaque. Cependant l'analyse d'un sous-groupe avait montré une réduction de 31% dans le risque de cancer chez les hommes mais non chez les femmes. Plusieurs compagnies de santé alimentaire et nutritionnelle vendent maintenant des formulations d'antioxydants comme suppléments alimentaires qui sont beaucoup utilisés dans les pays industrialisés (Radmer K. et al., 2004).

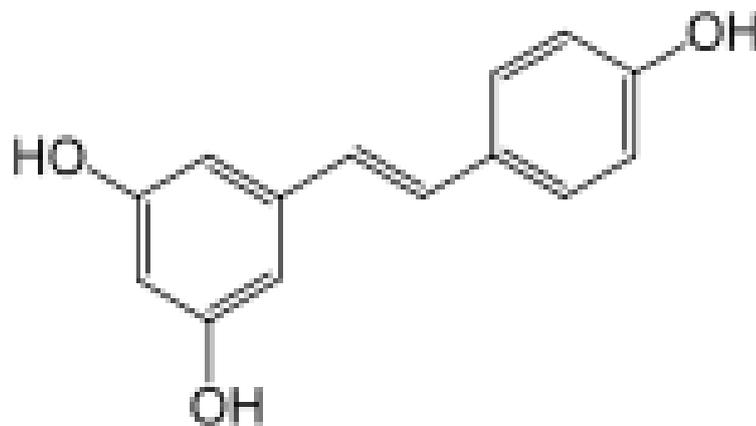


Figure 4: Structure d'un poly phénol antioxydant (resveratrol)

I-9 - Mesure et niveau dans les aliments

La mesure des antioxydants des aliments n'est pas un processus simple car étant un groupe de divers composés avec de réactivités différentes à différentes espèces réactives de l'oxygène. Dans la science nutritionnelle, la capacité d'absorption du radical oxygène est devenue courante pour évaluer la force antioxydante des aliments complets, jus et des additifs alimentaires (Ou B. et al., 2001). Autres techniques de mesure incluent le réactif de FOLIN-CIOCALTEU et la capacité en équivalent d'antioxydants de trolox.

En médecine, une chaîne de différents essais est utilisée pour évaluer la capacité antioxydante du plasma sanguin et de tous ceux-ci l'essai de l'ORAC peut être le plus fiable (Cao G., Prior R., 1998).

Les antioxydants sont trouvés en différentes quantités dans les aliments comme les légumes, les fruits, les graines de céréales, les végétaux et les noix. Certains antioxydants comme le lycopène et l'acide ascorbique peuvent être détruits par le stockage à long terme ou la cuisson prolongée (Rodriguez-Amaya D., 2003). D'autres composés antioxydants sont plus stables comme les antioxydants phénoliques dans les repas comme les céréales entières et le thé (Rietveld A., Wiseman S., 2003). En général, les aliments transformés contiennent moins d'antioxydants que les aliments frais et non préparés, car le processus de préparation peut exposer les aliments à l'oxygène (Henry C., Heppell N., 2002).

Tableau I: Aliments riches en composés antioxydants

Composés antioxydants	Aliments contenant des taux élevés de ces antioxydants
Vitamine C	Fruits et légumes
Vitamine E	Huiles végétales
Antioxydants phénoliques	Thé, café, fruits, huile d'olive,
caroténoïdes	Fruits et légumes

Certains antioxydants sont synthétisés dans l'organisme et ne sont pas absorbés au niveau intestinal. C'est le cas du glutathion, qui est fabriqué à partir d'acides aminés. Comme le glutathion dans l'intestin est couplé en cystéine, en glycine et en acide glutamique libres avant d'être absorbé, même de fortes doses orales ont peu d'effet sur la concentration du glutathion dans l'organisme (Witschi A. et al., 1992). L'ubiquinol (coenzyme Q) est aussi faiblement absorbé au niveau de l'intestin et est fabriqué dans l'organisme par la voie de mevalonate (Turunen M., Olsson J., Dallner G., 2004).

I-10 - Usage en technologie

I-10 -1-conservation des aliments

Les antioxydants sont utilisés comme additifs alimentaires pour protéger les aliments contre la détérioration. L'oxygène et les rayons solaires sont les deux principaux facteurs dans l'oxydation des aliments. Alors, l'aliment est mieux conservé en le gardant à l'obscurité et en l'enveloppant dans des récipients ou même enduit de cire. Cependant, comme l'oxygène est aussi important pour la respiration des plantes, le stockage de matériel végétal dans des conditions anaérobiques produit des goûts désagréables et des couleurs peu attrayantes (Zallen E., Hitchcock M., Goertz G., 1975). Conséquence, le conditionnement des fruits et légumes frais contient moins de 8% d'oxygène atmosphérique. Les antioxydants constituent une classe importante d'agent de conservation. Ces agents de conservation incluent l'acide ascorbique (AA E 300), le propylgallate (PG E 310), le tocophérol (E306), butyl-hydroquinone tertiaire (TBHQ) (Iverson F. 1995).

La plupart des molécules attaquées par l'oxydation sont des graisses insaturées. Puisque les lipides oxydés sont souvent décolorés et ont habituellement un goût désagréable, il est donc important d'éviter l'oxydation des aliments gras. Même les aliments les moins gras comme les fruits sont vaporisés avec des antioxydants soufreux avant séchage à l'air. L'oxydation est souvent catalysée par des métaux. C'est pourquoi des graisses comme le beurre ne doivent jamais être enveloppées dans une feuille d'aluminium ou gardées dans des récipients métalliques. Certains aliments gras comme l'huile d'olive sont particulièrement protégés contre l'oxydation par leur contenu antioxydants naturels, mais restent sensibles à la photooxydation.

I-10 -2- Usages industriels

Certains antioxydants sont ajoutés à des produits industriels. Le plus courant est leur usage comme stabilisateurs dans les combustibles et lubrifiants pour prévenir leur oxydation et dans les essences pour prévenir la polymérisation qui conduit à la formation des résidus dans les moteurs (C. E. Boozer et al., 1955). Ils sont aussi utilisés pour empêcher la dégradation oxydative du caoutchouc, des plastiques et adhésifs qui causent une perte de la force et de la flexibilité de ces matériaux (Wang X., Quinn P., 1999).

Les agents de conservation antioxydants ont également été ajoutés aux crèmes cosmétiques comme les crèmes à lèvres et les produits hydratants pour empêcher la rancidité.

II. GENERALITES SUR *KHAYA SENEGALENSIS*

II - 1- Caractéristiques botaniques

II-1-1. La famille des Méliacées

La famille des Méliacées qui comprend 50 genres et 1400 espèces, forme une importante famille botanique de distribution pantropicale (Banerji, 1984 ; Quinko et Coll. 1995). Parmi les genres les plus importants on peut citer les genres *Aglaië*, *Aphanamixis*, *Azadirachta*, *Carapa*, *Cedrela*, *Chukrasia*, *Dysoxylum*, *Entandrophragma*, *Guarea*, *Khaya*, *Melia*, *Soymida*, *Swietenia*, *Trichilia*, etc. (Banerji, 1984).

La flore africaine en compte 18 genres et 47 espèces dont : *Khaya senegalensis*, *Pseudocedrela kotschy*, *Trichilia emetica*, *Azadirachta indica* (le neem) qui est une espèce introduite. Cette dernière espèce est originaire de l'Inde mais devenue spontanée au Burkina Faso. Toutes ces quatre espèces sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle. *Khaya senegalensis* et *Azadirachta indica* sont de grands arbres qui, par leurs feuilles sempervirentes, constituent des plantes d'ombrage et d'arbres d'avenues (Quinko et Coll. 1995).

Les Meliaceae sont de grands arbres, des arbustes ou rarement sarmenteux, à écorces souvent odorantes, par fois à faible latex. Les feuilles, alternes, sont généralement composées pennées, par fois trifoliées, unifoliées ou des feuilles simples, sans stipules.

Les inflorescences sont en panicules, en racèmes, en cymes ou rarement des fleurs solitaires. Les fleurs, actinomorphes, hermaphrodites ou polygames, sont tétra ou pentamères. Le calice est cupuliforme ou à sépales libres et imbriqués ou rarement valvaires. Les pétales, libres ou partiellement soudés, sont à préfloraison imbriquée, tordue ou valvaire.

Les étamines, au nombre de 8 à 10, sont libres ou en filets soudés en tube. Les antères, souvent sessiles, biloculaires, à déhiscence longitudinales, sont insérées au sommet du tube staminal. Un disque glanduleux est souvent présent.

L'ovaire, supère, comprend 2 à 20 loges. Les ovules, axiles, sont au nombre de 2 à 20, à raison de 2 par loge en général. Le style terminal, est long ou court, à stigmate discoïde, capité ou claviforme.

Les fruits, de divers types, sont des baies, des drupes, mais le plus souvent des capsules.

Les graines, parfois ailées ou non et alors arillée sont ou non albuminées.

II-1-2. Le genre *Khaya*

Le genre *Khaya* comporte six espèces originaires d'Afrique (Banerji, 1984). *Khaya ivorensis* A. Chev., *K. anotheca* C. DC. , *K. grandifolia* C. DC. , *K. senegalensis* A. Juss. , *K. nyasica* Staff ex Bakf. , *K. madagascariensis* Jum et Perr.

II-1 – 3. L'espèce *Khaya senegalensis* A. Juss

3-1. Nom vulgaires

Caïlcedrat, acajou du Sénégal, Quinquina du Sénégal (Kerharo, 1974).

3-2. Synonymies

Switenia senegalensis (Kerharo, 1974).

3-3. Appellations locales au Burkina Faso

- Moore : Kuka (Von Maydell, 1983)
- Bambara : Dala Dara (Von Maydell, 1983)
- peul : Kay, Kayl (Von Maydell, 1983)
- Gulmacema : Bu kogbu (Von Maydell, 1983)
- Bissa : Mon (I.R.B.E.T., 1983)
- Karaboro : Wai
- Lobi : Luo
- Samo : Moa, Moein
- Senoufo : Wèertchikè
- Bwamu (bobo oulé) : Péému, Pénu
- Dagara : Ko

II -1 -4 .Description (Berhaut, 1967 ; Fortin et Coll., 1990 ; Marche-Marchad, 1965 ; Kerharo, 1974)

4- 1- Le port

Khaya senegalensis est un arbre pouvant atteindre jusqu'à 35 m de haut et 60 à 100 cm de diamètre. *Khaya senegalensis* est sans doute le plus important des grands arbres du Burkina Faso, et le seul à fournir du bois d'œuvre en quantité industrielle. Généralement, il ne perd pas toutes ses feuilles en saison sèche, bien qu'alors son ombrage ne soit pas très épais.

4- 2 –Les feuilles

Les feuilles sont composées, paripennés et alternes. Le rachis est long de 12 à 20 cm et peut porter 4 à 6 paires de folioles oblongues, généralement 2 à 3 fois plus longues que larges, longues de 7 à 10 cm, larges de 20 à 40 mm, parfois en ovale très large. Leur base est cunéiforme et un peu dissymétrique. Leur sommet se termine en une courte pointe brusque et arrondie. Elles possèdent 8 à 10 nervures latérales peu saillantes. Les feuilles sont glabres. Le pétiole, courtement épaissi à la base est long de 3 à 6 cm ou d'avantage avant la première paire de folioles. Les pétiolules sont longs de 4 à 6 mm et légèrement épaissis.

4 – 3 – Les fleurs

Les fleurs blanches sont groupées en une grande inflorescence axillaire complexe appelée panicule. Une observation approfondie fait reconnaître une grappe composée de cymes. La panicule est longue de 15 à 20 cm, peu ramifiée, venant au sommet des rameaux avec les jeunes feuilles. Les fleurs sont tétramères, c'est-à-dire formées de verticilles successifs de 4 pièces florales. Le calice est composé de 4 sépales imbriqués. La corolle est blanche et large de 7 à 8 cm. Elle comporte 4 pétales entourant la couronne staminale étroite et dressée au centre. Les pédicelles mesurent 2 à 4 mm.

L'androcée est formé de 8 étamines soudées en un tube lobé au sommet et portant à son intérieur les anthères biloculaires et sessiles.

Le pistil comprend un ovaire entouré à sa base d'un disque nectarifère rouge et creusé en 4 loges qui contiennent les ovules superposés. Cet ovaire s'amincit en un style étroit, court et surmonté d'un stigmate épais et discoïde.

4 – 4 - Les fruits

Le fruit est une capsule dressée, globuleuse à tégument épais et ligneux. Cette capsule large de 4 à 5 cm est déhiscente et s'ouvre par 4 valves en commençant par le sommet et laisse voir les graines, plates, étroitement appliquées les unes contre les autres.

Les graines sont entourées d'une aile membraneuse et contiennent un albumen réduit, qui forme une couche granuleuse et rousse à la surface de l'embryon. Celui-ci est oblique ; on y observe nettement la radicule, les deux cotylédons, larges mais minces, étroitement accolés l'un à l'autre, et entre lesquels se trouve la gemmule minuscule.

4- 5 – Aires de répartition

C'est un arbre commun de toute la savane boisée du Sénégal (Berhaut, 1979). C'est un des plus grands arbres des savanes soudano- guinéenne. On le rencontre le plus souvent en individu isolé. Il est planté comme arbre d'avenue (Marche- Marchad, 1965). On le rencontre au Burkina Faso (I.R.B.E.T., 1982), au Mali, en Guinée, en Cote d'Ivoire, au Bénin, au Niger, au Cameroun, en Centrafrique (Berhaut, 1979).

4- 6 – Stations (Von Maydell, 1983)

Khaya senegalensis préfère les sols humides, profonds, les alluvions, le bord des cours d'eau et les baffons non inondés. Il pousse aussi sur les stations très sèches ou superficielles ou latéritiques quand les précipitations suffisent (pluies réparties entre 650 à 1300 mm sur 4 à 7 mois.

II - 2- Chimie

La première étude concernant le caïlcédrat date de 1849 (Kerharo1974).Elle est due à Caventou qui n'y trouve pas d'alcaloïdes mais isole, à par tir de l'écorce 0.08 p.100 d'une micro-résine non azotée qu'il dénomme caïlcédrine. Il découvre une matière colorante jaune verte, une matière colorante rouge, une matière colorante

jaune, du sulfate de chaux, du chlorure de chaux, du phosphate de chaux, une gomme, de l'amidon, de la cire et une faible quantité de l'essence obtenue par distillation d'un macéré aqueux d'écorce (Caventou, 1849). Quelques éléments d'information, selon Kerharo (1974) sont donnés par la suite dans l'atlas de Duveau (1856), une note de Delacroix (1903) à l'Académie des sciences indique la constitution de la gomme de tronc formée d'arabanes et de galactanes.

Une note du bulletin of l'Impérial Institute signale l'absence d'alcaloïdes dans les écorces et « l'impossibilité d'y caractériser un glucoside ou une substance neutre résineuse ou cristalline ». Elle ajoute que l'écorce renferme 10,3 p. 100 de tanins et une quantité de substance du genre de tanins, rouge-brun, instantanément soluble dans l'eau et ayant le goût amer de l'écorce (Moysé-Mignon, 1942).

En fait, il faut attendre 1939-1942 avec les recherches de Paris (1939) et Mme Moysé-Mignon (1942) pour trouver une poursuite des travaux de Caventou. Ces travaux concernent précisément l'espèce sénégalaise. Dans les feuilles sèches Mme Moysé-Mignon trouve 2 p. 100 de saccharose, un principe amer, mais pas d'amidon en quantité appréciable. Les écorces à 10,25 p. 100 d'eau donnent à l'analyse 22,36 p. 100 de matières solides totales, 18,05 p. 100 de matière soluble, 8,38 p. 100 de non tanins et 9,22 p. 100 de tanins (catéchiques).

L'auteur a également déterminé un taux de cendre de 10,4 p. 100 riches en oxalate de calcium (avec ions chlorure, carbonique, sulfurique, phosphorique, magnésium, calcium, potassium, sodium et à l'état de traces, fer, aluminium). Il trouve 0,5 p. 100 de substances lipidiques avec des stérols dans l'insaponifiable.

La présence d'une saponine acide est signalée et le principe amer caïlcédrine est obtenue avec des rendements variables 0,9 p. 100 dans les écorces de tronc de l'espèce provenant de Dakar et de Bignona ; 0,4 p. 100 dans celle provenant de Bambey. Les écorces de branches en contiennent également mais à des taux inférieurs : 0,30 p. 100 dans les échantillons de Bignona.

Pour Moysé-Mignon, (1942) le caïlcédrine est un mélange de deux composés non saturés renfermant dans leurs molécules un oxhydryle phénolique, un groupement méthoxylé et une fonction lactone. Puis de nouveau, le caïlcédrat tombe dans l'oubli, faute de pouvoir mieux élucider la nature de ses principes amers. Toutefois, en 1958 Fereol isole le nimbostérol (ou β -sitosterol) et son glucoside, la nimbostérine (Brochère-Fereol et Coll. 1958) tandis qu'en 1959 Polonsky et Lederer

obtiennent à partir de l'écorce 0,04 p. 100 d'un pigment jaune identique à la diméthoxy-2,6 benzoquinone.

Mais c'est seulement à partir de 1963 que la lumière a pu être faite sur la nature des principes amers grâce aux travaux des chercheurs Bevan et Coll. (1963 ; 1965) ; Adesogan et Coll. (1967 ; 1968).

A partir d'échantillons d'origine nigérienne, ces auteurs isolent les principes amers et en déterminent les structures. L'aboutissement de leurs travaux les a conduits à l'obtention de toute une série de corps nouveaux apparentés bien définis, appartenant au groupe de la limonine. Ce sont des terpénoïdes à fonction lactonique ou hypoxydique et cycle furanique. Ils sont susceptibles d'exister sous différentes formes dans les organes de la plante. Ces corps sont répartis comme suit (Adesogan et Coll. 1967 ; 1968) :

Ecorce de tige :

7- déacétyl-7-oxogédunine ; Angolensate de méthyle ; méthyle-6-hydroxyangolensate ; 3-destigloyl-3 β , 12 β -diacétoxyswietenine.

Graine :

Khivorine ; 3-déacéthylkhivorine ; 7-déacéthyl-7-oxokhivorine 3, 7-didéacéthyl-7-oxokhivorine ; 3-destigloyl-6-déoxy-swietenine ; 3- β -acétoxy-swietenine.

Racine :

Khayasine.

Ecorce de racine :

Méthyl-6-hydroxyangolensate.

Les résultats de ces travaux confirment en outre l'absence d'alcaloïdes, mais la présence de nimbostérol dans les écorces et une huile dans les feuilles. Plusieurs auteurs signalent la présence des limonoïdes dans les fruits, les feuilles et les écorces (Olmo et al., 1996 et 1997 ; Khalid et al., 1998 ; Govindachari et Kumari 1998).

Les limonoïdes sont des terpénoïdes très riches en oxygène et ils ont la même voie de la synthèse que les quasinoïdes (Connolly, 1983). Ces limonoïdes de types phragmalines pour la plupart ont pour noms : les khayanolides A, B et D ; le khayalactol, le 1-O-acéthylkhayanolide A, le 2-hydroxyseneganolide, le méthyl angolensate. Ces limonoïdes sont de puissants insecticides mais leur activité

antiprotozoaire est modérée (Khalid et al., 1998 ; Nkatani et al., 2000 ; Abdelgaleil et al., 2003).

Plus récemment d'autres limonoïdes de la famille des mexicanolides, le seneganolide A, le 2-hydroxyseneganolide A et le 2-acétoxyseneganolide A ont été isolés des graines de *Khaya senegalensis* et ont une propriété antifongique in vitro (Abdelgaleil et al., 2004). Les graines de *Khaya senegalensis* produisent également une huile dont le profil en acides gras est le suivant : 21,90 p. 100 d'acide palmitique ; 64,62 p. 100 d'acide oléique ; 10,41 p. 100 d'acide stéarique et 3,58 p. 100 pour les autres acides gras (Okieimen et Eromosele, 1999).

Dans le même temps la gomme a été particulièrement étudiée par Aspinall et Coll. (1960 ; 1965 ; 1970). Elle est de deux composants polysaccharidiques. Le principal composant donne à l'hydrolyse un mélange d'acide aldobiouronique, les acides uroniques rhamnose-galactose pyranoside et galactose-méthylglucopyranoside.

Le composant mineur est formé de 3 acides aldobiouroniques, glucopyranosyl uronique galactose. Dans les feuilles, Plouvier (1965) a mis en évidence le D-pinitol.

Adesina (1983) fait état de la présence de scoparone (à l'état de trace) de scopoletin (coumarine majeure), d'aescaline et de trois stérols (le β -sitostérol, le stigmastérol et le campestérol dans *Khaya senegalensis* et de sa conspécifique voisine *Khaya ivorensis*.

Banerji et Nigam (1984) font une revue de la composition chimique du bois de *Khaya senegalensis*. Ils citent ainsi la présence des composés suivants :

Khivorin

Déacétoxy-7-oxokhivorin

Méthyle angolensate

6 hydroxyméthyl angolensate

6-acétoxy méthyl angolensate

Méthyl-3-acétoxy-6 hydroxy- 1-oxo – meliac – 14(15) - enate

Mexicanolide (substance B)

2 hydroxy fissinolide

Khaysin

Khayasin B

Khayasin T

3 β , 12 β – diacétoxy 1 – oxo – meliac – 8 (30) – enate

Methyl senegalensate

β – Sitostérol

7 deacetoxy – 7 – oxo – gedunin

Olmo et Coll. (1996) isolent trois nouveaux limonoïdes des écorces.

Ils isolent également, outre les coumarines et les stérols cités plus haut par Adesina (1983), le 3β –O–D–glucopyranosylsitostérol. En 1997 ils isolent deux limonoïdes des feuilles, la scopoletin, le β -quercitrin et la rutine.

En 1993, le screening phytochimique des écorces du tronc a permis de mettre en évidence les principaux groupes chimiques suivants : (Lompo, 1993) : acides gras, caroténoïdes, coumarines, émodols, tanins, composés réducteurs, anthracenosides, glycosides stéroïdes, flavonosides, glucides, saponosides, stérols et triterpènes, anthocyanosides.

II – 3 - Pharmacologie – Toxicologie

Divers essais d'applications thérapeutiques ont été tentés au cours de la deuxième moitié du siècle dernier. Duveau, cité par Kerharo (1974) dans sa thèse soutenue en 1856 signale que la poudre d'écorce a été utilisée dans le pansement des ulcères atoniques.

Rulland cité par Kerharo (1974), médecin de marine, fait des essais à l'hôpital de Gorée sur l'extrait mou de caïlcédrat employé, à la dose de 1 à 3 g par jour, contre les fièvres intermittentes. Il obtient de bons résultats et l'administre également contre les diarrhées, la dysenterie chronique ; il préconise le vin de quinquina, la poudre de caïlcédrat contre les stomatites et les ulcères.

A Paris, à l'hôtel-Dieu, Motard-Martin, cité par Kerharo (1974), essaie sur trois fébriles l'extrait mou de caïlcédrat à la dose de 1, 25 g par jour et obtient de bons résultats. Les résultats obtenus paraissent pour tant avoir été contradictoires, et quelques années plus tard, en 1868, Soubéiran, cité par Kerharo (1974), écrit « Aujourd'hui, ni Brest, ni Cherbourg, non plus sur la Côte Occidentale d'Afrique n'ont fait aucun emploi de cette substance.

Les successeurs de M. Rulland n'ont pu obtenir de résultats aussi satisfaisants que ceux qu'ils avaient annoncés. L'extrait de caïlcédrat est entre leur main un médicament infidèle.

Le caïlcédrat est un tonique amer ayant à un haut degré les propriétés des végétaux de cette classe. Jusqu'alors, on n'avait pas pu reconnaître à cette espèce aucune propriétés réellement fébrifuge ». Les travaux de Moïse-Mignon cité par Kerharo (1974) ont montré que l'émacéré aqueux d'écorce au 1/10^{ème} (p/v) n'a aucune action sur le poisson rouge et que la teinture au 1/10^{ème} (p/v) dans l'alcool à 70°, injecté par voie intraveineuse au chien même à raison de 500 mg/kg (5 ml/kg) ne provoque aucun effet d'intoxication. D'autre part les différentes préparations ne sont pas hémolytiques.

Malcom et Coll. (1969) cités par Kerharo (1974) ont détecté une certaine action antibiotique des extraits aqueux de tige vis-à-vis de *Sarcina* et *Staphylococcus aureus*.

Pares et Coll. (1979) pratiquent des antibiogrammes positifs avec des extraits alcooliques d'écorces de tronc sur la Mycobactérie nouvelle dont les caractères et le comportement donne à penser qu'il s'agit du *Mycobacterium leprea*.

Selon Kerharo (1974), les essais du caïlcédrin brut (principe amer) ont montré que les solutions étaient assez toxiques pour les paramécies qui sont tuées en 20 mn à la dose de 1/10000.

Injecté par voie intraveineuse, le caïlcédrin n'est pas toxique pour le chien (chez lequel, il ne produit qu'une légère hypotension), ni pour le cobaye. Injecté chez le cobaye par voie sous cutanée ou intrapéritoniale à la dose de 50 mg/kg, il a une action hypothermisante particulièrement nette chez l'animal mis en état d'hyperthermie expérimentale ; l'abaissement de la température pouvant atteindre 2 à 3° par rapport au témoin.

Il serait alors étonnant selon Kerharo (1974) que la réputation extraordinaire de cette drogue en médecine traditionnelle sénégalaise ne soit pas fondée. La mise en évidence de son action hypothermisante justifie déjà dans une certaine mesure son emploi comme fébrifuge.

Adesina (1983) révèle que l'extrait hydro alcoolique des écorces du tronc à raison de 2 g/kg provoque une dépression, une sédation et réduit l'activité locomotrice chez la souris. Il protège chez 70 % des souris contre les convulsions induites par le leptazol.

Njoku et Coll. (1988), cités par Olwa(1990) indique que les extraits de graines, d'écorces et de racines étaient toxiques pour les trypanosomes (*trypanosoma gambiense*), les *plasmodiums* et encore plus toxique sur la filaire de l'onchocercose.

Olayinka et Coll. (1992) montrent que l'extrait hydroalcoolique à 1mg/kg chez le rat anesthésié à l'uréthane provoque une élévation de pression artérielle qui passe de 122 ± 3 mm Hg chez le rat de contrôle à 145 mmHg chez le rat du lot testé. Les auteurs indiquent que cette action hypertensive est en partie due à la stimulation des β -récepteurs et des α -adrénorécepteurs.

Champagne et Coll. (1992) font état de l'activité contre les insectes herbivores des limonoïdes (plus de 200 insectes et de mites).

En 1993 les travaux de Lompo (1993) mettent en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux sur l'œdème à la carragénine de la patte de rat, tandis que Tidjani (1993) met en évidence le même effet avec un extrait hydroalcoolique et une inhibition de l'œdème de l'oreille de souris induit par l'huile de croton ;

Olayinka et Coll. (1994) mettent en évidence la double action (contracturant et relaxante) de l'extrait méthanoliques sur le muscle lisse de la vessie du rat en fonction de doses administrées (relaxation dose dépendante aux faibles doses : contraction dose dépendante aux doses fortes). La relaxation serait due à la fois à la stimulation des récepteurs adrénergiques et à une action directe dépressive sur la vessie. La contraction serait levée par la quinaquine et due à la stimulation des récepteurs purinergiques.

En 1995, les travaux de Lompo (1995) démontrent une activité antispasmodique spasmolytique des extraits aqueux de poudre d'écorces sur des contractions intestinales de rat provoquées par l'acétylcholine et le chlorure de baryum. Ils confirment par ailleurs l'effet hypothermisanant annoncé par Kerharo (1974) qui pourrait être un corollaire des manifestations de la toxicité aiguë de la plante (Lompo, 1995 b).

II – 4 – Emplois en médecine traditionnelle

II - 4 – 1 – Données bibliographiques

Les principales indications retenues sont les suivantes :

◆ - Fébrifuge et tonique

Selon Berhaut (1979) d'une manière générale, la plante est décrite comme fébrifuge et tonique (Mascre, 1965 ; Rageau, 1973 ; Kerharo, 1974). Dans ce cas l'écorce sous ses diverses formes (macération, décoction) est utilisée seule ou en association avec celle du *Mytragyna inermis*. Kerharo (1974) rapporte que *Khaya senegalensis* jouit d'une réputation inégalée de fébrifuge et de tonique capable de donner un coup de fouet aux individus fatigués. Il est couramment utilisé comme antipaludique d'où le nom de quinquina du Sénégal qu'on lui a donné quelque fois.

Von Maydell (1993) signale que les graines et les feuilles sont utilisées contre la fièvre. Kerharo (1974) mentionne que la graine, très amère, aurait plus de principe fébrifuge que l'écorce.

◆ - Troubles gastro-intestinaux

Les fleurs sont utilisées dans les troubles de l'estomac ; de même, le décocté d'écorce en boisson est utilisé contre les maux de ventre (Berkhaut, 1979). Dans les gastralgies, la poudre d'écorce est associée aux aliments du malade. On peut lui faire sucer un fragment de tige également.

Khaya senegalensis utilisé comme laxatif (Von Maydell, 1983). Les écorces seraient douées de propriétés purgatives (Kerharo, 1974).

◆ - Entéralgies

Les écorces séchées et pulvérisées en décoction et en boisson le matin à jeun, sont utilisées seules (Berkhaut, 1979) ou en association avec *Afzelia africana* comme anti-entéralgique.

◆ - Inflammations

Les extraits de racines sont utilisés contre les inflammations des gencives (Von Maydell, 1983). La même indication est signalée dans la région bissa au Burkina Faso par Guinko, 1977 en ce qui concerne la décoction de tige en gargarisme ou la poudre d'écorce de tige en frottement sur les gencives.

◆ - Parasitoses intestinales

Selon Mascre (1965) et Rageau, (1973) l'écorce est employée comme anti-dysentérique. Berhaut, (1979) indique quant à lui, les propriétés vermifuges de l'écorce. Les extraits de racines sont utilisés contre les vers solitaires Von Maydell, (1983). Les écorces sont utilisées en médecine humaine et vétérinaire comme anthelminthique contre le ténia (Oliver-Bever, 1986). Cette indication contre les vers intestinaux est préconisée en Guinée Conakry pour le décocté des racines (Keita et Coll., 1995).

◆ - Antiseptique – antibiotique

Les fleurs sont utilisées pour le traitement des maladies vénériennes (Berhaut, 1979), syphilis, blennorragie (Kerharo, 1974). L'écorce pulvérisée se met sur les plaies, les ulcères après lavage avec la décoction de l'écorce. Elle est également employée sous diverses formes (décocté, macéré) en usage interne et externe à la fois dans le traitement de la lèpre, la syphilis, la varicelle et dans ce cas les feuilles sont ajoutées aux différentes préparations (Kerharo, 1974). Les extraits de racines sont utilisés contre la jaunisse, mais également pour la désinfection des plaies sanguinolentes (Von Maydell, 1983), ulcérées et la varicelle (Bouquet et Debray, 1974).

Le macéré d'écorces et de feuilles est utilisé dans le traitement de la sénescence (Kerharo, 1974). Les feuilles réduites en poudre et prises sont utilisées contre les céphalées (Adjanohon et Coll., 1985). Les extraits de racines sont utilisés contre les dermatoses (Institut de Recherche en Biologie et Ecologie Tropicale, 1983), la gale (Berhaut, 1979), les piqûres de scorpion, les allergies (Von Maydell, 1983) et les feuilles sont utilisées contre les névralgies. Les racines sont prescrites contre la stérilité, les maladies mentales.

Khaya senegalensis est signalé comme aphrodisiaque et utilisé également en magie (Von Maydell, 1983).

II - 4- 2 – Données recueillies auprès des tradithérapeutes burkinabé (Lompo, 1995)

✓ Cardiologie

Tachycardies, maux de cœur

Boire la macération de l'écorce de tronc

✓ Maladies vasculaires

Varices, hémorroïdes

Boire la macération de l'écorce de tronc

Prendre des bains de siège (cas d'hémorroïdes)

✓ Dermatologie

Gale, eczéma, ulcères des jambes

Prendre en bain la décoction des écorces ou en application de la poudre d'écorce associée au beurre de karité ;

✓ Gastro-entérologie

Colopathie fonctionnelles, constipation, douleurs abdominales, douleurs rectales, ulcères d'estomac, vomissement, parasitoses, indigestions.

✓ Gynécologie

Dysménorrhées, stérilité

Boire la macération de l'écorce

✓ Maladies infectieuses et parasitaires

Chancre mou, rougeole, oreillons, varicelle

Paludisme, fièvre, amibiase, téniasis

Boire la décoction des écorces

Prendre des bains de la décoction

Faire une application de la poudre.

✓ Neurologie

Céphalées : prendre en prise de la poudre d'écorce pilée.

Hémiplégie : prendre en bain et boisson la décoction d'écorces

✓ Odonto-stomatologie

Dentition- gingivites

Boire la macération légère des écorces

✓ Ophtalmologie

Brûlure oculaires, conjonctivites

Une goutte de la macération filtrée d'écorce dans l'œil deux fois par jour.

✓ ORL

Anosmie/ priser de la poudre ou prendre une goutte de la macération dans les narines.

✓ Pneumologie

Asthme – pneumopathie

Boire la macération d'écorce

✓ Rhumatologie

Arthrite, dorsalgie, lombalgie, douleurs articulaires.

Prendre en bain et boisson de la décoction d'écorces.

✓ Traumatologie

Luxation : prendre en bain, boisson et application chaude de la décoction d'écorce.

✓ Désinfection

Plaie : appliquer la poudre d'écorce.

✓ Autres applications

Dans l'Ouest du Burkina, dans la Comoé, les racines seraient utilisées contre :

- . Les maladies sexuellement transmissibles
- . La rougeole
- . La sorcellerie
- . Les empoisonnements

Dans l'est du Burkina, le Gourma, l'écorce de tronc est utilisée pour immuniser les volailles contre les maladies épidémiques.

La poudre d'écorce serait utilisée contre les puces et les termites.

III – LES GROUPES CHIMIQUES D'ORIGINE VEGETALE A PROPRIETES ANTIOXYDANTES

III – 1 – Les tanins

Ce sont des composés phénoliques hydrolysables ayant la propriété de précipiter les métaux lourds, la gélatine, les alcaloïdes et d'autres protéines. Il existe deux groupes principaux de tanins, les tanins non hydrolysables ou condensés et les tanins hydrolysables.

III-1-1 - Les tanins hydrolysables

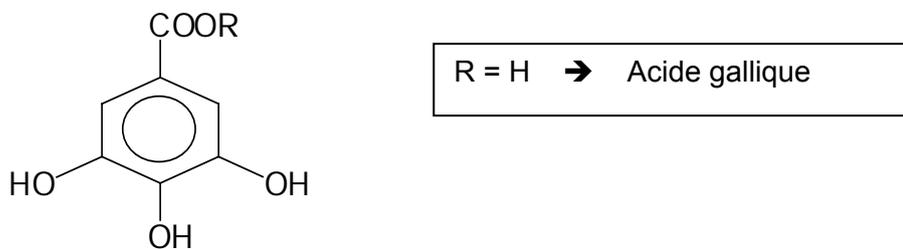


Figure 5: Noyau de base des tanins galliques

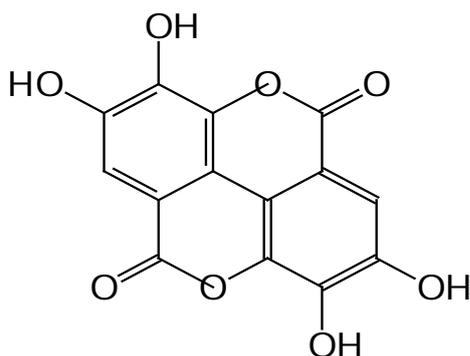


Figure 6 : Noyau de base des tanins ellagiques

III- 1 -2- Les tanins condensés

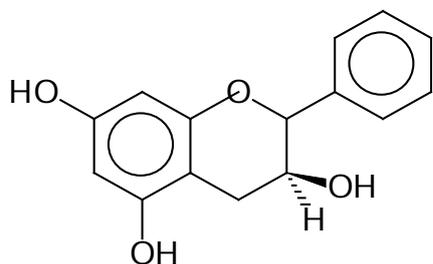


Figure 7 : Catéchol (noyau de base des tanins condensés)

Les tanins sont antidiarrhéiques, hémostatiques et protègent la peau et les muqueuses. Ils sont antibactériens, antifongiques et antiseptiques, vasoconstricteurs des petits vaisseaux superficiels et favorisent la régénération des tissus (en cas de blessure). (Bruneton, 1993).

Ils inhibent par ailleurs la peroxydation des lipides, la réplication des virus en inhibant la transcriptase inverse. (Fenglin, 2004).

III -2- Les flavonoïdes

Ce sont des pigments responsables de la coloration des fruits, fleurs et feuilles de la plante. L'élément structural de base de tous les flavonoïdes est le 2-phenylchromane.

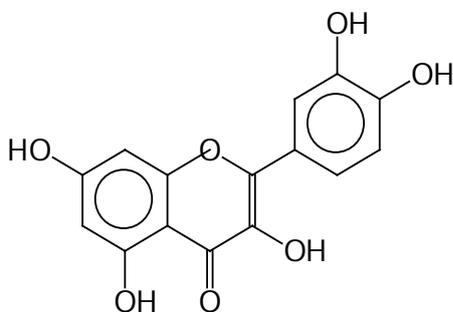


Figure 8 : Quercétol (génine du rutoside)

Les flavonoïdes sont anti-allergiques, antispasmodiques, cytostatiques, diurétiques, veinotoniques, vasculoprotecteurs, hypocholestérolémiants, antibactériens et antiviraux (Bruneton, 1993). Ils sont anti-inflammatoires par la modification du métabolisme de l'acide arachidonique, l'inhibition de la cyclooxygénase et/ou de la lipooxygénase (Di Cario et al. 1999).

L'inhibition de la cyclooxygénase entraîne une accumulation d'AMP_c intracellulaire et apparaît comme le mécanisme majeur impliqué dans l'effet antiagrégant plaquettaire des flavones. Ils piègent des radicaux libres, ce qui leur confère des propriétés antioxydantes (Fenglin, 2004).

III-3- Les saponosides

Les saponosides sont des hétérosides très répandus dans le règne végétal. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. Ils sont généralement à génère triterpénique ou stéroïdique. Les saponines sont utilisées comme vésicifères et hémolytiques pour les soins d'ecchymose et des contusions. (Bruneton, 1993).

III – 4 – Les anthocyanosides

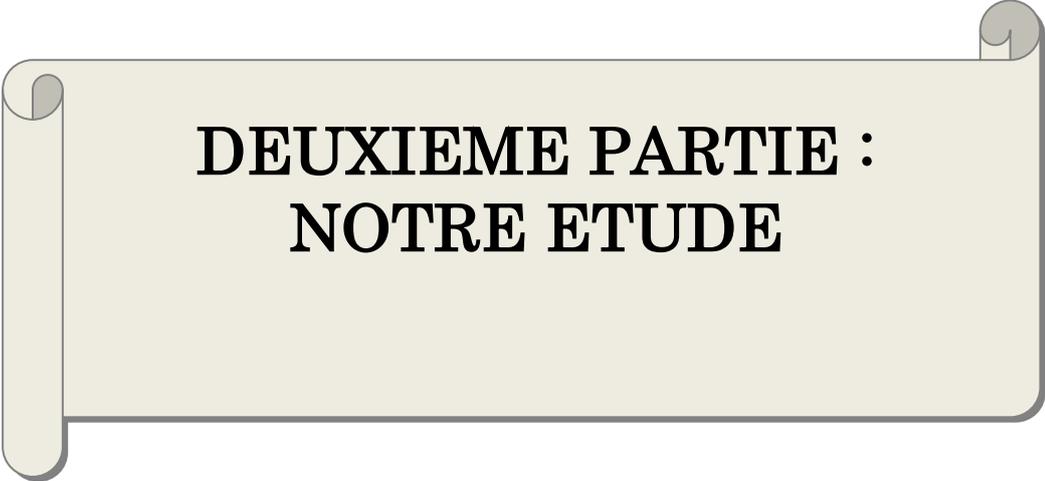
Ces sont des pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, pourpre, bleue ou violette de la plupart des feuilles ou des fleurs. Ils sont instables en milieu aqueux donnant lieu à des variations des couleurs en fonction du pH ; ils sont sensibles à la lumière, aux métaux lourds et insolubles dans les lipides. Les anthocyanosides agissent sur les capillaires en diminuant leur perméabilité et en augmentant leur résistance. Ils ont par une action anti-œdémateuse et augmentent la régénération du pourpre rétinien (Bruneton, 1993).

III – 5 – Les coumarines

Les coumarines sont des dérivés du phényl-propane. On peut leur attribuer les propriétés anti-inflammatoires ; certains furanocoumarines sont photosensibles, les pyranocoumarines luttent souvent contre les troubles de la sénescence cérébrale (Bruneton, 1993).

III - 6- Les composés triterpéniques

Ce sont des composés issus de la condensation d'unités isopréniques. Selon la structure du squelette on peut distinguer les monoterpènes, des triterpènes et/ou stéroïdes (saponosides, hétérosides cardiotoniques) des caroténoïdes. Ils sont anti-inflammatoires, spasmodiques, diurétiques, antibactériens, antifongiques, et antihelminthiques (Bruneton, 1993).



DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE

DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE

I- OBJECTIFS DE L'ETUDE

I-1- Objectif général

Comparer les activités antioxydantes des extraits d'écorces du tronc, des feuilles et des fruits de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. JUSS. (Meliaceae).

I-2- Objectifs spécifiques

I – 2 – 1 - Caractériser les principaux groupes chimiques doués d'activités antioxydantes présents dans les différents organes de la plante.

I – 2 – 2 -Evaluer l'activité antioxydante des différents extraits de *Khaya senegalensis*.

II –CADRE DE L'ETUDE

Notre étude a été réalisée dans les laboratoires de pharmacologie - toxicologie et de chimie du département de Médecine PHarmacopée TRAditionnelle / Pharmacie (MEPHA TRA /PH) de l'Institut de Recherche en Science de la Santé (IRSS). L'IRSS est une structure d'exécution scientifique du CNRST chargée de coordonner les recherches en matière de santé au Burkina-Faso. L'IRSS a pour missions de :

- mener des recherches sur les problèmes prioritaires de santé
- coordonner la recherche dans le domaine de santé au Burkina
- valoriser et diffuser les résultats de la recherche

L'institut est structuré en deux départements :

- le Département Biomédical et Santé Publique (BIOMED/SP) chargé de développer la recherche dans le domaine de la bio clinique, de la nutrition, de l'épidémiologie, des politiques et système de santé.
- le Département Médecine, Pharmacopée Traditionnelle et Pharmacie (MEPHATRA/PH) chargé du développement de la recherche en médecine et pharmacopée traditionnelle et en pharmacie.

Nos travaux ont eu lieu dans les laboratoires de chimie, de toxicologie et de pharmacologie du département MEPHATRA/PH.

Son département MEPHA TRA / PH a pour mission entre autre de valoriser les données de la médecine traditionnelle par l'investigation des recettes et plantes médicinales en vue de la production des phytomédicaments.

III - MATERIELS ET METHODES

III-1- Matériels d'étude

III –1- 1 – Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques que nous avons au laboratoire sont diversifiés et on a :
éther de pétrole,

- l'acétate d'éthyle,
- le mélange méthanol eau,
- le chlorure ferrique FeCl_3 ,
- le toluène,
- l'acétone,
- l'acide formique,
- l'eau distillée,
- le chloroforme,
- solution de KOH à 5%,
- HCl à 2%,
- le diphéyl borate,
- éthyle glycol,
- anisaldéhyde,
- acide sulfurique,
- le Diméthyl sulfoxyde (DMSO),
- le méthanol,
- le dichloromethane,
- liqueur de Fehling,
- acide sulfurique concentré,
- Sulfate de sodium anhydre,
- tournure de magnésium,
- acide chlorhydrique concentré,
- ammoniac à 25 %,
- solution saturée d'antimoine,
- DPPH,.....

III-1-2- Matériels divers de laboratoire

- Bocaux,
- spatules,
- pelles à peser,
- ampoules à décanter,
- broyeure,
- balance de type, et de portée maximale de 202 g,
- entonnoir,
- évaporateur rotatif de type buchi couplé à une pompe,
- des ballons,
- des flacons,
- des verres de montre,
- l'étuve,
- des pipettes jaugées,
- des tubes,
- des tubes eppendorf,
- réfrigérateur,
- micropipettes,
- plaques de 96 puits,
- embouts,
- spectrophotomètre lecteur de plaque couplé à un ordinateur,
- papier paraffine,
- plaques de CCM,
- lampe UV de type UVSL (254 et 360 nm),
- papier filtre,

III-1-3- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par la poudre d'écorce, de feuilles, de coques et de graines de *Khaya senegalensis*.

Les échantillons de la plante ont été récoltés dans la commune rurale de Koubri, région du plateau central entre avril 2008 pour les écorces et les feuilles et février 2009 pour les fruits. Ces échantillons ont été séchés à l'IRSS puis réduits en poudre fine. Les poudres obtenues ont servi pour les différentes extractions.

III-2- Méthodes d'étude

III-2-1- Préparation des extraits

- Les extraits aqueux : cinquante (50) g de chaque poudre végétale sont macérés dans 250 ml d'eau distillée pendant 24 heures, puis filtré. Chaque filtrat a été lyophilisé et le poids sec est pesé.
- Extraits A : cinquante (50) g de la poudre végétale ont été macéré avec 250 ml de mélange méthanol/eau (80/20 : v/v) sous agitation, puis filtré. Le filtrat est ensuite concentré par évaporation du solvant. 1ml du filtrat concentré est séché à l'étuve dans un verre de montre jusqu'à poids constant et pesé pour en déterminer la concentration de l'extrait.
- Epuisement: cent (100 g) de poudre sont macérés par 500 ml d'éther de pétrole sous agitation puis on percole jusqu'à obtention d'éther de pétrole clair. L'éther de pétrole permet d'éliminer toute la matière grasse et la chlorophylle. Sur le marc, on fait passer l'acétate d'éthyle qu'on laisse macérer sous agitation et l'extrait est recueilli par percolation jusqu'à l'acétate d'éthyle clair. L'extrait d'acétate d'éthyle a été évaporé à sec et on pèse le résidu sec. En fin la fraction hydroalcoolique (extraits B) est obtenue par macération du marc par un mélange méthanol/eau (80/20 : v/v) puis percolation jusqu'à obtention du solvant clair. L'extrait est concentré par évaporation du solvant. 1ml de l'extrait est séché à l'étuve dans un verre à montre jusqu'à poids sec et on pèse.

III-2-2- Rendement de l'extraction (RE) et le taux d'humidité résiduelle (THR)

◆- Taux d'humidité résiduelle de la drogue végétale

Une prise d'essai (P_o) d'un gramme de poudre végétale a été placée à l'étuve pendant 1 h 30 min à 110°C. Après refroidissement, on détermine le poids du résidu sec. L'opération est répétée plusieurs fois sur le même échantillon jusqu'à poids constant (P). Le taux d'humidité résiduelle est calculé selon la formule :

$$\text{THR} = (P_o - P / P_o) \times 100$$

P_o : Poids initial de la poudre végétale

P : Poids final de la poudre végétale

◆ - Rendement d'extraction

Une prise d'essai de 1 ml du macéré aqueux a été mise dans une capsule en porcelaine et évaporée à sec à l'étuve à 110°C pendant 2 h.

Le résidu pesé à poids constant a permis d'évaluer la teneur en eau de l'extrait.

$$R = \frac{P_r \cdot V_T}{P} \times 100$$

R = Rendement d'extraction

P_r = Poids du résidu/ml

V_T = Volume total de l'extrait

P = Poids de la poudre de la drogue végétale

III-2-3- Analyse phytochimique

L'analyse phytochimique des extraits a pour but de déterminer les différents groupes chimiques présents dans ces extraits. Ce screening peut être réalisé par des réactions de caractérisation en milieu liquide ou par chromatographie sur couche mince. Nous avons choisi de faire le screening par les deux méthodes.

II-2-3-1- Les réactions de caractérisation en milieu liquide

Elles ont été réalisées selon la méthode classique de Ciulei (1982), validée au laboratoire de phytochimie de ME.PHA.TRA /PH de l'IRSS.

Il s'agit des tests de caractérisation basés sur des réactions colorées visibles à la lumière du jour et à l'UV. Ils vont permettre la mise en évidence des groupes chimiques ayant une action antioxydante. Les groupes chimiques recherchés sont : Les tanins, les saponosides, les oses et polysides (composés réducteurs), l'aglycone flavoniques, l'émodol, les coumarines, les caroténoïdes, les stérols et triterpènes.

Les extraits ont été hydrolysés avant les différents tests de caractérisation. Pour cela, 2 volumes de l'extrait pour 1 volume d'HCl 10% sont mélangés et chauffés à reflux pendant 30 mins. Après refroidissement, le mélange est filtré et on procède au partage liquide-liquide avec de dichlorométhane. On obtient une phase organique de dichlorométhane et une phase aqueuse sur lesquelles on caractérise les différents groupes chimiques.

Les extraits hydroalcooliques(A) sont d'abord concentrés par élimination du solvant puis soumis au partage liquide – liquide par le dichlorométhane. On obtient une phase organique non hydrolysée tandis que la phase aqueuse est hydrolysée comme vue plus haut. Sur les phases organiques de dichlorométhane, on ajoute de sulfate anhydre sodium pour éliminer les résidus d'eau.

Les extraits organiques non hydrolysés sont utilisés pour la caractérisation l'aglycone flavoniques, l'émodols, les coumarines, les caroténoïdes, les stérols et triterpènes. Sur les fractions hydrolysées, on caractérise les flavonoïdes (flavonosides), les anthracénosides, les tanins, les saponosides, les oses et polyoses (composés réducteurs), .

→ Les principes des tests :

❖ La recherche des tanins

Dans un tube à essai, 1ml d'extrait de la plante est dilué dans 1ml d'eau distillée auquel on ajoute 2 à 3 gouttes de $FeCl_3$ 1%. L'apparition d'une coloration bleu noir témoigne de la présence des tanins galliques et d'une coloration vert foncé témoigne de la présence des tanins catéchiques.

❖ - La recherche des saponosides

Une prise d'essai de 2 ml de l'extrait aqueux a été diluée au demi avec de l'eau distillée (1/1 v/v) dans un tube à essai (1,6 cm de diamètre) ; le mélange obtenu a été agité pendant 15 min en continu.

L'apparition d'une colonne de mousse d'au moins 1 cm de haut persistant au minimum 15 min témoigne de la présence de saponosides.

❖ - La recherche des flavonosides

La réaction de Shibata ou Test à la cyanidine a été utilisée :

Une prise d'essai de 5 ml de l'hydrolysate a été évaporée à sec dans un tube à essai. Le résidu obtenu a été dissout dans 1 à 2 ml d'une solution de méthanol à 50%. Le mélange obtenu a été légèrement chauffé dans un bain-marie chaud. A près refroidissement, des fragments de tournure de magnésium ont été ajoutés à la solution et 3-4 gouttes d'HCl concentré y sont ajoutées. L'apparition d'une coloration rouge (flavones) ou orange (flavanones) indique la présence des flavonosides.

❖ - La recherche des stérols et triterpènes

La réaction de Liebermann-Burchard a été utilisée :

Une prise d'essai de 2 ml de l'hydrolysate a été évaporée à sec dans un tube à hémolyse placé dans un bain-marie chaud. Le résidu obtenu a été dissout dans 0,5 ml d'anhydride acétique auquel on a ajouté 0,5 ml du solvant d'extraction (CH_2Cl_2). Le mélange a été transféré dans un tube à essai.

On a ensuite fait couler lentement au fond du tube, 1 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. L'apparition d'un anneau rouge brun ou violet au contact des deux solutions témoigne de la présence des glycosides stéroïdique et triterpénique. Le liquide supérieur devient bleu verdâtre ou violet en cas de présence de stérols et triterpènes.

❖ - La recherche des anthocyanes

Une prise d'essai de 2 ml de la phase aqueuse de l'hydrolysate a été introduite dans un tube à essai auquel on a ajouté une ou deux pastilles de soude. L'apparition d'une coloration verte ou bleue témoigne de la présence des anthocyanes.

❖ - La recherche des dérivés coumariniques

Une prise d'essai de 2 ml de l'hydrolysate a été évaporée à sec. Le résidu obtenu a été dissout dans 2 ml d'eau distillée chaude et la solution obtenue a été répartie dans 2 tubes à essai :

Tube 1 : tube témoin + eau distillée (0,5 ml)

Tube 2 : tube dans lequel on ajoute 0,5 ml d'ammoniaque à 2 %.

L'apparition d'une fluorescence verte ou bleue dans la solution alcaline après observation sous UV (254 nm et 366 nm) témoigne de la présence des dérivés coumariniques.

❖ -La recherche des émодols

La réaction de Bornsträger a été utilisée :

Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'hydrolysate, on a ajouté 1 ml d'ammoniaque 25 %. Après agitation, l'apparition d'une coloration rouge du surnageant atteste la présence des émодols.

❖ - La recherche des composés réducteurs

Dans un tube à essai contenant 0.5 – 1ml d'extrait dilué, on ajoute 0.5 – 1ml de la liqueur de Fehling et agité. L'apparition d'un précipité rouge dénote la présence de composés réducteurs dans l'extrait.

❖ - La recherche des caroténoïdes

Sur 2 – 3 ml de l'extrait, on ajoute 2 – 3 gouttes d'une solution saturée de tri chlorure d'antimoine. On observe des pigments verts qui deviennent rouge (réaction de Carr Price). Avec une solution d'acide sulfurique concentrée, les caroténoïdes se colorent en bleu foncé ou rouge.

III-2-3-2- La chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM a pour but de confirmer la présence effective des groupes chimiques (tanins, flavonoïdes, stérols et triterpènes et saponosides) mis en évidence par les tests de caractérisation en milieu liquide. A cet effet nous avons utilisé une phase stationnaire qui est un support constitué par du gel de silice sur plaque de verre 5x10 cm, et un éluant composé par un système de solvants appropriés.

Nous avons effectué une CCM ciblée sur des composés ayant une activité antioxydante. Les différents extraits sont déposés sur la plaque de migration en présence d'un témoin. Après migration et séchage à l'étuve, chaque plaque est révélée par un réactif spécifique de la substance recherchée.

Les solvants de migration et les réactifs de révélation utilisés en fonction des groupes chimiques sont consignés dans le tableau suivant:

Tableau II : solvants de migration et réactifs de révélation

Groupes chimiques	Solvants de migration	Réactifs de révélation
Tanins	Toluène – acétone – acide formique (25 ; 25 ; 5 v/v/v)	Solution alcoolique à 95% et d'acide chlorhydrique HCl à 2%
Flavonoïdes	Acétate d'éthyle – acide formique – eau distillée (6 ; 1 ; 1 v/v/v)	Réactif de Neu (Diphénylborinate 1% dans du méthanol + PEG 4000 5% dans du méthanol)
Saponosides	Acétate d'éthyle – méthanol – eau (80,15 ; 5 ; v/v/v)	Anisaldéhyde 0,5ml, H ₂ SO ₄ 5ml méthanol 85ml
Anthocyanoside/ anthraquinone	Toluène – acétone – acide formique (25 ; 25 ; 5 v/v/v)	Solution alcoolique à 5% de KOH
Stérols et triterpènes	Acétate d'éthyle – méthanol – eau (80 ; 15 ; 5, v/v/v)	Anisaldéhyde 0,5ml, H ₂ SO ₄ 5ml, méthanol 85ml

Tanins, anthocyanosides et anthraquinones : toluène – acétone – acide formique (25 ; 25 ; 5 v/v).

Les anthocyanosides et les anthraquinones sont révélés par une solution alcoolique à 5% de KOH tandis que les tanins ont été révélés par une solution d'alcool 95 % et d'acide chlorhydrique (HCl) à 2 %.

Flavonoïdes : acétate d'éthyle – acide formique – eau distillée (6 ; 1 ; 1 v/v) et révélé par une solution de diphényle borinate 100 mg, méthanol 50 ml, éthyle glycol 400 mg.

Saponosides, stérol et triterpènes : acétate d'éthyle – méthanol - eau (80 ; 15 ; 5 v/v) et la plaque est révélée par l'anisaldéhyde 0.5 ml, acide sulfurique 5 ml, méthanol 85 ml.

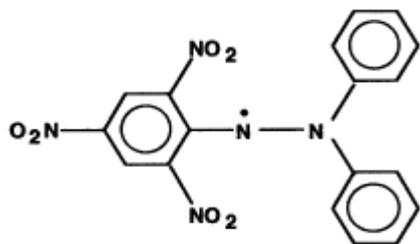
Après migration, séchage et révélation toutes les plaques sont observées à la lampe UV et on note les colorations caractéristiques. L'analyse des chromatogrammes a consisté à la détermination des références frontales (Rf) des taches correspondant à des groupes chimiques après élution.

La référence frontale Rf est calculée suivant la formule :

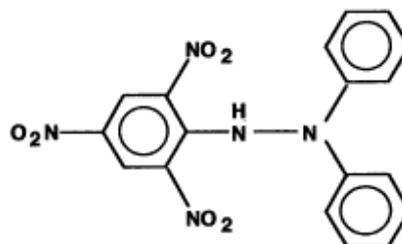
$R_f = \text{Distance parcourue par la substance} / \text{Distance parcourue par le solvant.}$

III-2- 4- La détermination des propriétés antioxydantes

La méthode est basée sur la capacité des molécules antioxydantes à réduire le radical DPPH⁺ (1,1-Diphényl -2 - picryl - Hydrazyl) un radical libre stable dont l'électron libre est délocalisée sur toute la molécule si bien que la molécule ne se dimérise pas. Cette délocalisation procure à la molécule une coloration violet- foncée avec une absorbance maximale autour de 490 nm. L' addition d' antioxydants, pourvoyeurs d' atome d' hydrogène à la solution contenant les radicaux DPPH⁺ conduit à une décoloration de la solution suite à la réduction des DPPH⁺.



Diphényl-picryl-hydrazyl (radical libre)



Diphényl-picryl-hydrazyl non radicalaire

Figure 9 : Structure du DPPH



Z' = DPPH non réduit **AH** = corps réducteur **ZH** = DPPH réduit **A'** = corps oxydé

On mesure ensuite l'absorbance du DPPH non réduit au spectromètre contre un blanc.

III-2-5 Mesure de l'activité antioxydante par la méthode du DPPH

Le test a été adapté pour des plaques à micro puits et les essais sont réalisés en duplicata pour chaque extrait. La solution témoin est constituée de la solution d'extraction (solvant) et du réactif de DPPH. Un aliquote de 10 µl de l'extrait (ou du témoin) est mélangé à 200 µl de solution de DPPH. On a réalisé deux plaques pour le test. Une plaque de dilution et une plaque test. La plaque de dilution est constituée d'une colonne de blanc et deux colonnes de contrôle. Le blanc et les contrôles sont constitués uniquement de DMSO. Les autres colonnes sont constituées d'une dilution au demi de la substance à étudier ou du témoin réalisée à partir de 21 mg/ml. La plaque test est préparée selon la même configuration que la gamme de dilution mais dans la colonne de blanc et tous les autres puits sont remplis avec 200µl de DMSO. On prélève ensuite 10µl du blanc et des contrôles de la plaque de dilution qu'on respectivement dans les rangées blanc et contrôles de la plaque test. Dans les autres rangées on ajoute 10µl de la solution de dilution. C'est la méthode de décoloration de DPPH. Lorsqu'on met en présence du DPPH une solution pourvoyeuse de H⁺, ceux-ci captent les radicaux libres du DPPH et conduit à la décoloration de la solution de DPPH. Cette décoloration est fonction de la concentration de la solution en ion H⁺. La plaque est ensuite incubée à l'étuve à 37° pendant 30 mn et on lit les absorbances à 490 nm. Les absorbances sont directement enregistrées grâce au logiciel KC JUNIOR couplé à un ordinateur. La quantité de radicaux libres DPPH réduite par les antioxydants est donnée par la différence de l'absorbance entre le témoin et l'extrait. Cette différence est convertie en pourcentage d'activité oxydante calculée suivant Mensor et al. (2001), c'est-à-dire la quantité (µg) de l'extrait ou du standard réduisant l'absorbance de 50 %.

$$IC_{50} = \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100$$

A_o = Absorbance du contrôle

A_s = Absorbance de l'échantillon test à 490 nm



RESULTATS

IV - RESULTATS DE L'ETUDE

IV -1- Le rendement d'extraction (RE) et les taux d'humidité résiduelle (THR)

Les extractions ont été réalisées à partir d'une prise d'essai de 100 g de poudre brute d'écorces de tronc, de feuilles, de coques et de graines de *Khaya senegalensis* dans de l'eau distillée. Le rendement d'extraction(RE) et la teneur en eau résiduelle des extraits secs sont consignés dans le **tableau III**.

Tableau III : Rendement des opérations d'extraction et le taux d'humidité résiduelle des extraits secs de *Khaya senegalensis* (n = 3)

Extrait Aqueux	RE(%) (n =3)	THR(%) (n=3)
Ecorces	13,74 ± 1,03	7,71 ± 0,24
Feuilles	15,93 ± 2,11	8,72 ± 0,51
Graine du fruit	16,75 ± 2,20	6,63 ± 0,29
Coque du fruit	17,90 ± 2,73	9,59 ± 0,83

IV - 2- Les résultats de l'analyse phytochimique

IV - 2-1 – Les résultats de la caractérisation en milieu liquide

La caractérisation des groupes chimiques des extraits hydroalcooliques de *Khaya senegalensis* en milieu liquide a été réalisée dans le laboratoire de chimie de l'IRSS. Nous rapportons dans le **tableau IV** les résultats du screening phytochimique des extraits hydroalcooliques.

Tableau IV : Groupes chimiques mis en évidence dans les extraits hydroalcooliques de *Khaya senegalensis*.

Groupes chimiques	Ecorces	Feuilles	Coques	Graines
Alcaloïdes sels	ND	ND	ND	ND
Tanins	+	+	ND	+
Saponosides	+	+	+	ND
Composés réducteurs	+	+	+	+
Triterpènes et stérols	+	+	+	ND
Emodols	+	+	+	ND
Coumarines	+	+	+	+
Anthraquinones	+	+	+	ND
Anthocyanes	+	+	+	+
Caroténoïdes	+	+	+	ND

(+) Réaction de caractérisation **positive** ; (ND) Réaction de caractérisation **négative**

IV-2-2 - Résultats de la chromatographie sur couche mince

a - Caractérisation des tanins

La révélation par le trichlorure de fer a permis de mettre en évidence des trainées sur le parcours des dépôts des fractions E_1 , F_1 , F_2 et du témoin T. Le témoin a montré 3 spots de couleur bleue foncée de $R_f = 0,51$; $0,55$ et $0,62$. La fraction F_1 a montré 3 spots de $0,43$; $0,55$ et $0,62$. Sur le parcours de F_2 on observe 2 spots de $R_f = 0,43$ et $0,55$.

Les fractions E_1 et G_1 ont montré chacune un spot de $R_f = 0,55$.

Les spots étaient de colorations intermédiaires entre le vert et le bleu témoignant de la présence de tanins catéchiques et de tanins galliques. Par contre on n'a pas observé de spot sur le parcours de C_1 . Cela peut s'expliquer par la pauvreté de cette fraction en tanins.

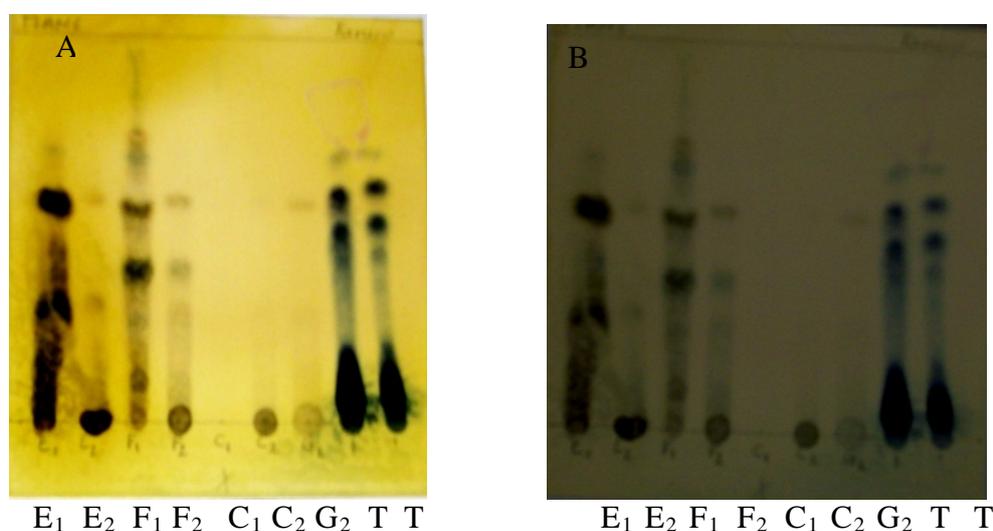


Figure 10 : Chromatogrammes de caractérisation des tanins

E_1 : extrait B des écorces ; E_2 : extrait d'acétate d'éthyle (A E) des écorces
 F_1 : extrait B des feuilles ; F_2 : extrait A E des feuilles
 C_1 : extrait B des coques ; C_2 : extrait d'AE des coques
 G_1 : extrait B des graines

A : Plaque observée à l'UV 254 nm ; **B** : Plaque après révélation au $FeCl_3$

b - Caractérisation des anthocyanes

La révélation par la solution alcoolique à 5 % de KOH a permis de mettre en évidence des trainées et des spots sur le parcours des différents dépôts. On a observé une trainée et 2 spots ($R_f = 0,4$ et $0,78$) de coloration bleue sur le parcours du témoin T. A l'exception du témoin et la fraction C_1 , on a noté un spot de $R_f = 0,71$ sur les différents trajets des dépôts. Des spots verts dont les R_f ont été de $0,16$ et $0,51$ sont remarquables sur le parcours de la fraction F_2 . On également observé une trainée verte sur le parcours de la fraction E_1 (plaque A).

Ces spots de colorations bleue et vert témoignent de la présence des anthocyanes dans les différents extraits de *Khaya senegalensis*.

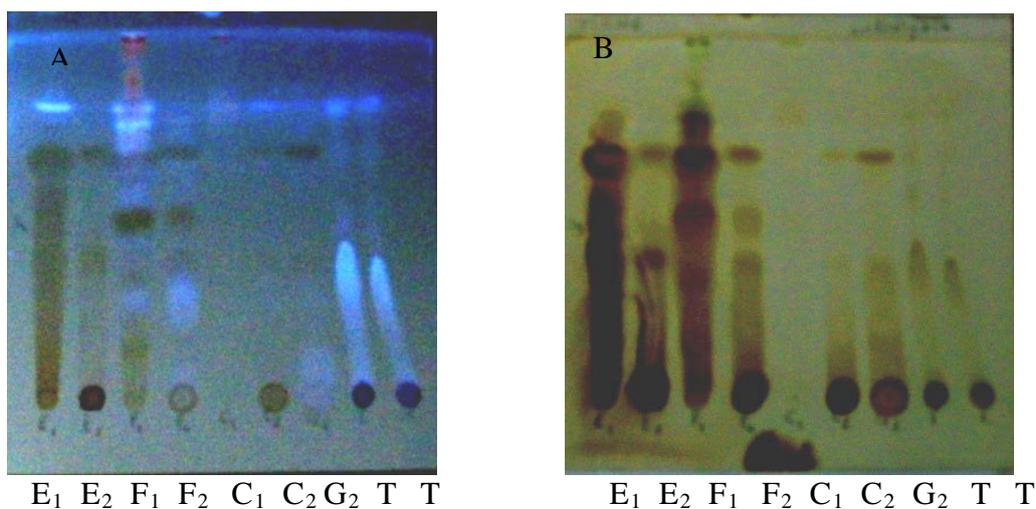


Figure 11 : Chromatogrammes de caractérisation des anthocyanes

E₁ : extrait B des écorces ; E₂ : extrait d'acétate d'éthyle (A E) des écorces
F₁ : extrait B des feuilles ; F₂ : extrait A E des feuilles
C₁ : extrait B des coques ; C₂ : extrait d'A E des coques
G₁ : extrait B des graines

A : Plaque observée à l'UV 254 nm ; **B** : Plaque après révélation

c - Caractérisation des anthraquinones

L'exposition des chromatogrammes à la solution alcoolique à 5% de KOH a mis en évidence des spots jaune vert, rouges ou oranges sur le parcours des témoins T_2 ($R_f = 0,12 ; 0,375 ; 0,97$) oranges sur le parcours de T_1 ($R_f = 0,58 ; 0,93$ et $0,97$) plaque B. On observe des trainées sur l'ensemble des parcours à l'exception de celui de C_1 (plaque C). Sur le parcours de E_1 , on a observé une trainée et un spot de $R_f = 0,72$. Ce même spot s'observe sur le parcours de E_2 , F_1 , F_2 , C_2 et G_1 . La fraction E_2 a montré un autre spot de $R_f = 0,375$. La fraction F_2 a montré en plus 2 autres spots de $R_f = 0,375$ et $0,58$.

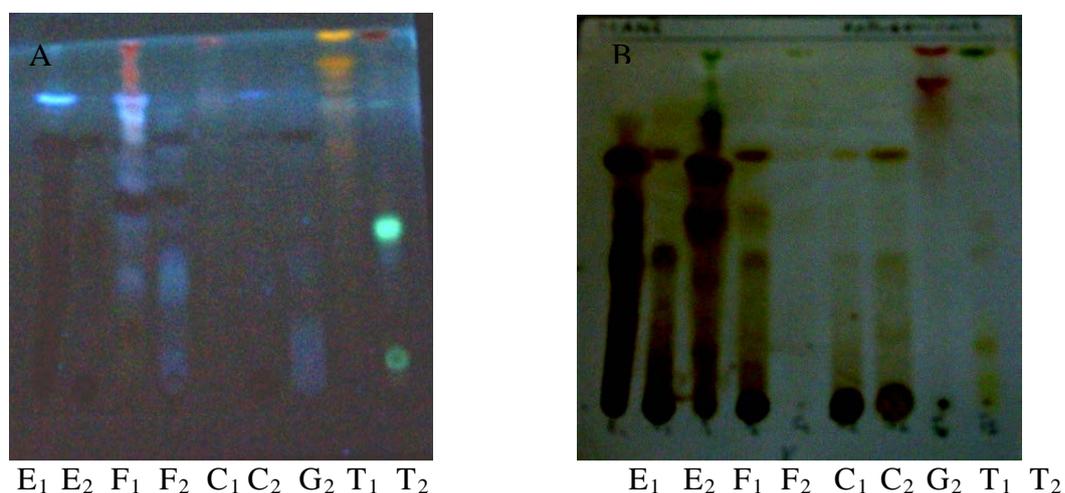


Figure 12 : Chromatogrammes de caractérisation des anthraquinones

E_1 : extrait B des écorces ; E_2 : extrait d'acétate d'éthyle (A E) des écorces
 F_1 : extrait B des feuilles ; F_2 : extrait A E des feuilles
 C_1 : extrait B des coques ; C_2 : extrait d'AE des coques
 G_1 : extrait B des graines

A : Plaque observée à l'UV 254 nm ; **B** : Plaque après révélation

d - Caractérisation des flavonoïdes

L'exposition des chromatogrammes par la solution de diphényl borinate, a mis en évidence des spots jaunes oranges (plaques B et C) et vert (plaque A) sur le parcours de T₁ et T₂ (Rf = 0,88). On observe des trainées sur le parcours de E₁, E₂, F₂, C₂ et G₂.

La fraction F₁ a présenté 2 spots jaunes oranges (plaque B) ou verts (plaque A) Rf = 0,78 et 0,86 tandis que F₂ a présenté une trainée bleu (plaque A) ou jaune orange (plaque B) tout au long du parcours avec un spot jaune orange ou vert de Rf = 0,86. La fraction G₂ a montré un spot bleu de Rf = 0,54.

Les spots de colorations jaunes oranges ou vert témoignent de la présence des flavonoïdes dans les différents extraits de *Khaya senegalensis*

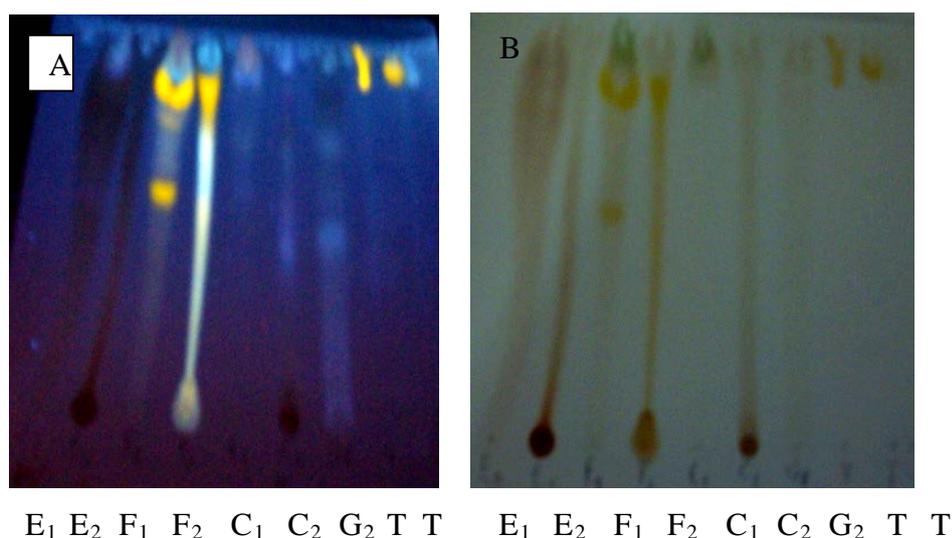


Figure 13 : Chromatogrammes de caractérisation des flavonoïdes

E₁ : extrait B des écorces ; E₂ : extrait d'acétate d'éthyle (A E) des écorces
F₁ : extrait B des feuilles ; F₂ : extrait A E des feuilles
C₁ : extrait B des coques ; C₂ : extrait d'A E des coques
G₁ : extrait B des graines

A : Plaque observée à l'UV 254nm ; **B** : Plaque après révélation par les vapeurs d'ammoniaque.

e - Caractérisation des saponosides

Des spots violacés sont observables sur le chromatoplaque au niveau des échantillons d'extraits E₁ avec un Rf = 0,83, F₁ et F₂ de Rf = 0,62 ; 0,81. F₁ et G₁ ont présenté un spot au même niveau de Rf = 0,28. Tous les dépôts ont montré des trainées (plaque C).

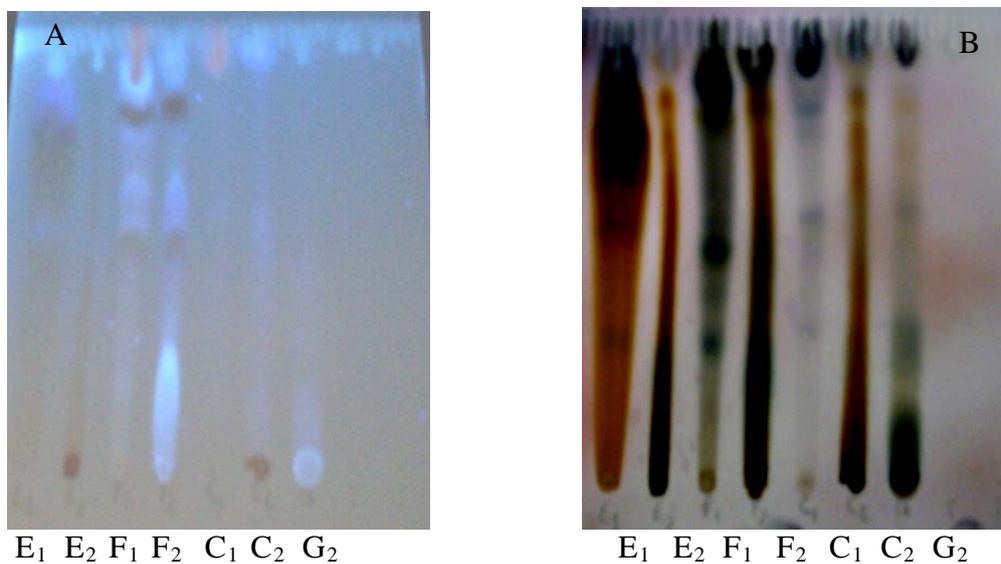


Figure 14 : Chromatogrammes de caractérisation des saponosides

E₁ : extrait B des écorces ; E₂ : extrait d'acétate d'éthyle (A E) des écorces
F₁ : extrait B des feuilles ; F₂ : extrait A E des feuilles
C₁ : extrait B des coques ; C₂ : extrait d'A E des coques
G₁ : extrait B des graines

A : Plaque observée à l'UV 254nm ; **B** : Plaque après révélation

IV-3- Résultats du test antioxydant des extraits

Les résultats des tests de réduction du radical DPPH des extraits aqueux

➤ L'extrait aqueux des écorces

Les effets antioxydants de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la **figure 15** :

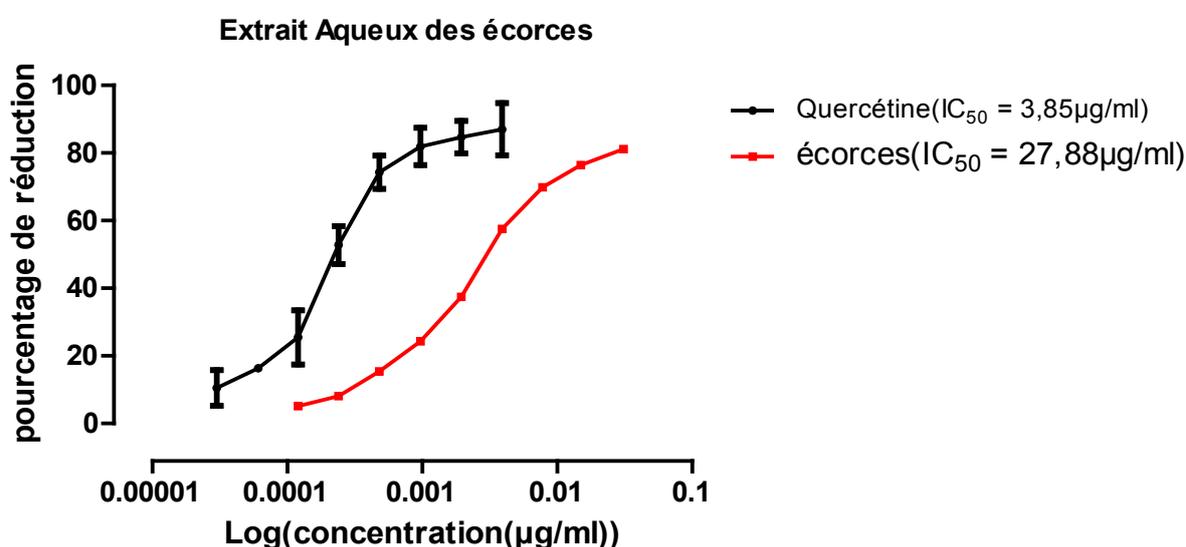


Figure 15 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis* et de la quercétine.

Cette figure montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentrations croissantes de l'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Khaya senegalensis* et de la quercétine. Ces courbes ont permis la détermination des IC₅₀ de l'extrait aqueux d'écorce de tronc et de la quercétine qui étaient respectivement de $27,89 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$ et de $3,85 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$.

➤ L'extrait aqueux des feuilles

Les effets antioxydants de l'extrait aqueux de feuilles de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la **figure 16** :

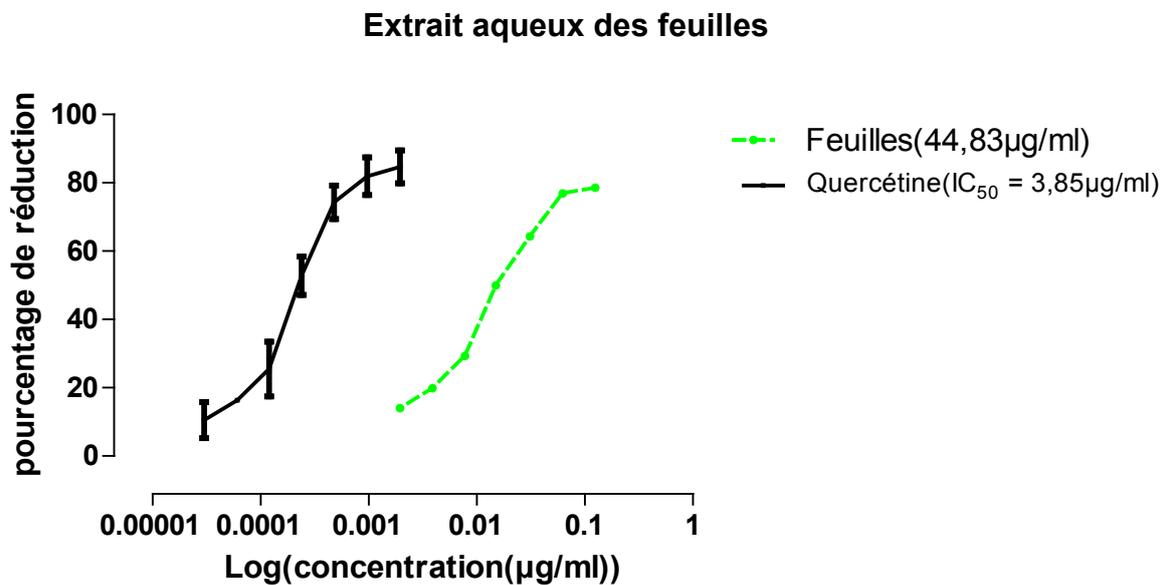


Figure 16 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH par l'extrait aqueux des feuilles de *Khaya senegalensis* (Desr.) A Juss et de la quercétine.

Cette figure montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations croissantes de l'extrait aqueux des feuilles de *Khaya senegalensis* et de la quercétine. Ces courbes ont permis de déterminer les IC₅₀ de l'extrait aqueux des feuilles et de la quercétine qui étaient respectivement de **44,83 ± 0,43 µg/ml** et de **3,85 ± 0,02 µg/ml**.

➤ **L'extrait des coques**

Les effets antioxydants de l'extrait aqueux des coques du fruit de *Khaya senegalensis* et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), sont illustrés par la **figure 17**.

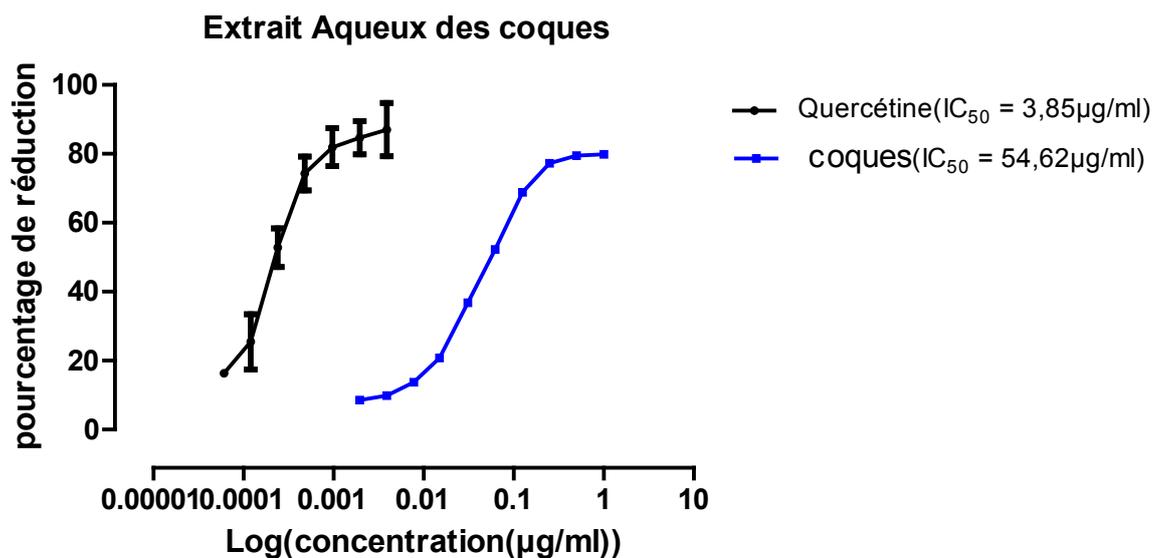


Figure 17 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH par l'extrait aqueux des coques du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Cette figure montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentrations croissantes de l'extrait aqueux des coques du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Ces courbes ont permis la détermination des IC₅₀ de l'extrait aqueux des coques et de la quercétine qui étaient respectivement de **54,62 ± 0,87 µg/ml** et de **3,85 ± 0,02 µg/ml**.

➤ **L'extrait des graines**

Les effets antioxydants de l'extrait aqueux des graines de fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la **figure 18** :

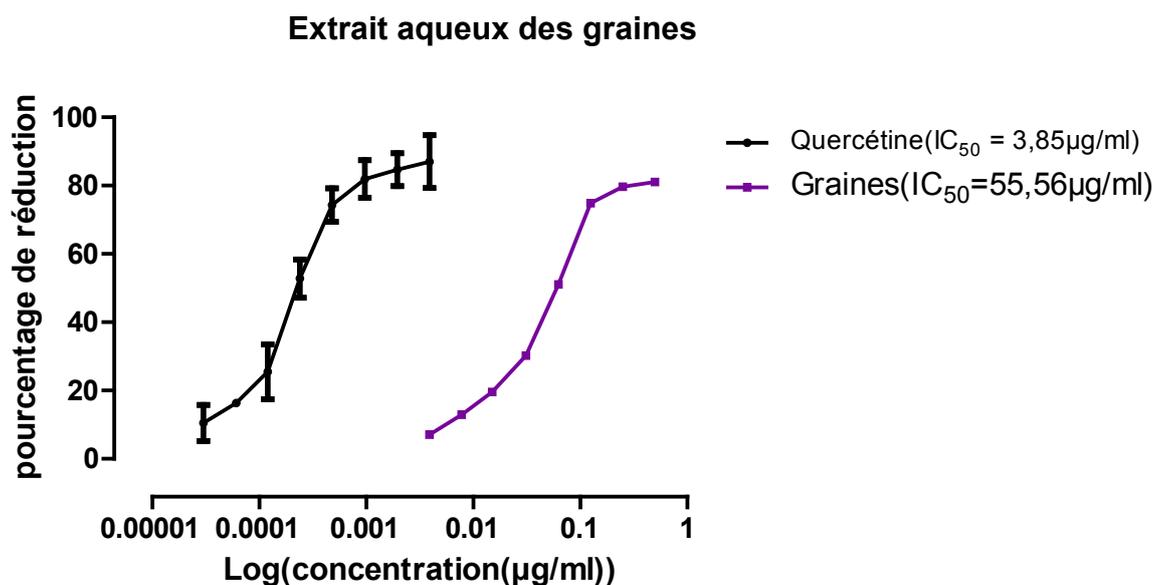


Figure 18 : Evaluation du pourcentage de réduction du radical DPPH par l'extrait aqueux des graines du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Cette figure montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentrations croissantes de l'extrait aqueux des graines du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Ces courbes ont permis la détermination des IC₅₀ de l'extrait aqueux des graines et de la quercétine qui étaient respectivement de **55,56 ± 0,23 µg/ml** et de **3,85 ± 0,02 µg/ml**.

➤ Les extraits aqueux

Les effets antioxydants des extraits aqueux des différentes parties (écorces, feuilles, coques et fruits) de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la figure 19 :

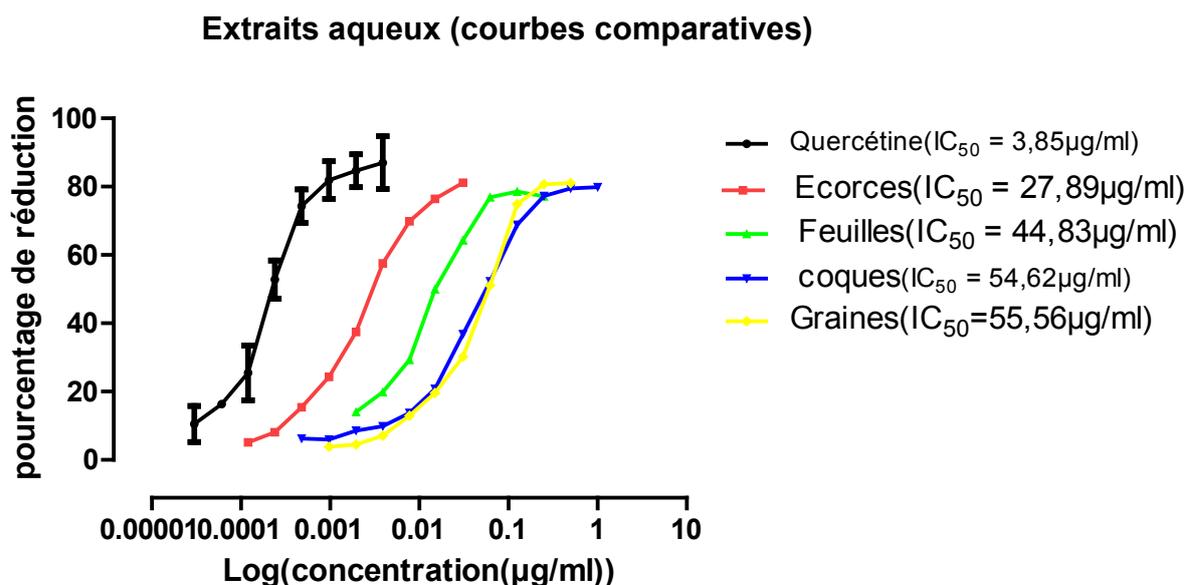


Figure 19 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis* et de la quercétine.

Cette figure montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentrations croissantes des extraits aqueux d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des graines du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine. Ces courbes ont permis de comparer l'effet antioxydant des différentes parties par la détermination des IC₅₀ de l'extrait aqueux et de la quercétine. Les résultats sont consignés dans le **tableau V** :

Tableau V : Les résultats des tests d'oxydation sur les extraits aqueux des écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis*

<i>Extrait aqueux</i>	<i>IC₅₀ (µg/ml) (n = 2)</i>
Ecorces	27,89 ± 0,07
Feuilles	44,83 ± 0,43
Coques du fruit	54,62 ± 0,87
Graines du fruit	55,56 ± 0,23
Quercétine	3,85 ± 0,02

Le tableau ci-dessus résume les résultats des tests d'oxydation effectués sur les extraits aqueux des écorces du tronc, les feuilles, les coques et les graines de *Khaya senegalensis*. Ces résultats exprimés en **µg/ml** sont obtenus à partir de la courbe dose/effet et représentent la concentration d'antioxydante qui réduit 50 % de DPPH.

➤ **Les extraits hydroalcooliques (méthanol/eau : 80/20) ou extraits (A)**

Les effets antioxydants des extraits hydroalcooliques (méthanol/eau (80 : 20)) (**extraits A**) des différentes parties (écorces, feuilles, coques et fruits) de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la **figure 20** :

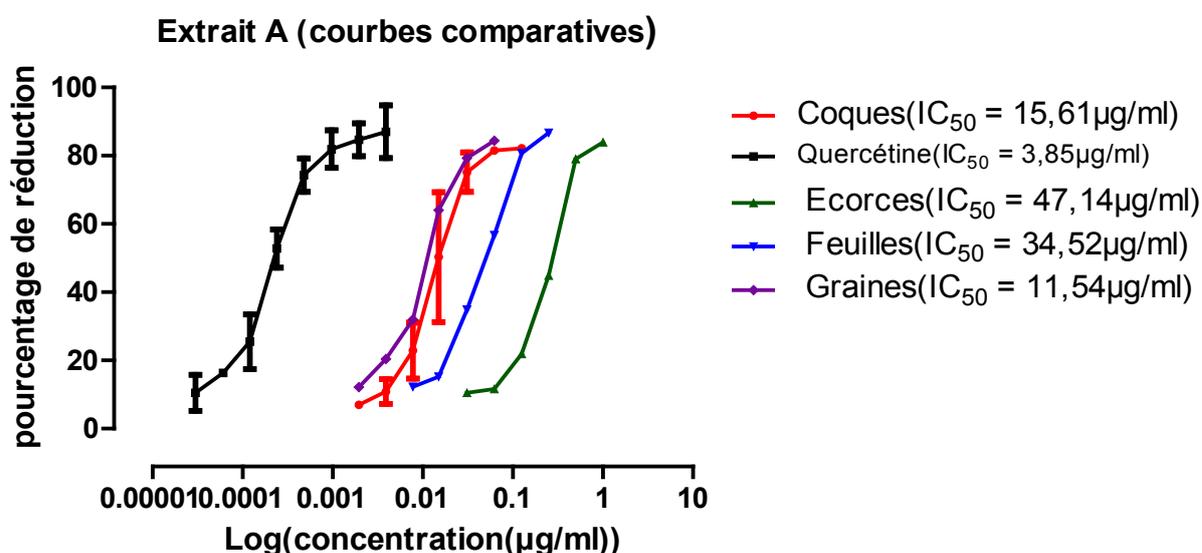


Figure 20 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydroalcoolique A d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis* et de la quercétine.

Cette figure montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentrations croissantes des extraits hydroalcooliques (**extraits A**) d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des graines du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Ces courbes ont permis de comparer l'effet antioxydant des différentes parties par la détermination des IC₅₀ de l'extrait A et de la quercétine. Les différents IC₅₀ sont illustrés par le **tableau VI**.

Tableau VI : Les résultats des tests d'oxydation sur les extraits hydroalcooliques A des écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis*.

Extraits hydroalcooliques A	IC₅₀ (µg/ml) (n = 3)
Ecorces de tronc	47,14 ± 1,22
Feuilles	34,52 ± 0,64
Coques du fruit	15,61 ± 0,24
Graines du fruit	11,54 ± 0,93
Témoin (quercétine)	3,85 ± 0,02

Le tableau ci-dessus (**tableau VI**) résume les résultats des tests d'oxydation effectués sur les extraits hydroalcooliques A des écorces du tronc, les feuilles, les coques et les graines de *Khaya senegalensis*. Ces résultats exprimés en **µg/ml** sont obtenus à partir de la courbe dose/effet de la **figure 20** et représentent la concentration d'antioxydante qui ont réduit 50 % de DPPH.

➤ **Les extraits hydroalcooliques (méthanol/eau : 80/20) après épuisement (extrait B)**

Les effets antioxydants des extraits hydroalcooliques (méthanol/eau (80 : 20)) (**extraits B**) des différentes parties (écorces, feuilles, coques et fruits) de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la **figure 21** :

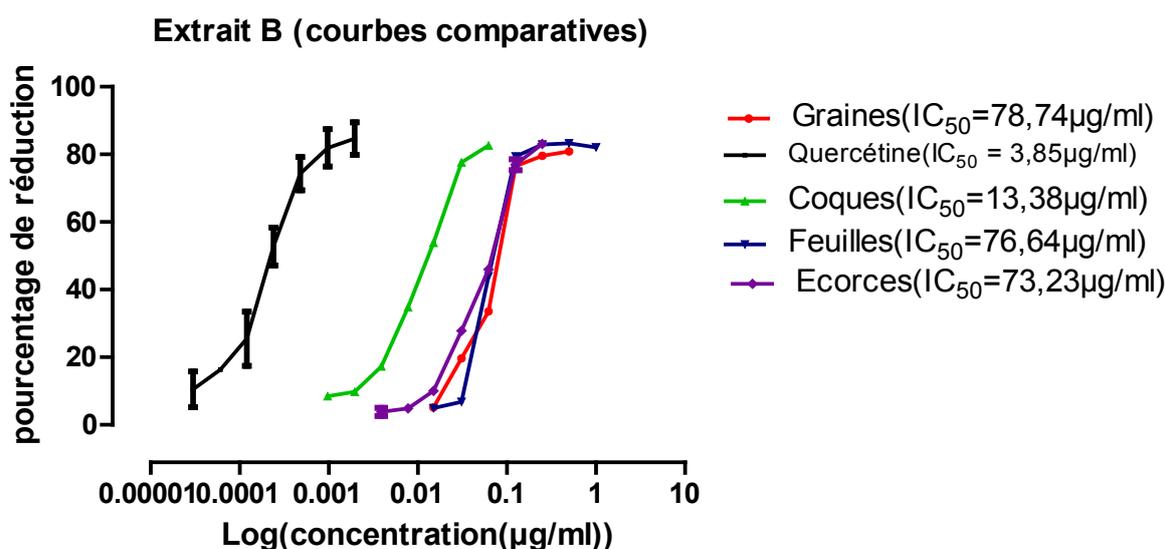


Figure 21 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydroalcoolique B d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis* et de la quercétine.

La **figure 21** montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentrations croissantes des extraits hydroalcooliques (**extraits B**) d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des graines du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Ces courbes ont permis de comparer l'effet antioxydant des extraits B des différentes parties de *Khaya senegalensis* par la détermination des IC₅₀ des extraits B et de la quercétine. Les IC₅₀ obtenus sont résumés dans le **tableau VII** :

Tableau VII : Les résultats des tests d'oxydation sur les extraits hydroalcooliques B des écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis*.

<i>Extraits hydroalcooliques B</i>	<i>IC50 (µg/ml) (n = 3)</i>
Ecorces du tronc	73,23 ± 0,73
Feuilles	76,64 ± 0,93
Coques du fruit	13,38 ± 0,88
Graines du fruit	78,74 ± 0,37
Quercétine	3,85 ± 0,02

Le **tableau VII** résume les résultats des tests d'oxydation effectués sur les extraits hydroalcooliques B des écorces du tronc, les feuilles, les coques et les graines de *Khaya senegalensis*. Ces résultats exprimés en **µg/ml** sont obtenus à partir de la courbe dose/effet de la **figure 21** et représentent la concentration d'antioxydante qui entraîne une réduction de 50 % de radicaux DPPH.

➤ **Les extraits d'acétate d'éthyle (extraits A E)**

Les effets antioxydants des extraits d'acétate d'éthyle (extraits A E) des différentes parties (écorces, feuilles, coques et fruits) de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine évalués sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sont illustrés par la **figure 22** :

extrait d'Acétat d'Ethyle(AE) (croubes comparatives)

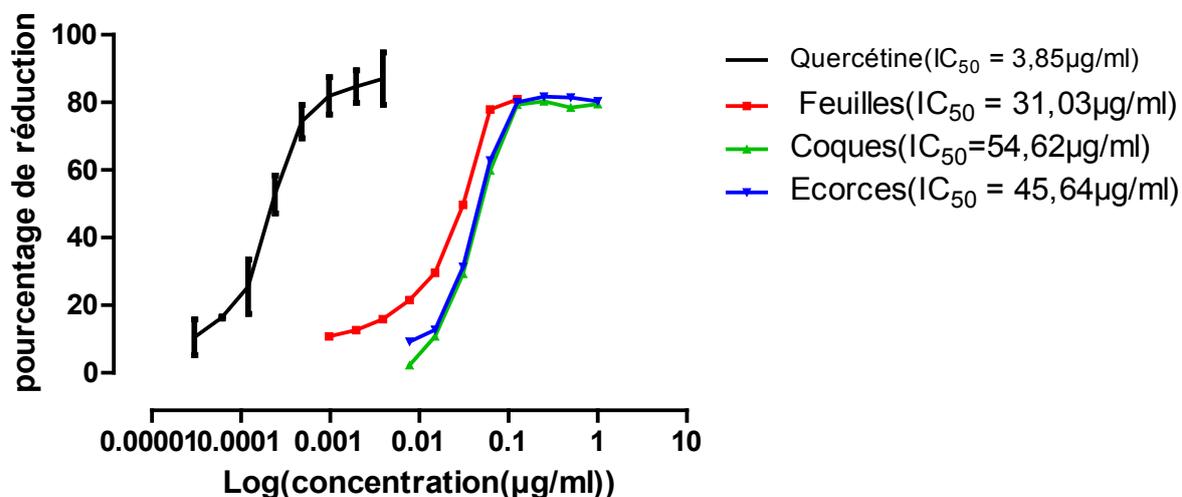


Figure 22 : Pourcentages de réduction des radicaux DPPH en fonction des concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis* et de la quercétine.

La **figure 22** traduit les pourcentages d'inhibition des radicaux DPPH en fonction de concentrations croissantes des extraits d'acétate d'éthyle d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des graines du fruit de *Khaya senegalensis* (Desr.) et de la quercétine.

Ces courbes ont permis de comparer l'effet antioxydant des extraits d'acétate d'éthyle des différentes parties de *Khaya senegalensis* par la détermination des IC₅₀ de l'extrait A E et de la quercétine. Ces différents IC₅₀ sont consignés dans le **tableau VIII**:

Tableau VIII : Les résultats des tests d'oxydation effectués sur les extraits d'acétate d'éthyle (A E) d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des fruits de *Khaya senegalensis*.

<i>Extraits d'acétate d'éthyle (A E)</i>	<i>IC50 (µg/ml) (n = 3)</i>
Ecorces de tronc	45,64 ± 0,67
Feuilles	31,03 ± 0,89
Coques du fruit	49,35 ± 0,74
Graines de fruit	-
Quercétine	3,85 ± 0,02

Le **tableau VIII** résume les résultats des tests d'oxydation effectués sur les extraits d'acétate d'éthyle des écorces du tronc, les feuilles, les coques et les graines de *Khaya senegalensis*. Ces résultats exprimés en **µg/ml** sont obtenus à partir de la courbe dose/effet de la **figure 22** et représentent la concentration d'antioxydante qui entraîne une réduction de 50 % de radicaux DPPH.



DISCUSSION

V- DISCUSSION

Notre étude avait pour but de comparer les propriétés antioxydantes des extraits aqueux et hydroalcooliques de quatre parties de *Khaya senegalensis* (Desr.) (Meliaceae) à savoir les écorces du tronc, les feuilles, les coques et les graines du fruit. La connaissance de la nature des groupes dans les extraits aqueux et hydroalcooliques des quatre parties de la plante nous a permis de faire une approche scientifique de l'effet antioxydant observé dans l'étude.

Nous avons conduit une étude expérimentale *in vitro* afin de comparer les propriétés antioxydantes des écorces du tronc, des feuilles et les fruits (coques et graines) de *Khaya senegalensis* (Meliaceae) dans le but de rationaliser l'utilisation de cette plante par la médecine traditionnelle de notre pays pour ses nombreuses vertus thérapeutiques.

V –1- Les limites de l'étude

Notre étude a présenté des limites en ce sens que : la période et le lieu de récolte pouvant constituer un biais, il est nécessaire d'évaluer les IC₅₀ dans notre contrée. L'étude du totum ne permet pas de préciser le ou les groupes chimiques responsables des effets observés dans l'étude.

V –2 - L'analyse phytochimique

Nous avons réalisé un extrait aqueux et hydroalcoolique dans le but de prendre en compte un plus grand nombre de groupes chimiques.

V – 2 – 1 – Le rendement d'extraction (RE) et la teneur en eau des extraits

Les rendements d'extractions des extraits des écorces du tronc, des feuilles, des coques et des graines du fruit ont été de **13,74 ± 1,03 % ; 15,93 ± 2,11 % ; 16,75 ± 2,20 % et 17,90 ± 2,73 %** respectivement. Les écorces du tronc ont présenté le meilleur rendement d'extraction comparativement aux autres parties de la plante. Cela s'explique par la richesse des écorces du tronc en composés phénoliques qui seraient responsables de l'activité antioxydante.

Les THR des différentes poudres de la plante ont été de $7,71 \pm 0,24$ % pour les écorces du tronc, $8,72 \pm 0,51$ % pour les feuilles, $6,63 \pm 0,29$ % pour les coques $9,59 \pm 0,83$ % pour les graines. Ces teneurs sont toutes inférieures à 10 % et suggèrent que les extraits pourraient être conservés pendant longtemps avec moins de risque de contamination et/ou d'altération des principes chimiques.

V – 2 – 2 – Le screening phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique obtenus sur les réactions de caractérisation effectuées sur les différents extraits et les hydrolysats aqueux des écorces, des feuilles, des coques et des graines de *Khaya senegalensis* ont permis de mettre en évidence les groupes chimiques suivants :

- les tanins (galliques et catéchiques),
- les saponosides,
- les anthocyanes,
- les anthraquinones,
- les caroténoïdes,
- les triterpènes et les stérols,
- les coumarines,
- des sucres réducteurs (**tableau IV**).

Nous avons noté l'absence des alcaloïdes dans les différents extraits aqueux et hydroalcooliques.

Ces résultats obtenus ont été rapportés à ceux des études antérieures menées par d'autres auteurs. En effet Lompo (1993) a rapporté la présence au screening phytochimique des coumarines, émodols, tanins, composés réducteurs, anthracénosides, glycosides stéroïdiques, flavonosides, saponosides, stérols et triterpènes, anthocyanosides dans les écorces et les feuilles de *Khaya senegalensis*. Il signale l'absence des alcaloïdes dans les extraits aqueux de ces parties de la plante. Olmo et Coll. (1996) mettent en évidence des coumarines et les stérols dans les extraits aqueux des écorces de *Khaya senegalensis*. Ces mêmes auteurs ont noté l'absence des alcaloïdes dans les écorces et les feuilles de cette plante.

Ouédraogo (2009) a rapporté la présence au screening phytochimique les mêmes groupes chimiques dans les extraits aqueux des écorces et des feuilles de *Khaya senegalensis*.

Les tests colorimétriques de caractérisation présentent des insuffisances par leur spécificité et leur sensibilité limitées. Nous avons donc procédé à l'analyse CCM qui permet de palier ces limites.

V – 2 – 3- L'analyse CCM des extraits de *Khaya senegalensis* (Desr.)

Il a été procédé à un fractionnement des extraits hydroalcooliques brutes afin d'améliorer et d'enrichir les composés chimiques à l'état de trace dans l'extrait brute. Les fractions ont été concentrées puis analysées par CCM. La révélation de la chromatoplaque par le chlorure ferrique $FeCl_3$ à 2% a permis de mettre en évidence deux spots au niveau des écorces et des feuilles et suggèrent la présence des tanins galliques et catéchiques dans les extraits et une tache verte au niveau la fraction d'acétate d'éthyle des graines (G_2) d'où présence de tanins galliques. Lompo (1993) a rapporté la présence des tanins dans les feuilles et écorces de la plante. Par contre aucune tache n'a été observé du parcourt des coques. Cela témoigne de l'absence ou d'une faible concentration des tanins dans les coques du fruit de *Khaya senegalensis*. L'absence d'études antérieurs sur les coques ne nous pas de confirmé cela. De même, des flavonoïdes ont été caractérisés dans les fractions hydroalcooliques et d'acétate d'éthyle des écorces, des feuilles et uniquement dans les fractions d'acétate d'éthyle des coques et des graines. Cela s'est traduit par la présence des spots sur la plaque de CCM. Ce même constat est observé pour les anthraquinones, les antihocyanes et les saponosides. Des études antérieures, notamment Lompo (1993) et Ouedraogo (2009) ont rapporté les mêmes résultats. Nous avons noté l'absence d'alcaloïdes dans les différents extraits. La chromatographie sur couche mince (CCM) effectuée a permis de confirmer la présence des groupes mis en évidence par les réactions générales de caractérisation en milieu liquide: il s'agit des tanins, des saponosides, des anthocyanes, anthracénosides, anthraquinones, des flavonoïdes et des triterpènes et les stérols. Ce résultat a été rapporté par Olmo et Coll. (1996) dans les extraits aqueux d'écorces de tronc. Les coumarines, les caroténoïdes, les glycosides stéroïdes et les sucres réducteurs n'ont pas été mis en évidence par CCM.

Les composés chimiques mis en évidence par le criblage phytochimique notamment les tanins, les flavonoïdes, les anthracénosides, les anthraquinones, les triterpènes et stérols, les coumarines, les caroténoïdes, les glycosides stéroïdes et des sucres réducteurs pourraient justifier les multiples utilisations traditionnelles de

Khaya senegalensis dans le traitement des diverses maladies dans notre pays. Cette utilisation doit se faire de façon rationnelle afin de pérenniser l'espèce.

V -3 – Les activités antioxydantes des extraits des différentes parties de la plante

L'étude de l'activité antioxydante des extraits hydro alcooliques et aqueux par la méthode de réduction du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) a montré que les différentes parties de *Khaya senegalensis* sont toutes douées des propriétés antioxydantes à des concentrations variables. Les extraits aqueux et hydroalcooliques d'écorces de tronc, des feuilles des coques et des graines du fruit de *Khaya senegalensis* et de la quercétine (témoin) ont provoqué une réduction du radical DPPH *in vitro*. Cet effet augmentait avec l'augmentation de la dose de l'extrait. Les concentrations inhibitrices 50 pour cent (IC₅₀) évaluées sur les extraits aqueux étaient de **27,89 ± 0,07 µg/ml**, **44,88 ± 0,43 µg/ml**, **54,62 ± 0,87 µg/ml**, **55,56 ± 0,23 µg/ml** et **3,85 ± 0,02 µg/ml** respectivement pour les écorces, les feuilles, les coques, les graines et la quercétine (témoin) (fig. 17). Ces résultats montrent une composition relativement importante en principes chimiques pourvoyeurs d'électrons et d'atomes d'hydrogènes dans les extraits de la plante. Cependant l'extrait aqueux des écorces est plus actif que les autres extraits mais reste moins actif que la quercétine qui est un composé pur. Mais les écorces sont plus actifs que les feuilles qui étaient elles plus, actives que les coques et les graines. Karou (2006) a rapporté que les écorces de tronc de *Khaya senegalensis* avaient la plus grande teneur en composés phénoliques que les feuilles.

Cette étude appliquée à l'extrait hydroalcoolique **A** et à la quercétine avait rapporté que les graines et les coques sont plus actifs que les écorces (**47,14 ± 1,22 µg/ml**) et les feuilles (**34,52 ± 0,64 µg/ml**) (fig.18) avec respectivement **11,54 ± 0,93 µg/ml** et **15,61 ± 0,24 µg/ml** mais restent moins actifs que la quercétine (**3,85 ± 0,02 µg/ml**). Pour un usage thérapeutique de cet extrait il est préférable d'utiliser les coques ou les graines du fait de leur fort pouvoir antioxydants.

Dans les extraits hydroalcooliques obtenus après épuisement (extrait B) on a également observé une réduction du radical DPPH preuve d'existence des groupes chimiques ayant une activité antioxydante. Mais cette activité est également variable en fonction des parties. Les IC₅₀ étaient de **13,38 ± 0,88 µg/ml**, **73,23 ± 0,73 µg/ml**, **76,64 ± 0,93 µg/ml** et **78,74 ± 0,37 µg/ml** respectivement pour les coques, les écorces, les feuilles et les graines (tableau VII).

Les coques sont plus puissantes que les écorces, les feuilles et graines mais moins puissant que la quercétine (**fig. 19**). Les coques seraient préférables aux autres parties en raison de son fort pouvoir antioxydant.

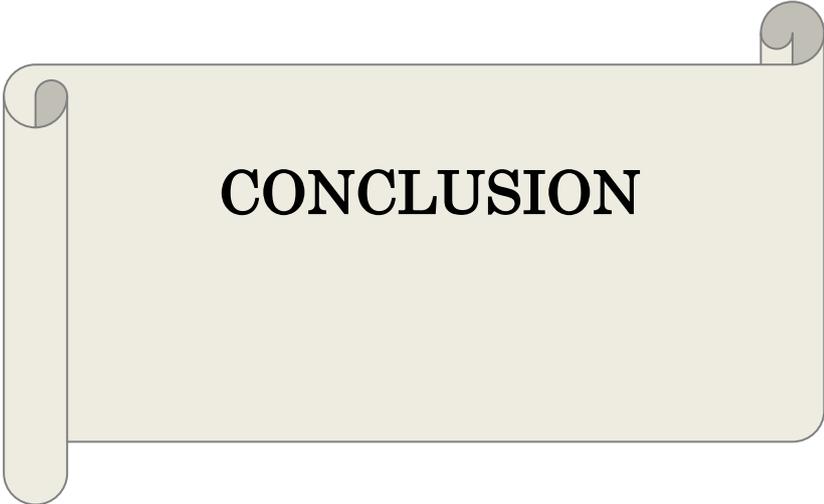
Au niveau de l'extrait d'acétate d'éthyle, la réduction du radical DPPH a permis d'évaluer des IC₅₀ plus importants soient **31,03 ± 0,89 µg/ml** pour les feuilles, les écorces et les coques ont donné des IC₅₀ voisins de l'ordre de **45,64 ± 0,67 µg/ml** et **49,35 ± 0,74 µg/ml** respectivement (**tableau VIII**). L'effet antioxydant des feuilles est plus puissant que les écorces et les coques et moins puissant que la quercétine.

L'extrait d'acétate d'éthyle des graines obtenues était une masse grasse insoluble dans les solvants de travail. Il n'a donc pas été testé.

Si nous considérons les extraits hydroalcooliques A, les coques et les graines du fruit sont plus intéressants en antioxydant tandis que les feuilles sont meilleures pour les extraits d'acétate d'éthyle. Mais l'obtention de ces extraits sont coûteux et ne seraient pas envisageable pour un tradipraticien de santé.

Pour ces propriétés les écorces du tronc demeurent incontournables et doivent être utilisés de façon rationnelle afin d'éviter la destruction de la plante voir la disparition de l'espèce végétale dans notre contrée.

La méthode de la réduction du phosphomolybdate appliquée aux polyphénols a révélé une bonne activité des écorces et des feuilles de *Khaya senegalensis* (Karou, 2006). D'où l'existence d'une bonne corrélation entre les teneurs en polyphénols et, l'activité antioxydante. De nombreux travaux ont rapporté que les polyphénols, les flavonoïdes, les coumarines sont des potentiels réducteur du radical DPPH (Karou 2006 ; Sanou 2006).

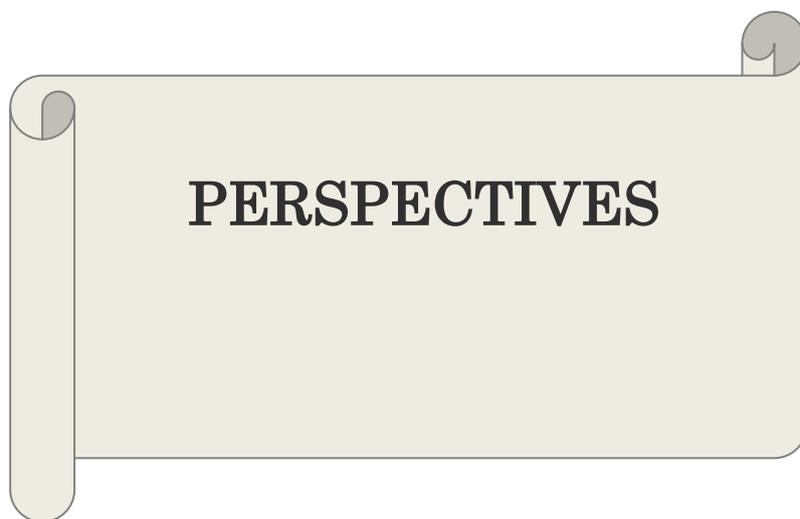


CONCLUSION

CONCLUSION

A l'issue de notre étude, il ressort que le screening phytochimique de l'extrait aqueux et hydroalcoolique des écorces du tronc, des feuilles, des coques et des graines de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss (Meliaceae) a révélé la présence des tanins, des émodols, des coumarines, des flavonoïdes, des caroténoïdes, des saponosides, des anthocyanes, des anthracénosides, des glycosides stéroïdiques, des triterpènes et stérols et des anthraquinones. Ces composés phénoliques et certains de leurs métabolites seraient responsables de l'activité antioxydante de la plante observée dans notre étude.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des différentes parties de cette plante a montré une meilleure activité pour les écorces du tronc suivies des feuilles, des graines et des coques en ce qui concerne les extraits aqueux. Pour cette propriété de la plante, les écorces du tronc sont préférables aux autres parties. Par ailleurs, les extraits hydroalcooliques sont aussi doués d'activité antioxydante importante mais plusieurs facteurs limiteraient leur utilisation par la médecine traditionnelle. Ces facteurs sont entre autres la difficulté liée à la récolte des fruits du fait de la hauteur de l'arbre, la périodicité de la fructification et le coût élevé de la production de ces extraits d'où le regain d'intérêt des écorces de cette plante.



PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

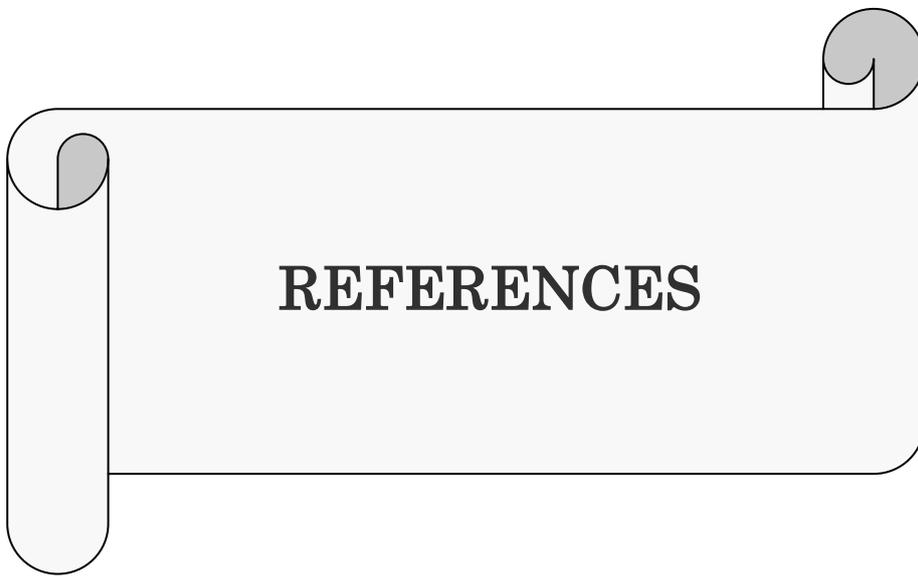
A la suite de cette étude, nous suggérons les études complémentaires suivantes :

Au plan pharmacologique, il serait nécessaire :

- ❖ De tester *in vivo* l'effet antioxydant des extraits aqueux et hydroalcooliques des différentes parties de la plante sur des animaux conscients.
- ❖ De tester *in vivo* les toxicités aiguës et chroniques des extraits aqueux et hydroalcooliques des différentes parties de la plante

Au plan chimique, il serait nécessaire :

- ❖ D'isoler le ou les principe(s) actif(s) responsables de l'activité antioxydante attribué à cette plante.



REFERENCES

REFERENCES

- 1- Adam J.G & Kerharo J. (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques par J. Kerharo ed. Vigot Frère, p. 161.
- 2- Aviram M. (2000).** "Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases". *Free Radic Res* 33 Suppl: S85–97.
- 3 - Azzi A. (2007).** "Molecular mechanism of alpha-tocopherol action". *Free Radic. Biol. Med.* 43 (1): 16–21.
- 4- Bartlett H. Eperjesi F. (2003).** "Age-related macular degeneration and nutritional supplementation: a review of randomised controlled trials". *Ophthalmic Physiol Opt* 23 (5): 383-99.
- 5- Brigelius-Flohé R. (1999).** "Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases". *Free Radic Biol Med* 27 (9–10): 951-65.
- 6- Brigelius-Flohé R. Traber M. (1999).** "Vitamin E: function and metabolism". *FASEB J* 13 (10): 1145 – 55.
- 7- Bruneton J. (1999),** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3^e édition) Paris : édition médicales internationales, édition tec. Doc. Lavoisier, 1999.
- 8-C. E. Booser. G. S. Hammond. C. E. Hamilton (1955).** "Air Oxidation of Hydrocarbons. The Stoichiometry and Rate of Inhibition in Benzene and Chlorobenzene". *Journal of the American Chemical Society*, 3233–3235
- 9- Cao G. Prior R. (1998).** "Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum". *Clin Chem* 44 (6 Pt 1): 1309–15.
- 10- Carr A. Frei B. (1999).** "Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?". *FASEB J.* 13 (9): 1007-24.

- 11- Chaudière J. Ferrari-Iliou R. (1999).** "Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms". *Food Chem Toxicol* 37 (9–10): 949 – 62.
- 12- Christen Y. (2000).** "Oxidative stress and Alzheimer disease". *Am J Clin Nutr* 71 (2): 621S-629S.
- 13– Damitoti K arou (2006) :** Evaluation des activités antibactériennes, antioxydantes et antiparasitaires d'extraits de quatre plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina- Faso. P 23-62.
- 14- Davies K. (1995).** Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* 61: 1–31.
- 15- Di Matteo V. Esposito E. (2003).** Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2 (2): 95–107.
- 16- Duarte T. L. Lunec J. (2005).** Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radic. Res.* 39 (7): 671-86.
- 17- Finkel T. Holbrook N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. *Nature* 408 (6809): 239-47.
- 18- Gisèle Marie Sophie Ouedraogo/Sanou (2006) :** effet d'une administration unique par voie orale du décocté aqueux des gales de *G. senegalensis* J. F. GMEL (COMBRETACEA) chez les poussins : Effet sur les phénoliques totaux, la capacité antioxydante et le cholestérol total.
- 19- Henry C. Heppell N. (2002).** Nutritional losses and gains during processing: future problems and issues. *Proc Nutr Soc* 61 (1): 145-8.
- 20- Hercberg S. Galan P. Preziosi P. Bertrais S. Mennen L. Malvy D. Roussel AM. Favier A. Briancon S. (2004).** The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 164 (21): 2335–42.

- 21- Herrera E. Barbas C. (2001).** Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 57 (2): 43 – 56.
- 22- Hitchon C. El-Gabalawy H. (2004).** Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 6 (6): 265-78.
- 23- Ho Y. Magnenat J. Gargano M. Cao J. (1997).** The nature of antioxidant defense mechanisms: a lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect* 106 Suppl 5: 1219–28.
- 24- Imlay J. (2003).** Pathways of oxidative damage. *Annu Rev Microbiol* 57: 395–418.
- 25- Iverson F. (1995).** Phenolic antioxidants: Health Protection Branch studies on butylated hydroxyanisole. *Cancer Lett* 93 (1): 49–54.
- 26- Jacob R. (1996).** Three eras of vitamin C discovery. *Subcell Biochem* 25: 1–16.
- 27- Knight J. (1998).** Free radicals: their history and current status in aging and disease. *Ann Clin Lab Sci* 28 (6): 331-46.
- 28- Krieger-Liszkay A. (2005).** Singlet oxygen production in photosynthesis. *J Exp Bot* 56 (411): 337-46.
- 29- Lee T. Kim S. Yu S. Kim S. Park D. Moon H. Dho S. Kwon K. Kwon H. Han Y. Jeong S. Kang S. Shin H. Lee K. Rhee S. Yu D. (2003).** Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice. *Blood* 101 (12): 5033–8.
- 30- Lenaz G. (2001).** The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology. *IUBMB Life* 52 (3–5): 159-64.
- 31– Lompo Marius (1993).** Etude pharmaco-toxicologique chez la souris et le rat de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss (MELIACEAE) utilisé en thérapeutique au Burkina Faso. Mémoire de DEA en science appliquée. UO 109p.
- 32– Lompo Marius (1999).** Activités anti-inflammatoires des extraits d'écorces de tronc de *Khaya senegalensis* A. Juss (MELIACEAE). Mise au point d'une forme galénique topique (phase I). Thèse de 3^e cycle. U O. 177p.

- 33-Lompo M . G uissou I . P . K aboré I . Z. Sawadogo M . (1995).** Effet hypothermisante et toxicité aigue chez les souris de s écorces de t ronc de *Khaya senegalensis* (Desr.) Pharm. Méd. Trad. Afr. 73-80
- 34 – Lompo M . Guissou I .P. S omé N . (1995).** Inhibition des c ontractions intestinales du r at par l'extrait aqueux (macération) des écorces de t ronc de *Khaya senegalensis* (Desr.) Révue Méd. Pharm. Afr. Vol. 9 n°2 83 – 96.
- 35 - Lotito S. B. Frei B. (2006).** Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma a ntioxidant c apacity i n h umans: c ause, c onsequence, or epi phenomenon. *Free Radic. Biol. Med.* 41 (12): 1727–46.
- 36- Matill H. A. (1947).** Antioxydants. *Annu Rev Biochem* 16 : 177 – 192
- 37- Médecine t raditionnelle et phar macopée.** Contribution au x ét udes ethnobotaniques et floristiques du Togo. Rapport présenté à l'ACCT. 1987.
- 38- Meister A. (1988).** Glutathione metabolism and i ts selective modification. *J Biol Chem* 263 (33): 17205 – 8.
- 39- Meister A. (1994).** Glutathione-ascorbic acid antioxidant s ystem i n an imals. *J Biol Chem* 269 (13): 9397 – 400.
- 40- Meister A. Anderson M. (1983).** Glutathione. *Annu Rev Biochem* 52: 711 – 60.
- 41- Moussa Compaoré (2006).** contribution à la connaissance de la phytochimie et activité an tioxydante de *B auhinia r ufescens* LA M. (CAESALPINIACEAE) et de *Stercospermum kunthianum* Cham. (BIGNONIACEAE) Août 2006.
- 42– Nacoulma/Ouédraogo O. G (1 996).** : P lantes m édicinales et P ratiques médicales traditionnelles au B urkina- Faso. Cas du p lateau central Tome I, 1996. p 67.
- 43- Nunomura A . C astellani R . Zhu X . M oreira P. P erry G. S mith M. (2006).** Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 65 (7): 631-41.

- 44- Ou B. Hampsch-Woodill M. Prior R. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 49 (10): 4619–26.
- 45- Padayatty S, Katz A. Wang Y. Eck P. Kwon O. Lee J. Chen S. Corpe C. Dutta A. Dutta S. Levine M. (2003).** Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr* 22 (1): 18 – 35.
- 46- Palé Eloi (2006).** Contribution à l'étude des composés anthocyaniques des plantes : cas de *Hibiscus sabdarifa*, *Lannea microcarpa*, *Vigna subteranea* et *Sorghum caudatum* du Burkina- Faso.
- 47– Pousset J. L. (1989).** Plantes médicinales africaines. Utilisations pratiques. ACCT, 1989. p. 156.
- 48- Radimer K. Bindewald B. Hughes J. Ervin B. Swanson C. Picciano M. (2004).** Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2000. *Am J Epidemiol* 160 (4): 339-49..
- 49- Raha S. Robinson B. (2000).** Mitochondria, oxygen free radicals, disease and aging. *Trends Biochem Sci* 25 (10): 502-8.
- 50- Reiter R. (1995).** Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 9 (7): 526-33.
- 51- Reiter R. J. Carneiro R. C. Oh C. S. (1997).** Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm. Metab. Res.* 29 (8): 363-72.
- 52- Rietveld A. Wiseman S. (2003).** Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. *J Nutr* 133 (10): 3285S-3292S.
- 53- Rodriguez-Amaya D. (2003).** Food carotenoids: analysis, composition and alterations during storage and processing of foods. *Forum Nutr* 56: 35-7.

- 54- Roland Nag – Tiero Méda (2006) :** Etude phytochimique et activité antioxydante des Galles de *Balanites aegyptiaca* (L) DEL (BALANITACEAE) Août 2006.
- 55– Romaric G eoffroy B ayili (2006) :** E tude des c omposés phéno liques de quelques fruits et légumes c ouramment c onsommés au Burkina – Faso : qual ité nutritionnelle en tant qu'aliments fonctionnels.
- 56- Seremé Abdoulaye (2006) :** Les Anacardaceae du Burkina-Faso : Paramètres botaniques et concentration en tanins.
- 57- Shigeoka S . I shikawa T. Tam oi M . M iyagawa Y . Take da T. Y abuta Y . Yoshimura K. (2002).** Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J Exp Bot* 53 (372): 1305 – 19.
- 58-Sies H. (1993).** Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 215 (2): 213 – 9.
- 59- Sies H. (1997).** Oxidative stress: oxidants and an tioxidants. *Exp Physiol* 82 (2): 291-5.
- 60- Smirnoff N. (2001).** L-ascorbic acid biosynthesis. *Vitam Horm* 61: 241 – 66.
- 61- Stanner S . A ., Hughes J, Kelly C . N. B uttriss J. (2004).** A r eview of t he epidemiological ev idence f or t he 'ant ioxidant hy pothesis. *Public Health Nutr* 7 (3): 407-22.
- 62- Turunen M. Olsson J. Dallner G. (2004).** Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim Biophys Acta* 1660 (1 – 2): 171 – 99.
- 63- Valko M. Izakovic M. Mazur M. Rhodes C. Telser J. (2004).** Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 266 (1–2): 37–56.
- 64- Valko M. Leibfritz D. Moncol J. Cronin M. Mazur M. Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39 (1): 44–84.
- 65- Vertuani S , A ngusti A , M anfredini S (2004).** The ant ioxidants a nd pr o-antioxidants network: an overview. *Curr Pharm Des* 10 (14): 1677–94.

- 66- Vivekananthan D. P. Penn M. S. Sapp S. K. Hsu A. Topol E. J. (2003).** Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 361 (9374): 2017–23.
- 67- Wang X. Quinn P. (1999).** Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res* 38 (4): 309 – 36.
- 68- Warner D. Sheng H. Batinić-Haberle I. (2004).** Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol* 207 (Pt 18): 3221–31.
- 69- Wells W. Xu D. Yang Y. Rocque P. (1990).** Mammalian thioredoxin transferase (glutaredoxin) and protein disulfide isomerase have dehydroascorbate reductase activity. *J Biol Chem* 265 (26): 15361 – 4.
- 70- Witschi A. Reddy S. Stofer B. Lauterburg B. (1992).** The systemic availability of oral glutathione. *Eur J Clin Pharmacol* 43 (6): 667-9.
- 71- Yamaguchi T. Sano K. Takakura K. Saito I. Shinohara Y. Asano T. Yasuhara H. (1998).** Ebselen in acute ischemic stroke: a placebo-controlled, double-blind clinical trial. Ebselen Study Group. *Stroke* 29 (1): 12-7.
- 72- Zallen E. Hitchcock M. Goertz G. (1975).** Chilled food systems. Effects of chilled holding on quality of beef loaves. *J Am Diet Assoc* 67 (6): 552-7.
- 73- Zingg J. M. Azzi A. (2004).** Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr. Med. Chem.* 11 (9): 1113–33
- 74- Zita C. Overvad K. Mortensen S. Sindberg C. Moesgaard S. Hunter D. (2003).** Serum coenzyme Q10 concentrations in healthy men supplemented with 30 mg or 100 mg coenzyme Q10 for two months in a randomised controlled study. *Biofactors* 18 (1 – 4): 185 – 93.

RESUME

Khaya senegalensis (Desr.) A. Juss (Meliaceae) est une plante pendant longtemps utilisée dans la pharmacopée burkinabè pour le traitement de nombreuses maladies du fait de ses nombreuses propriétés pharmacologiques. Les écorces du tronc ont pendant longtemps été la cible des praticiens de santé. Le but de cette étude était de comparer l'activité antioxydante des écorces du tronc, les feuilles et les fruits (coques et graines) afin de montrer si les feuilles ou les fruits qui sont les parties de la plante facilement renouvelables pourraient être utilisées à la place des écorces du tronc. Nous avons préparé des extraits aqueux et hydroalcooliques à partir de poudres d'écorces de tronc, des feuilles, des coques et des graines de *Khaya senegalensis*. Une étude phytochimique a été réalisée au préalable à partir de ces extraits et a permis de mettre en évidence des tanins, des flavonoïdes, des saponosides, des coumarines, des anthraquinones, des émодols, des triterpènes et des stérols qui sont des polyphénols doués d'activité antioxydante. L'évaluation de l'effet antioxydant des extraits aqueux a montré une réduction du DPPH avec des IC_{50} de **27,89 ± 0,07 µg/ml**, **44,88 ± 0,43 µg/ml**, **54,62 ± 0,87 µg/ml** et **55,56 ± 0,23 µg/ml** respectivement pour les écorces, les feuilles, les coques et les graines. Cela montre que les différentes parties sont douées d'activité antioxydante et les écorces sont plus puissantes que les autres. Les IC_{50} pour les extraits directs ou extraits A étaient de **11,54 ± 0,93 µg/ml**, **15,61 ± 0,24 µg/ml**, **34,52 ± 0,64 µg/ml** et **47,14 ± 1,22 µg/ml** respectivement pour les coques, les graines, les feuilles et les écorces. Les coques et les graines sont plus puissantes. De même les coques étaient plus puissantes avec un IC_{50} de **13,38 ± 0,88 µg/ml** pour les extraits B tandis que les feuilles étaient plus puissantes dans les extraits d'acétate d'éthyle (A E) avec un IC_{50} de **31,03 ± 0,74 µg/ml**. Ces résultats montrent que pour les extraits hydroalcooliques, les feuilles et les fruits pourraient être utilisées en remplacement des écorces mais des facteurs tels que le coût élevé de la production de ces extraits, la périodicité de la fructification et la difficulté de récolter limiteraient leur utilisation. Des études ultérieures visant à rechercher les principaux principes chimiques responsables de l'activité antioxydante et à tester *in vivo* l'effet antioxydant des extraits aqueux et hydroalcooliques des différentes parties devront compléter cette étude.

Mots clés : *Khaya senegalensis* (Desr.), principes chimiques, antioxydant

Auteur : MANE Sonnonguebwaoga

Email : manestaron75@yahoo.fr

SERMENT DE GALIEN

" Je jure en présence des maîtres de l'UFR, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

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

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

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

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

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

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