

Activités antiradicalaires et étude des composés volatils de trois plantes de la médecine traditionnelle du Bénin: *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* et *Polyalthia longifolia*

[Radical scavenging activities and study of volatile compounds of three plants used in traditional medicine in Benin: *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* and *Polyalthia longifolia*]

Moukimou. L. AKIBOU OSSENI¹, D. C. Pascal AGBANGNAN¹, Annick BOSSOU¹, H. Paul YEDOMONHAN², Félicien AVLESSI¹, and K. C. Dominique SOHOUNHLOUE¹

¹Université d'Abomey-Calavi, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée, 01 BP 2009 Cotonou, Benin

²Université d'Abomey-Calavi, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Technique, Herbar National, Benin

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The present study was devoted to the chemical analysis of three plants (*Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* and *Polyalthia longifolia*) commonly used by traditional healers in Benin, for their curative properties in the treatment of certain diseases.

After characterization of large chemical groups present in the leaves of these plants, total polyphenols, condensed tannins, total flavonoids, anthocyanins and anthocyanidins were quantified by spectrophotometric methods. The scavenging activity was evaluated by the DPPH method and the volatile compounds in the powders of these plants were determined by SPME-GC/MS.

The results showed the presence of several secondary metabolites such as saponins, alkaloids, tannin, mucilages, anthraquinones, leucoanthocyanins, anthocyanins and triterpenoids in varying proportions in the three plants. The levels of condensed tannins, total flavonoids and anthocyanins are respectively higher in leaves of *P. longifolia* (22.5 mg/g, 15.69 mg/g and 0.94 mg/g) than in those of *P. biglobosa* (16.48 mg/g, 12.03 mg/g and 0.38 mg/g) and that of *A. difformis* (9.74 mg/g, 4.59 mg/g and 0 mg/g).

Against by the total polyphenol content *P. longifolia* leaves (2.89 mg/g) is between those of *A. difformis* (2.19 mg/g) and *P. biglobosa* (4.5 mg/g). It is the same for the contents of anthocyanidins. Three plants studied, *P. longifolia* proved richest in polyphenols (condensed tannins, total flavonoids, anthocyanidins and anthocyanins) and *A. difformis* the less rich. This content of polyphenolic compounds would explain the test results of radical scavenging activities with an IC₅₀ of 21.66 mg/mL for *P. longifolia*, 23.99 mg/mL for *P. biglobosa* and 26.5 mg/mL for *A. difformis*.

The solid phase micro extraction (SPME) coupled with GC/MS allowed the unambiguous identification of volatile components of each of the three plants.

KEYWORDS: Polyphenols; Radical scavenging activities; SPME; *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa*, *Polyalthia longifolia*.

1 INTRODUCTION

Les plantes médicinales occupent une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65-80% de la population mondiale, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la

médecine moderne dans les pays en développement, utilisent des plantes médicinales pour leurs besoins en soins de santé primaire [1]. Avec les nouvelles techniques d'extraction, d'identification et de caractérisation des molécules organiques, plus de 25 à 50% des médicaments prescrits de nos jours ont pour principes actifs les molécules bioactives des plantes médicinales [2], [3]. En Afrique en général et au Bénin en particulier, l'exploration des principes actifs des végétaux à usage thérapeutique connaît un regain d'intérêt ces dernières années. Néanmoins, l'héritage vert constitue encore un énorme réservoir de composés dont les propriétés phytochimiques et pharmacologiques potentielles attendent d'être découvertes. Par conséquent, la valorisation des ressources végétales naturelles devient une préoccupation nécessaire et importante pour la participation à la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses. Au nombre des plantes scientifiquement peu connues mais très utilisées dans la pharmacopée traditionnelle du Bénin pour leurs propriétés curatives dans le traitement de plusieurs pathologies figurent entre autres *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* et *Polyalthia longifolia*.

Appelé aussi *Amorphophallus difformis*, *Anchomanes difformis* (*Araceae*) est une plante herbacée terrestre à rhizomes. Ses feuilles sont en forme de parapluie (d'où son nom de parapluie de singe) avec les limbes multipartites et le pétiole épineux. Ses tubercules en décocté aqueux sont diurétiques et employé contre le diabète. Les feuilles et les rhizomes sont utilisés pour le traitement des diarrhées. [4]. Les pulpes fraîches de ses tubercules permettent de traiter les abcès. En association avec les fils de *Macaranga barteri*, elles forment un médicament dans le traitement des lésions bucco-dentaires (magnan) [5].

Quant à *Parkia biglobosa* qui est de la famille des *Mimosaceae*, il est un Petit arbre haut de 10 à 15 m, à port en parasol, à feuilles bipennées alternes. Son Rachis est long de 20 à 40 cm et porte 10 à 15 paires de pinnules longues de 12 à 15 cm. Les pinnules portent chacune 30 à 60 paires de folioles oblongues, longues de 7 à 15 mm, larges de 2 à 3 mm, à base dissymétrique auriculée du côté inférieur, à sommet en coin. Le Pétiole, long de 4 à 10 cm avant la première paire de pinnules, présente une base épaissie et courte. Les fleurs sont petites, rouges, densément réunies en capitules sphériques larges de 4 à 5 cm, pédonculées de 10 à 30 cm et pendant, parfois en grappes, à l'extrémité des branches de l'arbre. Les fruits sont sous forme de gousses longues de 25 à 30 cm, larges de 15 à 20 mm, aplaties, brun foncé à maturité, contenant des graines noires entourées d'une pulpe farineuse jaune qui remplit toute la gousse. Les feuilles de cet arbre sont utilisées pour le traitement de l'état fébriles, la rougeole et les boutons de fièvre. La décoction de son écorce est employée dans le traitement de la bilharziose et de la blennorragie. [6].

Enfin, *Polyalthia longifolia*, est un arbre tropical de la famille des *Annonaceae*. Sa forme pyramidale et symétrique ou en colonne élégante lui donne son nom d'arbre mâât. Il peut être confondu avec l'ashoka d'où son autre nom commun de Faux ashoka. Il possède des branches pendantes, ce qui lui donne une silhouette conique. Les feuilles sont ovales oblongues à ovales lancéolées, à la base cunéiforme à obtuse ou arrondie, à l'apex acuminé, aux marges ondulées, au pétiole glabrescent. Les jeunes feuilles sont d'une couleur brun-cuivré, elles passent ensuite du vert clair au vert sombre. C'est un arbre à feuillage persistant atteignant 20 m de hauteur et à branches dirigées vers le bas. Les fleurs, solitaires et axillaires, ont des sépales ovales triangulaires et des pétales vert jaunâtre. Ses fruits sont cénocarpiques, ovoïdes et noirs à maturité. [5].

Dans la littérature, très peu d'études ont été consacrées à la détermination de la composition chimique, à la quantification des composés polyphénoliques et à la mesure de l'activité antiradicalaire des extraits de ces trois plantes. Ce travail vise donc à apporter une contribution à la connaissance scientifique de ces plantes à travers leur décryptage chimique et l'évaluation de l'activité antiradicalaire de leur extrait.



Photo n°1 : *Parkia biglobosa* (Mimosaceae)



Photo n°2 : *Polyalthia longifolia* (Annonaceae)

2 MATERIEL ET METHODE

Le matériel végétal utilisé est constitué des feuilles des trois plantes (*Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* et *Polyalthia longifolia*) récoltés au Bénin. Après collecte et identification par les botanistes à l'herbier national du Bénin, le matériel végétal a été séché à la température du laboratoire (26 et 30°C) jusqu'à stabilisation de sa masse puis réduit en poudre grâce à un broyeur électrique (Marque RETSCH, Type SM 100). L'extraction a été réalisée par macération de 50 g de poudre dans 500 ml d'éthanol pendant 72 h et le surnageant est filtré sous vide grâce à un Büchner. Le filtrat ainsi obtenu a été évaporé à sec, pesé et stocké à 6°C jusqu'à l'analyse conformément à la méthode décrite par **Adébo et al.** [7].

2.1 IDENTIFICATION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES

La détermination des métabolites secondaires a été faite par des réactions de coloration et de précipitation différentielles des principaux groupes de composés chimiques contenus dans les plantes. Ainsi, la recherche des stéroïdes et terpènes a été faite par le test de Liebermann [8]. La caractérisation des composés appartenant au groupe des polyphénols a été faite par la réaction au chlorure ferrique [9]. Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine [10]. Les composés appartenant au groupe des tanins ont été mis en évidence par la réaction de Stiasny [11]. Les composés quinoniques libres ou combinés ont été révélés par la réaction de Borntraeger [12], [13]. La recherche des saponosides est basée sur la propriété qu'ont les solutions aqueuses contenant des saponosides de mousser après agitation [12]. La recherche des alcaloïdes a été faite à l'aide des réactifs de Dragendorff (réactif à l'iodobismuthate de potassium) et le réactif de Bouchardât (réactif iodo-ioduré) [14], [15]. Les coumarines ont été mises en évidence par la fluorescence à l'UV à 365 nm [11].

2.2 DOSAGE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

❖ Les anthocyanidines

2 g de poudre de chaque plante sont introduits dans 160 ml de l'acide chlorhydrique de concentration 2 mol/L et portés à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration une extraction liquide-liquide a été réalisée au butanol (3x20 mL). L'extrait butanolique est dosé au spectrophotomètre en balayant la longueur d'onde de 480 nm à 600 nm et l'absorbance la plus élevée est utilisée contre un blanc constitué de butanol pur pour quantifier les anthocyanidines [2], [16].

La teneur est calculée selon la formule suivante :

$$T_{\text{antho}} = \alpha \cdot A_{\text{ext}} \cdot M \cdot d \cdot V / (\epsilon \cdot m)$$

T_{antho} : Teneur en anthocyanidines exprimée en mg/g (Cyanidols équivalent)

α : Facteur de correction = 6; A : Absorbance à la longueur d'onde d'absorption maximale

d : Facteur de dilution; ϵ : Coefficient d'absorption molaire du leucocyanidol (34700)

m : masse de matière sèche du matériel végétal hydrolysé;

M : Masse molaire du leucocyanidol (306g/mol);

V : Volume de la solution n-butanolique;

Le blanc est constitué du butanol pur de qualité analytique

❖ Les anthocyanes

500 μ l d'extrait éthanolique de chaque plante sont mélangés avec 500 μ l de solution d'éthanol acidifié à 0,1 % avec de l'acide chlorhydrique pur et 10 ml de HCl à 2% dans l'eau distillée. L'absorbance de 5 ml de ce mélange est lue en présence de 2 ml d'une solution de bisulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ à 150 g/l) au spectrophotomètre à 520 nm contre un blanc contenant 2 ml d'eau distillée à la place du bisulfite [3], [17].

La teneur en anthocyanes totaux exprimée en mg de standard par gramme d'extrait est donnée par la formule suivante :

$$T_{\text{anthocyanes}} = (\text{DO}_A - \text{DO}_B) \times P / [\text{extrait}]$$

DO_A : Densité Optique de la solution témoin (sans bisulfite)

DO_B : Densité Optique du mélange

P : Pente de la droite obtenue à partir du standard; $P=875$ pour la malvidine-3-glucoside

❖ Les flavonoïdes totaux, les tanins condensés et les polyphénols totaux

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes totaux [18], [19]; les tanins condensés ont été dosés par la méthode à la vanilline sulfurique [20], [21] et les polyphénols totaux ont été dosés par la méthode de Folin [22], [23].

2.3 DÉTERMINATION DES ACTIVITÉS ANTIRADICALAIRES

L'activité antiradicalaire est déterminée par la méthode au DPPH. Le DPPH est solubilisé dans l'éthanol absolu pour avoir une solution de 0,3 mg/ml. Différentes gammes de concentrations de l'ordre du microgramme de chaque extrait sont préparées. L'éthanol absolu a servi de solvant de dilution. Dans des tubes secs et stérils, on introduit 2,5 mL de solution d'extrait à analyser et 1 ml de solution de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min, puis l'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm contre un blanc constitué de 2,5 mL d'éthanol pur et 1 mL de solution de DPPH [3], [24]. Le pourcentage de piégeage de radicaux libres DPPH est calculé suivant la formule :

$$I = [(A_b - A_e) / A_b] \times 100 \quad [25], [26]$$

I : pourcentage d'inhibition; A_b : absorbance du blanc; A_e : absorbance de l'échantillon

2.4 DÉTERMINATION DES COMPOSÉS VOLATILS PRÉSENTS DANS LES POUDRES DES PLANTES

L'extraction en phase solide a pris au fil des années une place importante dans la préparation des échantillons. Ce mode d'extraction permet de réaliser facilement des extractions de composés difficilement extractibles par des solvants organiques et qui n'étaient donc analysables qu'après une simple précipitation [27], [28]. Elle est utilisée, en association à la chromatographie en phase gazeuse, pour identifier et doser des substances volatiles dans de nombreux domaines comme la biologie, l'oenologie, la cosmétologie, l'étude des essences essentielles des plantes [29] etc.

Ainsi, les composés volatiles de nos échantillons de plantes ont été identifiés par micro extraction en phase solide (SPME) couplé avec la GC/MS. Les expériences par SPME ont été effectuées en utilisant 75 mm de fibre en divinylbenzène/Carboxen/polydiméthyl siloxane (Supelco, Bornem, Belgique). L'extraction et la désorption ont été réalisées par un échantillonneur automatique (Gerste IMPS). Pour la préparation des échantillons, 1 g de chaque poudre de plante a été incubé à 30°C pendant 2 min avec une vitesse d'agitation de 250 trs/min. Pour calculer les concentrations des composants, la fibre a été exposée à l'espace de tête pendant 60 min à 35°C.

Les analyses des extraits en GC/MS ont été réalisées avec un CPG Agilent 6890 couplé à un spectromètre de masse quadripôle 5973 MSD (Agilent Technologies, Diegem, Belgique), équipé d'un appareil Varian CP-Q Pora BOND, d'une colonne capillaire (longueur : 25 m; diamètre : 0,320 mm; épaisseur du film : 5 µm). L'injecteur a été réglé à 250°C, la ligne de transfert du MSD a 250°C, le gaz vecteur est l'hélium (1 mL /min); la désorption par SPME a été faite en mode split avec l'injecteur CIS-4 PTV(Gerstel) durant 120 s et l'ionisation à 70 eV. La température du four a été programmée de 60 à 350°C [28]. L'identification des composés volatils de chacune des plantes a été faite par comparaison de leurs indices de rétention (IR) et de leurs spectres de masse à ceux des composés de référence de la littérature [29], [30].

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 IDENTIFICATION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES

Divers métabolites secondaires ont été mis en évidence dans les plantes étudiées par une série de réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs comme le montre le tableau 1. De ce tableau nous pouvons retenir que :

Les feuilles de *A.difformis* contiennent en abondance les alcaloïdes, les saponosides, les flavonoïdes, les mucilages, les composés réducteurs, les tanins aussi bien catéchiques que galliques. Mais les triterpénoïdes et les anthocyanes sont présents en faible quantité alors que les anthraquinones (libres et combinés) ainsi que les leuco-anthocyanes y sont absents. Nos résultats sont conformes à ceux de *Abah et al* [4] d'une part et à ceux de *Peter et al* [31] d'autre part pour ce qui concerne la présence des tanins et des saponosides. Mais ce dernier auteur révèle l'absence des alcaloïdes et des flavonoïdes dans son échantillon récoltés au Nigéria.

Les feuilles de *P.biglobosa* contiennent en forte proportion les alcaloïdes, les saponosides, les anthraquinones libres, les tanins catéchiques et galliques ainsi que les flavonoïdes, les triterpénoïdes, les anthocyanes, les anthraquinones combinés (C-hétérosides) et les mucilages. Ces résultats sont conformes à ceux de *Tokoudagba* [6] pour ce qui concerne la présence des tanins, des flavonoïdes et des anthraquinones combinés C-hétérosides. Cependant les composés réducteurs, les leuco-anthocyanes, les coumarines et les O-hétérosides à génines réduites présents dans les résultats *Tokoudagba* [6] sont absents dans notre échantillon. Par ailleurs, nos résultats sont conformes à ceux de *Al-Mahamood et al* [32] quant à la présence des saponosides, des tanins et des alcaloïdes dans les extraits aqueux de la même plante récoltée au Nigéria.

Les feuilles de *P. longifolia* quant à elles contiennent en abondance les mucilages, les saponosides, les anthraquinones libres, les anthraquinones combinés, les composés réducteurs, les tanins, les anthocyanes, les triterpénoïdes, les flavonoïdes et les coumarines ainsi que les alcaloïdes. Mais les leuco-anthocyanes et les coumarines y sont absents. Nos résultats sont conformes à ceux obtenus en Inde en 2011 par *Rajesh et al* [33] pour ce qui concene les Terpénoïdes, les anthraquinones, les saponosides, les tanins et les composés réducteurs. Cependant, les alcaloïdes présents dans les résultats de ce dernier sont absents dans notre extrait. De même, nos résultats sont conformes également à ceux obtenus par *Pradhan et al* [34], dans la Région de Jaipur en Inde en 2011, à l'exception de la présence des alcaloïdes et des saponosides.

Tableau 1 : Métabolites secondaires présents dans les feuilles de *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* et *Polyalthia longifolia*

Métabolites secondaires		<i>A. difformis</i>	<i>P. biglobosa</i>	<i>P. longifolia</i>
Alcaloïdes		+	+	+
Saponosides		+	+	+
Flavonoïdes		+	+	+
Tanins galliques		+	+	+
Tanins Cathéchiqes		+	+	+
Mucilages		+	+	+
Composés réducteurs		+	-	+
Anthraquinones libre		-	+	+
Anthraquinones combinés	Anthraquinones combinés (O-hétérosides)	-	-	+
	Anthraquinones combinés (O-hétérosides à génines réduites)	-	-	+
	Anthraquinones combinés (C-hétérosides)	-	+	+
Coumarines		-	-	-
Triterpénoïdes		+/-	+	+
Anthocyanes		+/-	+	+
Leuco-anthocyanes		-	-	-

+ présence ; +/- trace ; - Absent.

A. difformis : *Anchomanes difformis*; *P. biglobosa* : *Parkia biglobosa*; *P. longifolia* : *Polyalthia longifolia*

3.2 DOSAGES DES COMPOSES POLYPHENOLIQUES DES PLANTES ETUDIEES

- Teneur en flavonoïdes totaux et en tanins condensés

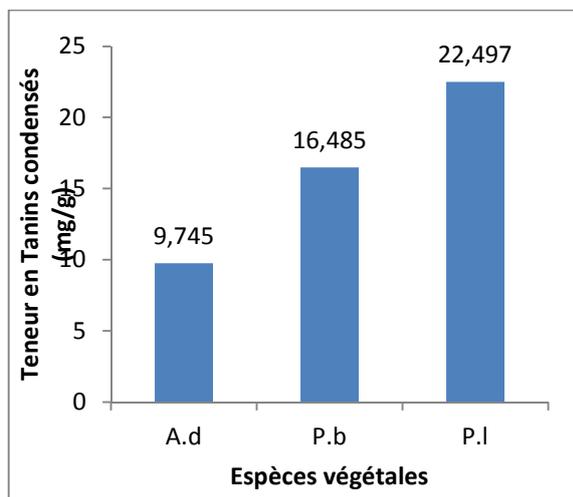


Figure 1 : Teneurs tanins condensés des différentes espèces végétales en mg/g

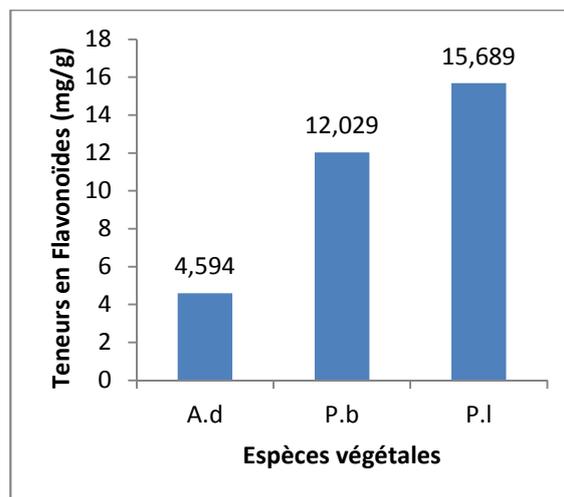


Figure 2: Teneurs en flavonoïdes des différentes espèces végétales en mg/g

A.d : Feuille de *Anchomanes difformis* ; *P.b* : Feuille de *Parkia biglobosa* ; *P.l* : Feuille de *Polyalthia longifolia*

Les teneurs en flavonoïdes totaux de nos échantillons varient de **4,59 mg/g** à **15,69 mg/g**. Les feuilles de *P. longifolia* contiennent la plus forte teneur en flavonoïdes alors que celles de *A. difformis* présentent la plus faible teneur. Par ailleurs, les teneurs de nos échantillons en tanins condensés varient de **9,74 mg/g** à **22,5 mg/g**.

- Teneur en anthocyanes, en anthocyanidines et en polyphénols totaux

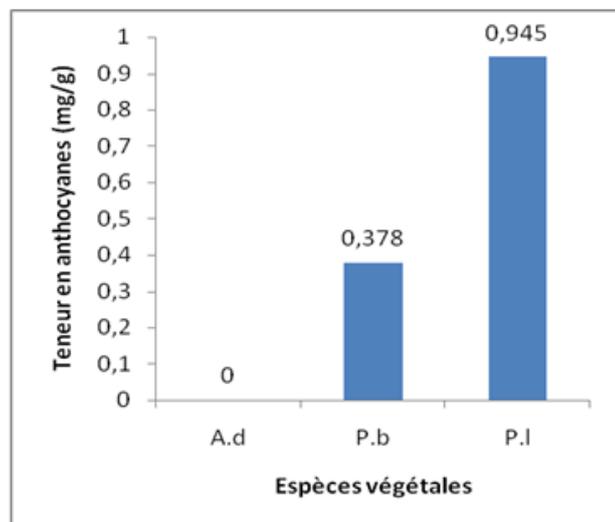


Figure 3 : Teneurs en anthocyanes des différentes espèces végétales en mg/g

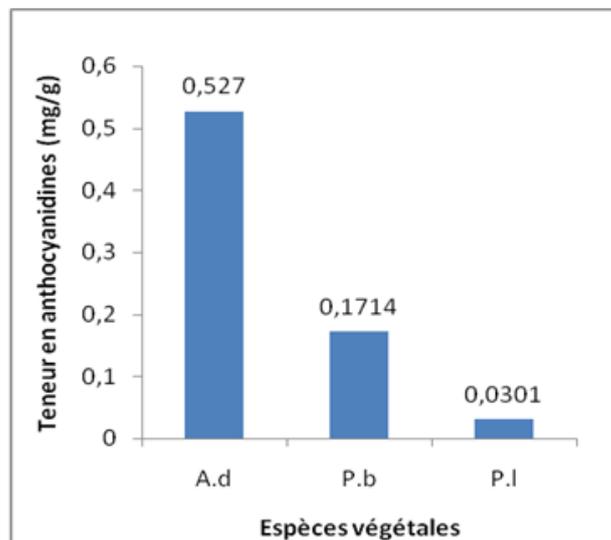


Figure 4 : Teneurs en anthocyanidines des différentes espèces végétales en mg/g

A.d : Feuille de *Anchomanes difformis* ; **P.b** : Feuille de *Parkia biglobosa* ; **P.l** : Feuille de *Polyalthia longifolia*

Les teneurs en anthocyanes et en anthocyanidines de nos échantillons varient respectivement de **0 mg/g** à **0,94 mg/g** et de **0,03 mg/g** à **0,53 mg/g**. Les feuilles de *P. longifolia* contiennent la plus forte teneur en anthocyanes alors que celles de *A. difformis* présentent la plus faible. Par contre les feuilles de *A. difformis* contiennent la plus forte teneur en anthocyanidines alors que celles de *P. longifolia* présentent la plus faible.

- Teneur en polyphénols totaux

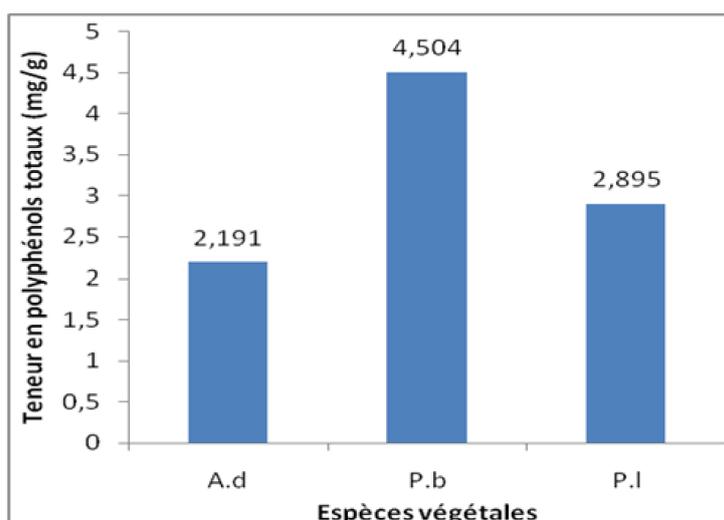


Figure 5 : Teneurs en polyphénols totaux des différentes espèces végétales en mg/g

A.d : Feuille de *Anchomanes difformis* ; **P.b** : Feuille de *Parkia biglobosa* ; **P.l** : Feuille de *Polyalthia longifolia*

Les feuilles de *P. biglobosa* présentent la plus forte teneur en polyphénols totaux alors que celles de *A. difformis* contiennent la plus faible. Toutefois, cette teneur (4,5 mg/g) en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de nos échantillons récolté à Calavi au Bénin est inférieure à celles trouvées par *Jean-Marie et al.* [35] pour les extraits cyclohexanique (15,9 mg/g), dichlorométhanique (68,9 mg/g) et hydroalcoolique (99,7 mg/g) de la même plante récoltée à Bohicon au Bénin. Par ailleurs, nos résultats sont proches de ceux obtenus par *Aline et al* [36] au Burkina Faso pour les extraits méthanolique (3,8 mg/g) et acétoniques (6,26 mg/g) de la même espèce.

3.3 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIRADICALAIRE DES DIFFERENTS EXTRAITS DES PLANTES

Le tracé du graphe exprimant le taux de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration d'extrait a permis de déterminer les concentrations d'extraits éthanoliques permettant de piéger 50 % de radicaux DPPH (IC₅₀). Nous remarquons que ces concentrations varient d'une plante à l'autre (Tableau 2).

Tableau 2: Activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique des plantes étudiées

	<i>A.difformis</i>	<i>P.biglobosa</i>	<i>P.longifolia</i>
IC ₅₀ (mg/ ml)	50	20	16

La concentration de l'extrait permettant le piégeage de 50 % de radicaux libres est plus faible au niveau de *P. longifolia*. Cette plante, qui s'était déjà révélé la plus riche en polyphénols, présente donc la plus faible activité antiradicalaire.

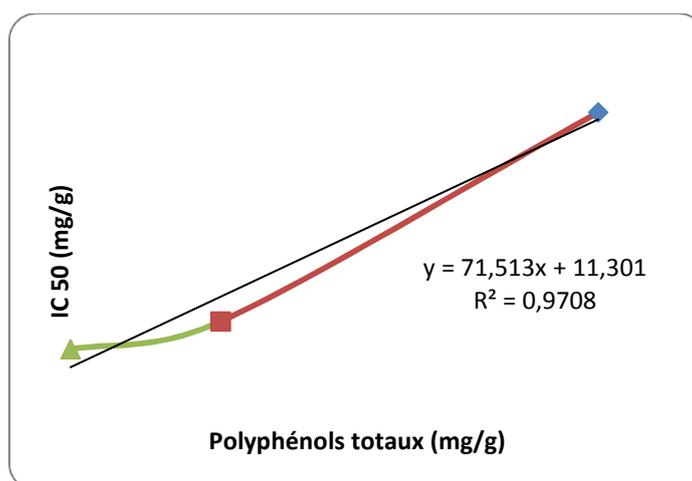


Figure 9: Teneur en polyphénols totaux en fonction de l'activité antiradicalaire

Le tracé du graphe de l'activité antiradicalaire en fonction de la teneur en polyphénols totaux pour l'extrait le plus actif comparé aux moins actifs montre une bonne corrélation entre l'activité antiradicalaire et la teneur en polyphénols avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,970$. L'activité antiradicalaire de ces extraits serait donc fortement liée à leur teneur en composés phénoliques comme en témoignent plusieurs travaux dans la littérature sur les extraits végétaux [15], [35], [36], [37], [38].

3.4 IDENTIFICATIONS DES COMPOSES AROMATIQUES PRESENTS DANS LES POUDRES DES PLANTES

Tableau 3: Composés volatils présents dans la poudre des feuilles de trois plantes

RT ^a (mn)	KI ^b cal	KI lit	Composés identifiés	Feuille de <i>A. difformis</i>	Feuille de <i>P. biglobosa</i>	Feuille de <i>P. longifolia</i>
1,73			Acetic acid			1,2
1,84	517	606	Ethyl acetate	14,29	27,3	2,7
2,76	765	767	Toluene	6,37		
5,44	930	932	Decadiyne	1,43		
8,01	1029	1022	o-Cymene	4,40		
21,91	1368	1374	α-Copaene	1,16		3,85
23,69	1411	1417	E-Caryophyllene	10,74	36,23	30,87
24,05	1420	1424	2,5-dimethoxy-p-Cymene	4,17		
24,38	1428	1432	α-E-Bergamotene			2,09
25,04	1444	1452	α-Humulene			8,04
25,35	1452	1458	allo-Aromadendrene	5,42	31,62	26,51
26,01	1469	1478	γ-Murolene			1,76
26,37	1478	1479	ar-Curcumene			13,81
26,75	1487	1489	β-Selinene			4,45
27,88	1516	1522	δ-Cadinene			1,73
30,13	1576	1582	Caryophyllene oxide			2,37
% des composés identifiés dans chacune des plantes				47,98	95,17	99,35

KI cal : Indice de Kovacs calculé KI lit : Indice de Kovacs dans la littérature RT : Temps de Rétention

Il ressort de l'analyse de ce tableau que 47,98% des composés contenus dans l'extrait éthanolique des feuilles de *A. difformis* ont pu être identifiés contre 95,17% pour *P. biglobosa* et 99,35% pour *P. longifolia*.

A. difformis contient sept (7) différents composés aromatiques alors que *P. biglobosa* en contient deux (2) contre dix (10) pour *P. longifolia*. Enfin, les pourcentages des composés aromatiques présents dans les extraits éthanoliques de chacune de ces trois plantes sont respectivement 33,69%, 67,85% et 95,48%.

4 CONCLUSION

Le présent travail a été consacré à la détermination des grands groupes chimiques, au dosage des composés polyphénoliques suivi de l'évaluation de l'activité antiradicalaire et l'identification des composés volatils de trois plantes de la pharmacopée béninoise en vue de justifier leur utilisation dans la lutte contre diverses pathologies.

P. longifolia est la plus riche des trois plantes en composés polyphénoliques et a présenté l'activité antiradicalaire la plus intéressante.

Par ailleurs, le présent travail a montré une diversité en métabolites secondaires et en composés aromatiques au niveau des plantes étudiées et a révélé leur richesse en polyphénols, produits naturels antioxydants, à intérêt considérable dans le domaine pharmacologique. Ce travail apporte donc une contribution significative à la connaissance phytochimique des trois plantes investiguées et permet ainsi, de mieux comprendre les propriétés pharmacodynamiques de leurs extraits expliquant leur usage en pharmacopées traditionnelles.

REFERENCES

- [1] Who, Edm, Trm, "Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005". OMS, Genève, 65 p, 2002.
- [2] D. J. Newman, G. M.Cragg, K. M.Snader, "The influence of natural products upon drug discovery". *Natural Product Report*, 17: 215 – 234, 2000.
- [3] J. B. Calixto, "Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view". *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 131 - 134, 2005.
- [4] S. Abah, Eneojo., L.O. Egwari and T.O. Mosaku. "In vitro Antimicrobial Screening on *Anchomanes difformis* (Blume) Engl. Leaves and Rhizomes Against Selected Pathogens of Public Health Importance". *Advances in Biological Research*, 5 (4): 221-225, 2011.
- [5] A. Akoeginou, B. W. J. Van der, and M. L. J. G. Van der". *Flore Analytique du Bénin*", Backhuys Publishers, 1034 p, 2006.
- [6] J.M. Tokoudagba "Phytochimie et Propriétés anti hypertensives de deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Bénin : *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. (Mimosaceae) et *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)". Thèse N° 023-2012 / FDCA/ FAST / UAC, 2012.
- [7] I.B. Adebo, I. Doumbia, N. Aka, M. Dosso, and F. Guede Guina, "Evaluation de l'activité antibactérienne de *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae) sur la croissance in vitro de *Mycobacterium tuberculosis*". *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*, Volume 21, pp 35- 42, 2008.
- [8] Y. A. Bekro, J. A. M. Bekro, B. B. Boua, B. F. H.Tra, E. E. Ehile, "Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et *Zarucchi* (Caesalpiniaceae)". *Re. Sci. Nat*, Vol. 4, No.2, PP. 217-225, 2007.
- [9] J.Bruneton, "Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales". Tec et Doc., Lavoisier, Paris, PP.915, 2^{ème} édition, 1993.
- [10] J.Bruneton, "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales". Lavoisier Technique & Documentation. Paris, 1999.
- [11] T.Y. Soro, F. Traore, J.Y. Datte, A.S. Nene-Bi, "Activite antipyreteque de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*". *Phytotherapie*, PP.297–303, 2009.
- [12] N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, L. M. I. Hassani, A. Bodoc, N. Gmira, "Screening phytochimique d'une endemique Ibero-marocain, *Thymelaea lytroides* Bull". *Soc. Pharm. Bordeaux*, PP. 61-78, 2003.
- [13] A. M. Rizk, "Constituents of plants growing in Qatar". *Fitoterapia*, Vol. 52, No. 2, PP.35- 42, 1982.
- [14] K. N'Guessan, "Contribution à l'étude ethnobotanique en pays krobou". Thèse de doctorat 3^{em} cycle, University National de Côte d'Ivoire, 557 p, 1995.
- [15] P.J. Houghton and A. Raman, "Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. London". Chapman et hall 1998.
- [16] P. Lebreton, M. Jay and B.Voirin, "Analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes". *Chim. Anal. (Paris)*, 49 (7), 375-383, 1967.
- [17] P. Ribereau-Gayon and S. Stone, "Dosage des anthocyanes dans le vin rouge". *E. Bull. Soc. Chim.*, 9, 2649-2652, 1965.
- [18] T. Bahorun, B. Grinier, F. Trotin, G. Brunet, T. Pin, M. Luncky, J. Vasseur, M. Cazin, C. Cazin and M. Pinkas, "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations". *Arzneimittel-Forschung*, Vol. 46, No. 11, PP. 1086-1089, 1996.
- [19] P. Agbangnan, C. Tachon, C. Bonin, A. Chrostowka, E. Fouquet, D. C. K. Sohounhloue, "phytochemical study of a tinctorial plant of benin traditional pharmacopoeia: The red sorghum (*sorghum caudatum*) of Benin". *Scientific Study & Research*, Vol. 13, No. 2, 121-135, 2012.
- [20] P. Schofield, D. M. Mbugua, A. N. Pell, "Analysis of condensed tannins". *Animal feed science technology*, PP. 21-40, 2001.
- [21] B. J. Xu and S. K. C. Chang, "A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents ". *Journal of Food Science*, Vol. 72, No. 2, PP. 160-161, 2007.
- [22] V. I. Singleton and R. M. Lamuela-Raventos, "Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent ". *Method in Enzymology*, pp.15 1999.
- [23] P. Siddhuraju, P. S. Mohan and K. Becker, "Studies on the Antioxidant Activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.), a Preliminary Assessment of Crude Extracts from Stem Bark, Leaves, Flowers and Fruit Pulp". *Journal of Food Chemistry*, Vol. 79, No. 1, PP. 61-67, 2002.
- [24] K. M. Konan, J. A. Mamyrbekova-Bekro, Y. A. Bekro, B. M. G. Djie and B. T. J. Zomi, "In vitro antioxidant activities of total flavonoids extracts from leaves and stems of *Adenia lobata* (Jacq.) Engl. (*Passifloraceae*) ". *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, Vol. 3(1), pp. 8-12, 2010.
- [25] P. D. C. Agbangnan, J.P. Noudogbessi, A. Chrostowska, C. Tachon, E. Fouquet, D C. K.Sohounhloue, "Phenolic compound of Benin's red sorghum and their antioxidant properties". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*,6(2), 277-2802013.

- [26] X. Duan, W. Zhang, X. Li. and B. Wang, "Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphoniaurceolata*". Food Chemistry, 95:37-45, 2006.
- [27] L. Humbert, Annales de Toxicologie Analytique, 22(2): 61-68, 2010.
- [28] F. Chapuis, V. Pichon and M. C. Hennion, "Méthode de préconcentration par extraction en phase solide : principe et application aux industries environnementales et pétrolières". Oil Gas Sci Technol., 60: 899–912, 2005.
- [29] P. Yves, B. Bertrand and M. Patrick, "Headspace (HS) et micro-extraction en phase solide (SPME). Théorie et applications". Annales de Toxicologie Analytique, 22(2): 75-79, 2010.
- [30] A. D. Bossou, S. Mangelinckx, H. Yedomonhan., P. M. Boko., M. C. Akogbeto, N. De Kimpe, F. Avlessi and D. C K Sohounhloue, "Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles) ". Parasites & Vectors 6: 337, 2013.
- [31] P. A. Akah and A. I. Nwambie, "Evaluation of Nigerian traditional medicines: Plants used for rheumatic (inflammatory) disorders". Journal of Ethnopharmacology, 42 179- 182, 1994.
- [32] A. M. El-Mahamood, and J. M. Ameh, "In vitro antibacterial activity of *Parkia biglobosa* (Jacq.) root bark extract against some microorganisms associated with urinary tract infections". African Journal of Biotechnology (2007) Vol. 6 (11), pp. 1272-1275
- [33] N. G. Rajesh, R. U. Shaikh, M. P. Mahesh, "In vitro evaluation of anticancer and antimicrobial activity of selected medicinal plants from Ayurveda". Asian Journal of Traditional Medicines, 6 (3), 2011.
- [34] P. Pradhan, J. Mahesh, R. Chulet, Y. Deepak, "Preliminary studies on effect of biodiversity activity of *Polyalthia longifolia*". Pharmacologyonline, 2: 11-15, 2011.
- [35] J-M. Tokoudagba, C. Auger, L. Bréant., S. N’Gom, P. Chabert, N. Idris-Khodja, F. Gbaguidi., J. Gbenou, M. Moudachirou, A. Lobstein and V. B. Schini-Kerth, "Procyanidin-rich fractions from *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) leaves cause redox-sensitive endothelium-dependent relaxation involving NO and EDHF in porcine coronary artery". Journal of Ethnopharmacology 132, 246–250, 2010.
- [36] A. Lamien-Meda, C. E. Lamien, M. M. Y. Compaoré, R. N.T. Meda, M. Kiendrebeogo, B. Zeba, J. F. Millogo and O. G. Nacoulma, "Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso". Molecules, 13, 581-594, 2008.
- [37] P. Molyneux, "The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity". J. Sci. Technol, 211-219, 2004.
- [38] V. N. Enujiugha, "The Antioxidant and Free Radical- Scavenging Capacity of Phenolics from African Locust Bean Seeds (*Parkia biglobosa*) ". Advances in Food Sciences, Vol. 32, No.2 pp. 88-93, 2010.