AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

THESE DE DOCTORAT EN COTUTELLE

UNIVERSITE DE LORRAINE (FRANCE) ET UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI (BENIN)

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

DISCIPLINE : Chimie organique

Spécialité : Phytochimie

Par : Tonahin Giscard Pépin GUEZODJE

Sous la direction de :

Professeur Amadou DICKO

Université de Lorraine (France)

Professeur Hounnankpon YEDOMONHAN

Université d'Abomey-Calavi (Bénin)

ETUDES ETHNOBOTANIQUES, ET PROFILS PHYTOCHIMIQUES DES PLANTES UTILISEES DANS LES SOINS BUCCO-DENTAIRES AU BENIN

Vendredi 10 décembre 2021

Directeurs de thèse :	**Monsieur Amadou DICKO**	**Professeur titulaire Université de Lorraine (France)**
	Monsieur Hounnankpon YEDOMONHAN	**Professeur titulaire Université d'Abomey-Calavi (Bénin)**
Président de jury (Rapporteur) :	**Monsieur Mossadok BEN-ATTIA**	**Professeur titulaire Université de Carthage (Tunisie)**
Rapporteur :	**Monsieur Sêmihinva Ben AKPAVI**	**Professeur titulaire Université de Lomé (Togo)**
Examinatrices :	**Madame Gbèkponhami Monique TOSSOU**	**Professeur titulaire Université d'Abomey-Calavi (Bénin)**
	Madame Michèle SINDT	**Docteur MCF (HDR) Université de Lorraine (France)**

DEDICACE

Je dédie cette thèse à ma famille

REMERCIEMENTS

Ce travail est le fruit de nombreuses collaborations pluridisciplinaires. Il a été réalisé grâce à plusieurs personnes aussi bien, morales que physiques, qui méritent, toutes, le témoignage de ma reconnaissance.

Cette thèse, financée par le ministère des Affaires Etrangères de la France à travers son Ambassade au Bénin, est le fruit d'une collaboration entre le Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale (LaBEV) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) et le Laboratoire de Chimie et Physique Approche Multi-échelles des Milieux Complexes (LCP-A2MC) de l'Université de Lorraine (UL).

J'exprime mes sincères remerciements au Professeur Hounnankpon YEDOMONHAN, co-directeur de cette thèse, avec qui je travaille depuis ma licence, pour m'avoir accompagné durant toutes ces années ainsi que pour son encouragement et ses meilleurs et utiles conseils.

Je tiens à dire merci au Professeur Amadou Dicko, co-directeur de cette thèse, de m'avoir accueilli dans son laboratoire, de la confiance qu'il m'a accordée et aussi pour son encadrement, sa sympathie, sa rigueur scientifique, ses conseils et ses encouragements.

Je remercie les honorables membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail et qui n'ont ménagé aucun effort, malgré leurs multiples occupations, pour lire et corriger le manuscrit de cette thèse.

J'adresse mes remerciements aux membres du comité de suivi de cette thèse : Aristide Cossi ADOMOU, professeur à l'UAC et Michèle SINDT, professeur à l'UL, pour avoir accepté suivre ce travail durant les trois années de recherche.

Mes sincères remerciements au professeur Clément AGBANGLA, directeur de l'ED Sciences de Vie et de la Terre (ED-SVT) et au professeur Dominique DALOZ, directeur de l'ED C2MP.

Je voudrais remercier également les Professeurs Akpovi AKOEGNINOU et Monique Gbèkponhami TOSSOU, pour leur assistance technique et appuis scientifiques. Mes remerciements vont naturellement à l'endroit de :

- Docteur Janvier HOUENON, Maitre-assistant des Université, pour sa disponibilité et ses conseils pour la réussite de ce travail ;
- Docteur Victorien DOUGNON, Maitre de Conférences des Université, pour sa sympathie et son encouragement ;
- Docteur Hospice DASSOU Maitre-assistant des Université, pour son appui scientifique ;
- Docteurs Jerrold AGBANKPE, Jéronime OUACHINOU, Romuald BADOU, Marcelline GNAWE, pour leur encouragement, contribution scientifique ;
- Docteur Christian ADADJA, pour son amitié et son soutien.

Je profite aussi de cette occasion pour remercier mes collègues doctorants et mes amis qui m'ont permis de m'évader et pour le réconfort qu'ils ont pu m'apporter.

Sommaire

DEDICACE ..... **I**

REMERCIEMENTS ..... **II**

SOMMAIRE ..... **IV**

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS ..... **VI**

LISTE DES FIGURES ..... **VII**

LISTE DES TABLEAUX ..... **X**

LISTES DES ANNEXES ..... **XII**

RESUME ..... **XIII**

ABSTRACT ..... **XV**

INTRODUCTION GENERALE **1**

CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ET PRESENTATION DU MILIEU D'ETUDE **6**

CHAPITRE 2 : DIVERSITE, USAGES ET VULNERABILITE DES PLANTES MEDICINALES UTILISEES DANS LE TRAITEMENT DES AFFECTIONS BUCCO DENTAIRES AU BENIN **55**

CHAPITRE 3 : CYTOTOXICITE ET ACTIVITES ANTIMICROBIENNE DES PLANTES VULNERABLES DE LA PHARMACOPEE BENINOISE UTILISEES POUR LES SOINS ET LE TRAITEMENT DES AFFECTIONS BUCCO-DENTAIRES **108**

CHAPITRE 4 : SCREENING PHYTOCHIMIQUE ET LE DOSAGE DU POUVOIR ANTI RADICALAIRE (ANTIOXYDANT) 130

DISCUSSION GENERALE 170

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 174

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... A

ANNEXES ..... AA

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AAO : Activité antioxydante

Abs : absorbance

ACN : Acétonitrile

DPPH : 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle

EC/g Ms : Equivalant catéchine par gramme de matière sèche

EAG/g Ms : Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche

ET/g MS : Equivalent Trolox par gramme de matière sèche

FVT : Flavonoïdes totaux

PPT : Polyphénols totaux

TC : Tanin condensé

LC- MS : Chromatographie en phase liquide couplée à un spectrophotomètre de masse

TR : Temps de rétention

HBD : Hygiène bucco-dentaire

OMS : Organisation mondiale de la santé

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : structures de deux imino-sucres de la famille des alcaloïdes 25

Figure 2 : Structure de la saponine de soja 26

Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes 27

Figure 4 : Schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes 28

Figure 5 : Classification des flavonoïdes 29

Figure 6 : Structure de Chalcones et dérivés 31

Figure 7 : Structure des aurones et ces dérivés 31

Figure 8 : Structure générale des flavonols 33

Figure 9 : Quelques sous classe des flavonoïdes au sens strict 35

Figure 10 : Structures moléculaires des flavanes 36

Figure 11 : Structure des isoflavonoïdes 37

Figure 12 : Structure de quelques anthocyanes et leur identification dans la nature 38

Figure 13 : Structure de quelques tannins hydrolysables. 41

Figure 14 : Structure de quelques tannins condensés. 41

Figure 15: Métabolites secondaires et prévention des certaines maladies 46

Figure 16 : Distribution des sols dans les trois zones phytogéographiques 49

Figure 17 : Carte du Bénin montrant les localités prospectées 58

Figure 18 : Relation entre le nombre de d'espèces végétales mentionnées et le nombre d'affections bucco dentaires traitées rapportées par individu 68

Figure 19 : Variation de la fréquence de citation en fonction des affections bucco-dentaires dans chacune des trois zones phytogéographiques (GC : Zone Guinéo-congolaise ; SG : Soudano-guinéenne ; S : Soudanienne) 101

Figure 20 : Sensibilité des larves de *Artemia salina* aux différents extraits et CL_{50} correspondant 120

Figure 21 : Photo montrant a- Fleur, b- Feuilles, c le tronc et d- pied d'*Anogeissus leiocarpa* (Cliché Guezodje, 2019) 133

Figure 22 : Photo montrant en a-fruit et feuilles de *Prosopis africana* et en b- tronc (cliché Guezodje, 2019) de *Prosopis africana* 136

Figure 23 : Spectroscopie ultraviolet-visible 142

Figure 24 : Etalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la teneur en phénols totaux 144

Figure 25: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour la détermination de la teneur en flavonoïdes totaux 145

Figure 26 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés 146

Figure 27 : Mécanisme d'action de DPPH 147

Figure 28 : Courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de trolox dans une solution DPPH. 148

Figure 29 : Formation et piégeage du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de $H^{\bullet}$ 149

Figure 30 : Courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de trolox dans une solution $ABTS^{\bullet+}$. 150

Figure 31 : Appareillage Shimadzu LC-MS 2020.....154

Figure 32 : Teneurs en composés phénoliques de *A. leiocarpa* et de *P. africana*...158

Figure 33 : Activités anti-oxydantes (DPPH et ABTS) des extraits éthanoliques de *A. leiocarpa* et de *P. africana*.....159

Figure 34 : Profil chromatographique (PDA-360nm) de l'extrait alcoolique de *A. Leiocarpa*.....160

Figure 35 : Profils chromatographiques mode SIM (m/z = 301) d'écorce de *A. Leiocarpa* ; (a) l'extrait alcoolique (b) l'extrait aqueux.....161

Figure 36 : Profil chromatographique (PDA-360 nm) de l'extrait hydro-alcoolique de l'écorce de *P. africana*.....162

Figure 37 : Profil chromatographique en mode SIM (m/z = 301) de l'extrait hydro alccolique de l'écorce de *P. africana*.....163

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Propriétés thérapeutiques des groupes des métabolites secondaires ... 24

Tableau 2 : Répartition des principales ethnies du Bénin en fonction des langues parlées ... 53

Tableau 3 : Présentation des données socio-démographiques des enquêtés ... 61

Tableau 4 : Description détaillée de 8 variables impliquées dans la régression linéaire ... 64

Tableau 5 : Résultats issus de la régression linéaire ... 70

Tableau 6 : Plantes à usages bucco-dentaires et connaissances endogènes y relatives ... 72

Tableau 7 : Liste des plantes prioritaires utilisées pour le traitement des affections et symptômes bucco-dentaires ... 102

Tableau 8 : Correspondance entre concentration létale (CL_{50}) et toxicité ... 113

Tableau 9 : correspondance utilisée pour la lecture des résultats des tests antibactériens des extraits végétaux [100] ... 114

Tableau 10 : Rendement à l'extraction des plantes testées ... 117

Tableau 11 : Valeurs de CL_{50} des extraits hydro alcoolique des différents échantillons ... 118

Tableau 12 : Moyenne des diamètres de zone d'inhibition des plantes étudiées . 121

Tableau 13 : CMI, CMB et Pouvoir antibiotique des extraits hydro alcooliques des feuilles sélectionnées sur les souches bactériennes utilisées ... 124

Tableau 14 : Composés chimiques des écorces de tige des deux plantes ... 157

Tableau 15 : Concentration des composés bioactifs des plantes de *A. leiocarpa* et de *P. africana* 164

LISTES DES ANNEXES

Annexe 1 : Article paru ..... bb

Reference: T. G. P. Guezodje [1, *2], A. J. Agbankpe [3], G. H. Dassou [1], T. V. Dougnon [3], A. Dicko [2] and H. Yedomonhan [1]

Journal: International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research

***Volume**: IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11*

Titre: CYTOTOXICITY, ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND CHEMICAL PROPERTIES OF TEN PLANTS FROM THE BENIN PHARMACOPOEIA USED FOR ORAL CARE

Annexe 2 : Monographie des plantes dix plantes étudiées ..... b

Annexe 3 : Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires ..... g

Annexe 4 : Fiche de collecte de données ethnobotaniques ..... m

RESUME

Au Bénin, l'utilisation des bâtons à mâcher communément appelés « cure-dents » est une pratique culturelle pour traiter les affections bucco-dentaires. Cependant, les données scientifiques sur leur potentiel thérapeutique restent fragmentaires. Cette étude propose d'améliorer les connaissances ethnobotaniques, thérapeutiques et la phytochimie des plantes à usages bucco-dentaires du Bénin. Pour atteindre cet objectif, nous avons effectué une enquête ethnobotanique, auprès des 1697 individus, qui a permis de sélectionner 362 plantes dont dix sont les plus fréquemment utilisées : *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Vitellaria paradoxa*, *Prosopis africana*, *Dialium guineense*, *Pseudocedrela kotschyi*, *Parkia biglobosa*, *Azadirachta indica*, *Diospyros mespiliformis*, *Anogeissus leiocarpa* et *Bridelia ferruginea*. Ensuite, une étude a été réalisée pour évaluer leur cytotoxicité et leurs activités antibactériennes. Les résultats du test antibactérien montrent que les plus grands diamètres d'inhibition ont été obtenus par les extraits hydro-éthanoliques de *A. leiocarpa* [25,67±0,04 mm sur *Escherichia coli* ATCC 25922 ; 23,67±0,02 mm sur *Escherichia coli* (souche clinique) ; 23,67±0,12 mm sur *Klebsiella pneumoniae* (souche clinique)] et de *P. africana* [20,33±0,62 mm sur *Escherichia coli* ATCC 25922 ; 20,67±0,04 mm sur *Klebsiella pneumoniae* (souche clinique) ; 21±1 sur Escherichia coli (souche clinique)]. Par la suite, l'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide du test ABTS, des extraits hydroalcooliques des écorces de *Anogeissus leiocarpa* (14,97±0,83 mg ET/gMS) a montré un pouvoir antiradicalaire supérieur à celui des extraits d'écorces de *Prosopis africana* (13,25±0,1 mg ET/gMS). Les principaux flavonoïdes observés dans les extraits d'écorces de *Anogeissus leiocarpa* sont l'acide ellagique et la quercétine tandis dans les extraits d'écorce de que *Prosopis africana* seule la quercétine a été observé.

Mots clés : Plantes médicinales, Toxicité, Activité antibactérienne, Activité antioxydante, LC-PDA/MS.

ABSTRACT

In Benin, the use of chewing sticks is a cultural practice to treat oral diseases. However, scientific data on their therapeutic potential are lacking. This study proposes to improve ethnobotanical, therapeutic and phytochemical knowledge of oral plants in Benin. To achieve this objective, we conducted an ethnobotanical survey of 1697 individuals, which allowed us to select ten plants: *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Vitellaria paradoxa, Prosopis africana, Dialium guineense, Pseudocedrela kotschyi, Parkia biglobosa, Azadirachta indica, Diospyros mespiliformis, Anogeissus leiocarpa* and *Bridelia ferruginea*. Then, a study was performed to evaluate their cytotoxicity and antibacterial activities. The results of the antibacterial test show that the largest inhibition diameters were obtained by the hydroethanol extracts of *A. leiocarpa* [25.67±0.04 mm on *Escherichia coli ATCC 25922*; 23.67±0.02 mm on *Escherichia coli* (clinical strain); 23.67±0.12 mm on *Klebsiella pneumoniae* (clinical strain)] and *P. africana* [20.33±0.62 mm on *Escherichia coli ATCC 25922*; 20.67±0.04 mm on *Klebsiella pneumoniae* (clinical strain); 21±1 on *Escherichia coli* (clinical strain)]. Subsequently, evaluation of antioxidant activity using the ABTS assay, hydroalcoholic extracts of *Anogeissus leiocarpa* barks (14.97±0.83 mg SD/gMS) showed higher antiradical power than *Prosopis africana* barks extracts (13.25±0.1 mg SD/gMS). The main flavonoids observed in the bark extracts of Anogeissus leiocarpa are ellagic acid and quercetin while in the bark extracts of Prosopis africana only quercetin was observed.

Key words: Medicinal plants, Toxicity, Antibacterial activity, Antioxidant activity, LC-PDA/MS

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies bucco-dentaires constituent un problème de santé publique dans le monde et touchent près de 3,5 milliards de personnes [1]. Elles sont à l'origine d'une charge de morbidité considerable, entraînant tout au long de la vie, des douleurs, une gêne, des lésions défigurantes et même la mort [1].

Parmi les affections bucco-dentaires, la carie dentaire et la maladie parodontale sont les affections chroniques les plus fréquentes dans le monde [2]. Plus de 530 millions d'enfants ont des caries des dents de lait alors que les maladies parodontales touchent près de 10% de la population mondiale [1]. De façon générale, les facteurs de risque des maladies bucco-dentaires prennent en compte, de façon non exhaustive, les conditions de vie pauvres, le niveau d'éducation bas (impliquant un manque de connaissances en matière de prévention dentaire) et le mode de vie (mauvaises pratiques d'hygiène buccale, consommation de sucres, du tabac et de l'alcool) [3]. Le principal problème lié à la prise en charge des affections bucco-dentaires est le coût élevé des traitements, d'autant plus qu'elles ne sont pas inclues dans la Couverture Sanitaire Universelle. La plupart des pays à revenu faible ou intermédiaire ont d'importantes difficultés à prendre en charge les affections bucco-dentaires [1].

Plusieurs rapportent l'utilisation de plantes médicinales dans la prise en charge des affections bucco-dentaires en Afrique [4, 5] mais également hors du continent [6].

La cavité bucco-dentaire est un carrefour fonctionnel dont dépendent plusieurs fonctions (mastication, gustation, salivation, succion, phonation, ventilation, déglutition) [7]. La négligence et le manque de soins bucco-dentaires peuvent alors

entrainer des conséquences graves chez l'homme. En effet, il existe de multiples relations entre la santé bucco-dentaire et l'état de santé générale. La santé bucco-dentaire n'est pas uniquement synonyme de dents saines, mais elle fait partie intégrante de l'état de santé général et est essentielle au bien-être physique de l'homme. Les affections bucco-dentaires telles que les caries dentaires peuvent contribuer à de nombreux problèmes de santé, notamment à la malnutrition, aux maladies cardiaques et respiratoires puis au diabète.

Selon Rasingam [8], les affections bucco-dentaires constituent un véritable problème de santé publique dans le monde en général et en Afrique en particulier. La réduction de ces affections passe par des mesures de bonne hygiène bucco-dentaire dont l'utilisation des brosses à dent avec une pâte dentifrice, des liquides antibactériens de bain de bouche et les brosses végétales [9]. Cette dernière constitue la mesure orale d'hygiène la plus pratiquée par différentes populations à travers le monde depuis l'antiquité [10] car ces bâtonnets servant de brosse sont disponibles et facile d'accès [11].

A ce titre Baba-Moussa [12] a déjà notifié que les brosses végétales constituent les moyens d'hygiène buccal les plus adaptés aux conditions économiques et sociales de la plus grande majorité des populations africaines qu'elles soient rurales ou urbaines. En accord avec Djossou [13], l'usage des brosses végétales révèle 3 rôles, à savoir le nettoyage des surfaces dentaires, le massage des tissus gingivaux qui stimule la circulation gingivale et augmente la kératinisation de la muqueuse buccale puis l'action médicamenteuse grâce aux nombreuses substances chimiques qu'elles renferment. Par exemple, la synthèse de divers travaux réalisés par Janot, Vandanjon,

& Gautier [9] a montré que l'utilisation régulière de *Salvadora persica* diminue significativement les tartres et gingivites puis permet d'éviter les paradontopathies et la carie dentaire.

Pour cela, il est nécessaire de valoriser les ressources végétales dont leur utilisation convenable permet de garantir une bonne santé buccale. Mais pour y arriver, il faut d'abord connaître toutes les espèces utilisées comme brosses végétales et ensuite rechercher, parmi elles, celles qui ont les meilleures propriétés thérapeutiques. Si en Afrique de l'est, près de 300 espèces végétales ont été identifiées comme servant de brosses végétales [14], en Afrique occidentale, les travaux d'inventaires restent encore limités [9].

Au Bénin, Baba-Moussa [12] a fourni la première liste de 10 espèces végétales utilisées comme brosse végétales avec les indications sur leurs propriétés pharmacologiques. Plus tard, 34 espèces ont été recensées comme brosses végétales à travers 8 communes au sud du Bénin [15]. Ces travaux ont porté sur l'établissement de la liste des espèces utilisées comme brosses végétales, de même que l'évaluation de leur valeur marchande et de leur disponibilité dans quelques habitats. Quoi que cette dernière liste établie reste non exhaustive pour le Bénin, elle n'est aussi pas accompagnée des vertus thérapeutiques et des recettes liées à elles. De plus, ces travaux n'ont pas spécifié parmi les espèces recensées celles qui sont utilisées réellement pour l'hygiène et celles employées pour traiter les maladies bucco-dentaires. En effet, dans le domaine de la pharmacopée traditionnelle, l'utilisation d'une plante comme brosse végétale peut être faite pour régler des problèmes autres que ceux bucco-dentaires. Par ailleurs, les travaux d'inventaires ethnobotaniques du Bénin [16] n'ont fourni que 2 recettes (soit

0,10% de l'ensemble des recettes rapportées) dont l'une pour le traitement des gingivites et l'autre pour la carie dentaire. Ces recettes n'ont impliqué que 2 espèces sur les 507 identifiées comme plantes médicinales au Bénin. L'objectif global de cette étude est de contribuer à la valorisation des ressources végétales locales dans la santé bucco-dentaire.

Les objectifs spécifiques du présent travail sont de :

1. réaliser l'inventaire ethnobotanique des ressources végétales utilisées dans le traitement des affections bucco-dentaires au Bénin,
2. évaluer la cytotoxicité et l'activité antimicrobienne des extraits des plantes fréquemment utilisées,
3. réaliser le screening phytochimiques pour les plantes dotées d'activité antimicrobienne,
4. évaluer l'activité antioxydante et la présence de quercétine et de l'acide ellagique dans les extraits aqueux et hydroalcoolique de *A. Leiocarpa* et *P. africana*

Les hypothèses qui ont guidé la recherche sont :

H1. Les plantes à usages bucco-dentaires en médecine traditionnelle au Bénin peuvent varier d'une ethnie à l'autre

H2. La cytotoxicité et les activités antimicrobiennes varient d'une plante à l'autre

H3. Le dosage des métabolites secondaires varie en fonction du screening

H4. La caractérisation des principes actifs justifie l'activité antioxydante des extraits de plantes

Le présent document est organisé en quatre chapitres. Le chapitre 1 est une synthèse bibliographique suivie de la présentation du milieu d'étude. Le chapitre 2 porte sur la diversité, les usages et la vulnérabilité des plantes médicinales impliquées dans le traitement des affections bucco-dentaires au Bénin. Le chapitre 3 a abordé la cytotoxicité et les activités antimicrobiennes des plantes vulnérables de la pharmacopée béninoise utilisées pour les soins et le traitement des affections bucco-dentaires. Le chapitre 4 est consacré aux analyses qualitatives et quantitatives des métabolites secondaires des plantes dotées de pouvoir bactéricides.

CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique et Présentation du milieu d'étude

1.1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1.1 Généralités sur les affections bucco-dentaires

Selon l'OMS (2016) [17] , la santé bucco-dentaire est *« l'absence de douleur chronique buccale ou faciale, de cancer buccal ou pharyngé, de lésion buccale, d'anomalie congénitale telle que la fente labiale et palatine, de parodontopathie (affection touchant les gencives), de carie et de déchaussement des dents, ainsi que d'autres pathologies et troubles affectant la bouche et la cavité buccale »*. Les affections ou maladies bucco-dentaire indiquent donc l'absence d'une bonne santé bucco-dentaire. Il existe plusieurs catégories ou types de maladies bucco-dentaires (73 catégories selon Weber, 2017 [18]) se traduisant par des symptômes différents néanmoins, seules certaines d'entre elles engendrent de fortes douleurs. Notre synthèse s'articulera autour des plus importantes [17]. Il s'agit entre autres des douze affections bucco-dentaires suivantes recenser à travers la littérature : Les caries dentaires, les parodontopathies (gingivite), le cancer de la cavité buccale et de la gorge, les traumatismes maxillo-faciaux, l'herpès, Les anomalies congénitales (malocclusion dentaire, fentes labiales et palatines), le noma (cancrum oris), les candidoses orales, les névralgies bucco-faciales, l'abcès dentaire, l'halitose et l'aphte de la bouche [19]. Ces maladies sont souvent considérées comme les plus fréquentes et prioritaires. Seules certaines d'entre elles engendrent de fortes douleurs, notre synthèse s'articulera autour des plus importances.

1.1.1.1 Les caries dentaires

a) Définition

La maladie carieuse ou carie dentaire est une affection multifactorielle des tissus durs de la dent. Elle est considérée comme une maladie chronique qui menace tout au long

de la vie [19]. Elle résulte d'une dissolution de l'émail et de la dentine des dents par des acides organiques issus de la transformation des sucres des aliments et des boissons par les bactéries cariogènes présentes dans le biofilm dentaire [17]. C'est une maladie post-éruptive des tissus calcifiés de la dent. Elle est caractérisée par une déminéralisation des tissus durs de la dent : l'émail, la dentine et le cément. Elle attaque de l'extérieur de la dent vers l'intérieur. Dans le monde, la carie dentaire affecte 50 à 90 % des enfants d'âge scolaire et la grande majorité des adultes selon l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) [20].

b) Symptômes

Les symptômes de la carie dentaire sont multiples et spécifiques ou non à chaque étape de l'évolution de la maladie. Ainsi, du début jusqu'au dernier stade de la maladie, on note comme symptômes une sensibilité au chaud, au froid et aux sucres, la présence de « tache blanche » ou white spot sur la dent, une sensibilité thermique, une forte douleur appelée la « rage de dents » suivie encore d'une sensibilité thermique (chaud et froid) et aux sucres [21].

c) Causes

Etant une maladie multifactorielle, la carie dentaire est une pathologie complexe. En effet, il existe des terrains préférentiels à son apparition. Il s'agit de : la présence de résidus d'aliments glucidiques, la présence d'une flore microbienne et l'hôte lui-même avec une moindre résistance de la dent.

Les résidus alimentaires riches en glucides s'insinuent dans les sillons, les espaces interdentaires et la région cervicale, toutes les régions que la langue ne peut atteindre pour les nettoyer mécaniquement. La plaque dentaire apparaît ainsi et c'est dans ce

milieu de culture favorable que les bactéries cariogènes prolifèrent. Les bactéries cariogènes sont : les Streptocoques : *S. mutans* et *S. sobrinus* majoritairement, les bactéries du genre *Lactobacillus* et les bactéries du genre *Actinomyces*. Ces bactéries, accumulées à la surface dentaire, métabolisent les sucres et entraînent la formation d'acides organiques qui attaquent l'émail dentaire, détruisant ainsi les cristaux d'apatite et provoquant la déminéralisation et la formation de cavités carieuses [21].

C'est donc une maladie microbienne irréversible à guérison spontanée impossible et qui peut être à l'origine d'infections localisées voire généralisées. En effet, en absence de traitement à un stade précoce, les bactéries peuvent proliférer vers la dentine voire s'infiltrer dans la cavité pulpaire pour entraîner des pathologies plus sévères du complexe pulpaire. Si ces atteintes ne sont pas traitées, les bactéries peuvent s'infiltrer depuis la cavité pulpaire vers la zone du parodonte qui entoure la racine à travers l'apex pour donner une infection au niveau de la zone péri-apicale. Dans des cas extrêmes, on peut être amené à extraire les dents.

D'où la nécessité d'une prise en charge précoce des caries, voire mieux la prévention de l'apparition de ces dernières, par différentes mesures dont principalement une bonne hygiène buccodentaire (HBD).

1.1.1.2. Les parodontopathies (gingivite)

a) Définition

Une maladie parodontale ou parodontopathie est une affection inflammatoire d'origine bactérienne touchant la gencive, le cément, la desmodonte et l'os alvéolaire qui sont des tissus de soutien de la dent. On parlera alors de gingivite si la gencive est

la cible, de parodontite si c'est le cément, le desmodonte et enfin d'alvéolyse si c'est l'os alvéolaire. [17, 22].

b) Symptômes

Les parodontopathies se manifestent souvent par des saignements ou un gonflement des gencives (la gingivite) et parfois par une mauvaise haleine. On observe aussi la présence de tartre, une sécrétion importante de fluide gingival, une gencive rouge, oedématiée et lisse normalement granuleuse saignant facilement à la moindre manipulation (au brossage par exemple), ou spontanément dans les cas les plus sévères [21, 22] En outre, on a la formation d'une poche parodontale, le déchaussement des dents atteintes, une mobilité dentaire allant jusqu'à la perte dentaire dans les cas graves, une halitose et une hypersensibilité dentinaire au niveau des endroits atteints [22].

c) Causes

Les parodontopathies sont des maladies buccales inflammatoires à évolution généralement lente, d'origine polymicrobienne et provoquées par l'accumulation de plaque dentaire, chez des sujets à système immunitaire permissif permettant aux micro-organismes et à leurs toxines de détruire le système d'attache de la dent. L'apparition de ces pathologies nécessite la présence de bactéries telles que l'*Actinobacillus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroïdes*, *Campylobacter* et *Fusobacterium*, anaérobies gram négatif [23]. En plus, de la plaque dentaire bactérienne, d'autres facteurs sont nécessaires au déclenchement des maladies parodontales, à savoir la prédisposition génétique et la réponse immunitaire de l'individu ainsi que son hygiène

de vie : tabac, stress, alcool et son HBD. En effet, les germes retrouvés dans la cavité buccale sont continuellement éliminés grâce aux moyens de défenses immunitaires non spécifiques, comme exemple la desquamation cellulaire ou la salive ; en l'absence d'HBD, cette défense immunitaire non spécifique se retrouve dépassée et la plaque bactérienne non éliminée atteint les tissus parodontaux. Selon le terrain de chaque patient, cela peut engendrer des gingivites ou parodontites plus ou moins sévères.

En cas de gingivite, les bactéries réalisent une protéolyse, causant une fragilisation et une destruction plus ou moins localisée de la gencive. De plus, la consommation d'alcool et de tabac sera un facteur de risque/aggravant important [21, 22]. Par définition, une gingivite est l'inflammation de la gencive due à une accumulation de plaque bactérienne en absence d'HBD. La quantité de plaque supra-gingivale est corrélée directement à l'évolution de l'inflammation : l'amélioration clinique suit rapidement l'éviction durable de cette plaque.

Le premier stade des gingivites est la gingivite inflammatoire où seul l'épithélium gingival est atteint. Les modifications de couleur, de consistance, de texture de la gencive, avec respect du niveau de l'attache épithélio-conjonctive permettent de poser le diagnostic [24].

Il existe des gingivites d'origine purement générale comme la gingivite nutritionnelle ou la gingivite hyperplasique ; et une gingivite dite ulcéro-nécrotique favorisée par certains facteurs comme le stress ou des infections virales

Mais, si la gingivite n'est pas traitée à temps elle peut se compliquer par une parodontite ; c'est la progression de la maladie vers le parodonte profond : os alvéolaire, desmodonte et cément. Le parodonte est irréversiblement détruit, avec

formation d'une poche parodontale. Il existe différentes formes de parodontites à savoir : la parodontite chronique chez l'adulte (PCA), La parodontite à progression rapide (PPR), la parodontite juvénile localisée (PJL).

1.1.1.3 Le noma (cancrum oris)

a) Définition

Le noma, une forme grave de stomatite gangreneuse qui commence souvent par une lésion bénigne de la gencive ou de la joue avant de détruire rapidement les tissus mous et durs de la bouche et du visage. S'il n'est pas traité, il progresse rapidement puis aboutit à un oedème de la joue ou de la lèvre, visible de l'extérieur [25].

b) Symptômes

Le noma se manifeste par une mauvaise haleine et une hypersalivation incontrôlée. Au fur et à mesure que l'oedème augmente, la maladie laisse apparaître une plaque de peau foncée se caractérisant à la fin par une partie centrale de couleur noire à la périphérie bien définie. Les os et les dents peuvent devenir apparents et la croûte laisse place à une plaie béante [26]. La maladie peut provoquer une défiguration à vie voire l'incapacité de s'exprimer ou de manger à cause des dommages fonctionnels chez beaucoup de personnes. Les enfants porteurs de la maladie sont généralement délaissés par la société et leur famille et reçoivent peu ou pas de soins médicaux [17].

b) Causes

Le noma est une affection qui résulte des carences nutritionnelles avec leurs conséquences sur la salive, la barrière muqueuse et la sécrétion de corticoïdes et cytokines, de même que les aspects liés au sevrage [25].

1.1.1.4 Les candidoses orales

a) Définition

Ce sont des mycoses superficielles cutanées ou muqueuses généralement dues le plus souvent à un germe du nom de *Candida albicans*, levure saprophyte de la cavité buccale, du tube digestif et de la peau [27]. Il s'agit d'une infection opportuniste car la levure qui en est responsable est au départ inoffensif et devient virulente lorsque son terrain de développement change.

b) Symptômes

On distingue deux types de candidoses : les candidoses aiguës et les candidoses chroniques [28]. Lors de la candidose aiguë, aucune lésion érosive ou ulcérée n'apparaît. Cette forme de candidose est appelée « muguet ». Elle est caractérisée par des tâches pseudo-membraneuses bien délimitées, de substance crémeuse, de couleur blanche ayant tendance à s'émietter et laissant une base érythémateuse sous-jacente lorsqu'on les retire [21]. La candidose chronique peut être en foyer ou diffuse. On parle de candidose chronique en foyers lorsque l'on observe une inflammation de la langue associée à une inflammation du palais, ou lorsque l'on observe une perlèche commissurale et une lésion rétrocommissurale. Dans ce dernier cas de candidose uniquement on observe des lésions érosives ou ulcérées. La forme chronique de candidose apparaît par poussées, accompagnées de sécheresse buccale et se manifeste par un érythème recouvert de points ou plaques blanchâtres.

c) Causes

Les candidoses orales comme leur nom l'indique sont dues à un agent pathogène appelé *Candida albicans.* Des manifestations pathologiques apparaissent lors de son passage au parasitisme à l'occasion de perturbations du terrain de l'hôte [27]. Les facteurs qui modifieront le terrain de développement du germe responsable de ces maladies sont entre autres : l'antibiothérapie, la corticothérapie, l'hyposialie (faible débit salivaire), la dénutrition, le déficit immunitaire, le port de prothèses etc. [21].

1.1.1.5 L'abcès dentaire

a) Définition

C'est une infection atteignant la pulpe dentaire avec collection de pus dans une cavité formée aux dépens des tissus environnants détruits ou refoulés, pouvant diffuser à la gencive ou à l'os et s'accompagnant de symptômes locaux ou généraux [18].

b) Symptômes

Comme signes cliniques on note une douleur dentaire ou gingivale intense et lancinante suivie et une aggravation en quelques heures ou quelques jours avec propagation homolatérale possible à l'oreille, à la mandibule ou à la région cervicale. Les symptômes locaux ou généraux associés mais de manière inconstante sont entre autres : une asthénie, un malaise, une fièvre (38 à 39°C), les troubles du sommeil, un oedème de la face, un oedème gingival, les adénopathies cervicales, un trismus, une odynophagie/dysphagie, un goût désagréable dans la bouche, une sensibilité

thermique (chaud/froid) aux aliments ou aux boissons, une douleur induite par la mastication [18]

c) Causes

C'est une maladie résultant de la complication d'une carie dentaire non soignée, de traumatisme dentaire, d'une nécrose puis de l'infection de la pulpe dentaire, accident d'éruption d'une dent de sagesse, en cas de maladie parodontale ou de lésion gingivale. Autrement, l'abcès dentaire est le résultat d'une parodontopathie non traitée [18]

1.1.1.6 L'halitose

a) Définition

L'halitose encore appelée mauvaise haleine se définit par l'émission d'une mauvaise odeur par la bouche. Cette mauvaise odeur vient de gaz soufrés (H_2S, mercaptols…) ou de l'ammoniac issu de la dégradation de protéines par les enzymes bactériennes de la cavité buccale [29]. Les bactéries sont de type anaérobie et se déposent par exemple sur les papilles de la langue. Ce problème affecte non seulement la personne concernée, mais aussi son entourage. D'après les estimations de prévalence de la Société suisse d'odontostomatologie, en 2008 environ un tiers, voire jusqu'à la moitié de la population souffre d'halitose et une personne sur vingt en est chroniquement affectée. Il existe plusieurs types d'halitose à savoir :

- l'halitose vraie caractérisée par une mauvaise odeur notable avec une intensité dépassant le seuil socialement acceptable,

- la pseudo halitose marquée par l'absence d'odeur notable perçue par les tiers malgré les plaintes obstinées du patient
- l'halitophobie où le patient est persuadé de souffrir d'halitose et cela en l'absence de symptômes et après traitement.

b) Symptômes

L'halitose ou mauvaise haleine se manifeste par une sensation de mauvais goût par le patient et/ou la sensation d'une odeur désagréable par son entourage [29].

c) Causes

Dans la majorité des cas, la mauvaise haleine est d'origine buccale et sa cause la plus probable est l'accumulation de débris alimentaires métabolisés par les bactéries occupant la plaque dentaire [30]. Ainsi, la sphère buccodentaire est par manque d'hygiène la première cause responsable d'halitose vraie. Un mauvais brossage (dents et langue) ainsi que la présence de pathologies buccales et de tartre participeront à ce phénomène [31]. A cela s'ajoute, le manque de salive, physiologique ou non, constituant également un facteur prédisposant. La sphère ORL peut aussi être responsable de cette pathologie, notamment en cas de sinusites et amygdalites. La mauvaise haliene peut être aussi due à une contamination de la sphère digestive par *Helicobacter pylori*, un agent responsable de beaucoup de pathologies gastriques. Ce germe est capable de sécréter en milieu très acide de l'ammoniac provoquant une halitose très accentuée [29]. Les composants à l'origine de la mauvaise haleine buccale sont représentés principalement par les composés sulfurés volatiles (CSV), sulfure d'hydrogène (H_2S), et méthylmer-captan (CH_3SH) [28] mais aussi par les diamines (putrescine, cadavérine), les acides organiques (acétique, propionique), et les

composés aromatiques volatiles (indole, skatole). Ils sont produits lors des processus de décomposition et de dégradation microbienne des acides aminés de la cavité buccale. Une alimentation riche en viandes peut être aussi à l'origine la mauvaise haleine en raison de sa richesse en dérivés soufrés contenues dans les protéines. L'insuffisance cellulaire hépatique, l'insuffisance rénale, la maladie coeliaque, les pneumopathies, le diabète mal équilibré (haleine cétonique), le tabagisme et l'alcoolisme sont autant de facteurs pathologiques qui entraîneront des répercussions sur l'haleine [29]. L'halitose peut être due également à des gingivites, parodontites, des affections de la zone ORL, des caries, de l'acidité gastro-oesophagienne et au stress.

1.1.2 Prise en charge des affections bucco-dentaires et problématique de résistance des germes responsables des affections bucco-dentaires aux antibiotiques conventionnelles

Dans la plupart des pays, l'accès aux services de santé bucco-dentaires primaires est souvent insuffisant à cause du manque de services dentaires de base au sein des systèmes de santé [32]. Il ressort d'une enquête que l'accès aux services de santé bucco-dentaire pour les adultes qui disent en avoir besoin s'échelonne entre 35 % dans les pays à bas revenu, 60 % dans les pays à revenu intermédiaire de la tranche inférieure, 75 % dans les pays à revenu intermédiaire de la tranche supérieure et 82 % dans les pays à haut revenu [32]. En outre, même dans les pays à revenu élevé, les traitements dentaires coûtent chers, représentant en moyenne 5 % des dépenses de santé totales et 20 % des dépenses de santé à la charge du patient [33].

Selon Petersen PE, et al., [34], le ratio dentiste population est estimé à environ 1 pour 150 000 personnes, contre environ 1 pour 2 000 personnes dans les pays à revenu élevé. Les efforts en vue de l'instauration de la couverture sanitaire universelle peuvent contribuer à orienter le dialogue politique afin de renforcer les services de santé bucco-dentaire primaires et de réduire les dépenses considérables à la charge du patient liées aux soins bucco-dentaires dans de nombreux pays.

1.1.3 Activité antibactérienne

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entrainé la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'émanation dans les recherches médicales [35].

1.1.3.1 Les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré ;
- générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme ;
- Focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine. [36].

1.1.3.2 Rappel sur les bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule. Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles.

Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies. Les bactéries se reproduisent selon deux modes :

- la division simple ou scissiparité ;
- la sporulation, la spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physicochimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture [40]

1.1.3.3 Exemple de classification des bactéries

- **Bactéries en forme de sphère : les coccies**
  - **Coccies Gram positif** : nous avons les genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pneumococcus*, *Enterococcus*.
  - **Coccies Gram négatif** : nous avons le genre Neisseria.

- **Bactéries en forme de bâtonnet : les bacilles**
  - **Bacilles Gram positif** : nous avons les genres *Listeria*, *Erysipelothria*, *Bacillus*, *Cynetobacter*, *Actinomyces*.
  - **Bacilles Gram négatif** : nous avons les genres *Enterobacter*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Francisella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vibrion*, *Campylobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Benbrinis*
  - **Bacilles acido-alcoolo résistants (BAAR)** : ici, nous retrouvons le bacille de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) et celui de la lèpre (*Mycobacterium leprae*).
- **Bactéries en forme de spirale : les spirochètes**

  Nous avons les genres *Treponema*, *Leptospira*, *Borrella*, *Spirilum*
- **Flore bactérienne anaérobie**
  - **Gram positif** : nous avons les genres *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionobacterium*, *Bifidobacterium*.
  - **Gram négatif** : nous avons les genres *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* [39].

1.1.4 Utilisation des phytomédicaments comme une solution alternative aux phénomènes de résistance des germes dans le traitement des affections bucco-dentaires

1.1.4.1 Métabolites des plantes et leurs propriétés thérapeutiques

On distingue deux classes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires**.** Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie [40]. Cependant, l'objet de cette étude ne prendra en compte que les métabolites secondaires**.**

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches. Ils ont un intérêt multiple et sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique.

Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières

premières pour la hémisynthèse de composés actifs. On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs au XIXème siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Au début du XXème siècle, des synthèses de composés analogues (métabolites secondaires) ont commencés à naître ; et afin d'augmenter leurs efficacités pharmacologiques, des études des structures et des activités biologiques issues des dérivés prénylés de ces métabolites ont été réalisés. La prénylation consistait à la fixation d'une chaine latérale (pentenyle, géranyle et farnésyle) sur une molécule acceptante [41].

Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes [42].

Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. Pendant longtemps, ces composés ont été considérés comme secondaires et métaboliquement inactifs, ils ne suscitaient donc que peu d'intérêt.

A l'heure actuelle, cette opinion a changé, du fait de nombreuses recherches qui ont largement montrées que ces composés ne sont pas inertes et contribuent efficacement dans la biosynthèse de divers métabolites de l'organisme.

Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable [43]**.** Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers. D'où l'importance croissante des études consacrées à ces composés. Leurs modes d'action et leurs significations physiologiques ne sont pas encore suffisamment claires, d'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces composés et de leurs fonctions [44].

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles [45]. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Chez les plantes, parmi les principales familles de métabolites secondaires, on distingue classiquement trois grandes catégories :

- Les **composés phénoliques**
- Les **alcaloïdes et composés azotés**
- Les **composés terpéniques**

Dans certains cas on classe aussi des **hétérosides**, constituée de dérivés glycosylés de composés terpéniques, phénoliques et plus rarement d'alcaloïdes et les molécules désignées sous le terme de « **composés mixtes** » qui correspondent à des condensations de molécules provenant des catégories citées plus haut. Les propriétés thérapeutiques des trois grands groupes sont consignées dans le tableau 1

Tableau 1 : Propriétés thérapeutiques des groupes des métabolites secondaires

Métabolites secondaires	**Propriétés thérapeutiques**	**Références**
Composés phénolique	Antibactériennes, Antiseptiques, Antivirales, Immunostimulantes, Anti allergiques, Anticancéreuses, Antihistaminiques, Antithrombotiques, Tonique vasculaires	[46, [47], 48]
Alcaloïdes	Anesthésiants, Anticancéreux Antiépileptiques, Antifongiques, Antibactériennes	[44], 49]
Composés terpéniques	Antiseptique, Antifongique, Anti-inflammatoire, Antibactèrien, Anxiolytique, Antidépresseur, Bronchodilatateur	[50], 51]

1.1.4.1.1 Les alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier [41]. Un alcaloïde est un composé organique naturel, le plus souvent d'origine végétale, hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [44], [52].

Ce sont des substances organiques d'origine végétale, azotée et à caractère alcalin. Bien que nombre d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie),) souvent accompagnés des hypnotiques (atropine), ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine,

vincristine). La morphine a été le premier alcaloïde isolé dans l'opium (vers 1805). Puis on découvrit la strychnine (1818). Les autres alcaloïdes plus connus sont : la colchicine, l'atropine, la tubocurarine, la théine, la cocaïne, la mescaline, l'acide lysergique et l'aconitine. Les pyrazoles forment un groupe d'alcaloïdes contenant deux atomes d'azote dans le noyau aromatique, ceux-ci ne sont pas d'origine naturelle [29,38]**.**

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec un atome d'azote comme hétéroatome. Leurs structures moléculaires sont complexes, plus ou moins basiques et douées des propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [44]**.** Ils constituent un des groupes de métabolites secondaires contenant plus de 10000 à 12000 différentes structures [53]**.**

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés de faibles poids moléculaires. Ils possèdent des structures hétérocycliques et se retrouvent dans environ 20% de toutes les espèces de plantes [54]**.** Les alcaloïdes sont connus comme doués de propriétés antimicrobiennes [55]**.** Le mécanisme d'action des alcaloïdes est attribué à leur capacité à s'intercaler avec l'ADN. Les structures de deux imino-sucres ayant des propriétés antibiotiques appartenant à la famille des alcaloïdes sont représentées ci-dessous

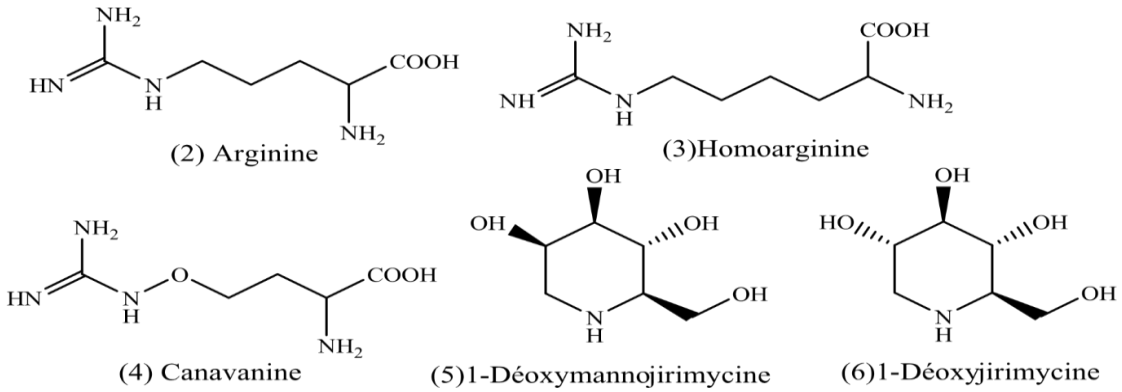
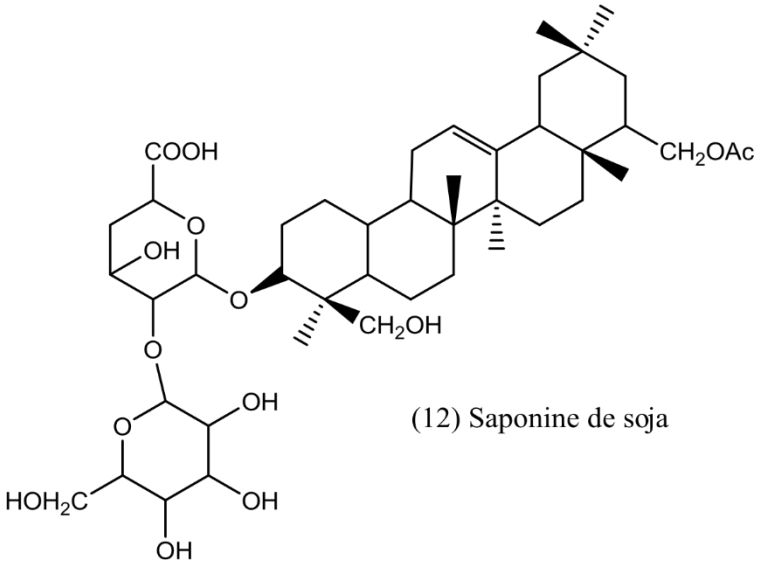


Figure 1 : structures de deux imino-sucres de la famille des alcaloïdes

1.1.4.1.2 Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène [56]**.** La saponine de soja (12) en est un exemple.



(12) Saponine de soja

Figure 2 : Structure de la saponine de soja

1.1.4.1.3 Composés phénoliques

Comme la majorité des métabolites secondaires, les polyphénols et essentiellement les flavonoïdes sont synthétisés pour accomplir certaines fonctions lors du développement de la plante. En termes de fonction protectrice, ils défendent la

plante contre les pathogènes tels que les moisissures, les champignons et les bactéries. Ils assurent sa protection contre le rayonnement ultraviolet. Certains d'entre eux sont des répulsifs qui inhibent la croissance d'autres espèces. Les polyphénols jouent un rôle structural comme la lignine constituant la rigidité du bois [51,52]. Ils participent à la coloration des fleurs et des fruits à fin d'attirer les insectes polinisateurs qui transportent les graines dans les fruits [46].

Dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définis comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupements phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol polyhydroxylé (Figure 4). Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétiser par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales [46]. Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés [48].

a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la plus vaste classe de composés phénoliques. A présent plus de 4000 composés ont été identifiés soit environ 50% des polyphénols. Ces composés ont une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique [48].

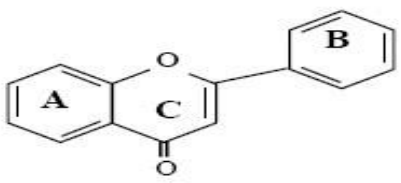


Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes

- Biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun qui est la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Le passage de chalcone en flavonoïde se fait par plusieurs étapes comme la méthoxylation, la glycosylation et l'acylation (Figure 13). L'enzyme clé de la biosynthèse c'est la chalcone synthase (CHS) qui catalyse la condensation de trois unités acétate à partir de malonyl-COA avec la 4-coumaroyl-COA. L'isomérisation des chalcones par la chalchone isomérase (CHI) conduit à la formation des flavanones. Ces derniers vont subir soit une oxydation par la flavone synthase (FS) et donnent les flavones, soit une réduction par la flavanone réductase (FNR) et donnent des flavanols. Tandis que l'hydroxylation des flavanones par la flavanone-3-hydroxylase (F3H) donnedes dihydroflavonols qui peuvent s'oxyder en flavonols par la flavonol synthase (FLS) [57], [58].

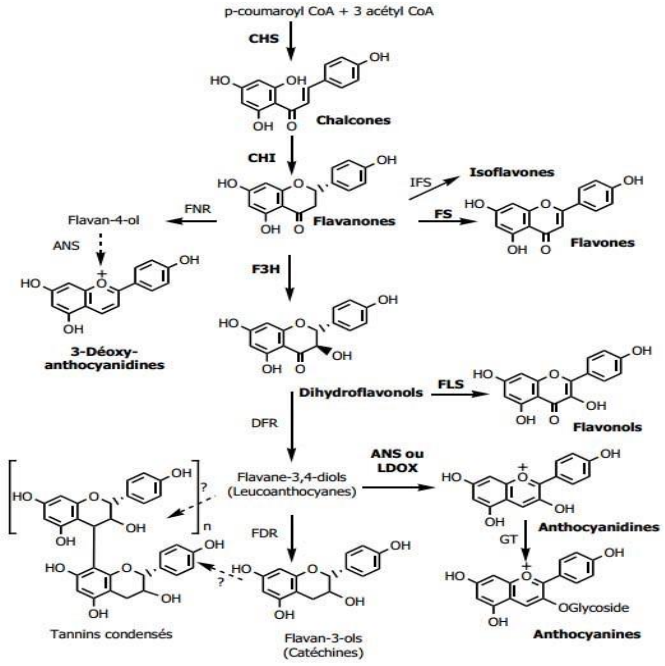


Figure 4 : Schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes au sens strict

On distingue dans ce groupe les chalcones, les aurones, les flavones, les flavanes, les flavanones, les flavanols, les flavonols et les flavanonols (28-35).

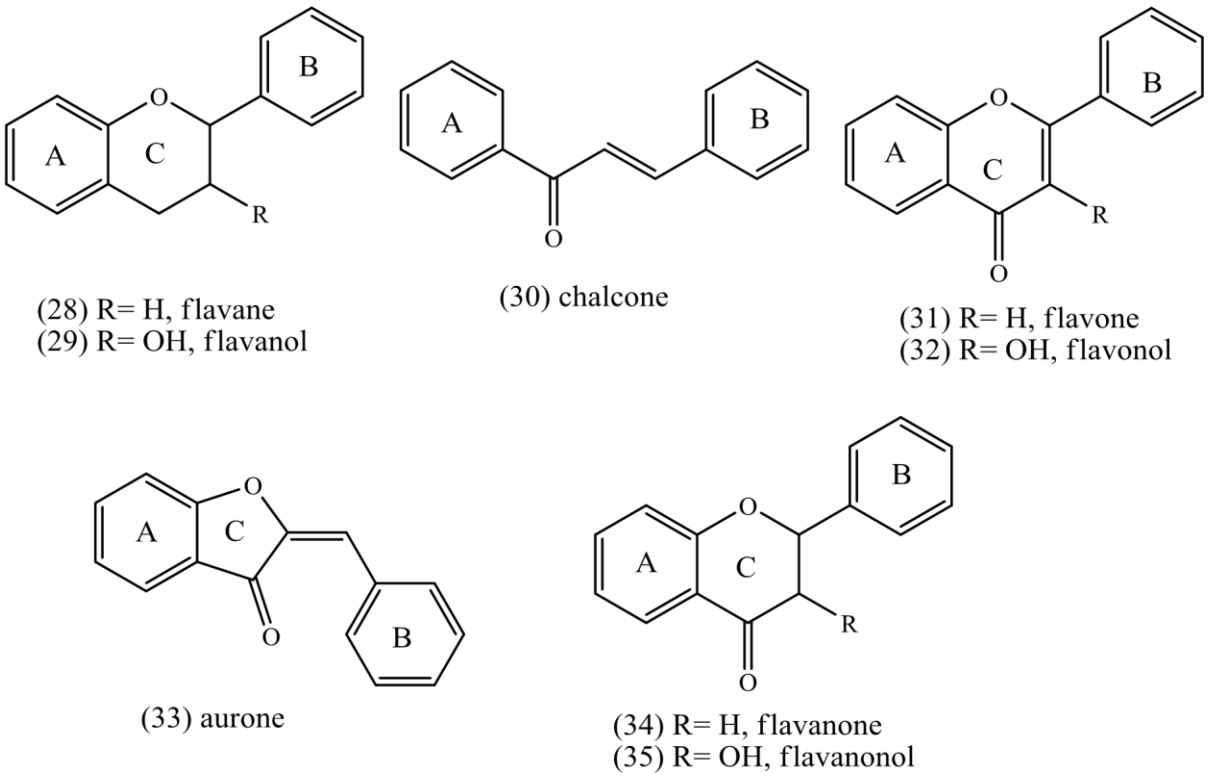
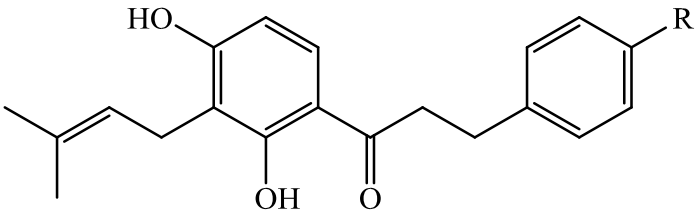


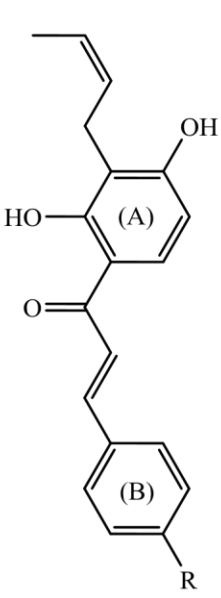
Figure 5 : Classification des flavonoïdes

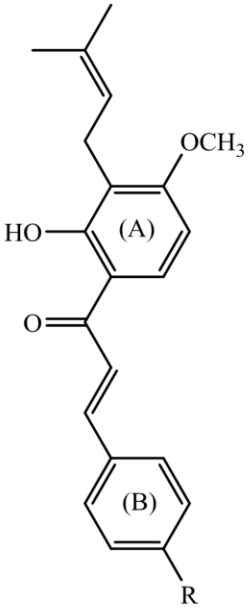
- Chalcones et dérivés

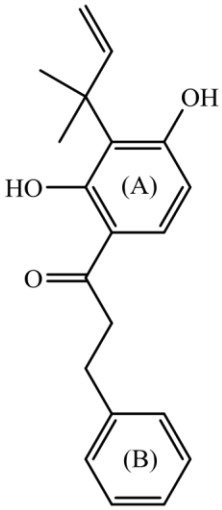
Les chalcones sont des flavanoïdes ne comportant pas d'hétérocycle C. Ils sont prénylés le plus souvent sur le noyau A tandis que le noyau B reste peu ou pas substitué (36, 37, 38, 39, 40). Cette prénylation peut-être cyclique du type pyrano (41, 42) ou furano (43, 44). Certaines d'entre-elles présentent une O-prénylation linéaire (45) et (46).



(36) R= Isocordoïne; (37) R= OH 4-isobavachalcone

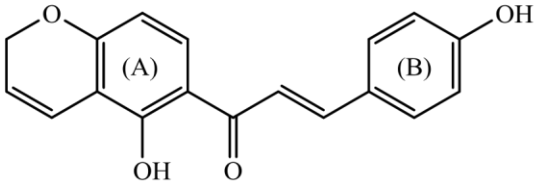




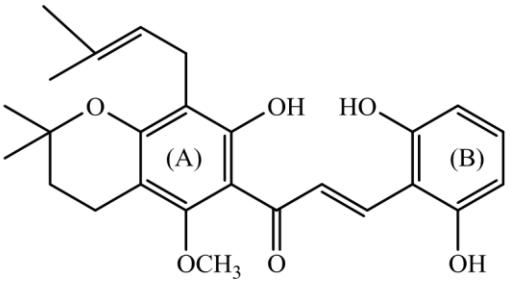


(38) R= H Derricine
(39) R= OH 4-Hydroxyderricine

(40) Pseudo-isocordoïne



(41) Isobavachromène



(42) Orotinichalcone

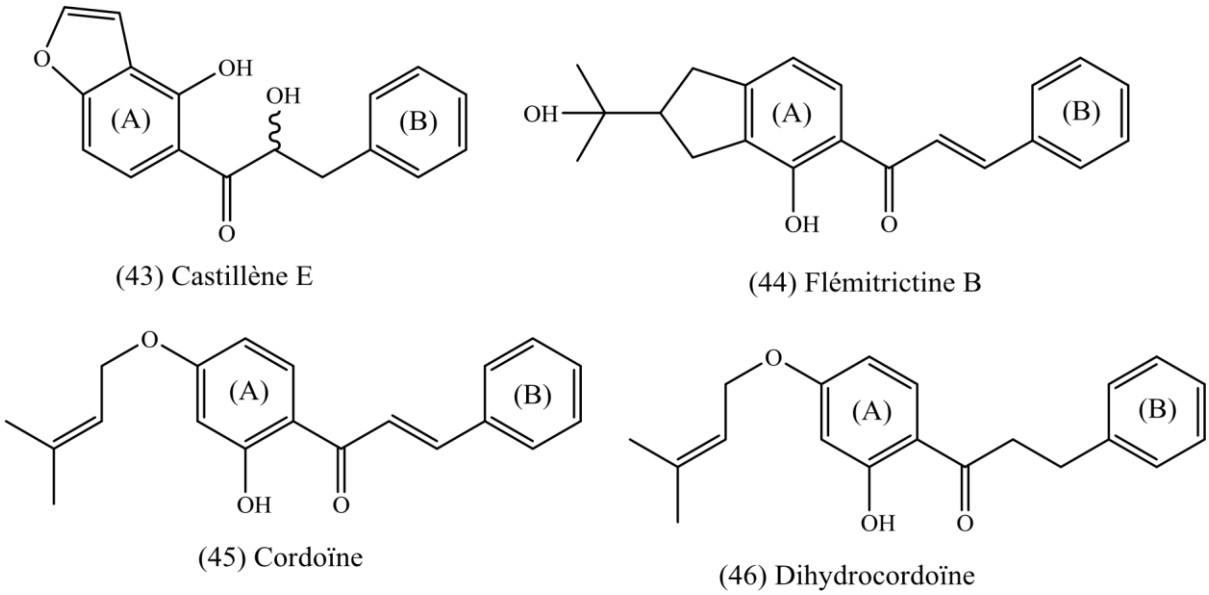


Figure 6 : Structure de Chalcones et dérivés

- **Aurones et dérivés**

Les aurones sont des isomères structuraux des flavones. Ils ont une structure proche mais différente de la plupart des autres flavonoïdes. Ces molécules dérivent de la chalcone. En effet dans les cas des aurones, la chalcone se ferme en formant un cycle à 5 atomes, alors qu'elle forme un cycle de 6 atomes pour les autres flavonoïdes. Ci-dessous sont représentés quelques composés de la famille des aurones (47-50).

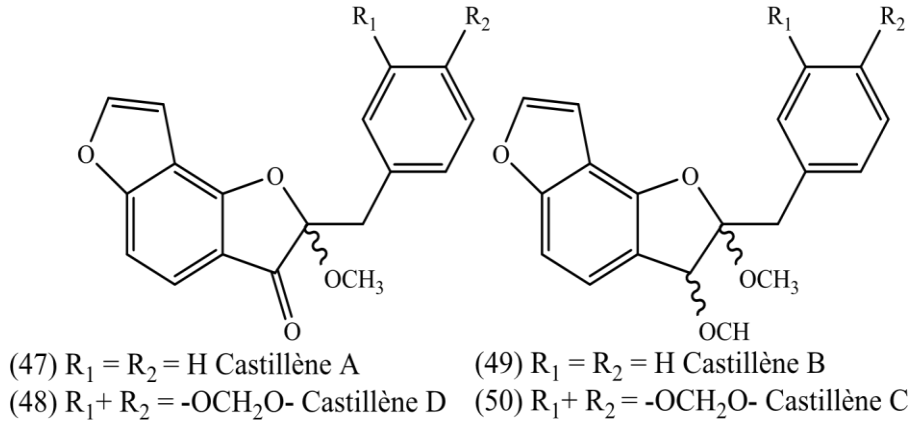


Figure 7 : Structure des aurones et ces dérivés

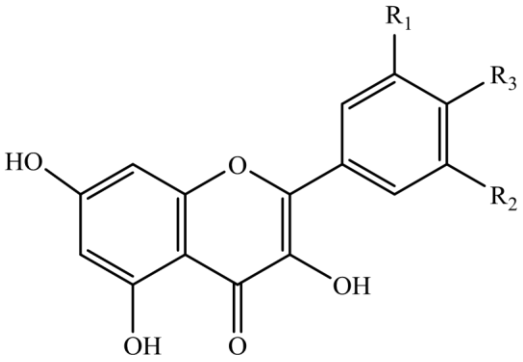
- **Flavones et flavanones**

Les flavones comme tous les flavonoïdes ont une structure C6-C3-C6 avec en C3 l'apparition d'un hétérocycle porteur d'un groupement carbonyle et d'une insaturation. Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'instauration au niveau de l'herocycle. Les flavonols et les flavanonols correspondent aux dérivés hydroxylés des flavones et des flavanones.

Plusieurs composés sont répertoriés au niveau de ce groupe. Outre leur prénylation quasi fréquente, on rencontre de temps à autre les C-glycosyl flavonoïdes ou encore les O-glycosyl flavonoïdes.

Notons que, les flavones et les flavonols se rencontrent aussi sous forme glycosylées, c'est le cas de la vicemine-2 (51), 5 -hydroxy-6", 6"-diméthyl pyrano (2",3", 7", 8) flavone (52), de l'apigénine-7-O-glucoside (53), de la lutéoline-7-O-glucoside (54). La quercétine (57), la rutine (58) et l'hypéroside (59) sont presque exclusivement des flavones prénylées du type « DMP » (diméthylpyrane) (52, 55, 56) ou du type « furano » (60-63).

La structure générale des flavonols est représenté ci- dessous (64), les flavonols (hydroxy-3 flavone) sont les plus largement repandus. Ils sont incolores, et caractérisés par la présence d'un groupement carbonyl en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs en jaune primevère [59]. Parmi les flavonols les plus répondus, on trouve le kaempférol (65), le quercétol (66) ; le myricétol (67) et l'isorhamétol (68). Les structures chimiques de quelques flavonols sont reprises ci-dessous



(64) $R_1 = R_2 = R_3 = H$: structure générale
(65) $R_1 = R_2 = H$; $R_3 = OH$: kaempferol
(66) $R_1 = OH$; $R_2 = H$; $R_3 = OH$: Quercetrine
(67) $R_1 = OH$; $R_2 = OH$; $R_3 = OH$: Myricetine
(68) $R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$; $R_3 = OH$: Isorhamnetine

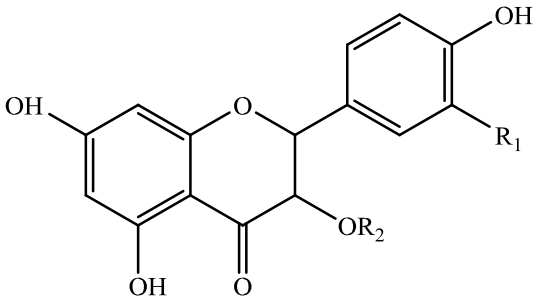
Figure 8 : Structure générale des flavonols

Les flavanones et les flavononols dérivés sont les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certains pamplemousses, des citrons, des oranges : la naringine (naringénol lié à du glucose et du rhamnose), l'hespéridine [60]. On retrouve aussi les flavanols simples tel que les taxifolines (69), les glycosylés tels que les astilbines (70), les fustine-o- glucoside (71), Glc- fustine-3-O-glucide (72) et celles qui présentent une ou plusieurs prénylations.

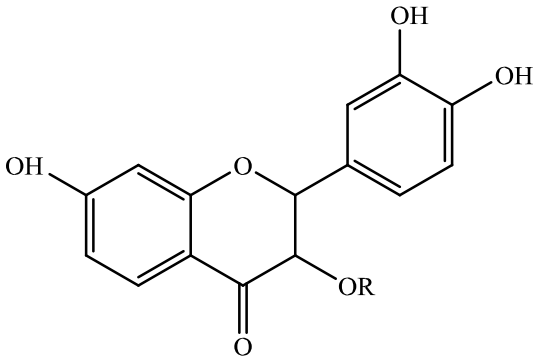
Dans ce dernier groupe, on distingue plusieurs catégories de prénylations:

- Une O-prénylation linéaire c'est le cas de l'isoderricidine (73) ainsi qu'une C-prénylation linéaire (74-77)
- Une prénylatin simple du type DMP sur le noyau A (78-80)
- Une double prénylation (C-et O-) du noyau A (81, 82)
- une double C-prénylation du noyau A: c'est le cas des composés (83, 84) et (85-87)
- Une prénylation simple du type « furano» du noyau A (85, 86, 88, 81)
- Le noyau B n'est pas ou peu substitué

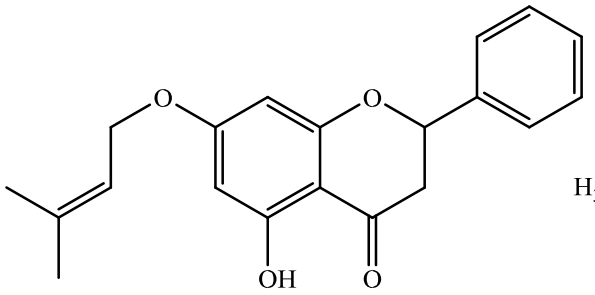
Les structures représentées ci-dessous (73-89) sont représentatives de quelques sous-classes des flavonoïdes au sens strict.



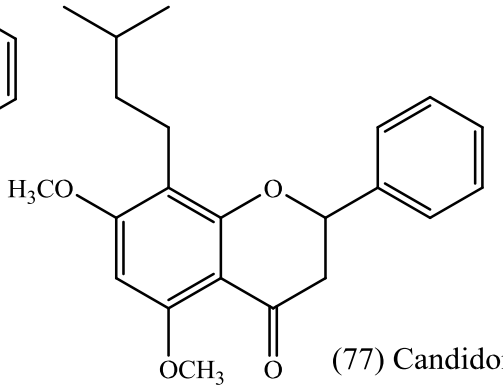
(69) R_1= OH; R_2= H Taxifoline
(70) R_1 = H; R_2= Rha Astilbine



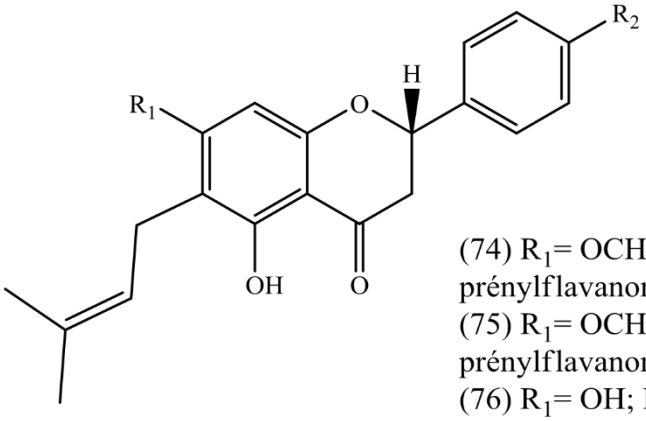
(71) R= H Fustine
(72) R= Glc-fustine-3-O-glucide



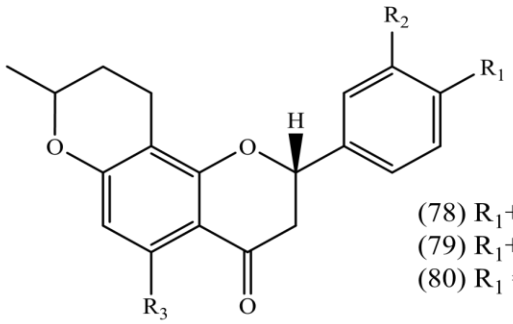
(73) isoderricidine



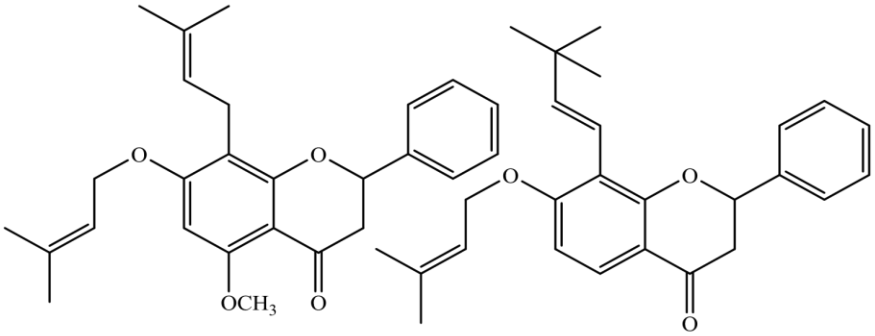
(77) Candidone



(74) R_1= OCH_3; R_2 = OH 4'5-dihydroxy-7 méthoxy-6 prénylflavanone
(75) R_1= OCH_3; R_2 = H 5-hydroxy-7méthoxy-6-prénylflavanone
(76) R_1= OH; R_2 = H 5,7 dihydroxy-6-prénylflavanone

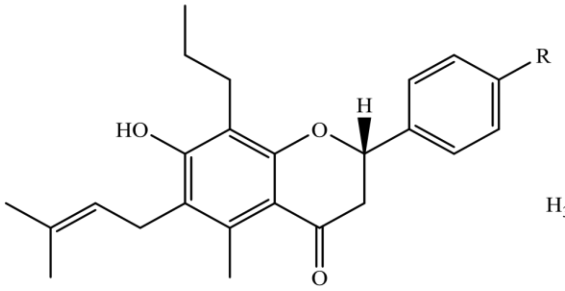


(78) R_1+ R_2 = -OCH_2O-; R_3 = H Ponganone III
(79) R_1+ R_2 = -OCH_2O-; R_3 = OCH_3 Isoglabrachromène
(80) R_1 = R_2 = OCH_3; R_3= H Ovalichromène B

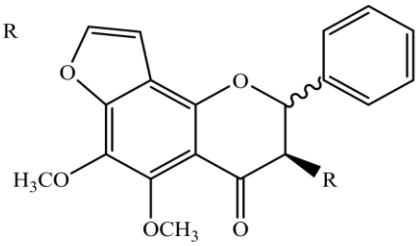


(81) 5- Méthoxy-8-prényl-7-prényloxyflavanone

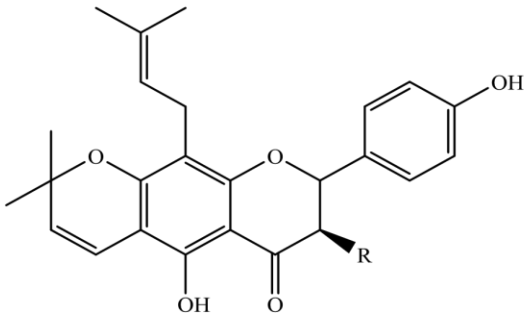
(82) 8- (3-hydroxy-3-méthyl-1-buténYl)-7-Prényloxyflavanone



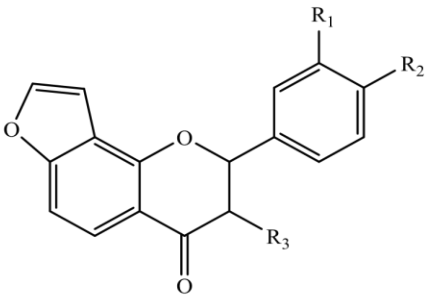
(83) R= H Spiniflavanone B
(84)R= OH Lonchocarpol A



(85) R= H (2S) -5, 6-dimethoxy (2", 3":7:8) furanoflavanone
(86) R= OCH_3 (2R,3R) -3, 5, 6-trimethoxy (2",3":7,8) furano-flavanonol



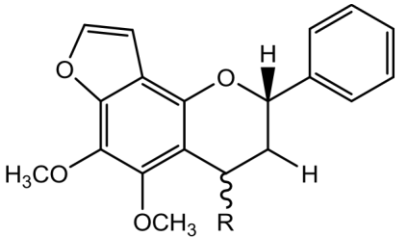
(88) R= H Lupinifoline
(89) R= OH Lupinifolinol
(87) R= OCH_3 3-O- Méthyl-lupinifolinol



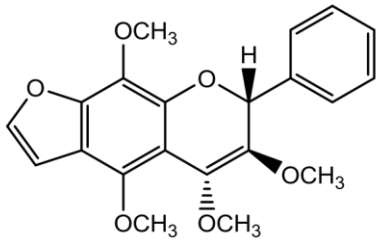
(90) R_1= R_2 = H, R_3 = OCH_3
3-Méthoxy- (2",3":7, 8) furanoflavanonol
(91) R1 + R2 =- OCH_2O_6, R_3 = H
3',4'- Méthylène-dioxy (2",3":7,8) furanoflavanone

Figure 9 : Quelques sous classe des flavonoïdes au sens strict

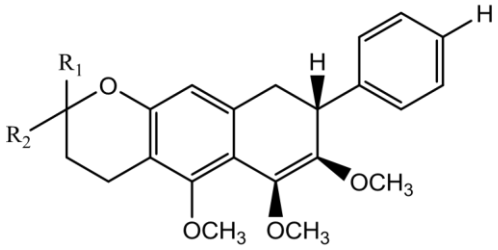
Les flavanes sont des dérivés saturés et non carbonylés des flavones, tous présentent une prélylation cyclisées du type DMP ou du type furano (92-95), ils sont caractérisés par la présence d'une double prénylation du noyau A (cyclisée et linéaire) et d'un pont époxy reliant les carbones 4 et 6" du noyau B (96, 97). Leurs structures moléculaires sont représentées ci-dessous.



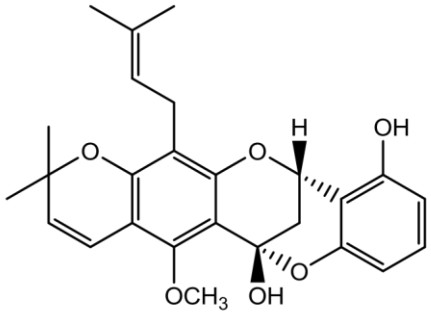
(92) R= OCH_3 (2, 4 cis) - 4,5,6 - triméthoxy - (2", 3:7, 8) furanoflavane
(93) R = OH (2,4 trans) - 4-Hydroxy -5,6-diméthoxy - (2",3":7,8) furanoflavane
(94) R= OH (2, 4 cis) - 4-Hydroxy -5, 6 - diméthoxy- (2", 3": 7, 8) furanoflavane



(95) (2,3) - trans, 4- trans) 4,5,8 - Tétramétox (2",3":7,6) furanoflavane



(96) R1= OH; R2 = OH 3B,4B, 5-Triméthoxy-4'-hydroxy-6",6"-diméthylpyrano (2",3":7,6) flavane



(97) 4,6' - Epoxyorotiniflavan-ol-4

Figure 10 : Structures moléculaires des flavanes

- **Les isoflavonoïdes**

Les isoflavonoïdes se différencient des flavonoïdes par la position C3 sur l'hétérocycle pyranique central C du noyau aromatique B. Ce sont des composés à 15 atomes de carbones comme les flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane [61]. Les isoflavonoïdes sont connus essentiellement chez les fabales et surtout la famille des fabacées [62].

Ces composés sont classés en fonction du degré d'oxydation et de l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires. Ainsi, on trouve les isoflavones, les isoflavanones, les isoflavanols, les isoflavanes, les roténoïdes, les ptérocarpanes, les coumaranochromones et les 3-arylcoumarines [63] (Figure 11).

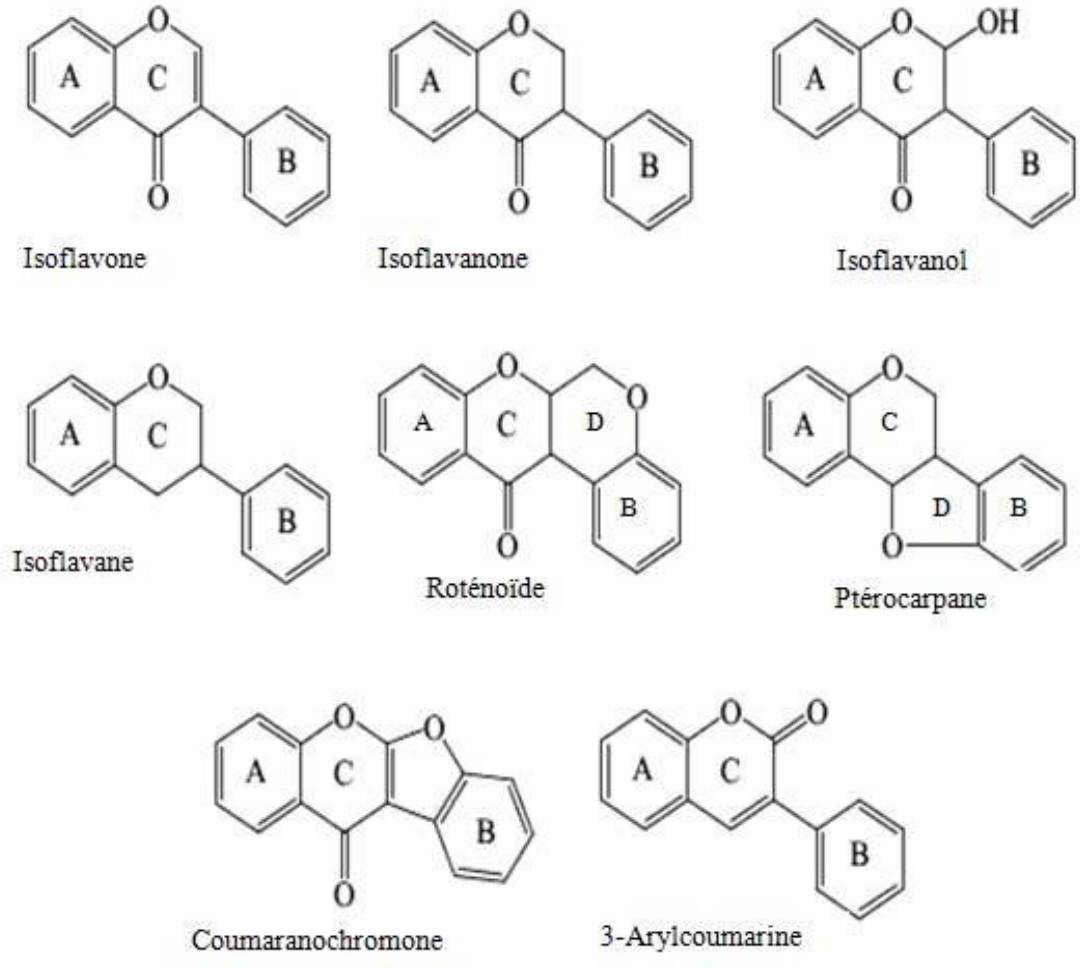


Figure 11 : Structure des isoflavonoïdes

En ce qui concerne leur biosynthèse, les isoflavonoïdes proviennent de la flavanone intermédiaire centrale qui est le 4', 5,7-trihydroxyflavanone dans le cas de la genistéine ou le 4',7-dihydroxyflavanone dans le cas de la daidzéine. Ainsi, la flavanone va subir en premier lieu le départ d'un radical hydrogène à C3 suivi de la migration du cycle B

ainsi que l'hydroxylation du radical C2. L'enzyme responsable de cette transformation est l'isoflavone synthase (IFS) [64].

- Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet et bleu observées dans la nature [46].

Les anthocyanes les plus connus sont la pélargonidine responsable de la couleur rouge ou orangé chez certaines plantes. Deuxième anthocyane connu c'est la cyanidine qui donne une coloration rouge ou rose et enfin la delphinidine responsable de la coloration mauve [65] .

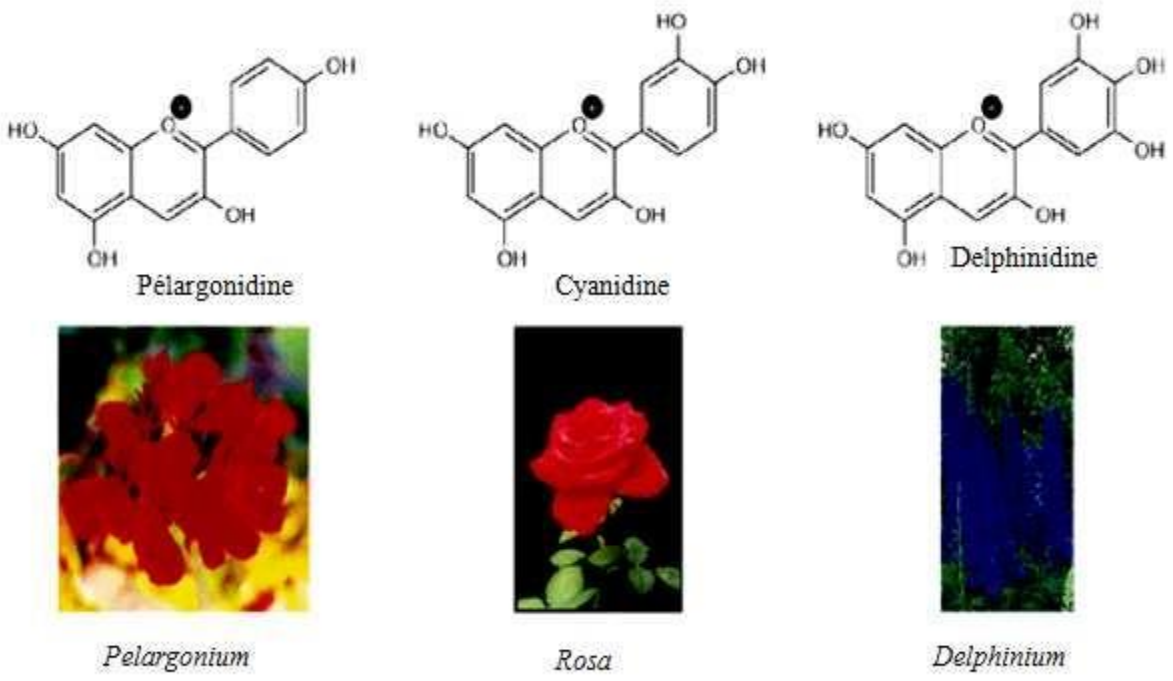


Figure 12 : Structure de quelques anthocyanes et leur identification dans la nature

Il est à noter que les anthocyanes interviennent directement dans les interactions plantesanimaux et surtout dans l'attraction des pollinisateurs par la couleur des fleurs [46].

- **Activité antibactérienne des flavonoides**

Les flavonoïdes ont une activités antibactériennes connue. En effet, ils sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : Staphylococcus aureus [66], Escherichia coli [67], Enterococcus feacalis, Enterobacter cloaceae, Heliotropium sinuatum, Proteus mirabilis [68]–[70]. Chaque composé agit spécifiquement sur un ou plusieurs germes. Ex : l'apigénine ne montre une faible activité que contre *Staphylococcus* aureus et la galangine une activité seulement contre cette même espèce [71].

Aussi dans certains travaux, il est cité que les flavonoïdes extraits avec du méthanol 95% sont actifs sur certaines bactéries, alors que ceux extraits avec du méthanol 60% de la même plante ne le sont pas, comme c'est le cas des flavonoïdes de *Linum capitatum* contre *Staphylococcus aureus* [72].

La diffusion radiale est souvent utilisée pour mettre en évidence cette activité, mais la mesure par le biais de cette méthode demeure difficile du fait que les zones sont parfois diffusionnelles [73]. Les flavonoïdes sont des composés phénoliques qui possèdent une unité C6-C3 liée à un noyau aromatique [54].

Etant donné que les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes suite à une infection microbienne, il n'est donc pas surprenant qu'ils possèdent des propriétés antimicrobiennes [74]. Leur activité est probablement due à leur capacité de se

complexer aux protéines extracellulaires et solubles. Mais, les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires [75]**.**

b. Les tannins

Les tannins (ou tanins) sont des composés polyphénoliques utilisés pour tanner les peaux. Les tannins ont plusieurs activités biologiques. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydants. Ces composés présentent une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions prooxydants [76].

D'autres tannins présentent une activité antiseptique importante. En effet, ils présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales assez spectaculaires [77].

Selon leurs structures biochimiques, on distingue deux classes de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

- Les tannins hydrolysables

Ces tannins sont des dimères d'acide gallique condensés sur des dérivés glycosyles. Ces composés donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides étendues une fraction glucidique (glucose) et une fraction polyphénolique exemple la brevilagine 1 et 2 [78].

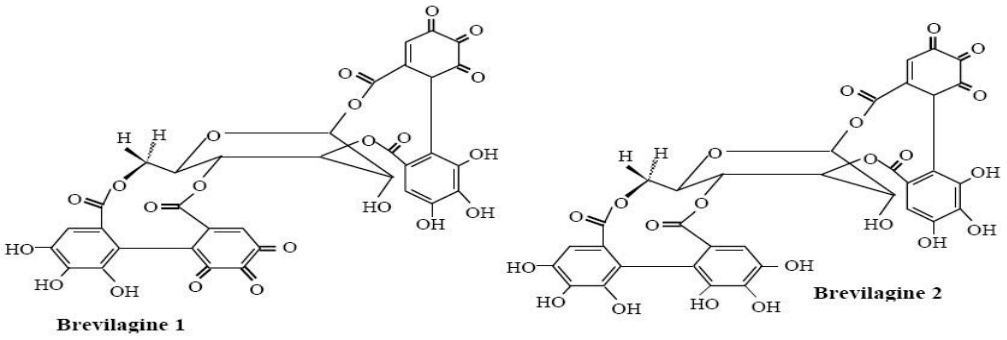


Figure 13 : Structure de quelques tannins hydrolysables.

- Les tannins condensés

Ces composés sont appelés aussi proanthocyanidines. Ces composés possèdent comme structure de base le flavan-3-ol ou le flavan-3,4-diol [76]. Ces tannins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont pas hydrolysés par les acides comme c'est le cas des tannins hydrolysables. Ils se transforment en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes [79]. Les tannins condensés donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines [80] exemple la profisetinidine et la proguibourtinidine

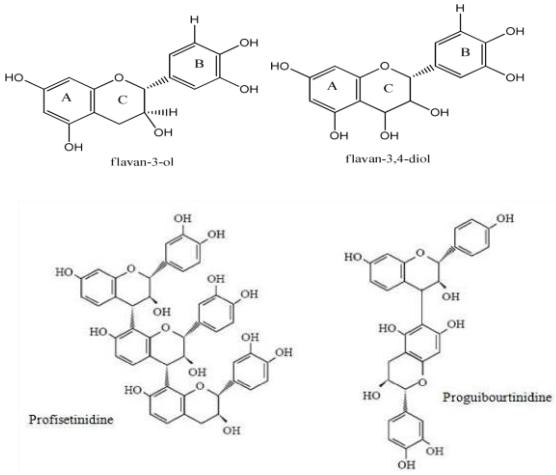


Figure 14 : Structure de quelques tannins condensés.

- Activité antibactérienne des tannins

Les tannins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance des bactéries ruminales (dont certaines sont sporogènes) comme Clostr idiumaminophilum, Butyvibrio fibrisolvans, C. proteoclasterium [81], [82], ainsi que les bactéries responsables de différentes infections chez l'homme : Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Helicobacter pylori, Proteus mirabilis. L'inhibition bactérienne par les tannins est dépendante de la structure et du degré de polymérisation de ces derniers, mais ceci n'est pas toujours le cas [83].

Chung et ses collaborateurs ont trouvé que l'acide tannique a inhibé la croissance des bactéries des aliments comme : Alealigenes faecalis, Enterobacter aérogènes, Escherichia coli, K pneumonia, Proteus vulgaris, Pseud fluorescens, Salmonella enteritidis, S paratyphi,Staph aureus, Strept faecalis, Strept pyogenes et Yersinia enterocolitica. Les bactéries intestinales humaines comme : Bacteroides fragilis, Clostridium clostridiiforme, C perfringens, C paraputrficum, Enterobacter cloacae, Escherichia coli et Salmonella typhimurium sont inhibées par l'acide tannique [84].

1.1.4.2. Anti-oxydants et leurs intérêts pour la santé

L'oxygène est la source de vie des organismes aérobies. Mais l'oxygène peut également être une source d'agression pour ces organismes [85]. En effet, des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent se manifester lors de réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons UV, des rayonnements ionisants et des métaux de transition [85]. L'anion radical super oxyde O_2^- peroxyde d'hydrogène H_2O_2, les alkylperoxydes ROOH, les radicaux hydroxyles HO, les peroxydes ROO et les alcoxydes RO [86] sont

en réalité à la base de ces troubles de forme d'oxygène. Au niveau de l'organisme beaucoup de répercussions se font sentir sur l'ADN, les lipides et les protéines [87].

1.1.4.2.1 Mécanismes d'action des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en de petite quantité dans les mitochondries. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient.

L'organisme sait combattre les radicaux libres grâce aux enzymes antioxydantes contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium [88]. Si ces systèmes de défense sont insuffisants, les radicaux libres ont tout le loisir d'être nuisibles : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés qui sont dénaturés (leur structure est modifiée) ; ils agressent également les protéines, les microfibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les acides nucléiques des chromosomes et l'ADN lui-même est transformé, ce qui provoque une série d'anomalies entrainant des risques de cancers. Lorsque les radicaux libres lèsent les acides gras insaturés on parle de lipidoperoxydation des membranes cellulaires. Cela déclenche alors une réaction en chaîne sur les divers acides gras du voisinage jusqu'à ce qu'ils soient neutralisés. Il en résulte des lésions de la membrane cellulaire, qui peuvent aboutir à des dérèglements d'intensité variable, conduisant éventuellement à la mort cellulaire. Ils ont un effet analogue sur les mitochondries, les enzymes

cellulaires, les chromosomes, le collagène et l'acide hyaluronique. Au cours de la vie nous sommes soumis à des millions de circonstances favorisant la production de ces radicaux libres, particulièrement néfastes pour la peau [88].

1.1.4.2.2 Rôles des complexes antioxydants

La vie en aérobiose se traduit au niveau cellulaire par l'existence d'une chaîne respiratoire mitochondriale nécessaire au stockage de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). La chaîne respiratoire est une succession de phénomènes d'oxydoréduction au cours desquels il existe des transferts d'électrons. Ces électrons peuvent réagir avec une molécule avoisinante pour aboutir à la formation d'un radical libre. Un radical libre est une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbite électronique la plus externe. Les radicaux libres sont produits au cours de nombreuses réactions engagées dans les mécanismes physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (inflammation, infection, toute pathologie dégénérative et vieillissement accéléré) et par la pollution (par les métaux lourds, les xénobiotiques, l'ozone, les rayonnements ionisants…). L'athérosclérose est un bon modèle de pathologie liée au stress oxydant car c'est à la fois une maladie dégénérative, inflammatoire et infectieuse [86]. Dans toutes les cellules aérobies, les radicaux libres sont essentiellement des radicaux oxygénés. Leur hyperactivité les engage dans des réactions de dénaturation des constituants cellulaires de type peroxydation, avec les glucides, les lipides, les protéines et l'ADN, formant des produits très instables. Ceux-ci donnent lieu à des réactions en chaîne générant de nouveaux radicaux libres. Ce processus de peroxydation s'auto-entretient de lui-même et il faut attendre l'obtention de produits

stables par réaction entre deux radicaux ou l'intervention de substances protectrices dites "*piégeurs de radicaux libres*" pour l'arrêter. La protection contre les effets délétères induits par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'agents différents :

- ✓ les protéines non enzymatiques (albumine, haptoglobine et transferrine) jouent un rôle antioxydant par chélation des ions,
- ✓ les enzymes tels que les superoxyde-dismutases et les glutathion-peroxydases transforment des radicaux très prooxydants en substances inoffensives,
- ✓ les antioxydants d'origine nutritionnelle, les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C).

Le rôle des métabolites secondaires en matière de prévention des maladies causées par les radicaux libres a été clairement établi par plusieurs études [89]. Un schéma représentatif de l'impact de Reactive Oxygen Species (ROS) et du rôle des divers métabolites secondaires dans l'apparition des diverses maladies et de leurs modes de suppression est établit (figure 15).

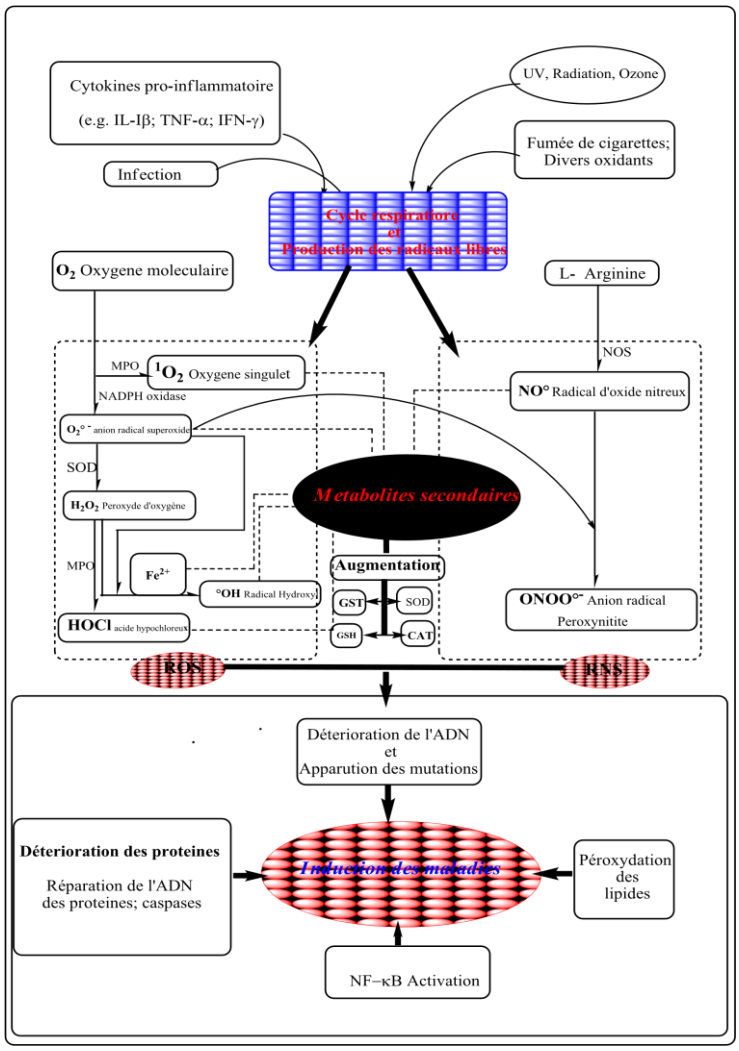


Figure 15: Métabolites secondaires et prévention des certaines maladies

Ceux sont des antioxydants essentiels pour l'homme dont les apports peuvent prévenir et même aider au traitement des maladies liées au stress oxydant. Il existe de nombreux autres composés parmi lesquelles certains sont regroupées dans le grand groupe des polyphénols. Bien que non essentielles, ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant [90].

1.2 Présentation du milieu d'étude

1.2.1 Situation géographique

D'une superficie de 114.763 km², le Bénin est situé sur la bande côtière du Golfe de Guinée et est localisé entre les parallèles 6°10' et 12°25' de latitudes Nord et les méridiens 0°45' et 3°55' de longitudes Est. Il est limité au Nord par le Niger, au Sud par l'Océan Atlantique, à l'Est par le Nigéria et à l'Ouest par le Togo et le Burkina-Faso

1.2.2 Caractéristiques climatiques et pédologiques

La répartition de la pluie dans l'année permet de distinguer trois grands types de climat dans le pays : le climat tropical humide ou subéquatorial ou guinéen, le climat tropical humide de transition ou soudano-guinéen et le climat tropical sec ou climat soudanien [91]. La zone de climat subtropical est limitée au sud par la mer et au nord par une ligne oblique passant par Bohicon (7°10' N) et Kétou (7°22' N). Elle est caractérisée par une pluviométrie modeste par rapport à la région guinéenne, avec un gradient ouest-est (900 mm par an à l'ouest et 1400 mm à l'est). Les pluies sont réparties sur deux saisons pluvieuses d'inégale durée, une grande de mars à juillet et une petite de septembre à octobre, intercalées par deux saisons sèches, une grande de novembre à février et une petite, centrée sur le mois d'août. La zone de climat tropical humide de transition s'étend entre 7° et 9°30' N. Elle est caractérisée par la disparition progressive de la petite saison sèche et la fusion des 2 pics pluviométriques caractéristiques du climat tropical sec. La pluviométrie varie de 1200 à 1300 mm par an. La zone de climat soudanien couvre le reste du territoire. Il n'y a plus que deux saisons une saison sèche et une saison pluvieuse. La pluviométrie varie de 1200 à 900 mm par an. Les minima de l'humidité relative de l'air sont inférieurs à 30% pendant 4

à 6 mois. Les maximas sont compris entre 45 et 75%. L'harmattan est responsable de cette baisse brutale de l'humidité relative.

Au plan pédologique, le Bénin dispose de 11 différents types de sols (figure 16) [92]. Parmi eux, le plus étendu est le sol ferrugineux lessivé à concrétions sur roches cristallines (granite et embréchites). Il est suivi, dans l'ordre décroissant, du sol faiblement ferralitique à concrétions et à cuirasse sur roches cristallines; du sol ferrugineux lessivé à concrétions sur roches sédimentaires; du sol faiblement ferrallitique sans concrétion sur roches sédimentaires; des sols peu évolués et sols minéraux bruts; du sol ferrugineux lessivé à pseudo-gley et à concrétions; du sol brun eutrophe sur roches diverses; du sol hydromorphe; du vertisol; sol faiblement ferralitique à concrétions et à cuirasse sur roches sédimentaires et le sol halomorphe.

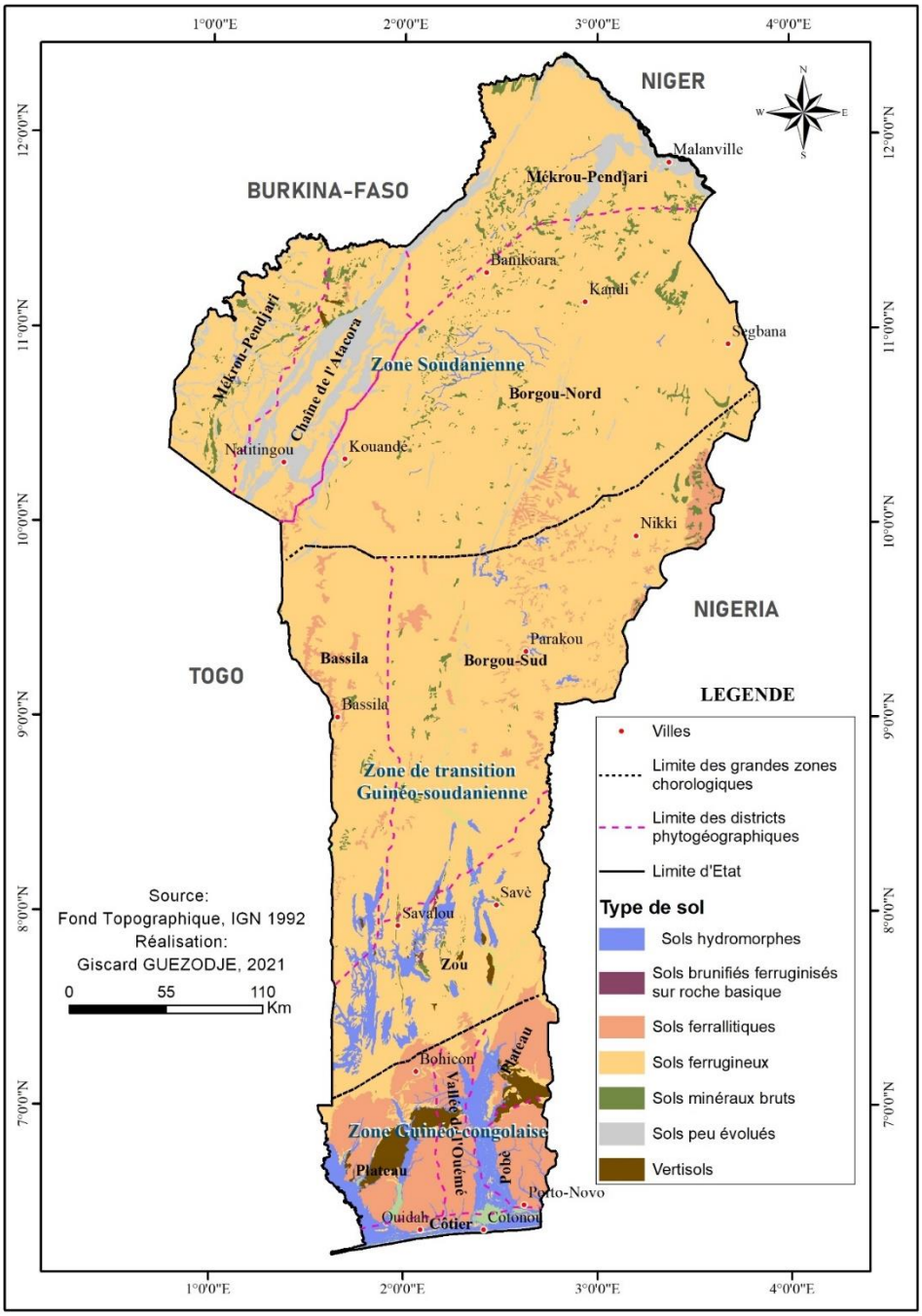


Figure 16 : Distribution des sols dans les trois zones phytogéographiques

1.2.3 Caractéristiques phytogéographiques

Le Bénin est subdivisé en trois zones phytogéographiques et 10 districts phytogéographiques (figure 2) [93].

La zone guinéenne renferme des forêts semi-décidues humides, de forêts semi-décidues sèches et de savanes dérivées (sur sols ferrallitiques et sur vertisols), des forêts semi-décidues sèches appauvries et d'un tapis herbacé [92]. Les espèces constamment rencontrées dans les forêts semi-décidues humides sont : *Albizia zygia, Celtis zenkeri, Chrysophyllum albidum, Cola gigantea, Antiaris toxicaria, Piptadeniastrum africanum* et *Milicia excelsa*. Selon [94], la variante climatiquement sèche est à dominance *Nesogordonia kabingaensis* alors que dans la dépression de la Lama, sur vertisol, s'est développée la variante édaphique sèche à *Dialium guineense* et *Mimusops andongensis*. Deux types de savanes à savoir : les savanes sur sols drainés à *Daniellia oliveri* et les savanes à *Parkia biglobosa* sur sols hydromorphes y sont rencontrés [95]. Le tapis herbacé est dominé par *Remirea maritima* et *Ipomoea braziliensis* alors que le fourré littoral est à dominance *Chrysobalanus icaco var. orbicularis* et *Diospyros tricolor*.

La zone soudanoguinéenne correspond à la zone de savanes boisées guinéennes [96] et de forêts claires soudaniennes avec abondance d'*Isoberlinia spp* [97]. On retrouve aussi des forêts denses sèches, des galeries forestières et des formations saxicoles dont les espèces dominantes sont : *Anogeissus leiocarpa, Isoberlinia tomentosa, Uapaca togoensis, Monotes kerstingii* et *Protea madiensis var. eliottii*.

La zone soudanienne est constituée de formations plus ouvertes (savanes, ilôts de forêts, forêts claires, forêts denses sèches et forêts galeries) à tapis graminéen (Andropogoneae) continu. Les savanes arborées et arbustives sont dominées par les espèces caractéristiques telles que : *Albizia chevalieri, Lonchocapus chevalieri*, *Balanites aegyptiaca, Guiera senegalensis, Burkea africana* et à *Combretum spp* alors que les savanes boisées sont constituées de *Monotes kerstingii* et de *Daniellia oliveri*. Les îlots de forêts

denses sèches sont à dominance *Anogeissus leiocarpa*. Les forêts claires, quant à elles, sont à dominance *Isoberlinia tomentosa* et *Isoberlinia doka*. Dans les forêts denses sèches, les espèces dominantes sont *Anogeissus leiocarpa* et *Tamarindus indica*. Enfin, les forêts galeries sont dominées par les espèces telles que : *Berlinia grandiflora*, *Cola laurifolia*, *Syzygium guineense ssp. guineense*, *Borassus aethiopum*, *Broenadia salicina*, *Raphia sudanica, Garcinia livingstonei* et *Vitex chrysocarpa*. La présence de deux espèces nouvelles pour la flore du Bénin dont l'une inféodée à la chaîne de l'Atacora (*Thunbergia atacorensis*) et l'autre endémique au Bénin (*Ipomoea beninensis*) fait aussi la caractéristique de la zone soudanienne.

1.2.4 Population humaine et activités

La population du Bénin est passée de 6.769.914 habitants en 2002 à 9.983.884 habitants en 2013 avec un taux de croissance de 3,51% [98]. La densité de population est de 87 habitants/Km² en 2013.

Selon SANNI [99], 60 langues sont parlées au Bénin et regroupées en 9 groupes sociolinguistiques suivant leur similarité (Tableau 2). Parmi eux, les fon et apparentés constituent le groupe le plus représenté avec une proportion de 39% en 2002 (tableau 2). Ils sont suivis avec leurs apparentés, des adja (15%), yoruba (12%), bariba (9%), peulh (7%), ottamari (6%), yoa-lokpa (4%), dendi (3%) et des autres béninois et étrangers (5%).

En tenant compte de leur répartition dans les régions du pays, les fon et apparentés se retrouvent majoritairement dans les départements du sud avec une forte proportion dans le Zou (93%), l'Atlantique (80%), l'Ouémé (79%) et le Littoral (57%). Les peulh et

apparentés sont distribués dans tous les départements du nord en cohabitation avec les autres groupes sociolinguistiques. En effet, ils représentent 24% de la population de l'Alibori, un département à dominance bariba et apparentés (40%) et dendi et apparentés (19%). Dans l'Atacora où les bariba et apparentés (19%) et berba (14%) sont en forte proportion, ils constituent seulement 10%. Les peulh et apparentés sont aussi très abondants (20%) dans le Borgou en association avec les bariba et apparentés (38%).

Au Bénin, le secteur agricole occupe 49% de la population [100] et a contribué pour 25,2% à la constitution du Produit Intérieur Brut (PIB) national [101]. Bien que des contraintes liées aux variations climatiques soient considérables, l'agriculture constitue la première activité du secteur agricole et a participé à hauteur de 33% à son PIB en 2013 [102]. Les principaux produits cultivés par la plupart des agriculteurs sont : les céréales (56%), suivies des tubercules et racines (21%), le niébé (13%), le coton (10%) [102]. Le sous-secteur de l'élevage vient en deuxième position parmi les activités agricoles avec un cheptel dominé par les bovins, les caprins, les ovins, les volailles, etc. mais aussi dans une moindre mesure par des productions non conventionnelles telles que les aulacodes, les escargots et les autruches [103]. Les autres secteurs employant la population béninoise sont : le commerce (27%), l'artisanat (17%) et les autres (7%).

Tableau 2 : Répartition des principales ethnies du Bénin en fonction des langues parlées

	Ethnies	Fon	Adja	Yoruba	Bariba	Peulh	Ottamari	Yoa-Lokpa	Dendi	Autres (béninois et étrangers)
Langues parlées		Agouna	Adja	Idaasha	Bariba	Gando	Berba	Dompargo	Dendi	Cotimba
		Aïzo	Houéda	Ifè	Boko	Fulfuldé	Bésorabè	Biyobè	Djerma	Haoussa
		Fon	Mina	Itcha	Boo	Peulh	Betyobé	Ani		Zerma
		Gun	Ouatchi	Holli			Gabanga	Foodo		Autres
		Kotafon	Pédah	Manigri			Gourmantché	Kabyè		
		Mahi	Pla	Mokolé			Hossori	koli		
		Sèto	Popo	Nagot			Natimba	Koto		
		Tchi	Sahouè	Partogo			Ottamari	Lokpa		
		Tori	Xwla	Tchabè			Waama	Pila-pila		
		Wémè		Yoruba			Yendé	Soruba		
								Taneka		
								Windji-windji		
								Yoa		
	N	10	9	10	3	3	10	13	2	-

E	2 655 336	1 030 685	829 509	619940	470 542	411 749	271 044	168863	312246
P (%)	39	15	12	9	7	6	4	3	5

Source : [99].

N : nombre d'ethnies dans un groupe sociolinguistique, E : effectif d'un groupe sociolinguistique, P : proportion en pourcentage d'un groupe sociolinguistique

Chapitre 2 : Diversité, usages et vulnérabilité des plantes médicinales utilisées dans le traitement des affections bucco dentaires au Bénin

Introduction

Les maladies bucco-dentaires constituent un véritable problème de santé publique. Le cancer de la bouche et du pharynx, les infections ou lésions buccales, les maladies parodontales, le déchaussement et la perte des dents sont autant d'affections bucco-dentaires. Elles limitent la capacité d'une personne à mordre, mâcher, sourire et parler, et entravent ainsi le bien-être psychosocial [104], 72]. Souvent considérées comme non urgentes, elles sont pourtant graves en raison de leur incidence élevée et de leur impact sur l'état de santé général, car en association avec certaines pathologies comme les maladies cardiovasculaires, la gastropathie et certaines névralgies [104].

L'étude de morbidité mondiale réalisée en 2016, a révélé que 50% de la population mondiale souffrent de maladies bucco-dentaires, avec 2,4 milliards de personnes souffrant de caries dentaires permanentes et 486 millions d'enfants souffrant de caries des dents de lait [106]. Les caries dentaires sont responsables de plusieurs problèmes de santé, tels que la malnutrition, les maladies cardiaques et respiratoires, le diabète, etc. Dans la plupart des pays industrialisés, elle reste un problème de santé majeur, puisqu'elle touche 60 à 90% des élèves et la grande majorité des adultes [107]. En Afrique de l'Ouest, les maladies bucco-dentaires touchent 60 % des enfants scolarisés et 90 % des personnes de plus de 60 ans, la majorité d'entre elles risquant de perdre leurs dents et/ou de subir un accident vasculaire cérébral si elles ne sont pas traitées [108].

La prise en charge des maladies bucco-dentaires est souvent difficile pour la population, notamment celle vivant sous le seuil de pauvreté, car le coût des

traitements est élevé et les programmes de prévention sont très rares. Cependant, certains soins sont prescrits pour ces affections en médecine traditionnelle, avec l'utilisation des ressources végétales [109]. En effet, les traitements oraux sont souvent coûteux et inaccessibles, en particulier dans les pays en développement, ce qui explique la popularité de l'utilisation des plantes médicinales pour prévenir les maladies bucco-dentaires [110] , 78, 79].

Au Bénin, les travaux d'inventaires ethnobotaniques des plantes médicinales en général de [113] n'ont indiqué que 2 recettes (soit 0,10% de l'ensemble des recettes rapportées) dont l'une pour le traitement des gingivites et l'autre pour la carie dentaire. Ces recettes n'ont impliqué que 2 espèces sur les 507 identifiées comme plantes médicinales au Bénin. Plus tard, Yédomonhan et al. [114] ont dressé une liste de 163 espèces végétales utilisées par la population béninoise comme brosse végétale pour l'hygiène bucco-dentaire. Aucune indication thérapeutique de ces 163 espèces n'a été fournie. Les plantes utilisées dans le traitement des affections bucco-dentaires et les connaissances liées à elles demeurent donc peu connues au Bénin. C'est pour corriger cette situation que cette étude a été initiée.

2.1 Méthodologie

2.1.1 Collectes de données

Les trois zones phytogéographiques du Bénin ont été considérées (Guinéo-congolaise, Soudano-guinéenne et Soudanienne). Au total, 131 villages correspondants à 37 communes (Figure 17) du Bénin ont été retenus dans le cadre de cette étude.

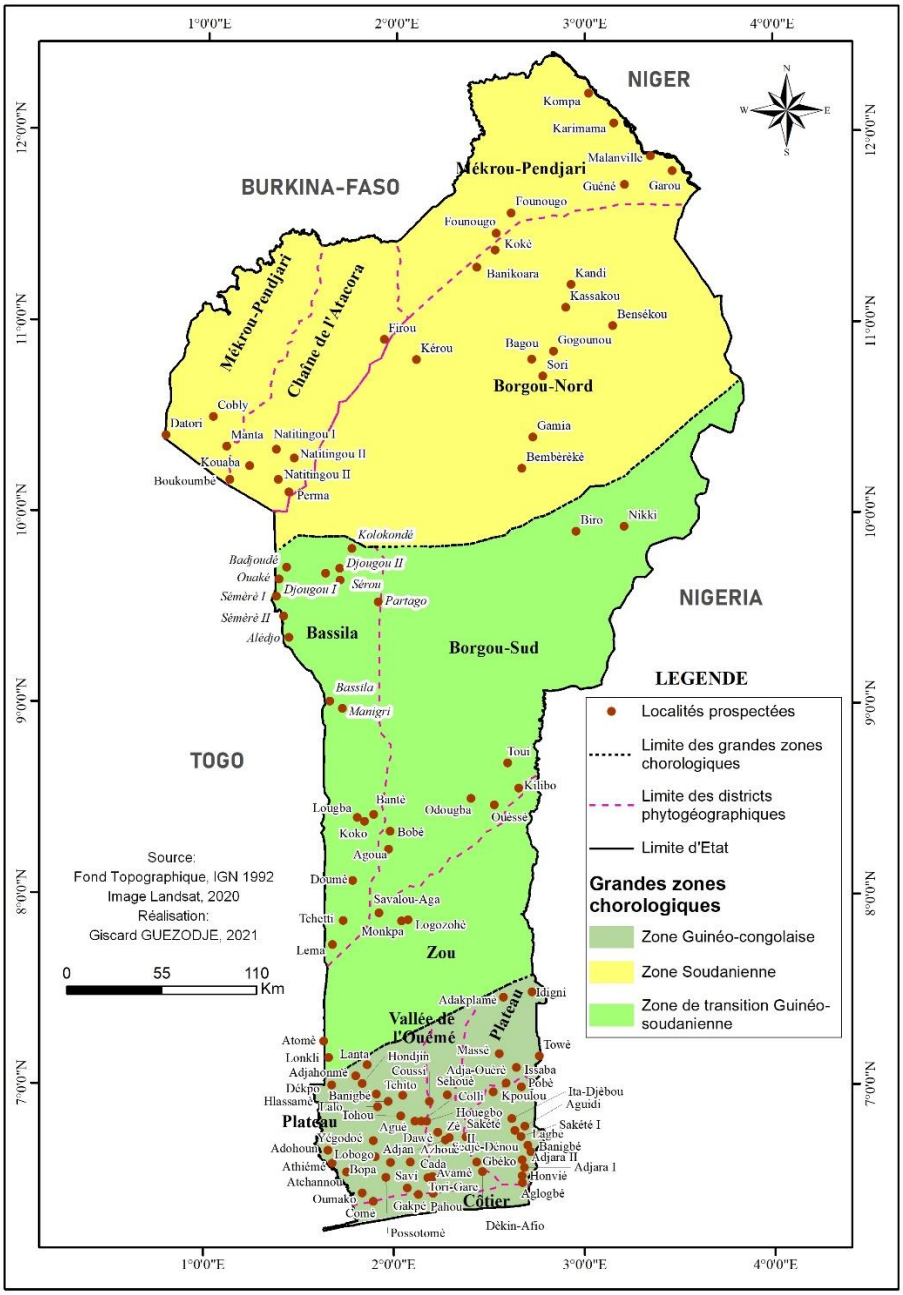


Figure 17 : Carte du Bénin montrant les localités prospectées

Les enquêtes ont été menées auprès de 1697 individus, sélectionnés de manière aléatoire. Les enquêtes ont été réalisées par des entretiens individuels semi-structurés à l'aide d'un questionnaire (annexe 4) et d'un interprète.

Les différentes rubriques du questionnaire sont : le profil de l'enquêté (ethnie, âge, sexe, niveau d'instruction, etc.), les noms locaux et les organes végétaux utilisés pour les plantes, les recettes relatives aux plantes et les maladies bucco dentaires traitées, le(s) mode(s) d'utilisation(s) et la ou les voie(s) d'administration(s). Les plantes utilisées pour le traitement des affections bucco dentaires citées par les enquêtés ont été aussitôt récoltées et herborisées. L'identification botanique a été réalisée à l'Herbier National du Bénin par comparaison avec les herbiers de référence ou avec la Flore Analytique du Bénin [91].

Les caractéristiques socio-démographiques des enquêtés ont été présentées dans le tableau 3. Le sex-ratio des enquêtés est de 1,15 en faveur des femmes, avec une forte présence des femmes dans la zone guinéo-congolaise (34,54%), suivie de 33,33% de femmes dans la zone soudanienne et 32,12% dans la zone soudano-guinéenne.

L'âge moyen des individus enquêtés était de 48 ± 1,84 ans, avec une très grande fréquence d'individus âgés de 30 à 59 ans (73,42%), suivis des individus âgés de moins de 30 ans (15,38%) et des individus âgés de 60 ans et plus (11,20%).

Parmi les individus interrogés, les thérapeutes sont les plus représentés avec une fréquence élevée de 33,29%, suivis des commerçants (23,34%), des agriculteurs (16,62%), des apprenants (apprentis, élèves et étudiants) (15,62%), des artisans (6,89%) et des fonctionnaires (4,24%). Plus de la moitié (56,69%) des répondants étaient analphabètes.

Les 1697 répondants appartenaient à 27 groupes ethniques différents. Parmi ces 27 ethnies, la plus représentée est celle des Fon (14,67%), qui n'est présente que dans les

zones guinéo-congolaise (94,78%) et guinéo-soudanaise (5,22%). On note également une représentation importante des Kotokoli (8,19%) et des Bariba (8,13%).

Tableau 3 : Présentation des données socio-démographiques des enquêtés

Caractéristiques		Zones phytogéographiques (%)						Total (%)	
Variables	**Catégories**	**Guinéo-Congolaise**		**Soudano-guinéenne**		**Soudanienne**		N = 1697	
Sexe	Féminin	314	(34,54)	292	(32,12)	303	(33,33)	909	(53,57)
	Masculin	443	(56,22)	103	(13,07)	242	(30,71)	788	(46,43)
Âge	< 30	99	(37,93)	73	(27,97)	89	(34,10)	261	(15,38)
	[30 – 60[	534	(42,86)	306	(24,56)	406	(32,58)	1246	(73,42)
	≥ 60	89	(46,84)	56	(29,47)	45	(23,68)	190	(11,20)
Professions	Agriculteurs	101	(35,82)	141	(50,00)	40	(14,18)	282	(16,62)
	Apprenants (élèves, apprentis, étudiants)	172	(64,91)	53	(20,00)	40	(15,09)	265	(15,62)
	Artisans	82	(70,09)	-		35	(29,91)	117	(06,89)
	Commerçants	189	(47,73)	112	(28,28)	95	(23,99)	396	(23,34)
	Fonctionnaires	72	(100,00)	-		-		72	(4,24)
	Thérapeutes	156	(27,61)	278	(49,20)	131	(23,19)	565	(33,29)
	Analphabètes	378	(39,29)	345	(35,86)	239	(24,84)	962	(56,69)

Niveau d'éducation	Niveau primaire	264	(58,41)	109	(24,12)	79	(17,48)	452	(26,64)
	Niveau secondaire	114	(40,28)	98	(34,63)	71	(25,09)	283	(16,67)
	Niveau universitaire	00	-	00	-	00	-	00	-
Groupe ethnique	Adja	91	(100,00)	-		-		91	(5,36)
	Agou	-		2	(14,29)	12	(85,71)	14	(0,82)
	Ani	-		4	(30,77)	9	(69,23)	13	(0,77)
	Berba	9	(19,57)	25	(54,35)	12	(26,09)	46	(2,71)
	Bariba	7	(5,07)	55	(39,86)	76	(55,07)	138	(8,13)
	Boo	-		-		21	(100,00)	21	(1,24)
	Dendi	12	(15,79)	45	(59,21)	19	(25,00)	76	(4,48)
	Fon	236	(94,78)	13	(5,22)	-		249	(14,67)
	Foodo	-		-		32	(100,00)	32	(1,89)
	Goun	87	(100,00)	-		-		87	(5,13)
	Gourmantche	5	(10,00)	-		45	(90,00)	50	(2,95)
	Holly	22	(55,00)	9	(22,50)	9	(22,50)	40	(2,36)
	Idaatcha	27	(35,53)	49	(64,47)	-		76	(4,48)

Kotafon	25	(100,00)		-	-		25	(1,47)
Kotokoli	100	(71,94)	-		39	(28,06)	139	(8,19)
Mossi	-		36	(92,31)	3	(7,69)	39	(2,30)
Mahi	39	(39,80)	59	(60,20)	-		98	(5,77)
Nago	38	(53,52)	33	(46,48)	-		71	(4,18)
Natimba	-		-		37	(100)	37	(2,18)
N'Yende	-		-		8	(100)	08	(0,47)
Otamari	-		11	(44,00)	14	(56,00)	25	(1,47)
Peulh	2	(5,71)	14	(40,00)	19	(54,29)	35	(2,06)
Sahoue	53	(100,00)	-		-		53	(3,12)
Tchabe	1	(4,17)	23	(95,83)	-		24	(1,41)
Waama	3	(3,23)	5	(5,37)	85	(91,40)	93	(5,48)
Wachi	-		9	(10,98)	73	(89,02)	82	(4,83)
Yaume	-		3	(8,57)	32	(91,43)	35	(2,06)

2.1.3 Analyse des données

Le test de corrélation de Pearson a été fait pour vérifier l'existence d'une relation linéaire entre le nombre d'espèces végétales mentionnées par individu et le nombre

d'affections bucco dentaires traitées par les espèces végétales mentionnées par celui-ci. La normalité des données a été préalablement testée.

Les facteurs qui influencent la connaissance liée aux plantes utilisées pour le traitement des affections bucco dentaires au Bénin ont été déterminés à partir de deux analyses de régression linéaire. La première a impliqué le nombre d'espèces végétales mentionnées par individu et la seconde, le nombre d'affections bucco dentaires rapportées comme variables dépendantes (Tableau 4). Les analyses ont impliqué 6 variables indépendantes ou explicatives (Tableau 4).

Tableau 4 : Description détaillée de 8 variables impliquées dans la régression linéaire

Variables	Code	Signification	Types de variable	Degré
Variables dépendantes				
Espèces végétales	Esp_veg	Nombre total de plantes mentionnées par individu durant les interviews	Continue	-
Nombre d'affections bucco dentaires traitées	Nbr_aff	Nombre total d'affections bucco dentaires traitées rapportées par un individu pour toutes les plantes mentionnées	Continue	-
Variables indépendants				
Zone phytogéographiques	Zphyto	Zone phytogéographique correspondant à la localité de l'individu	Nominale	3
Ethnie	Ethn	Appartenance ethnique de l'individu	Nominale	27

Sexe	Sex	Sexe de l'individu	Nominale	2
Age	Age	Age de l'individu	Continue	-
Education	Inst	Niveau d'instruction de l'individu	Ordinale	4
Profession	Prof	Profession de l'individu	Nominale	6

Parmi les variables explicatives, il s'agit de sélectionner celles qui sont le plus à même d'expliquer une variable dépendantes [115]. Le test du chi-deux a été utilisé pour évaluer la dépendance entre le nombre de plantes mentionnées pour le traitement des affections bucco-dentaire et les variables indépendantes d'une part et la dépendance entre le nombre d'affections bucco dentaires traitées par toutes les plantes mentionnées et les variables indépendante d'autre part. Les probabilités associées à ce test ont permis de vérifier la significativité des variables. Tous ces paramètres sont fournis par le logiciel R.3.6.1.

Des calculs de réponses ont été effectués pour diverses variables (espèces végétales, affections bucco dentaires traitées, types morphologiques, organes utilisés, modes de préparation et voies d'administration) [116].

Par ailleurs, quatre indices ethnobotaniques ont été déterminés, à savoir : les fréquences de citation (Fce et Fcm), la fréquence des recettes (Fr), la contribution de chaque plante dans la constitution des recettes (Cpr) et le facteur de consensus des informateurs (Fci).

- **Les fréquences de citation des espèces végétales**

Les fréquences de citation des espèces végétales (Fce) et des maladies (Fcm) ont permis de déterminer le taux de citation de chaque espèce végétale et de chaque affection bucco-dentaire par zone phytogéographique et dans toute la zone d'étude. Elles ont été déterminées par la formule [116] :

$$Fc = \frac{Nc}{N} \times 100$$

où Nc est le nombre de citation pour l'espèce végétale ou l'affection bucco-dentaire considérée et N le nombre total d'individus enquêtés.

- **La Fréquence des recettes (Fr)**

La Fréquence des recettes (Fr) a permis d'identifier les plantes ou compositions de plantes prioritaires pour chaque maladie [117]. Les plantes ayant les valeurs de Fr les plus élevées (≥ 9 %) ont été considérées comme prioritaires. Elle se calcule par la formule [116] suivante :

$$Fr = {}^{Ncr}/_{N} \times 100$$

où, Ncr est le nombre de citation d'une plante traitant une maladie donnée et N la somme des citations pour l'ensemble des plantes traitant la même maladie.

- **Contribution de chaque plante dans les recettes**

La contribution de chaque plante dans la constitution des recettes (Cpr) a été aussi évaluée [117]. Elle a permis de connaître la fréquence d'implication d'une plante dans les recettes et est donnée par la formule [117] :

$$Cpr = Nr/Nt \times 100$$

où Nr le nombre de recettes (mélange de deux ou plusieurs plantes pour le traitement d'une affection) sollicitant la plante et Nt le nombre total de recettes pour l'ensemble des plantes traitant la même affection.

- **Facteur de Consensus des Informateurs**

Le Facteur de Consensus des Informateurs (Fci) défini par Heinrich [118] (1998) cité par Ngom [119] a permis d'évaluer la cohérence des connaissances des informateurs en fonction des affections bucco-dentaires qu'ils traitent et des plantes impliquées. Il a été calculé par affection bucco-dentaire selon la formule suivante [119] :

$$Fci = \frac{Nr - Nt}{Nr - 1}$$

où Nr est le nombre de mentions d'une affection; Nt est le nombre total de mentions des plantes utilisées pour traiter les affections.

Le Fci varie de 0 à 1. Si :

- Fci = 0, les répondants ont différents points de vue dans l'utilisation des plantes pour traiter les affections bucco-dentaires ;
- 0 < Fci ≤ 0,5, il existe un faible consensus sur l'utilisation des plantes ;
- Fci = 0,5 indique un consensus moyen de l'utilisation des plantes ;
- 0,5 < Fci < 1, il existe un degré relativement élevé de consensus sur l'utilisation des plantes pour traiter les affections bucco-dentaires ;
- Fci = 1, le consensuel est total.

2.2 Résultats

2.2.1 Influence des facteurs socioculturels et environnementaux sur la connaissance des plantes à usages bucco dentaires

Au cours de nôtre enquête sur les plantes utilisées pour le traitement des affections bucco dentaires au Bénin, il a été noté que le nombre d'espèces végétales citées par individu était compris entre 1 et 8 avec une moyenne de 3,08 ± 0,09 espèces végétales. En considérant le nombre d'affections bucco dentaires traitées par toutes les espèces végétales et rapportées par individu, le nombre variait de 1 à 7 avec une moyenne de 2,31 ± 0,10 affections citées. Toutefois, il n'existe aucune relation linéaire entre ces deux paramètres et la variation de l'un (nombre d'affections) ne peut être expliquée par l'autre (nombre d'espèces végétales) ($r = - 0,03$; $p = 0,27$; $R^2 = 0,001$) (Figure 18).

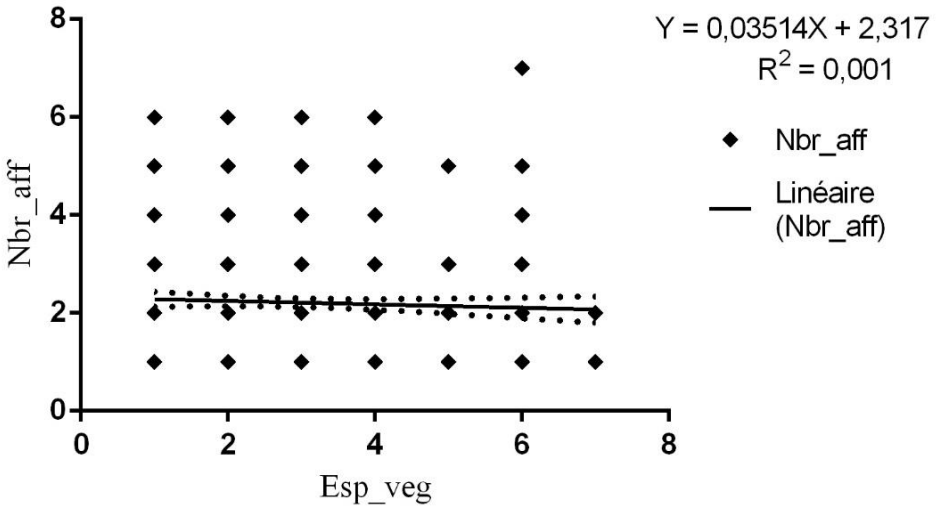


Figure 18 : Relation entre le nombre de d'espèces végétales mentionnées et le nombre d'affections bucco dentaires traitées rapportées par individu

Les résultats de la régression linéaire montrent que l'appartenance à une zone phytogéographique, à une ethnie et le niveau d'éducation (instruction) déterminent la connaissance médicinale traditionnelle (nombre de plantes et nombre d'affections rapportés) du traitement des affections bucco dentaires au Bénin (Tableau 5).

Le Tableau 5 fournit les moyennes les mieux ajustées et leurs écarts types, sans oublier les intervalles de confiance à 95 %. Il présente aussi les résultats liés aux tests de Chi2. De l'analyse de ce tableau, il ressort que les zones phytogéographiques exercent une influence très hautement significative sur la connaissance individuelle liée aux espèces végétales utilisées pour le traitement des affections bucco dentaires au Bénin ($p < 0,001$).

Ceci signifie que les populations appartenant à ces différentes zones ont une connaissance très large sur les plantes utilisées pour l'hygiène bucco-dentaire. L'appartenance d'un individu à une ethnie influence significativement ($p < 0,05$) sa connaissance sur les plantes à usages bucco dentaires. Ainsi les fons, les bariba et les kotokoli détiennent une connaissance élevée sur les plantes à usages bucco dentaires. Les individus non instruits sont ceux qui détiennent une connaissance approfondie des plantes utilisées dans le traitement des affections bucco dentaires. Plus ce niveau est faible, plus la connaissance des plantes à usages bucco dentaires est élevée.

Tableau 5 : Résultats issus de la régression linéaire

	Variables à expliquer ou dépendantes									
	Nombre d'espèces végétales (Esp_veg)					**Nombre d'affections traitée pour toutes les espèces végétales mentionnées (Nbr_aff)**				
Variables explicatives ou indépendantes	**Moy ± Ec**	**IC 95%**	**χ^2**	**Df**	**p**	**Moy ± Ec**	**IC 95 %**	**χ^2**	**Df**	**p**
Zphyto	2,96 ± 0,11	2,73 - 3,19	0,07	1	0,78	2,53 ± 0,10	2,32 - 2,73	11,16	1	**0,0009**
Ethn	2,86 ± 0,09	2,67 - 3,04	2,70	1	0,10	2,39 ± 0,08	2,22 - 2,56	6,34	1	**0,01**
Sex	3,20 ± 0,19	2,83 to 3,58	1,32	1	0,24	2,29 ± 0,17	1,94 to 2,63	0,21	1	0,64
Age	2,98 ± 0,14	2,69 to 3,27	0,006	1	0,93	2,18 ± 0,13	1,91 to 2,45	0,04	1	0,83
Inst	2,79 ± 0,12	2,54 to 3,04	2,99	1	0,08	1,87 ± 0,11	1,65 to 2,09	10,08	1	**0,001**
Prof	2,91 ± 0,08	2,74 to 3,08	1,20	1	0,27	2,30 ± 0,07	2,14 to 2,45	1,87	1	0,17

Zphyto : zone phytogéographique ; Ethn : ethnie ; Sex : sexe ; Age : âge ; Inst : niveau d'éducation ; Prof : profession ; Moy ± Ec : moyenne ± écart-type ; IC 95% : intervalles de confiance à 95% ; p : p-value

2.2.2 Diversité floristique des plantes à usages bucco dentaires

Au total, 362 espèces utilisées dans le traitement des affections bucco-dentaires ont été recensées. Elles appartiennent à 282 genres et 91 familles botaniques (Tableau 6). Les familles qui comptent le plus grand nombre d'espèces sont : Leguminosae (53 espèces, soit 14,8%), Euphorbiaceae (20 espèces, soit 5,58%) et Rubiaceae (17 espèces, soit 4,78%). L'espèce la plus citée est *Zanthoxylum zanthoxyloides* avec une fréquence de citation de 18,36%. Elle est suivie de *Dialium guineense* (17,48%), *Pseudocedrela kotschyi* (13,69%), *Bridelia ferruginea* (12,07) et *Anogeissus leiocarpa* (11,69%) (Tableau 6). De l'ensemble des plantes recensées, 34,25% sont des arbres. Les herbes représentent 31,77% des espèces, les arbustes font 28,18% et les lianes 5,80% des taxons.

Tableau 6 : Plantes à usages bucco-dentaires et connaissances endogènes y relatives

***TM** : Type morphologique (A ; arbre, a : arbuste, H : herbe, L : liane) ; **Org** : organes (raf : rameau feuillée, rac : racine, éco : écorce, feu : feuille, fru : fruit, bul : bulbe, rhi : rhizome, gr : graine) ; **MP** : modes de préparation (dé : décoction, in : infusion, ma : macération, pi : pilat, br : brosse, tr : trituration) ; **VA** : voies d'administration (or : oral, ga : gargarisme, inh : inhalation, pa : pansement) ; **AST** : Affections et symptômes traités (1 : carie dentaire, 2 : mauvaise haleine, 3 : trouble de dentition, 4 : gingivite, 5 : noma, 6 : Aphte, 7 : muget, 8 : odontalgie), **Fr.** Fréquence des recettes ; **Cpr**. Contribution de chaque Plante dans la constitution des Recettes.*

N°	Espèces	Familles	TM	AST	Org	MP	VA	Fr (%)	Cpr (%)
1	*Abrus precatorius* L.,	Leguminosae	L	1 ; 3	rac, feu	de	or ; ga	5,31	0,29
2	*Abutilon mauritianum* (Jacq.) Medik.,	Malvaceae	H	1	feu	de	or	1,68	0,15
3	*Acacia auriculiformis* A.Cunn. ex Benth.,	Leguminosae	A	2	raf	de	or	3,35	0,15
4	*Acacia macrostachya* Rchb. ex De.,	Leguminosae	a	3	feu	de	or	1,96	0,15
5	*Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Delile	Leguminosae	A	1 ; 2	fru, tige	de ; in ; br	or ; ga	5,87	0,29

6	*Acacia polycantha* Willd. ssp. campylacantha (Hochst. ex A. Rich.) Brenan	Leguminosae	A	1	éco	ma	ga	1,68	0,15
7	*Acacia sieberiana* DC. var. villosa,	Leguminosae	A	1 ; 2 ; 8	feu, rac, eco,	de	or ; ga	8,38	0,44
8	*Acalypha crenata* Hochst. ex A.Rich.,	Euphorbiaceae	H	3	raf	de	or ; ga	2,51	0,15
9	*Acanthospernum hispidium* DC.	Asteraceae	H	1 ; 2 ; 3	raf, feu	de ; ma	or ; ga	8,38	0,44
10	*Acanthus montanus* (Nee) T. Anderson	Acanthaceae	a	1 ; 2 ; 4	raf, feu	de	ga	3,35	0,44
11	*Acmella uliginosa* (Sw.) Cass	Asteraceae	H	1 ; 2	raf, feu	de ; in	or ; ga	1,68	0,29
12	*Acridocarpus alternifolius* (Schumach. & Thonn.) Nied.	Malpighiaceae	L	1 ; 2 ; 6	feu, rac, éco, raf	de ; in	or ; ga	0,84	0,44
13	*Acridocarpus smeathmannii* (DC.) Guill. & Perr.	Malpighiaceae	a	1 ; 2	rac, éco, raf	de ; in	or ; ga	1,68	0,29
14	*Adansonia digitata* L.	Malvaceae	A	1 ; 3 ; 6	éco, feu	de	or	5,87	0,44
15	*Lagenaria breviflora* (Benth.) Roberty	Cucurbitaceae	L	1 ; 3	fru, raf	de	or ; ga	2,51	0,29
16	*Adonodolichos paniculata* (Hua) Hutch. & Dalziel	Leguminosae	a	2	feu	de	or	1,68	0,15
17	*Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schult	Amaranthaceae	H	8	raf	de	or ; inh	1,68	0,15

18	*Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum	Zingiberaceae	H	1 ; 3 ; 7	fru, éco	de ; in	or ; ga	1,12	0,44
19	*Aframomum cereum* (Hook.f.) K.Schum.	Zingiberaceae	H	2 ; 3	raf	de	ga	2,51	0,29
20	*Afzelia africana* Sm.,	Leguminosae	A	3	raf	de	ga	1,12	0,15
21	*Agelaea pentagyna* (Lam.) Baill.,	Connaraceae	L	1 ; 2 ; 8	raf, feu, tige	de ; br	ga	0,84	0,44
22	*Ageratum conyzoides* L.,	Asteraceae	H	3	raf	de	or	1,68	0,15
23	*Albizia ferruginea* (GuUl. & Perr.)	Leguminosae	A	1	feu	de	or	1,12	0,15
24	*Allium cepa* L.,	Amaryllidaceae	H	1	Bul	de	or ; ga	3,07	0,15
25	*Allium sativum* L.,	Amaryllidaceae	H	1	feu, bul	de ; pi	or	1,12	0,15
26	*Allophylus africanus* P. Beauv.,	Sapindaceae	a	1 ; 6 ; 7	raf, feu	de	or ; ga	2,79	0,44
27	*Aloe buettneri* A.Berger,	Xanthorrhoeaceae	H	3	feu	de	or	3,35	0,15
28	*Aloe spp*	Xanthorrhoeaceae	H	8	feu	de	or	6,15	0,15
29	*Alternanthera pungens* Kunth,	Amaranthaceae	H	3	raf	de	or	3,35	0,15
30	*Amaranthus cruentus* L.,	Amaranthaceae	H	2	feu	de	or	3,35	0,15
31	*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.,	Amaranthaceae	H	1	feu	pi	pa	1,12	0,15

32	*Amaranthus spinosus* L.	Amaranthaceae	H	3	feu	tr	or	1,96	0,15
33	*Amaranthus viridis* L.	Amaranthaceae	H	2 ; 3	raf, éco	de ; in	or ; ga	2,51	0,44
34	*Ampelocissus grantii* (Baker) Planch.	Vitaceae	L	1 ; 5 ; 7	raf, éco	de	ga	3,07	0,44
35	*Ampelocissus leonensis* (HooK. f.) Planch.	Vitaceae	L	1	feu	de	ga	1,68	0,15
36	*Anacardium occidentale* L.	Anacardiaceae	A	1 ; 5 ; 6 ; 8	éco	de, in	or ; ga	12,57	0,59
37	*Ananas comosus* (L.) Merr.	Bromeliaceae	H	2 ; 3 ; 8	fru, rac, feu	de	or ; ga	1,68	0,44
38	*Anchomanes difformis* (Blume) Engl.	Araceae	H	1 ; 4 ; 7	rhi, éco	de	ga	1,12	0,44
39	*Annona senegalensis* Pers.	Annonaceae	A	1 ; 2 ; 3 ; 6	raf, rac, feu	de ; tr	ga	8,38	0,59
40	*Annona squamosa* L.	Annonaceae	a	3	feu	de	ga	3,63	0,15
41	*Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. &Perr.,	Combretaceae	A	1 ; 2	raf, feu, éco	de	ga	12,57	0,29
42	*Anthocleista vogelii* (Planch)	Gentianaceae	A	1	feu	de	ga	1,68	0,15
43	*Antiaris toxicaria* Lesch. ssp. Welwitschii (Engl.) C.C.Berg.	Moraceae	A	6	éco	de	or	1,68	0,15

44	*Aphania senegalensis* (Juss. exPoir.) Radlk.	Sapindaceae	A	4	feu	de	ga	1,68	0,15
45	*Argemone mexicana* L.	Papaveraceae	H	1 ; 3 ; 8	raf, éco, feu	de	ga	0,56	0,44
46	*Aspilia africana* (Pers.) Adams	Asteraceae	H	1 ; 8	raf, feu	de	or ; ga	1,68	0,29
47	*Azadirachta indica* A. Juss.	Meliaceae	A	1	tige, feu	br, in	ga	10,34	0,15
48	*Balanites aegyptiaca* (L.) Delile	Zygophyllaceae	A	1	feu, rac	de ; ma	ga	1,68	0,15
49	*Bambusa vulgaris* Schrad. ex Wendel	Poaceae	A	8	feu	in	ga	1,68	0,15
50	*Baphia nitida* Lodd.	Leguminosae	a	1	raf	de	ga	3,07	0,15
51	*Beta vulgaris* L.	Amaranthaceae	A	1	fru	pi	ga	8,38	0,15
52	*Biophytum umbraculum* Welw.	Oxalidaceae	H	4 ; 8	raf	de	ga	0,84	0,29
53	*Blighia sapida* König	Sapindaceae	A	3 ; 5 ; 8	raf, feu	de ; in ; tr	or ; ga	1,68	0,44
54	*Boerhavia diffusa L.*	Nyctaginaceae	H	3 ; 8	feu, rac	de	or ; ga	1,68	0,29
55	*Boerhavia erecta* L.	Nyctaginaceae	H	1 ; 6	raf, fru	de	ga	2,79	0,29
56	*Borassus aethiopum* Mart.,	Arecaceae	A	8	fru	de	ga	0,84	0,15
57	*Brassica oleracea* L.	Brassicaceae	H	8	feu	de	ga	1,68	0,15

58	*Breonadia salicina* (Vahl) Hepper & J. R. I. Wood	Rubiaceae	a	1	raf	de	ga	3,35	0,15
59	*Bridelia ferruginea* Benth.	Phyllanthaceae	A	1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 7	rac , éco, raf, feu	de ; ma ; in	ga	10,61	0,74
60	*Bridelia scleroneura* Müll. Arg.	Phyllanthaceae	a	8	raf	de	ga	1,40	0,15
61	*Burkea africana* Hook.	Leguminosae	A	2	éco	in	ga	10,34	0,15
62	*Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. & Zarucchi	Leguminosae	L	1 ; 8	rac	de ; br	ga	6,98	0,29
63	*Caesalpinia bonduc* (L. Roxb.)	Leguminosae	a	1 ; 2 ; 3 ; 8	feu, rac, feu, gr	de ; ma	ga	3,35	0,59
64	*Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.	Leguminosae	A	1 ; 2 ; 3	raf, tige, feu	de ; tr ; in	ga	7,54	0,59
65	*Cajanus cajan* (L.) Millsp.	Leguminosae	a	1	feu	de ; br	ga	3,35	0,15
66	*Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton	Apocynaceae	A	1 ; 2	feu	de ; tr	ga	2,79	0,29
67	*Calyptrochilum christyanum* (Rchb.f.) Summerh.,	Orchidaceae	L	1	raf	de	or	1,68	0,15
68	*Cardiospermum halicaccabum* L.	Sapindaceae	L	3	raf	de	or	3,63	0,15
69	*Carica papaya* L.	Caricaceae	H	1 ; 4	feu, rac	de ; tr	ga	1,68	0,29

70	*Carissa spinarum* L.	Apocynaceae	a	1 ; 8	éco, feu, rac	de ; ma	ga	1,68	0,29
71	*Carpolobia lutea* G.Don.	Polygalaceae	A	1 ; 2	rac	de	or	1,68	0,29
72	*Cassia italica* (Mill.) Spreng.	Leguminosae	A	8	gr	de	or	1,68	0,15
73	*Cassia rotundifolia* Pers.	Leguminosae	H	1	rac	de	ga	3,35	0,15
74	*Cassia sieberiana* DC.,	Leguminosae	A	1	raf	de	pa	1,40	0,15
75	*Cassytha filiformis* L.	Lauraceae	L	3 ; 4	raf	de	or ; ga	1,68	0,29
76	*Casuarina equisetifolia* L.,	Casuarinaceae	A	1	éco, fru	de ; br	ga	1,68	0,15
77	*Catharanthus roseus* (L.) G.Don,	Apocynaceae	H	1 ; 4 ; 8	rac, feu	De ; br ; ma	or ; ga	1,68	0,44
78	*Celosia laxa Schumach.* & Thonn.	Amaranthaceae	H	3	rac	de	ga	2,51	0,15
79	*Celosia trigyna* L.	Amaranthaceae	H	1 ; 4	raf	de	ga	0,56	0,29
80	*Chamaecrista mimosoides* (L.) Greene	Leguminosae	H	1 ; 2 ; 3	raf, feu	de	ga	2,51	0,44
81	*Chamaecrista rotundifolia* (Pers.) Greene	Leguminosae	H	3	feu	tr	ga	1,68	0,15
82	*Chassalia kolly* (Schumach.) Hepper	Rubiaceae	a	1 ; 2 ; 3 ; 4	raf, rac, feu	de ; ma	or ; ga	5,87	0,59

83	*Chenopodium ambrosioides* L.,	Chenopodiaceae	H	1 ; 3	raf, feu	de ; pi	or ; ga	1,68	0,29
84	*Chionanthus niloticus (*Oliv.) Stearn	Oleaceae	a	8	feu	de	ga	3,35	0,15
85	*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King.	Asteraceae	H	2	feu	tr	or	3,07	0,15
86	*Chrysobalanus icaco* L. ssp. *orbicularis (Schumach.) Souza*	Chrysobalanaceae	a	7	feu	de	ga	2,51	0,15
87	*Chrysophyllum albidum* G. Don	Sapotaceae	A	1	éco	de	ga	7,54	0,15
88	*Cissampelos owariensis* (P.Beauv)	Menispermaceae	L	1	raf, feu	de	or ; ga	8,38	0,15
89	*Cissus populnea* Guill. & Perr.	Vitaceae	L	1 ; 6	rac	de	or ; ga	3,35	0,29
90	*Cissus quadrangularis* L.	Vitaceae	L	1 ; 3	raf	de	ga	1,68	0,29
91	*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai	Cucurbitaceae	H	6	fru	ma	ga	0,84	0,15
92	*Citrus aurantifolia* (Christm. & Panzer) Swingle.	Rutaceae	a	1 ; 3	feu, eco	de	or ; ga	2,51	0,29
93	*Citrus limon (L.) Burm.f.*	Rutaceae	A	1 ; 3 ; 8	rac, feu	de	or ; ga	6,15	0,44
94	*Citrus sinensis* Osbeck.	Rutaceae	A	1	tige, raf, fru	de	or ; ga	1,68	0,15

95	*Clausena anisata* (Willd.) Hook.f. ex Benth.	Rutaceae	a	1 ; 2 ; 3	rac, feu	de ; ma	or ; ga	5,87	0,44
96	*Cleistopholis patens* (Benth.) Engl	Annonaceae	A	1 ; 8	éco, feu	de ; ma	or ; ga	2,51	0,29
97	*Cleome gynandra* L.,	Cleomaceae	H	2 ; 8	feu	de ; tr	or	5,87	0,29
98	*Cleome viscosa L.*	Cleomaceae	H	3 ; 8	raf, feu	de ; tr	or	1,68	0,29
99	*Clerodendrum volubile* P. Beauv.	Lamiaceae	a	1	feu	de	or	5,87	0,15
100	*Cnestis ferruginea* vahl ex DC.,	Connaraceae	L	1 ; 8	feu	de	ga	3,35	0,29
101	*Cochlospermum planchoni* Hook.f.	Bixaceae	H	6	feu	de	ga	3,35	0,15
102	*Cocos nucifera* L.	Arecaceae	A	1 ; 8	fru, feu, rac, éco	de ; pi	or ; ga	5,87	0,29
103	*Cola millenii* K.Sebum.	Malvaceae	A	1 ; 3	feu, raf	tr ; de	or ; ga	1,68	0,29
104	*Cola nitida (Vent.)* Schott & Endl.	Malvaceae	A	1 ; 3	feu, fru	de	or	1,40	0,29
105	*Combretum collinum* Fresen.	Combretaceae	A	3	raf	de	ga	4,75	0,15
106	*Combretum glutinosum* Perr. ex DC.	Combretaceae	A	8	feu	in	ga	2,51	0,15

107	*Combretum racemosum* P. Beauv.,	Combretaceae	L	1 ; 4	feu	br, de	ga	2,79	0,29
108	*Commiphora africana* (A. Rich.) Engl.	Burseraceae	a	3	raf	de	ga	3,35	0,15
109	*Connarus africanus* L.	Connaraceae	a	3	raf	de	or	8,38	0,15
110	*Corchorus olitorius* L.	Malvaceae	H	2	feu	de	or	1,68	0,15
111	*Crateva adansonii* DC. Ssp. Adansonii	Capparaceae	A	1 ; 3 ; 6	feu, rac	br ; de	ga ; or	10,06	0,44
112	*Crossopteryx febrifuga* (G. Don) Benth.	Rubiaceae	A	4 ; 7	feu, rac	de	or	1,68	0,29
113	*Croton gratissimus* Burch.	Euphorbiaceae	A	1 ; 3	raf, rac	de ; mac	ga	1,68	0,29
114	*Croton lobatus* L.	Euphorbiaceae	H	1 ; 2 ; 4	raf, feu	de ; in	ga ; or	2,51	0,44
115	*Croton zambesicus* Muell.-Arg.	Euphorbiaceae	A	3 ; 8	rac, feu	de ; tr	or	0,84	0,29
116	*Cucumeropsis mannii* (Naud.)	Cucurbitaceae	L	1	feu	de	or	1,68	0,15
117	*Cucumis melo* subsp. Agrestis	Cucurbiatceae	H	2 ; 3	raf	de	ga	3,07	0,29
118	*Cucumis metuliferus* E. Mey. Ex Naudin	Curcubitaceae	H	5 ; 8	fru	de	ga ; or	0,84	0,29
119	*Curculigo pilosa* (Schumach. & Thonn.) Engl.	Hypoxidaceae	H	1 ; 2 ; 3	rhi	de	ga ; or	6,15	0,44

120	*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf	Poaceae	H	1 ; 3 ; 8 [a],	feu	tr ; de	ga ; or	2,79	0,44
121	*Cynometra megalophylla* Harms	Leguminosae	A	1 ; 2 ; 3 ; 8	éco, raf, feu, rac	de ; mac	ga ; or	3,63	0,59
122	*Cyperus esculentus* L.	Cyperaceae	H	3 ; 8	rhi	de ; mac	ga	1,12	0,29
123	*Dactyloctenium aegyptium* (L.)	Poaceae	H	6	raf	de	or	5,87	0,15
124	*Daniellia oliveri (Rolfe) Hutch. & Dalziel*	Leguminosae	A	1 ; 2 ; 3 ; 7	éco, feu, raf	de ; tr ; mac	ga	8,38	0,59
125	*Deinbollia pinnata* (Poir.) Sehumaeh. & Thonn.	Sapindaceae	a	1	raf	de	ga	2,51	0,15
126	*Desmodium ramossissimum* G. Don	Leguminosae	H	2 ; 4	raf	de	ga	3,63	0,29
127	*Desmodium velutinum* (Willd.) DC.	Leguminosae	H	2	feu	de	or	2,51	0,15
128	*Detarium microcarpum* Guill. & Perr.	Leguminosae	A	1 ; 2	feu, éco	de ; in ; mac	ga ; or	5,87	0,44
129	*Dialium guineense* Willd.	Leguminosae	A	1 ; 2 ; 3 ;8	raf, feu, éco, raf	de ; mac	ga ; or	10,06	0,59
130	*Dichapetalum madagascariense* Poir.	Dichapetalaceae	a	1 ; 2 ; 3 ; 6 ; 8	raf, feu	de ; in ; tr	ga ; or ; pa	3,91	0,74

131	*Dichrostochys cinera* (DC.) Wight & Arn.	Leguminosae	a	1 ; 2 ; 3 ; 6 ; 8	raf, rac, feu	de ; mac	ga ; or	8,10	0,74
132	*Dicoma tomentosa* Cass.	Asteraceae	H	8	raf	de	ga	3,35	0,29
133	*Diodia sarmentosa* Sw.	Rubiaceae	H	3 ; 7	raf	de	ga	1,68	0,29
134	*Diospyros mespiliformis* Hochst. ex A. DC.	Ebenaceae	A	1 ; 3 ; 8	feu, raf, éco	de ; in ; mac	ga ; or	12,57	0,44
135	*Diospyros monbuttensis* (Görke.)	Ebenaceae	a	1	feu	de	or	2,51	0,15
136	*Duranta erecta* L.	Verbenaceae	a	1 ; 8	raf, feu	de	or	2,51	0,29
137	*Ehretia cymosa* Thonn. ex Schum.	Boraginaceae	a	1 ; 3 ; 6 ; 8	raf, feu	de ; tr	ga ; or ; pa	6,42	0,59
138	*Elaeis guineensis* Jacq.	Arecaceae	A	1 ; 4 ; 8	rac, raf, feu	de	ga	8,66	0,44
139	*Entada africana* Guill. & Perr.	Leguminosae	A	1 ; 3	raf	de	ga : or	7,54	0,29
140	*Entada gigas* (L.) Fawett & Rendle	Leguminosae	L	1	gr	de	or	4,19	0,15
141	*Erythrina senegalensis* DC.	Leguminosae	A	3	raf	de	or	3,35	0,15
142	*Eucalyptus camaldulensis* Dehn.	Myrtaceae	A	1 ; 4	raf, feu	de	or	6,42	0,29
143	*Eugenia aromatica* (L.)	Myrtaceae	a	1	gr, raf	de	or	7,54	0,15

143	*Euphorbia heterophylla* L.	Euphorbiaceae	H	1	raf	de	ga	0,84	0,15
145	*Euphorbia hirta* L.	Euphorbiaceae	H	2	feu	in	or	3,35	0,15
146	*Evolvulus alsinoides* L.	Convolvulaceae	H	3	raf	de	or	3,35	0,15
147	*Feretia apodanthera* Delile	Rubiaceae	a	1 ; 4	raf, feu	de	or	2,51	0,29
148	*Ficus exasperata* Vahl	Moraceae	a	2 ; 4	feu	de	ga ; or	5,03	0,29
149	*Ficus polita* Vahl	Moraceae	A	3	raf	de	ga	3,35	0,15
150	*Ficus sur* Forssk.	Moraceae	a	1 ; 6 ; 7	raf, feu	de ; tr	ga ; or	2,51	0,44
151	*Ficus thonningii* Blume	Moraceae	A	1	éco	in	ga	5,03	0,15
152	*Ficus umbellata* Vahl	Moraceae	A	3	raf	de	or	1,68	0,15
153	*Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr.	Salicaceae	a	1 ; 3	feu, rac	de ; mac	ga ; or	4,19	0,29
154	*Flueggea virosa* (Roxb. Ex Willd.) Voigt	Phyllanthaceae	H	1 ; 3 ; 8	feu, rac,	de ; mac	ga ; or	4,19	0,59
155	*Garcinia Kola* Heckel.	Clusiaceae	A	1 ; 3 ; 8	raf, gr	de	ga ; pa	3,63	0,44
156	*Garcinia ovalifolia* Oliv.	Clusiaceae	A	1	raf	de	ga	3,07	0,15
157	*Gardenia erubescens* (Stapf. & Hutch.)	Rubiaceae	a	8	feu	de	or	3,35	0,15

158	*Gardenia ternifolia Schumach.* & Thonn.	Rubiaceae	a	1 ; 2 ; 3 ; 8	rac, arf, feu	de ; tr ; mac	ga ; or	3,91	0,59
159	*Gladiolus dadenii* van Geel	Iridaceae	H	1 ; 2 ; 8	rhi, feu	de	ga ; or	1,68	0,44
160	*Glinus oppositifolius* (L.) DC.	Molluginaceae	H	3 ; 6	raf	de	ga ; or	1,68	0,29
161	*Glyphaea brevis* (Spreng.) Monachino.	Malvaceae	A	3	feu	in ; de	inh ; or	2,51	0,29
162	*Gmelina arborea* Roxb.	Lamiaceae	A	1 ; 3	raf, éco	de ; mac	ga	6,15	0,29
163	*Gomphrena celosioides* Mart	Amaranthaceae	H	1 ; 3 ; 7	raf, feu	De	Ga ; or	2,23	0,44
164	*Gomphrena globosa* L.	Amaranthaceae	H	3	raf	de)	or	3,35	0,15
165	*Gossypium arboreum* L.	Malvaceae	L	7	raf, feu	de ; tr	ga ; or	1,12	0,15
166	*Gossypium hirsutum* L.	Malvaceae	L	3	feu	tr	ga	1,68	0,15
167	*Gossypium spp*	Malvaceae	L	1	raf	de	or	1,68	0,15
169	*Grewia bicolor* Juss.	Malvaceae	a	1	feu, raf	de	or	2,51	0,15
170	*Grewia carpinifolia* Juss.	Malvaceae	a	1 ; 3	feu, raf	de	gar ; or	0,56	0,29
171	*Grewia lasiodiscus* K. Schum.	Malvaceae	a	1 ; 8	feu, raf	de ; in	ga ; or	1,68	0,29
172	*Grewia mollis* Juss.	Malvaceae	a	1 ; 4	raf, feu	de ; in	ga ; or	2,51	0,29
173	*Grewia pubescens* P.Beauv.	Malvaceae	a	1	raf	de	or	3,35	0,15

174	*Griffonia simplicifolia* (Vahl ex De.) Baill.	Leguminosae	a	1	feu	de	ga	6,42	0,15
175	*Gymnosporia senegalensis* (Lam.) Loes.,	Celastraceae	a	6	feu	in	ga	5,87	0,15
176	*Harissonia abyssinica* L.	Simaroubaceae	a	7	raf	de	or	3,63	0,15
177	*Heliotropium indicum* L.	Boraginaceae	H	1 ; 4 ; 8	raf, feu	de ; tr	ga ; or	1,68	0,44
178	*Heterotis rotundifolia* (Sm.) Jacq.-Fél.	Melastomataceae	H	3 ; 4	raf	de	or	0,84	0,29
179	*Hexalobus monopetalus* (A. Rich.) Engl. & Diels	Annonaceae	A	2	rac	de	ga	5,87	0,15
180	*Hibiscus acetosella* Welw. ex Hiern	Malvaceae	a	1 ; 6	raf, feu	de	or	1,40	0,29
181	*Hibiscus asper* Hook.f.	Malvaceae	H	1 ; 5	raf, feu	de	ga	6,42	0,29
182	*Hibiscus sabdariffa* L.	Malvaceae	H	1	feu	de	ga	5,87	0,15
183	*Hibiscus surattensis* L.	Malvaceae	H	4 ; 5 ; 8	rac, raf	de ; br	ga ; or	4,19	0,44
184	*Holarrhena floribunda* (G. Don) Durand & Schinz	Apocynaceae	a	1 ; 2	feu	de ; tr	ga	3,35	0,29
185	*Hoslundia opposita* Vahl.	Lamiaceae	a	1; 2 ; 3	raf, feu	de ; in	ga ; or	1,68	0,44
186	*Hybanthus enneaspermus* (L.) F. Muell.	Violaceae	H	4	raf, feu	de	or	3,35	0,29

187	*Hymenocardia acida* Tul.	Phyllanthaceae	a	1 ; 2 ; 3 ; 5 ; 6	raf, rac, feu,	de ; br	ga ; or	6,70	0,74
188	*Hyptis suaveolens* (L.) Poit	Lamiaceae	H	1 ; 2 ; 5 ; 8	raf, feu	de ; tr	ga ; or	3,35	0,59
189	*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv.	Poaceae	H	3	feu	de	or	2,51	0,15
190	*Indigofera bracteolata* DC.	Leguminosae	a	6	raf	de	ga	1,68	0,15
191	*Indigofera pulchra* Willd.	Leguminosae	H	4 ; 6	raf	de	ga ; or	0,56	0,29
192	*Ipomoea batatas* (L.) Lam.	Convolvulaceae	H	1	feu	de	ga	1,68	0,15
193	*Irvingia gabonensis* (Aubry-Lecomte ex O'Rorke) Baill	Irvingiaceae	A	1 ; 4 ; 5	feu	de	ga ; or	5,87	0,44
194	*Jatropha curcas* L.	Euphorbiaceae	a	1 ; 3 ; 5 ; 6	fru, feu, tige, rac	De ; tr ; mac	ga	7,54	0,59
195	*Jatropha gossypiifolia* L.	Euphorbiaceae	a	1 ; 2	feu	de ; tr	ga	7,26	0,29
196	*Jatropha multifida* L.	Euphorbiaceae	a	3	feu, raf	de	ga	3,35	0,29
197	*Justicia secunda* Vahl	Acanthaceae	H	1 ; 8	raf, feu	de ; in	ga ; pa	2,51	0,29
198	*Kalankoe crenata* (Andrews) Haw	Crassulaceae	H	7 ; 8	raf	de	Ga ; pa	5,87	0,29
199	*Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn.	Cucurbiatceae	L	4 ; 8	raf	de	ga ; or	1,68	0,29

200	*Keetia mannii* (Hiern) Bridson	Rubiaceae	a	2 ; 4	raf, feu	de	ga	3,35	0,29
201	*Khaya senegalensis* (Desr.) A.Juss.	Meliaceae	A	1 ; 5 ; 7 ; 8	raf, feu, éco, rac	de	ga	3,35	0,74
202	*Kigelia africana* (Lam.) Benth.	Bignoniaceae	A	1 ; 2 ; 4 ; 8	raf, feu, éco, fru	de ; mac	ga ; or	10,06	0,59
203	*Lactuca taraxacifolia* (Willd.) Schumach.ex Hornem.	Asteraceae	H	1	rac	de ; tr	ga ; or	6,15	0,15
204	*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.	Cucurbitaceae	L	2 ; 4 ; 5	fru	de	or	1,68	0,44
205	*Lannea acida* A. Rich.	Anacardiaceae	A	1 ; 3	éco, rac	de ; mac et orale)	ga : or	8,10	0,29
206	*Lannea barteri* (Oliv.) Engl.	Anacardiaceae	A	1	éco, raf	de	or	5,87	0,15
207	*Lannea microcarpa* Engl. & K. Krause	Anacardiaceae	A	1	éco	mac	ga	5,59	0,15
208	*Lantana camara* L.	Verbenaceae	H	2 ; 5	raf, feu	de	ga ; or	2,51	0,29
209	*Laportea aestuans* (L.) Chew	Urticaceae	a	3	feu	pi	or	2,23	0,15
210	*Launaea taraxacifolia* (Willd.) Amin ex C. Jeffrey	Asteraceae	H	1 ; 2 ; 8	raf	de ; in	ga ; or	3,63	0,44
211	*Lecaniodiscus cupanioides* Planch. Ex Benth	Sapindaceae	A	1 ; 2 ; 4 ; 8	rac, feu, raf	de ; in ; mac	ga ; or	1,12	0,59

212	*Leptoderris brachyptera* (Benth.) Dunn	Leguminosae	A	1	feu	de	gar	3,35	0,15
213	*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit	Leguminosae	a	8	raf	de	or	3,63	0,15
214	*Lippia multiflora* Moldenke	Verbenaceae	H	2	feu	de	or	6,15	0,15
215	*Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth	Leguminosae	A	1	raf	de	ga	6,70	0,15
216	*Lophira alata* Banks ex Gaertn.	Ochnaceae	A	1	raf	de	ga	1,68	0,15
217	*Lophira lanceolata* Tiegh. ex Keay	Ochnaceae	A	1 ; 6	éco, raf	de	ga ; or	0,56	0,29
218	*Lycopersicon esculentum* Mill.	Solanaceae	H	4	fru	tr	ga	1,12	0,15
219	*Macrosphyra longistyla* (DC.) Hiern	Rubiaceae	a	4	feu, raf	de	ga	2,51	0,15
220	*Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.Arg.	Euphorbiaceae	a	1 ; 2 ; 4	éco, feu, raf	de ; in	ga ; or	1,96	0,44
221	*Mangifera indica* L.	Anacardiaceae	A	1 ; 3 ; 4 ;5	éco, raf	de	ga ; or	8,38	0,59
222	*Manihot esculenta* Crantz	Euphorbiaceae	a	1 ;8	feu	de ; in	ga	5,87	0,29
223	*Manilkara multinervis* (Baker ex Oliv.) Dubard	Sapotaceae	A	4	feu	de	ga	1,12	0,15
224	*Manilkara zapota* (L.) P. Royen	Sapotaceae	A	8	raf	de	ga	2,79	0,15

225	*Maranthes polyandra* (Benth.) Prance	Chrysobalanaceae	A	4	feu	de	ga	2,51	0,15
226	*Margaritaria discoidea* (Baill.) Webster	Phyllanthaceae	A	1	feu, raf	de	ga ; or	3,35	0,15
227	*Merremia aegyptia* (L.) Urban	Convolvulaceae	H	3	raf	de	or	0,84	0,15
228	*Millettia thonningii* (Schumach. & Thonn.) Baker	Leguminosae	A	1	éco	mac	ga	3,35	0,15
229	*Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze	Rubiaceae	a	1 ; 8	raf, éco	in ; mac	or	2,51	0,29
230	*Momordica charantia* L.	Cururbitaceae	L	3 ; 8	éco, feu	de ; tr	ga ; or	1,12	0,29
231	*Mondia whitei* (Hook.f.)	Apocynaceae	L	3	rac	de	ga	3,63	0,44
232	*Monodora myristica* (Gaertn.)	Annonaceae	A	1 ; 2 ; 6	fru, rac, fru, feu, gr	de	ga ; or	6,42	0,59
233	*Morinda lucida* Benth.	Rubiaceae	A	1 ; 3 ; 7 ; 8	rac, raf, éco	de ; pi	ga	4,19	0,59
234	*Moringa oleifera* Lam.	Moringaceae	a	1 ; 2	rac, éco, feu	de ; in ; pi	pi ; in	4,75	0,29
235	*Mucuna pruriens* (L.)	Leguminosae	L	1	feu	tr	ga	2,79	0,15
236	*Murraya paniculata* (L.) Jack var. exotica (L.) M. R. Almeida	Rutaceae	a	1	raf, rac	de ; mac	ga ; or	3,35	0,15

237	*Musa sapientum* auct. div.	Musaceae	H	8	feu	de	ga	0,84	0,15
238	*Napoleonaea vogelii* Hook. & Planch.	Lecythidaceae	a	1 ; 4 ; 8	raf, feu, rac	de ; mac	ga	2,79	0,44
239	*Nauclea diderrichii* (De Wild. & T.Durand) Merr.,	Rubiaceae	A	2	éco	de	ga	3,07	0,15
240	*Newbouldia laevis* (P. Beauv.) ar Scemann ex Bureau.	Bignoniaceae	A	1 ; 3 ; 4 ; 6	rac, feu, raf, éco	de ; mac ; tr	ga ; or	9,78	0,59
241	*Nicotiana tabacum* L.	Solanaceae	a	1 ; 2 ; 4 ;8	fru, feu	de ; pi	ga ; or	4,47	0,59
242	*Ocimum americanum* L.	Lamiaceae	H	1 ; 2 ; 3	raf, feu	de ; tr	ga ; or	6,70	0,44
243	*Ocimum basilicum* L.	Lamiaceae	H	8	feu	tr	ga	6,15	0,15
244	*Ocimum gratissimum* L.	Lamiaceae	H	1 ; 2 ; 3 ; 5	raf, feu, rac	de ; in ; br	ga ; or	8,66	0,74
245	*Olax subscorpioidea* Oliv.	Olacaceae	a	1 ; 4 ; 5	rac, raf, feu	e ; in	Ga ; or	1,12	0,44
246	*Opilia amentacea* Roxb.	Opiliaceae	L	3 ; 6 ; 8	rac, raf	de	ga	3,63	0,44
247	*Oxytenanthera abyssinica* (A. Rich.) Munro	Poaceae	a	8	rac	tr	pa	5,03	0,15
248	*Pancratium tenuifolium* Hochst. Ex A.Rich.,	Amaryllidaceae	H	4	Bul	de	ga	1,68	0,15

249	*Pandiaka involucrata* (Moq.) Hook.f.,	Amaranthaceae	H	1	raf	de	ga	0,56	0,15
250	*Parinari congensis* F. Didr.	Chrysobalanaceae	A	1	éco, raf	de ; mac	de	4,75	0,15
251	*Parinari curatellifolia* Planch. ex Benth.	Chrysobalanaceae	A	2	rac	de	ga	3,63	0,15
252	*Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don.	Leguminosae	A	1 ; 3 ; 4 ; 5	rac, éco, raf	de	ga	9,78	0,59
253	*Parkinsonia aculeata* L.	Leguminosae	a	5	feu	de	ga	0,84	0,15
254	*Passiflora foetida*	Passifloraceae	H	5 ; 6	raf, feu	de	ga	3,35	0,29
255	*Paullinia pinnata* L.	Sapindaceae	H	1 ; 2 ; 3	feu, rac, raf	de	ga ; or	7,82	0,44
256	*Pavetta crassipes* K.Schum.	Rubiaceae	a	8	feu	de	ga	3,63	0,15
257	*Pennisetum purpureum* Sehumaeh.	Poaceae	H	1	feu	de	ga	1,68	0,15
258	*Peperomia pellucida* (L.) Kunth,	Piperaceae	H	1	feu	de	ga	0,84	0,15
259	*Pergularia daemia* (Forssk.) Chiov.,	Apocynaceae	L	1 ; 8	rac, feu	de ; tr	ga ; or	5,03	0,29
260	*Pericopsis laxiflora* (Benth. ex Baker) Meeuwen	Leguminosae	A	1 ; 3 ; 4 ; 6 ; 8	raf, éco, rac	de ; mac	ga	6,42	0,74
261	*Periploca nigrescens* Afzel.	Apocynaceae	L	3	raf	de	ga	1,40	0,15

262	*Persea americana* Mill.	Lauraceae	A	7	feu	in	ga	1,68	0,15
263	*Petiveria alliacea* L.	Phytolacaceae	H	1 ; 3 ; 4	feu, raf	de ; tr	ga ; or	7,54	0,44
264	*Phaseolus lunatus* L.	Leguminosae	L	1	raf	tr	ga	1,68	0,15
265	*Phyllanthus amarus* (Schumm et Thonn)	Phyllanthaceae	H	2 ; 7	raf	de	ga ; or	3,35	0,29
266	*Phyllanthus reticulatus* Poir.	Phyllanthaceae	A	1 ; 2	éco, raf	de ; mac	ra ; or	5,03	0,29
267	*Bauhinia thonningii* Schum.	Leguminosae	a	1 ; 2 ; 8	feu, raf	de ; tr	ga	4,75	0,44
268	*Piper guineense* Schumach. & Thonn.	Piperaceae	L	2	fru	de	ga	1,68	0,15
269	*Pleiocarpa pycnanha* (K. Schum.) Stapf	Apocynaceae	a	1 ; 3	raf	de	ga ; or	6,70	0,29
270	*Plumbago zeylanica* L.	Plumbaginaceae	a	5	rac	de	ga	1,12	0,15
271	*Polycarpaea linearifolia* (DC.) DC 2	Caryophyllaceae	H	3 ; 7	raf	de	ga ; or	1,68	0,29
272	*Polygala arenaria* Willd.,	Polygalaceae	H	2	raf	de	or	2,23	0,15
273	*Portulaca oleracea* L.	Portulacaceae	H	1 ; 7	feu	de	ga ; or	4,19	0,29
274	*Pouteria alnifolia* (Baker) Roberty var.alnifolia.	Sapotaceae	A	8	raf	de	or	2,51	0,15
275	*Premna angolensis* Gürke.	Lamiaceae	A	7 ; 8	feu, raf	in ; mac	ga	5,03	0,29

276	*Premna quadrifolia* Schumach. & Thonn.	Lamiaceae	a	1 ; 4	feu	de	Ga ; or	9,22	0,29
277	*Prosopis africana* (GuilI. & Perr.) Taub.	Leguminosae	A	1 ; 4 ; 8	éco, feu, raf	de ; tr	ga	11,73	0,44
278	*Pseudocedrela kotschyi* (Schweinf.) Harms.	Meliaceae	A	1 ; 2 ; 3 ; 8	rac, feu, éco	de ; mac	ga	13,69	0,74
279	*Pseudospondias microcarpa* (A. Rich.) Engl.	Anacardiaceae	A	8	raf	de	ga	2,23	0,15
280	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	a	1 ; 3 ; 4	raf, rac, feu	de ; tr ; mac	ga ; or	5,87	0,44
281	*Psorospermum glaberrimum* Hochr.	Hypericaceae	a	3 ; 8	raf	de ; mac	ga	3,35	0,29
282	*Psychotria umbellata* Thonn.	Rubiaceae	a	6	raf	de	ga	1,12	0,15
283	*Psychotria psychotrioides* (DC.) Roberty	Rubiaceae	a	3	raf	de	or	6,70	0,15
284	*Psychotria vogeliana* Benth.,	Rubiaceae	a	8	feu	de	or	2,79	0,15
285	*Pteleopsis suberosa* Engl. & Diels	Combretaceae	a	1 ; 3	éco, feu, raf, rac	de	ga	3,35	0,29
286	*Pterocarpus erinaceus* Poir.	Leguminosae	A	1 ; 2	raf, rac, éco	de	ga	2,79	0,44
287	*Pupalia lappacea* (L.) Juss.	Amaranthaceae	H	1	rac	de	ga	3,35	0,15

288	*Raphia hookeri* G.Mann & H.Wendl.	Arecaceae	A	2	feu	de	ga	0,84	0,15
289	*Raphiostylis beninensis* (Hook.f. ex Planch.) Planch. ex Benth.	Icacinaceae	a	3	rac	de	or	3,35	0,15
290	*Rauvolfia vomitoria* Afzel.	Apocynaceae	a	3	raf	de	or	7,54	0,15
291	*Ravenala madagascariensis* (J.F.Gmel.)	Strelitziaceae	A	1	feu	de	ga	1,12	0,15
292	*Remirea maritima* Aubl.	Cyperaceae	A	3	feu	de	or	5,87	0,15
293	*Rhizophora racemosa* G. Mey.	Rhizophoraceae	A	2 ; 8	raf, feu	de	or	5,03	0,29
294	*Rhodognaphalon brevicuspe* (Sprague) Roberty	Malvaceae	A	1 ; 3	feu, raf	de ; tr	de ; tr	1,68	0,29
295	*Ritchiea capparoides* (Andr.) Britten.	Capparidaceae	H	1 ; 6	feu, raf	de	ga ; or	2,51	0,29
296	*Rourea coccinea* (Thonn. Ex Schumach.) Benth.	Connaraceae	a	2 ; 4 ; 7	raf, feu	tr ; de	ga ; or	4,19	0,44
297	*Saccharum officinarum* L.	Poaceae	H	1	fru	de	pa	5,87	0,15
298	*Sansevieira liberica* (hort. ex Gerome & Labroy)	Dracaenaceae	A	2 ; 7	feu, raf	de	ga	2,23	0,29
299	*Sarcocephalus latifolius* (Sm.) E.A.Bruce	Rubiaceae	a	1 ; 4	rac, feu, éco	de	ga ; or	9,22	0,29

300	*Mimosa quadrivalvis* var. leptocarpa (DC.) Barneby.	Leguminosae	H	8	raf	de	ga	1,96	0,15
301	*Schwenckia americana* L.	Solanaceae	H	3	raf	de	or	3,35	0,15
302	*Sclerocarpus africanus* Jacq. Ex Murr.,	Asteraceae	H	2	feu	de	ga	1,40	0,15
303	*Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst.	Anacardiaceae	A	2	feu	de	or	1,12	0,15
304	*Scorparia dulcis* L.	Scrophulariaceae	H	1 ;	rac	de	ga	3,35	0,29
305	*Sebastiana chamelea* (L.) Mûll. Arg.	Euphorbiaceae	a	2	feu	de	ga	5,03	0,15
306	*Securidaca longepedunculata* Fresen.	Polygalaceae	A	1 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8	rac, raf, feu	de ; in ; mac	ga	8,94	0,74
310	*Senna alata* (L.) Roxb.	Leguminosae	a	1 ; 2 ; 4	feu, raf	de ; pi	ga : or	8,10	0,59
311	*Senna occidentalis* (L.) Link	Leguminosae	H	1 ; 3 ; 4 ; 8	raf, feu, tige, raf	de ; tr ; mac	ga ; or	3,63	0,74
312	*Senna siamea* (Lam.) H. S. Irwin & Barneby	Leguminosae	a	2 ; 6	rac, feu	de	ga ; or	1,68	0,29
313	*Sida acuta* Burm.f.	Malvaceae	H	2	feu	de	ga	4,19	0,15
314	*Sida cordifolia* L.	Malvaceae	H	8	feu	de	or	3,91	0,15
315	*Sida hyssopifolia* C.Presl	Malvaceae	H	1	raf	de	or	5,87	0,15

316	*Sida linifolia* Juss. ex Cav.	Malvaceae	H	1 ; 7 ; 8	rac, feu	de ; pi ; in	ga ; or	5,87	0,44
317	*Siphonochilus aethiopicus* (Schweinf.) B.L. Burtt	Zingiberaceae	H	3	feu	de	or	6,15	0,15
318	*Smilax anceps* Willd.	Smilacaceae	H	7	feu	tr	or	4,19	0,15
319	*Solanum americanum* Mill.	Solanaceae	H	8	feu	de	ga	1,12	0,15
320	*Sorghum bicolor* (L.) Moench	Poaceae	a	2	raf	de	ga	0,84	0,15
321	*Sorindeia grandifolia* Engl.	Anacardiaceae	A	1 ; 2 ; 8	feu, raf	De ; tr	ga ; or	2,51	0,44
322	*Spondias mombin* L.	Anacardiaceae	H	3	raf	tri	or	0,84	0,15
323	*Sporobolus pyramidalis* P. Beauv.,	Poaceae	H	1	rac	de	or	2,51	0,15
324	*Stachytarpheta indica* (L.) Vahl	Verbenaceae	A	1 ; 8	raf, feu	de	ga ; or	2,51	0,29
325	*Stereospermum kunthianum* Cham.	Bignoniaceae	a	1	feu, raf	de	or	4,19	0,15
326	*Strychnos innocua* Delile	Loganiaceae	A	1	feu	de	or	5,03	0,15
327	*Bobgunnia madagascariensis* (Desv.) J.H.Kirkbr. & Wiersema.	Leguminosae	a	1 ; 6	feu	de	ga ; or	7,54	0,29
328	*Synsepalum dulcificum* (Schumach. &Thonn.) DanielI.	Sapotaceae	A	1 ; 2 ; 3	fru	de ; in	ga	3,35	0,44

329	*Syzygium aromaticum* L.	Myrtaceae	H	1 ; 7	raf	de	ga	3,63	0,29
330	*Talinum fruticosum* (L.) Juss	Talinaceae	A	1 ; 8	feu, raf	de	ga ; or	1,40	0,29
331	*Tamarindus indica* L.	Leguminosae	A	2	feu	tr	or	7,54	0,15
332	*Tectona grandis* L.f.	Lamiaceae	L	1	raf	de	ga	6,15	0,15
333	*Telfairia occidentalis* Hook.f.	Cucurbitaceae	A	1 ; 7	feu, éco	mac	gar	1,96	0,29
334	*Terminalia avicennioides* Guill. & Perr.	Combretaceae	A	1 ; 2 ; 8	raf, rac, fru, rac	de ;tr	ga ; or	4,19	0,44
335	*Terminalia glaucescens* Planch. ex Benth	Combretaceae	A	5	éco	de	ga	4,47	0,15
336	*Terminalia laxiflora* Engl.	Combretaceae	A	7	raf	de	ga	2,51	0,15
337	*Terminalia mantaly* H. Perrier	Combretaceae	A	1 ; 5	rac, feu	de ; mac	ga ; or	3,35	0,29
338	*Tetrapleura tetraptera* (Schumach. & Thonn.) Taub	Leguminosae	A	8	feu	de	or	2,51	0,15
339	*Theobroma cacao* L.	Malvacea	a	4	éco	mac	or	3,63	0,15
340	*Trema occidentalis* (L.) Blume	Cannabaceae	H	3	éco	pi	or	3,35	0,15
341	*Tribulus terrestris* L.	Zygophyllaceae	A	6 ; 8	raf	de	ga	5,03	0,29
342	*Trichilia emetica* Vahl	Meliaceae	H	1 ; 3	feu, raf	de	ga ; or	2,51	0,29
343	*Triclisia subcordata* Oliv.	Menispermaceae	H	2	raf	de	ga	7,82	0,15

344	*Tridax procumbens* L.	Asteraceae	A	2 ; 4	feu, raf	de	ga ; or	1,68	0,29
345	*Uapaca togoensis* Pax	Phyllanthaceae	a	1	rac	de	ga	4,47	0,15
346	*Urena lobata* L.	Malvaceae	a	1 ; 2 ; 3	rac, feu, raf	de	ga ; or	7,82	0,44
347	*Uvaria chamae* P.Beauv.	Annonaceae	H	6	feu	in	ga	1,68	0,15
348	*Baccharoides adoensis (*Sch.Bip. ex Walp.) H.Rob.	Asteraceae	a	1 ; 7	rac, raf	de ; tr	ga	7,54	0,29
349	*Vernonia amygdalina* (Delile.)	Asteraceae	a	1	feu	de	ga	1,68	0,15
350	*Gymnanthemum coloratum* (Willd.) H.Rob. & B.Kahn	Asteraceae	A	3 ; 4	feu, raf	de	Ga ; or	3,35	0,29
351	*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn.	Sapotaceae	A	2 ; 6	raf, feu	de ; tr	ga ; or	8,94	0,29
352	*Vitex doniana* Sweet	Lamiaceae	A	2	raf	de	or	6,98	0,15
353	*Vitex ferruginea* Schumach. & Thonn.	Lamiaceae	H	1 ; 8	rac, feu, raf	De ; in	Ga ; or	8,38	0,29
354	*Waltheria indica* L.	Malvaceae	H	1	raf	de	or	1,68	0,15
355	*Merremia tridentata* (L.) Hallier f.	Convolvulaceae	a	5	éco	mac	de	7,54	0,15
356	*Ximenia americana* L.	Olacaceae	A	1 ; 2 ; 3	raf; feu, rac	de ; in	ga ; or	2,51	0,44

357	*Xylopia aethiopica (*Dunal) A. Rich.	Annonaceae	A	3	feu	de	or	10,34	0,15
358	*Zanha golungensis* Hiern,	Sapindaceae	A	1 ; 3 ; 4 ; 8	raf, rac, éco,	de ; mac	ga ; or	3,91	0,59
359	*Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.)	Rutaceae	H	1 ; 3 ; 8	raf, rac, éco,	de ; mac	ga	16,20	0,44
360	*Zea mays*	Poaceae	H	2	raf	de	ga	3,35	0,15
361	*Zingiber officinale* (Roscoe.)	Zinjiberaceae	A	1	raf	in	ga	0,56	0,15
362	*Ziziphus abyssinica* A. Rich.	Rhamnaceae		1	raf	de	ga	5,59	0,15

2.2.3 Affections et symptômes bucco-dentaires et plantes prioritaires utilisées pour leur traitement

Au total, 8 affections et symptômes bucco-dentaires ont été identifiés. Parmi les affections traitées par les 362 espèces, la carie dentaire est la plus citée avec une fréquence de 43,90% des enquêtés. Ensuite viennent, la mauvaise haleine (21,10%), les troubles de dentition chez les bébés (15,50%), l'odontalgie (7,54%) et de la gingivite (4,18%). Les affections les moins citées sont le muguet (1,30%) et les aphtes (3,06%). Cette tendance globale observée est similaire aux résultats obtenus dans chacune des trois zones phytogéographiques (figure 19).

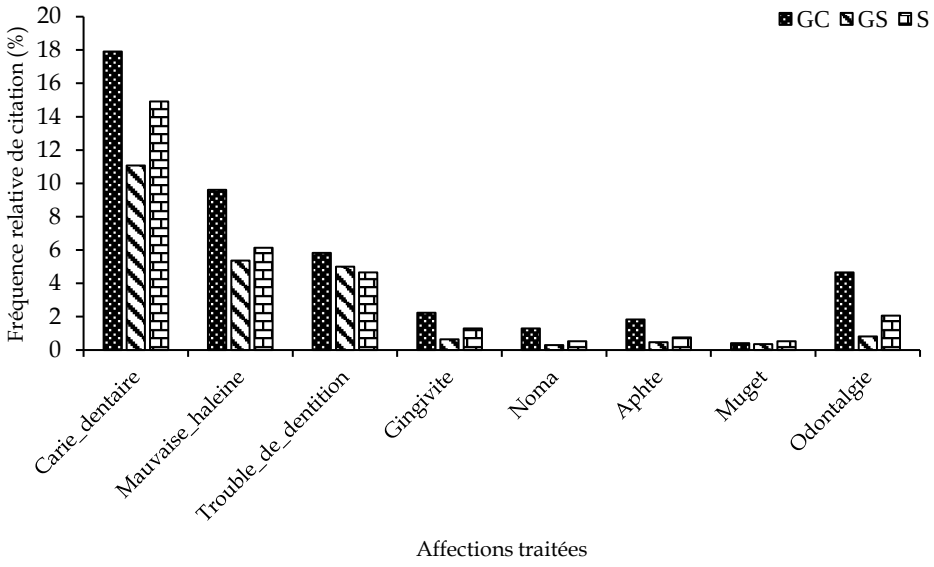


Figure 19 : Variation de la fréquence de citation en fonction des affections bucco-dentaires dans chacune des trois zones phytogéographiques (GC : Zone Guinéo-congolaise ; SG : Soudano-guinéenne ; S : Soudanienne)

Les valeurs élevées du facteur de consensus des informateurs (Fci) sont de 0,76 pour la carie dentaire, de 0,72 pour la mauvaise haleine et de 0,52 pour les troubles de la dentition, suivies de 0,37 pour le noma, puis de 0,24 pour l'odontalgie et de 0,23 pour

le muguet. Le nombre d'espèces utilisées pour le traitement des affections bucco-dentaires variait significativement selon la zone phytogéographique, mais cette variance n'était pas statistiquement significative ($p > 0,005$). Ainsi, une liste des plantes prioritaires utilisées dans le traitement de chacune des affections et symptômes bucco-dentaires a été établie en tenant compte des Fr (≥ 9 %) (Tableau 7).

Tableau 7 : Liste des plantes prioritaires utilisées pour le traitement des affections et symptômes bucco-dentaires

Affections et symptômes	**Plantes prioritaires utilisées pour le traitement**
Carie dentaire	*Acanthospermum hispidium, Anacardium occidentale, Anona senegalensis, Anogeissus leiocarpa, Bridelia ferruginea, Prosopis Africana, Pseudocedrela kotschyi, Zanthoxylum zanthoxyloides*
Mauvaise haleine	*Acanthospermum hispidium, Anona senegalensis, Anogeissus leiocarpa, Bridelia ferruginea, Pseudocedrela kotschyi*
Trouble de dentition	*Acanthospermum hispidium, Anona senegalensis, Bridelia ferruginea, Pseudocedrela kotschyi, Zanthoxylum zanthoxyloides*
Gingivites	*Bridelia ferruginea, Prosopis africana*
Noma	*Anarcadium occidentale*
Aphte	*Anarcadium occidentale, Anona senegalensis*

Muget	*Bridelia ferruginea*
Odontalgie	*Anarcadium occidentale, Prosopis africana, Pseudocedrela kotschyi, Zanthoxylum zanthoxyloides*

2.3 Discussion

La connaissance ethnobotanique est souvent influencée par plusieurs facteurs dont l'ethnie, l'âge, le sexe, la religion, le niveau d'étude, la position géographique, la profession [87, 88]. Notre étude a révélé que les zones phytogéographiques, l'ethnie et le niveau d'instruction constituent les déterminants de la connaissance du traitement des affections bucco dentaires par l'usage des plantes médicinales béninoises. En effet, une zone phytogéographique est une zone géographique où règnent des conditions édaphoclimatiques homogènes avec pour corollaire la mise en place d'un même type de végétation. Elle fait partie des facteurs influençant la distribution des peuples sur le territoire national [122], car les besoins alimentaires et sanitaires de ces peuples sont liés à elles. Ainsi, la connaissance ethnobotanique se traduit par l'usage majoritaire des plantes par les populations de chaque zone phytogéographique. Toutefois, la zone guinéo congolaise est la région phytogéographique du pays où les populations connaissent plus de plantes à usages bucco dentaires. Quant à l'influence de l'appartenance ethnique des individus sur la connaissance des plantes à usages bucco dentaires, il faut noter qu'au Bénin chaque ethnie à sa culture et un mode de vie propre à sa communauté. Ainsi, cette connaissance varie d'une ethnie à une autre, et une recette particulière ou une plante est spécifique à chaque ethnie. Ceci a été déjà montré

par [121] dans son étude sur le palmier dans la République d'Equateur. Dans notre étude, les connaissances des plantes à usages bucco dentaires étaient beaucoup plus élevées chez les fons, les kotokoli et les bariba avec les recettes presque identiques et des plantes prioritaires dans le traitement d'une affection donnée. La zone guinéo congolaise est la seule zone phytogéographique où il y a un maximum d'individus venant de ces trois ethnies qui cohabitent ensemble. Ceci vient justifier, la forte connaissance des plantes à usages bucco dentaires dans cette zone phytogéographique. S'agissant du niveau d'instruction, la majorité des enquêtés était analphabètes (56,69 %), les individus non instruits connaissent plus de plantes à usages bucco dentaires que ceux instruits. Depuis les travaux de [16] jusqu'à aujourd'hui [123], l'analphabétisme des enquêtés sur la connaissance des plantes médicinales et les pratiques de la médecine traditionnelle au Bénin ont été signalées. De telles observations suggèrent que la pratique de la médecine traditionnelle au Bénin reste l'apanage des populations majoritairement analphabètes. D'ailleurs, le PNUD BENIN justifie l'analphabétisme par le fait que la vente et l'utilisation des plantes traditionnelles sont réservées aux personnes de condition modeste [124].

Malgré la non-influence des autres facteurs (sexe, âge…), il n'en demeure pas moins des facteurs pouvant permettre une compréhension de la connaissance ethnobotanique des plantes à usages bucco dentaires au Bénin. Ainsi, sur les 1697 individus enquêtés, les femmes ont été beaucoup plus représentées. Cette représentativité relativement élevée de la femme, s'explique par le fait que dans les ménages, les femmes sont les plus impliquées dans l'hygiène et le traitement bucco-dentaire. De plus, le savoir des femmes constitue une création culturelle originale, tant

dans la connaissance des plantes que dans leurs applications médicales. Ces connaissances sont à la fois dynamique et en constante évolution sous la pression de la société et de la culture modernes [125], 71]. L'âge moyen des individus enquêtés était de 48 ans, avec une prédominance des adultes (âges de 30 à 59 ans). Ce qui s'explique par le fait que la connaissance des plantes médicinale et de la pratique de la médecine traditionnelle nécessitent une expérience accumulée au fil des années [126], 71]. Néanmoins, le rajeunissement de ce domaine ne peut pas être négligé, démontrant la durabilité de la transmission des connaissances d'une génération à l'autre et la persistance des traitements naturels et traditionnels face aux difficultés d'accès aux traitements conventionnels [104]. Cette explication justifie le pourcentage (15.38 %) non négligeable des jeunes (individus âgés de moins de 30 ans) ayant une connaissance de l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des affections et symptômes bucco-dentaires.

Notre étude nous a permis de répertorier 362 espèces végétales utilisées pour le traitement des affections bucco-dentaires, réparties en 91 familles botaniques. Les espèces les plus représentées étaient *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Dialium guineense*, *Pseudocedrela kotschyi*, *Bridelia ferruginea*, *Prosopis africana* et *Anogeissus leiocarpa*. Aux nombres des affections bucco-dentaires traitées par les espèces, nous avons pu recenser la carie dentaire, mauvaise haleine, troubles de dentition, gingivites, noma, aphte, muguet et l'odontalgie. 43,90 % des espèces végétales répertoriées sont utilisées pour traiter la carie dentaire, 21,09 % sont utilisées pour traiter la mauvaise haleine et 15,49 % pour le traitement des troubles de la dentition. [104] ont montré dans leur étude que les plantes médicinales utilisées dans le traitement des troubles buccaux

étaient en grande partie destinée au traitement de la carie dentaire. Les caries constituent un problème de santé dentaire mondial, tant pour les adultes que pour les enfants [106]. Ce qui explique la forte citation d'espèces végétale béninoises utilisées pour son traitement. Cette affection buccale est connue dans toutes les trois zones phytogéographiques du Bénin. Ainsi, dans toutes les ethnies du Bénin, il existe des espèces végétales utilisées dans le traitement de la carie dentaire.

Conclusion

La connaissance ethnobotanique sur les plantes à usages bucco dentaires est une réalité au Bénin. Cette connaissance varie en fonction de la zone phytogéographique, du niveau d'instruction et de l'ethnie dans le pays. Le nombre de plantes mentionnées et d'usages rapportés sont fonctions de l'ethnie. De plus, en tenant compte des zones phytogéographiques, il existe un gradient décroissant de connaissance du nord au sud lié à l'utilisation des plantes à usages bucco dentaires. Au regard de la scolarisation, le niveau de connaissance sur les plantes diminue des non instruits aux instruits. Vu cette variabilité de la connaissance, un accent particulier doit être mis sur les différents facteurs en tenant compte de leurs effets individuel et cumulatif afin de maintenir et de renforcer dans le temps la connaissance ethnobotanique des plantes à usages bucco dentaires au Bénin. Cette étude a permis de répertorier 362 espèces végétales capables de traiter les affections bucco dentaires comme la carie dentaire, les troubles de dentition, la mauvaise haleine, la gingivite, le noma, l'apthe, le muget et l'odontalgie. Les espèces des plus utilisées étaient *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Dialium guineense*, *Pseudocedrela kotschyi*, *Bridelia ferruginea*, *Prosopis africana* et *Anogeissus leiocarpa*. Cette étude constitue une base de données ethnobotaniques en ce qui concerne la flore

béninoise utilisée pour le traitement des affections bucco-dentaires. Mais il est nécessaire d'approfondir cette étude à travers des tests pharmacologiques et toxicologiques pour attester de l'efficacité et de la sécurité de ces plantes afin d'assurer une meilleure santé buccale à toute la population béninoise.

Chapitre 3 : Cytotoxicité et activités antimicrobienne des plantes vulnérables de la pharmacopée béninoise utilisées pour les soins et le traitement des affections bucco-dentaires

Introduction

Notre enquête ethnobotanique réalisée au Bénin a permis de recenser au total 347 plantes médicinales utilisées dans l'hygiène et le traitemnet des affections bucco-dentaires. Les plantes les plus utilisées dans les traitements des maladies/symptômes bucco-dentaires sont : *Anogeissus leiocarpa, Azadirachta indica, Bridelia ferruginea, Dialium guineense, Diospyros mespiliformis, Parkia biglobosa, Prosopis africana, Pseudocedrela kotschyi, Vitellaria paradoxa et Zanthoxylum zanthoxyloides*. Ces plantes sont utilisées pour leur double intérêt de brosse végétale et plante médicinale. Il n'existe malheureusement pas de travaux scientifiques concordant de valorisation de ces plantes médicinales dans la prise en charge d'affections bucco-dentaires. En effet, les données sont insuffisantes sur leur composition chimique, leur toxicité et leur activité sur des souches microbiennes responsables d'infections bucco-dentaires. C'est pour combler ce deficit que cette etude a été initiée avec comme objectif de produire des données scientifiques sur la toxicité et l'activité antimicrobienne de ces plantes médicinales.

3.1 Matériels et méthodes

3.1.1 Matériels

3.1.1.1 Matériel Végétal

Le matériel végétal est constitué des tiges de *Anogeissus leiocarpa* (Combretaceae), *Azadirachta indica* (Meliaceae), *Bridelia ferruginea* (Euphorbiaceae), *Dialium guineense* (Leguminosae), *Diospyros mespiliformis* (Ebenaceae), *Parkia biglobosa* (Leguminosae),

Prosopis Africana (Leguminosae), *Pseudocedrela kotschyi* (Meliaceae), *Vitellaria paradoxa* (Sapotaceae) et *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Rutaceae).

Les plantes (organes de tige) utilisées ont été récoltées lors des enquêtes ethnobotaniques. Elles ont été soigneusement lavées dans de l'eau distillée puis séchées à la température du laboratoire (16 - 20°C) pendant 20 jours. Ces organes de tige sèchées ont été ensuite broyées et transformées en poudre.

3.1.1.2 Matériel Biologique

- Les microorganismes

Six souches bactériennes ont été utilisées pour les tests antimicrobiens : deux souches de référence (*Escherichia coli ATCC 25922* et *Staphylococcus aureus ATCC 25923*), quatre souches cliniques et multirésistantes isolées des échantillons d'ulcère buccal (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*). Les souches bactériennes utilisées ont été obtenues auprès de la section bactériologie du Laboratoire National du Ministère de la Santé (LNMSP) en République du Bénin.

- Les œufs de *Artemia salina*

Les œufs de *Artemia salina* (ARTEMIO JBL GmbH D-67141 Neuhofem) ont été utilisés pour le test de cytotoxicité larvaire.

3.1.2 Méthodes

3.1.2.1 Obtention des extraits

Les extraits hydro-éthanoliques ont été obtenus par macération. Cent gramme (100 g) de poudre végétale ont été macérés pendant 24 h sous agitation magnétique dans 500

ml du mélange éthanol et eau (50:50). Le mélange obtenu a été ensuite filtrée sur papier filtre (Wathman 0,16 mm) sur un dispositif Büchner sous vide [127]. Le filtrat a été ensuite récupéré. Le volume total du filtrat est concentré sous vide sur un évaporateur rotatif (Heidolph Instrument Laborota 4000-efficient) muni d‟une pompe à vide abaissant le point d'évaporation du solvant (mélange eau à 50 °C et les mélanges éthanol-eaux à 40°C).

Le ballon contenant l'extrait concentré est congelé pendant 24 heures puis placé sur un lyophilisateur (CHRIST Alpha 1-2 LD), la température au sein du ballon est - 60 °C et la pression 0,001 bar. Le mélange est sublimé. Après 72 heures, l'extrait lyophilisé est récupéré, pesé, étiqueté et conservé à + 4 °C jusqu'à l'utilisation. Le rendement est le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité [128]. Ce rendement a été calculé par la formule [129]:

$$R = \frac{masse\ de\ l'extrait\ après\ évaporation\ du\ solvant}{masse\ de\ la\ poudre\ de\ l'espèce\ végétale\ utlisé\ pour\ l'extration} \times 100$$

3.1.2.2 Cytotoxicité Larvaire

Les tests ont été réalisés sur des larves de crevette obtenues après incubation et sous agitation douce pendant quarante-huit heures sur les œufs d'*Artemia salina* (ARTEMIO JBL GmbH D-67141 Neuhofem) à la température du laboratoire (28 °C – 30 °C) dans un erlenmeyer de 1000 ml, contenant de l'eau de mer prélevée dans l'océan Atlantique à Cotonou. Une solution mère de l'extrait aqueux est préparée dans l'eau de mer à une concentration de 40 mg/ml. Puis dans dix tubes à essai, une gamme de concentrations décroissantes de l'extrait a été réalisée, en procédant à une dilution en série de raison deux de la solution. Dans chaque tube ainsi préparé, il est alors ensemencé 16 larves

contenues dans 1 ml d'eau de mer. L'ensemble a été incubé pendant 24 heures à la température du laboratoire, c'est-à-dire 28- 30 °C.

Après 24 heures, les tubes à essai ont été examinés et le nombre de survivants dans chacun a été compté et enregistré. Les larves ont été considérées comme mortes, si elles ne présentent pas de mouvement interne ou externe pendant 10 secondes d'observation. Les larves étaient maintenues à jeun pendant l'expérimentation. Pour s'assurer que la mort observée dans les tubes à essais est attribuée uniquement aux extraits et non à la faim, on compare les tubes expérimentaux contenant l'extrait à des tubes témoins contenant des solutions larvaires uniquement. Les larves de crevette *Artemia* peuvent survivre jusqu'à 48 heures sans s'alimenter [129], 97] du fait qu'elles se nourrissent de leur sac vitellin [37].

La Concentration létale 50 (CL_{50}) a été déterminée à partir de la droite de régression obtenue de la courbe représentative du nombre de larves survivantes en fonction de la concentration des extraits [128]. Chaque traitement a été est fait en duplicata. Pour interpréter ces résultats, des grilles de corrélation associant le degré de toxicité à la CL_{50} ont été utilisées [36] (Tableau 8).

Tableau 8 : Correspondance entre concentration létale (CL_{50}) et toxicité

Intervalles de valeurs des Concentration létale moyennes (CL_{50})	**Toxicité**
CL_{50} > 0,1 mg/ml	- (Non toxique)
0,1 mg/ ml > CL_{50} ≥0,050 mg/ml	+ (Faible toxicité)
0,050 mg/ ml > CL_{50}≥0,01 mg/ml	++ (Toxicité modérée)
CL_{50} < 0,01 mg/ml	+ + + (Forte toxicité)

3.1.2.3 Tests antibactériens

- Mise en solution de l'extrait

Les extraits ont été repris dans l'eau distillée stérile à raison de 100 mg pour 1 ml. Des solutions mères d'extraits concentrées à 100 mg/ml ont été ainsi préparées. Elles ont été ensuite stérilisées par filtration sur membrane millipore 0,22 µm à l'aide d'une seringue stérile. La stérilité des solutions mères d'extraits a été vérifiée en ensemençant des aliquotes de chaque solution sur le milieu Mueller Hinton, suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures [36].

- Préparation de la suspension bactérienne

Une portion de colonie pure de 24 heures issue du milieu Mueller Hinton de chaque souche a été émulsionnée dans 5 ml d'eau physiologique pour obtenir une turbidité de 0,5 sur l'échelle de Mc Farland.

- Antibiogramme

Chaque inoculum a été ensemencé par écouvillonnage sur des boites de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton [131]. A l'aide du bout de pipette pasteur stérile, des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose. 50 µl de chaque extrait ont été déposés dans les puits. Un puits contenant de l'eau distillée stérile a servi de témoin négatif. Les boites de Pétri ont été laissées pendant 1 heure à la température ambiante pour une pré-diffusion des extraits, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 18 heures [132] . Après la période d'incubation, les boîtes ont été examinées pour la mesure des diamètres de zones d'inhibition autour des puits. Les normes utilisées pour interpréter les diamètres d'inhibition sont résumées dans le tableau 9.

TABLEAU 9 : CORRESPONDANCE UTILISEE POUR LA LECTURE DES RESULTATS DES TESTS ANTIBACTERIENS DES EXTRAITS VEGETAUX [133]

Diamètre de zone d'inhibition (Δ)	Degré de sensibilité du germe	Symbole
Δ < 7 mm	Insensible	−
7 mm ≤ Δ < 8 mm	Sensible	+
8 mm ≤ Δ < 9 mm	Assez sensible	++
Δ ≥ 9 mm	Très sensible	+++

- Détermination des Concentrations Minimale Inhibitrice (CMI), Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et Pouvoir antibiotique (P.a) des extraits

La determination des paramètres d'inhibition (CMI et CMB) nous permet non seulement de confirmer, quantifier et comparer les activités, mais aussi de caractériser la nature de l'effet révélé par un extrait sur un micro-organisme donné.

La microdilution sur des plaques à 96 puits a été utilisée pour la détermination des CMI des extraits sur les souches. 100 µl de bouillon Mueller-Hinton (MHB) ont été déposés dans chaque puits de la microplaque (1 à 10 puits). 100 µl de la solution-mère de chaque extrait ont été déposés dans le premier puits. Après homogénéisation par aspiration-décharge à l'aide d'une micropipette, il est obtenu 200 µl de solution d'extrait à 50 mg/ml. 100 µl de cette nouvelle solution ont été prélevés et mélangés au bouillon Mueller Hinton contenu dans le deuxième puits et cette série de dilution a été réalisée de puits en puits jusqu'au 10ième puits dont on a jeté les 100 µl pour avoir des concentrations de 50 mg/ml ; 25 mg/ml ; 12 mg/ml ; 6,250 mg/ml ; 3,125 mg/ml ; 1,562 mg/ml ; 0,781 mg/ml ; 0,391 mg/ml ; 0,195 mg/ml et 0,098 mg/ml. Enfin 100 µl de la suspension bactérienne ont été ajoutés dans chaque puits. Un contrôle positif était constitué de 100 µl de bouillon Mueller Hinton et de 100 µl de la suspension bactérienne, alors que le contrôle négatif contenait 100 µl de bouillon Mueller Hinton et 100 µl de la solution-mère d'extrait. Les microplaques ont été couvertes avec du para-film puis incubées pendant 24 heures à 37 °C. Les CMI ont été déterminées par ajout du Tétrazolium (révélateur).

Pour la détermination de la CMB, tous les puits de la CMI aux concentrations plus élevées ont été ensuite ensemencés sur une gélose Mueller Hinton et placés à 37 °C pendant 24 heures. Cela a permis de déterminer la CMB qui correspond à la plus faible concentration d'extrait n'ayant laissé apparaître de colonies bactériennes. Le pouvoir

antibactérien des extraits est jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport R= CMB/CMI [132]. En effet, si 1 ≤ R ≤ 2, le pouvoir est bactéricide et si 4≤ R ≥ 16, il est bactériostatique.

3.2 Analyses statistiques

Pour chaque extrait, la concentration létale qui provoque la mort de 50 % de larves (CL_{50}) a été calculée avec un intervalle de confiance de 95% par l'analyse de régression linéaire et aussi en utilisant la méthode d'analyse du probit suivant [134]. Une équation de droite de régression, obtenue à partir de la courbe de mortalité des larves, permet de calculer la concentration (CL_{50}) correspondant au décès de la moitié des larves. Le degré de toxicité des feuilles a été évalué en se basant sur le tableau de correspondance établit par [135]. Une analyse de variance (facteur unique ANOVA) a été utilisée pour comparer les moyennes lorsque cela était nécessaire. Le niveau de signification a été défini à 5%.

3.3 Résultats

3.3.1 Rendement à l'extraction

Les rendements à l'extraction ont varié d'une plante à l'autre (Tableau 10). Le meilleur rendement a été obtenu chez *Vitellaria paradoxa* (31,46 %) alors que *Diospyros mespiliformis* a eu le plus faible rendement (10,75%).

Tableau 10 : Rendement à l'extraction des plantes testées

Plantes étudiées	Rendement (%)
Vitellaria paradoxa	31,46
Anogeissus leiocarpa	23,02
Pseudocedrala kotschyi	21,3
Prosopis africana	20,7
Dialium guineense	19,1
Azadirachta indica	16,4
Bridelia ferruginea	14,21
Parkia biglobosa	13,01
Zanthoxylum zanthoxyloides	12,2
Diospyros mespiliformis	10,75

3.3.2 Cytotoxicité des extraits

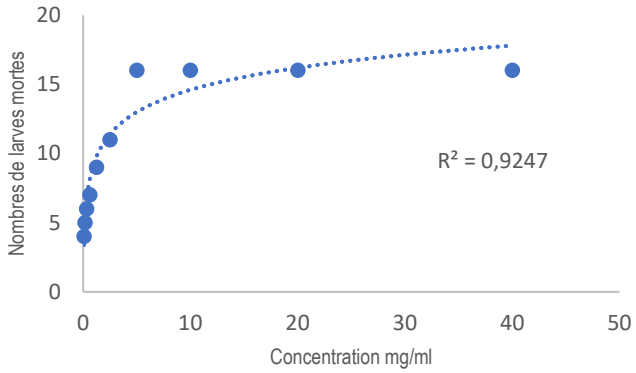
La détermination de la concentration létale (CL_{50}) est obtenue en utilisant la droite de régression de chaque échantillon. Le nombre de larves mortes de *Artemia Salina* augmente quand la concentration augmente. les concentrations létales moyennes (CL_{50}) obtenues pour chaque les extraits hydro alcoolique sont présentées sur la figure 6. excepté l'extrait hydro alcoolique de zanthoxylum zanthoxyloides, tous les extraits ont une cl_{50} supérieure à 0,1 mg/ml (tableau 11).

Tableau 11 : Valeurs de CL_{50} des extraits hydro alcoolique des différents échantillons

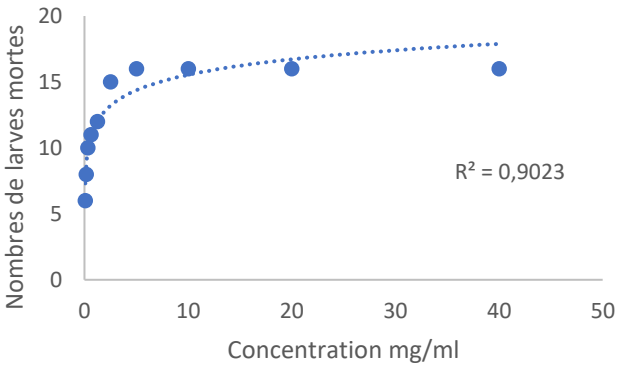
Extraits hydroéthanolique	Valeur de CL_{50} mg/ml
Parkia biglobosa	0,911
Pseudocedrala kotschyi	0,817
Bridelia ferruginea	0,691
Prosopis africana	0,63
Anogeissus leiocarpa	0,504
Diospyros mespiliformis	0,501
Vitellaria paradoxa	0,454
Azadirachta indica	0,186
Dialium guineense	0,179
Znathoxylum zanthoxyloides	0,047

Sur la base de l'échelle de toxicité établie par mousseux [136], les neuf (9) autres plantes sont donc non cytotoxiques. Avec une CL_{50} = 0,047 mg/ml, l'extrait de *Zanthoxylum zanthoxyloides* présente une toxicité modérée.

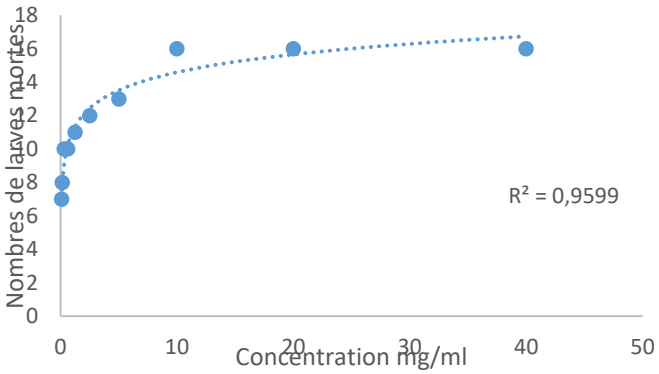
Anogeisus leiocarpa



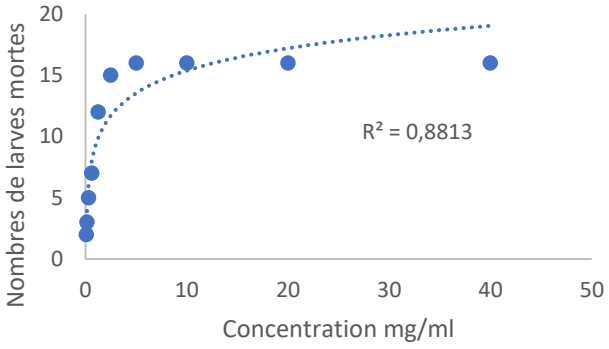
Dialium guineense



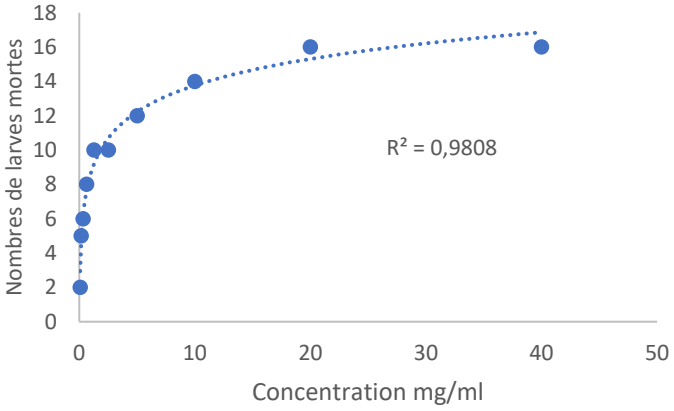
Azadirachta indica



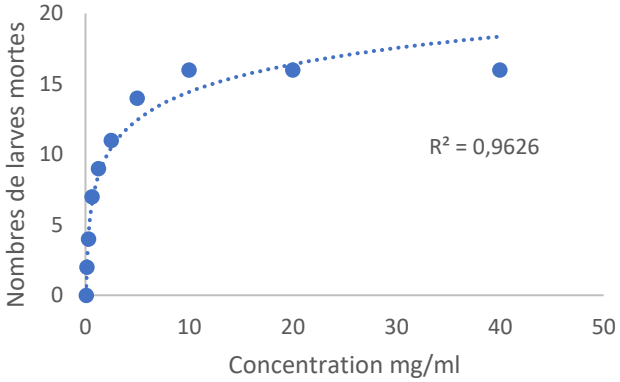
Diospyros mespiliformis



Bridelia ferruginea



Parkia biglobosa



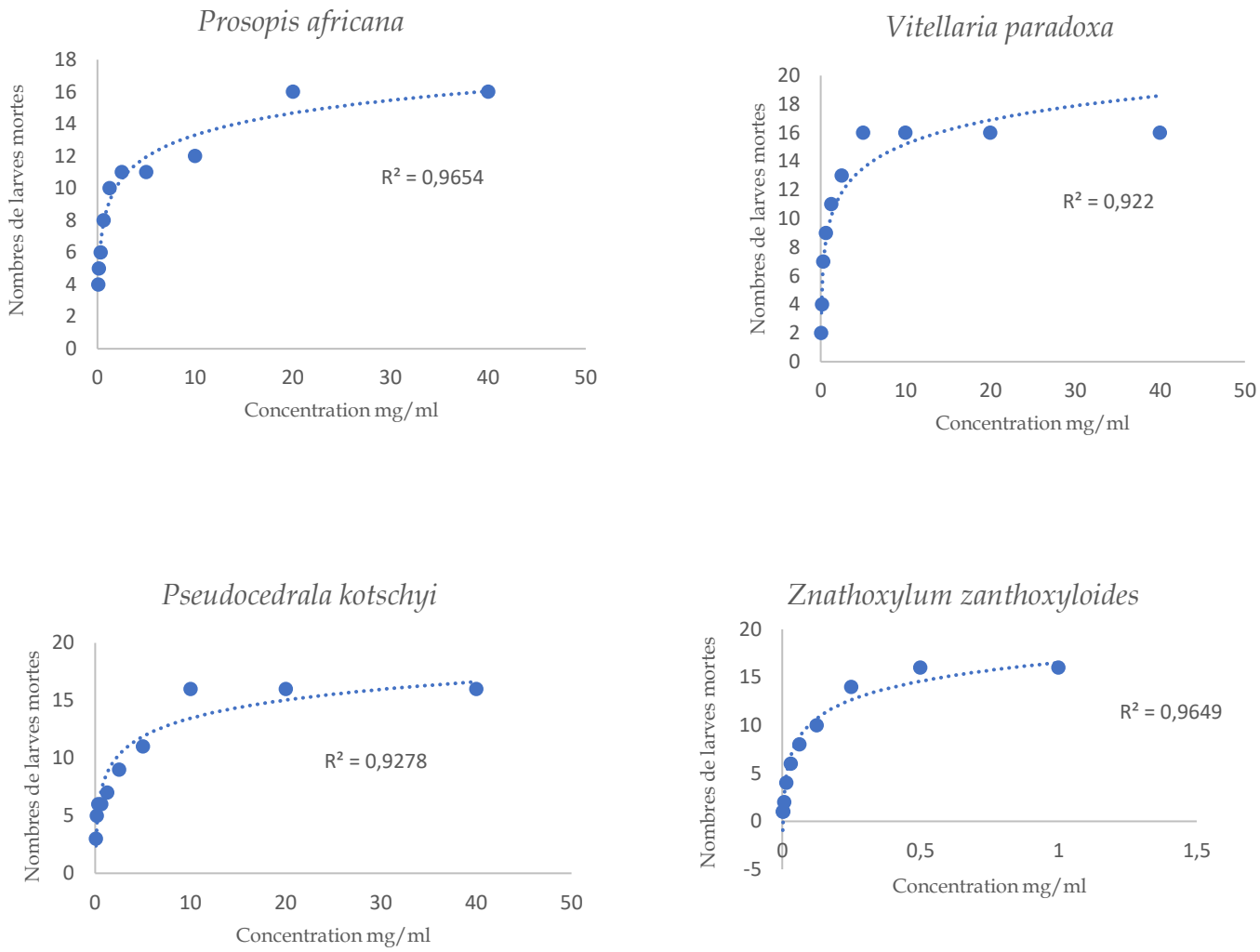


Figure 20 : Sensibilité des larves de *Artemia salina* aux différents extraits et CL_{50} correspondant

3.4.3 Activité antimicrobienne des extraits

3.4.3.1 Résultats d'antibiogramme

Sur les dix extraits testés, seul l'extrait hydro-éthanolique de la tige *de Zanthoxylum zanthoxyloïdes* ne possède aucune activité sur les souches bactériennes utilisées (Tableau 12). Tous les autres extraits sont actifs sur les souches de référence.

L'extrait hydro-alcoolique de *Vitellaria paradoxa* est actif sur les deux souches de référence, sur *Klebsiella pneumoniae* et sur *S. epidermis*. Par contre, *Klebsiella oxytoca* et *E. coli* sont résistantes à l'extrait. Le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu sur *E. coli* ATCC 25922 (15 mm) alors que le diamètre d'inhibition le plus faible est obtenu sur *Klebsiella pneumoniae* (10 mm).

Tableau 12 : Moyenne des diamètres de zone d'inhibition des plantes étudiées

	Souches de référence		**Souches cliniques**			
	Escherichia coli ATCC 25922	*Staphylococcus aureus ATCC 25923*	*Klebsiella pneumoniae*	*Klebsiella oxytoca*	*Escherichia coli*	*Staphylococcus epidermidis*
Anogeissus leiocarpa	25,67±0,04	17,33±0,59	23,67±0,12	0	23,67±0,02	16,33±0,61
Azadirachta indica	15,67±0,05	15±1	0	0	0	10,67±0,63
Bridelia ferruginea	15±1	14,33±0,05	0	0	0	0

Dialium guineense	13±1	13,67±0,04	0	0	0	12±1
Diospyros mespiliformis	15±1	14,67±0,52	0	0	0	11,33±0,04
Parkia biglobosa	11±1	13±1	0	0	0	13,33±0.59
Prosopis africana	20,33±0,62	16,33±0,05	20,67±0,04	0	21±1	13,67±0,04
Pseudocedrela kotschyi	12,33±0,05	14,33±0,59	0	0	0	13,33±0,59
Vitellaria paradoxa	15±1	14,67±0,04	10±1	0	0	11,67±0,02
Zanthoxylum zanthoxyloides	0	0	0	0	0	0

3.4.3.2. Concentration Minimale Inhibitrice, Concentration Minimale Bactéricide et Pouvoir antibiotique

La technique de microdilution sur plaque en milieu liquide utilisée pour déterminer les CMI et les CMB des extraits a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau 13.

L'extrait hydro-alcoolique de la tige de *Vitellaria paradoxa* a une CMI de 6,25 mg/ml et un pouvoir bactériostatique sur les deux souches de références (*E. coli* ATCC 25922, *S.*

aureus ATCC 25923) et la souche de *S. epidermidis*. Les CMI de l'extrait de *Dialium guineense* sur les deux souches de références (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923) et sur *S. epidermidis* varient entre 6,25 et 12,5 mg/ml. L'extrait a un pouvoir bactériostatique sur les Staphylocoques (*S. aureus* ATCC 25923 et *S. epidermidis*). De même, les deux souches de références et *S. epidermidis* étaient sensibles à l'extrait de *Pseudocedrela kotschyi* (CMI : 6,25 à 12,50 mg/ml) avec un pouvoir bactériostatique sur ces souches. La CMI de l'extrait hydro alcoolique de *Parkia biglobosa* sur les deux souches de référence et sur *S. epidermidis* est de 12,50 mg/ml, avec une absence de pouvoir antibiotique. La CMI de *Diospyros mespiliformis* sur les deux souches de références et sur la souche de *S. epidermidis* était de 12,50 mg/ml, avec un pouvoir bactériostatique sur uniquement les deux souches de références (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923). Les CMI de l'extrait de *Anogeissus leiocarpa* sur les souches testées varient entre 6,25 et 12,50 mg/ml. L'extrait a un pouvoir bactériocide sur *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* (souche clinique), *K. pneumoniae*, *S. aureus* ATCC 25923 et un pouvoir bactériostatique sur *S. epidermidis*. Avec une même CMI de 6,25 mg/ml, l'extrait de *Bridelia ferruginea* a un pouvoir bactériostatique sur les deux souches de référence (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923).

Tableau 13 : CMI, CMB et Pouvoir antibiotique des extraits hydro alcooliques des feuilles sélectionnées sur les souches bactériennes utilisées

Extraits	Paramètres (mg/ml)	*Escherichia coli ATCC 25922*	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Klebsiella oxytoca*	*Staphylococcus aureus ATCC 25923*	*Staphylococcus epidermidis*
Vitellaria paradoxa	CMI	6,25	-	-	-	6,25	6,25
	CMB	50	-	-	-	50	50
	P.a.	8	-	-	-	8	8
Prosopis africana	CMI	6,25	3,13	6,25	-	6,25	6,25
	CMB	12,50	3,13	12,50	-	25	25
	P.a.	2*	1*	2*	-	4	4
Dialium guineense	CMI	12,50	-	-	-	6,25	6,25
	CMB	> 50	-	-	-	25	25
	P.a.	-	-	-	-	4	4
Pseudocedrela kotschyi	CMI	6,25	-	-	-	6,25	12,50
	CMB	50	-	-	-	25	50
	P.a.	8	-	-	-	4	4
Parkia biglobosa	CMI	12,50	-	-	-	12,50	12,50
	CMB	> 50	-	-	-	> 50	> 50
	P.a.	-	-	-	-	-	-
Azadirachta indica	CMI	6,25	-	-	-	6,25	12,50

	CMB	25	-	-	-	25	> 50
	P.a.	4	-	-	-	4	-
Diospyros mespiliformis	CMI	12,50	-	-	-	12,50	12,50
	CMB	50	-	-	-	50	> 50
	P.a.	4	-	-	-	4	-
Anogeissus leiocarpa	CMI	6,25	6,25	6,25	-	6,25	12,50
	CMB	6,25	6,25	6,25	-	12.5	50
	P.a.	1*	1*	1*	-	2*	4
Bridelia ferruginea	CMI	6,25	-	-	-	6,25	-
	CMB	50	-	-	-	50	-
	P.a	8	-	-	-	8	-

Légendre des extraits ; P.a avec * = Pouvoir bactéricide ; P.a sans * = Pouvoir bactériostatique

3.5 Discussion

Les résultats de l'extraction ont montré une variabilité des rendements à l'extraction en fonction de la plante. Il s'agit d'un paramètre important pour discuter des activités biologiques d'un extrait. L'affinité d'un solvant à l'égard des phytomolécules et sa polarité influencent le rendement [137].

Le modèle *Artemia salina* a été utilisé pour apprécier l'effet cytotoxique des extraits. Excepté l'extrait hydro alcoolique de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, tous les extraits ont une CL_{50} supérieure à 0,1 mg/mL. Sur la base de l'Echelle de toxicité établie par Mousseux [136]; ces plantes sont donc non cytotoxiques. Le test de cytoxicité selon le modèle *Artemia salina* constitue un screening préliminaire pour déterminer le degré de cytotoxicité d'un produit. Les travaux de [138] ont démontré une bonne corrélation ($r= 0,85$; $p<0,05$) entre ce test et les effets toxicologiques d'une substance sur un animal entier. La cytotoxicité larvaire de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, que nous avons enregistré est confortée par les résultats des travaux antérieurs de [139] attribuant une toxicité à cette plante. En effet, ils ont trouvé que l'extrait dichloromethane de *Zanthoxylum zanthoxyloides* était cytotoxique avec une CL_{50} inférieure à 0,1 mg/mL. Le caractère non cytotoxique des extraits garantit l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales, sans risque pour la santé humaine. Toutefois, le test de cytotoxicité n'est qu'un test préliminaire. Les travaux approfondis de toxicité, tels que la toxicité aigüe et la toxicité chronique sont nécessaires pour garantir la non-toxicité des plantes médicinales.

Sur les dix extraits testés, seul l'extrait hydro-alcoolique de la tige de *Zanthoxylium zanthoxyloïdes* ne possède aucune activité sur les souches bactériennes utilisées. *Escherichia coli ATCC 25922* et *Staphylococcus aureus ATCC 25923* (souches de références) et *Staphylococcus epidermidis* (souche clinique) sont sensibles à l'extrait hydro-alcoolique de *Dialium guineense*. Cela confirme les travaux de [140] qui ont montré l'activité des extraits de cette plante sur ces souches. [141] ont également montré l'activité de l'extrait de *Dialium guineense* sur *S. aureus 25923*.

Sur l'ensemble des souches, les extraits les plus actifs sont ceux de *Prosopis africana* et de *Anogeissus leiocarpa*. Les extraits de ces deux plantes ont inhibé 83,3% des souches testées, tout en présentant les plus grands diamètres d'inhibition. En ce qui concerne *Anogeissus leiocarpa*, les résultats obtenus confortent les données préalablement obtenues par [142] qui ont montré l'inhibition de *S. aureus* et *K. pneumoniae* par l'extrait d'acétate d'éthyle de l'écorce de tige de *Anogeissus leiocarpa*. Mais les diamètres d'inhibition sont bien supérieurs à ceux obtenus avec l'extrait hydro-alcoolique dans cette étude, ce qui peut être assimilé à la différence de polarité des solvants d'extraction. L'inhibition des souches cliniques de *E. coli* par les extraits aqueux et éthanolique de racines de *Anogeissus leiocarpa*, telle que rapporté par [143] vient également appuyer les résultats de la présente étude, faisant de cette espèce un réservoir de molécules bioactives à activités antimicrobiennes à valoriser dans la lutte contre les infections microbiennes. En ce qui concerne *Prosopis africana*, des résultats obtenus corroborent les travaux de [144] qui ont montré l'inhibition de *S. aureus, K. pneumoniae* et *E. coli* par les extraits aqueux et méthanoliques de *Prosopis africana*.

Il faut remarquer que les extraits hydro-alcoolique des tiges de *Dialium guineense*, *Pseudocedrela kotschyi*, *Parkia biglobosa*, *Azadirachta indica*, *Diospyros mespiliformis*, *Vitellaria paradoxa* et *Bridelia ferruginea* n'ont été actifs que sur la souche de référence *Escherichia coli ATCC 25922* et non sur la souche Clinique *E. coli*. On pourrait expliquer cette différence d'activité par le fait que les souches de références sont habituellement déjà caractérisées. Les divergences de sensibilité des souches aux extraits en comparaison à d'autres études pourraient être liées à différents paramètres : l'origine des souches, les caractéristiques des souches et les techniques de manipulations.

Les extraits de *Anogeissus leiocarpa* et *Prosopis africana* se sont distinguées en ayant de bonne concentration létale (CL_{50}=0,504 mg/ml et CL_{50}=0,630 mg/ml respectivement) associées à une meilleure activité antibactérienne interessante. Les travaux plus approndis sont necessaires sur ces plantes pour une valorisation optimale.

Conclusion

Cette étude visait à évaluer la cytotoxicité et les activités antimicrobiennes de 10 plantes médécinales utilisées traditionnellement au Bénin pour les soins bucco-dentaires (*Anogeissus leiocarpa, Azadirachta indica, Bridelia ferruginea, Dialium guineense, Diospyros mespiliformis, Parkia biglobosa*, *Prosopis africana, Pseudocedrela kotschyi Vitellaria paradoxa* et *Zanthoxylium zanthoxyloïdes).* Excepté l'extrait hydro alcoolique de *Zanthoxylum zanthoxyloides,* tous les autres extraits ont une concentration létale (CL_{50}) supérieur à 0,1 mg/mL. En plus d'etre non cytotoxique, les extraits hydroalcooliquede *Anogeissus leiocarpa* et *Prosopis africana* présentent de très bonne activité antimicrobienne, et sont susceptible d'être valorisés dans la prise en charge des infections bucco-dentaires

Chapitre 4 : Screening phytochimique et le dosage du pouvoir anti radicalaire (antioxydant)

INTRODUCTION

Actuellement, de nombreuses espèces sont identifiées comme les plus utilisées parmi les plantes à usages bucco-dentaires au Bénin. Aux nombres de ces plantes, il y a *Azadirachta indica*, *Prosopis africana*, *Pseudocedrela kotschyi*, *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Parkia biglobosa*, *Vitellaria paradoxa*, *Dialium guineense*, *Anogeissus leiocarpa*, *Diospyros mespiliformis* et *Bridelia ferruginea* [114]. Après l'évaluation de l'activité antibactérienne de certaines de ces espèces végétales sur les souches bactériennes responsables d'infections bucco-dentaires, nous avons montré que les espèces *Anogeissus leiocarpa* et *Prosopis africana* sont dotées d'une forte activité antibactérienne avec des concentrations minimales inhibitrices allant de 6,25 à 12,50 mg/mL. Malgré, le potentiel thérapeutique de ces deux plantes et leur forte utilisation par la population béninoise dans l'hygiène et le traitement des affections bucco-dentaires, les conditions environnementales influent sur leurs compositions en métabolites secondaires. D'où il est nécessaire de caractériser sur le plan phytochimique et autres, ces deux plantes acclimatées au Bénin. C'est pour remédier à cette situation, que la présente étude a été initiée pour évaluer le potentiel phytochimique et l'activité antioxydante de ces deux plantes largement utilisées en hygiène et les soins bucco-dentaires en République du Bénin.

4.1 Matériel et méthodes

4.1.1 Matériel végétal

Les plantes récoltées ont été certifiées à l'Herbier National du Bénin. Les numéros de certification sont : YH 536/HNB (*Anogeissus leiocarpa*) et YH 542/HNB (*Prosopis africana*).

4.1.1.1 Monographie des plantes étudiées

4.1.1.1.1 *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. &Perr.,

- Noms vernaculaires

Arbre des savanes d'Afrique tropicale occidentale il est connu sous le nom de bouleau d'Afrique en Français, ngediane en Wolof, hlihon en Fon , karakarah en Bariba.

- Présentation et description botanique

Arbre de 12 à 30 m de haut avec un tronc élargi à la base ; pouvant atteindre 1 m de diamètre. Sa racine principale pivotante avec de nombreuses racines secondaires latérales : système racinaire de type "mixte". Son écorce Fibreuse, à écailles fines grise, jaunâtre, devenant noirâtre avec l'âge, à tranche jaune flammée exsudant une gomme foncée. Rameaux fins et retombants. Les feuilles sont opposées à subopposées, à pubescence apprimée, pubescentes et argentées elliptiques à ovales lancéolées de 2-8 x 1,5-3,5 cm. Limbe à sommet acuminé ou mucroné, à base en coin.

Les fleurs de couleur jaune verdâtre et orange brunâtre au centre, apétale, avec calice à 5 dents triangulaires de 5 à 6 mm de diamètre. Des fruits petits (environ 10 à 15 mm), en forme de cônes, se cassent facilement à plusieurs graines à deux ailes [145]. Les

rameaux sont finement pubescents, argenté ou brunâtre. Pétale, pubescent de 1 à 6 mm de long. Les nervures sont pennées avec 4 à 8 paires de nervures secondaires peu saillantes longeant le bord du limbe. Inflorescences : compactes et ovoïdes de 7 à 10 mm de large et de 10 à 20 mm de diamètre. Son pédoncule est de 5 à 15 mm de long avec des fleurs jaune verdâtre, hermaphrodites, parfumées montrant un disque rougeâtre avec des poils blancs.



Figure 21 : Photo montrant a- Fleur, b- Feuilles, c le tronc et d- pied d'*Anogeissus leiocarpa* (Cliché Guezodje, 2019)

- Systématique

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Myrtales

Famille : Combretaceae

Genre : Anogeissus.

Espèce : *Anogeissus leiocarpa.*

- Composition et propriétés biologiques

Les feuilles contiennent des tanins et des saponines ; les écorces de tronc, présentent une trace d'alcaloïdes. La gomme issue de ces écorces contiendrait 22 % d'acide uronique. Les écorces de racine sont riches en tanins (17 %) et stérols de même que les graines[146], 112].

Anogeissus leiocarpa contient des composés polyphénoliques tels que les acides 3,4,3'-tri-O-méthylflavellagique et son dérivé glucosylé (3,4,3'-tri-Ométhylflavellagique-4'-β-D-glucoside), des molécules comme les leiocarpanes A et B glucuronomannanes et la castalagine [130]. De plus, des composés gentisiques et protocatéchiques, des acides galliques et ellagiques, des tannins, des acides chébulagique et chébulinique ont été mis en évidence dans des extraits de cette plante. Des triterpènes et leurs glycosides ont également été révélés dans les écorces de tronc [147].

Les extraits de l'écorce de tronc (aqueux et fraction au dichlorométhane) de *Anogeissus leiocarpa* sont inhibiteurs de phosphodiestérases (PDEs) et possèdent des propriétés vasorelaxantes [148]. L'effet vasodilatateur de l'extrait aqueux de A. leiocarpus implique plusieurs voies de signalisation cellulaires (NO/Src-kinase/PI3-

kinase/Akt/GMPc/AMPc) [149]. En outre, A. leiocarpus possède des propriétés hypotensives transitoires et des propriétés antihypertensives [150].

4.2.1.1.2 *Prosopis africana* (GuilI. & Perr.) Taub.

- Noms vernaculaires

Prosopis africana, est originaire d'Afrique et pousse dans la zone sahélienne. Il est connu sous le nom de mesquite en Français, kakè en Fon, guinsohbah en Berba et likpanli en Peulh

- Présentation et description botanique

Arbre caractérisé par une cime légère et un feuillage retombant vert clair de 12-20m de haut, à fût droit et cylindrique atteignant 1,10m de diamètre (Figure 8). L'écorce est foncée, écailleuse, à tranche orange à rouge brun et striée de bandes blanches. Les feuilles sont bipennées alternes avec un rachis de 10 à 15 cm portant 3 à 6 paires de pinnules opposées de 8 cm de long qui ont chacune 9 à 16 paires de foliolules [151]. Les foliolules sont allongées ovales, acuminées, finement pubescentes et mesurent 12 à 30 n.m de long. Les fleurs sont petites et de couleur jaunâtre à vert blanchâtre. Elles sont odorantes et forment des épis axillaires denses de 6 à 10 cm de long et glabres [152]. Les carpelles ont une longueur double. Le fruit est une gousse ligneuse brun foncé, cylindrique, épais et dur atteignant 15 cm de longueur et 3 cm d'épaisseur [153]. Il se caractérise par une floraison qui a lieu en fin de saison sèche à savoir les mois d'avril et de mais, une fructification en saison pluvieuse et une maturation des fruits qui se poursuit jusqu'en février-mars [152].



Figure 22 : Photo montrant en a-fruit et feuilles de *Prosopis africana* et en b- tronc (cliché Guezodje, 2019) de *Prosopis africana*

- Systématique

Règne : Végétal

Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones vraies

Ordre : Fabales

Famille : Leguminosae

Genre : Prosopis

Espèce : *Prosopis africana*

- Composition et propriétés biologiques

Prosopis africana est utilisé aussi bien en alimentation humaine qu'animale. Selon [154], les graines de *P. africana* sont utilisées au Nigéria dans la préparation comme un

condiment local. Son écorce, de couleur gris-brun, est très appréciée dans la pharmacopée traditionnelle indienne d'Amérique. Grâce à sa teneur, relativement importante, en tanins, elle aurait des propriétés antibactériennes**,** et antivirales et anti-diarrhéiques. La gomme est notamment appréciée en phytothérapie [155]. Cueillie quand elle est exsudée par le tronc de l'arbre, elle servirait en rinçages oculaires et pour soigner les plaies et les blessures. Elle serait, en outre, efficace afin de traiter les troubles digestifs, la diarrhée, ainsi que les infections de la gorge et les inflammations de la vessie. Il renferme un inhibiteur de trypsine, dont la teneur est de l'ordre de 1,4 TIU/mg, la quercétine (un flavonoïde connue pour ses activités anti-dépressive, analgésique, anti-histaminique, anti-bactérienne et anti-inflammatoire) [156].

4.2.2 Méthodes

4.2.2.1. Obtention des extraits

La caractérisation phytochimique des deux espèces végétales a été réalisée dans le Laboratoire de Chimie et Physique - Approche multi-échelles des milieux complexes (LCP-A2MC) de l'Université de Lorraine en France.

Les extraits hydro alcooliques ont été obtenus par macération. Deux grammes de matériel végétal (écorce de tige) de chaque échantillon préalablement séchées et réduites en poudre sont introduits dans 20 mL d'une solution de méthanol / eau (70/30) [157]. Le mélange est laissé sous agitation continue pendant 12 heures à une température ambiante.

L'agitation joue un rôle important dans l'extraction des composés actifs par les solvants, car il permet d'augmenter le contact entre la matrice végétale et les solvants

ce qui aide à la destruction de cette matrice et des cellules qui contiennent les produits actifs. D'après [158], la macération est une méthode d'extraction douce et efficace. L'extrait recueilli est centrifugé (4000rpm) pendant 20 minutes, le surnageant obtenu est filtré et stocké au frais (4°C), [159].

4.2.2.2. Analyse qualitative : Screening phytochimique

Le criblage phytochimique s'est effectué sur les deux espèces végétales (*Anogeissus leiocarpa* et *Prosopis africana)*.

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée.

Le criblage phytochimique s'est effectué sur deux espèces végétales (*Anogeissus leiocarpa* et *Prosopis africana),* fortement utilisées dans l'hygiène et le traitement des affections bucco dentaires et ayant une activité antimicrobienne intéressante. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation [160], [161]. Pour les besoins de notre étude nous avons effectué nos tests sur les alcaloïdes, et les saponines et les composés phénoliques.

- ✓ **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont la propriété de former des sels et d'avoir un goût amer. La caractérisation de la présence d'alcaloïde est établie par précipitation à l'aide de :

Le réactif de Dragendorff et le réactif de Meyer

- Réactifs de Dragendorff composition :

Iodure de potassium (Kl) 60 mg, nitrate de Bismuth ($BiNO_3$) (0,85g), acide acétique glacial (CH_3COOH) (15ml), Chlorure de mercure (Hg_2Cl_2) (13,55g), ammoniaque (NH_4OH) (20ml) et dichlorométhane (100ml) (CH_2Cl_2).

- Réactif de Mayer composition :

Iodure de potassium (Kl) 25g, chlorure mercurique 6,8 g eau distillée (1000ml). 1 ml d'extrait organique obtenu est placé dans deux tubes différents, puis 5 gouttes du réactif de Dragendorff sont ajoutées dans l'un et 5 gouttes de réactif de Mayer dans l'autre. L'apparition de précipités rouge orangé et blancs jaunâtres respectivement dans ces tubes, indiquent la présence des alcaloïdes.

- ✓ **Saponines**

Les saponines sont des molécules naturellement produites par des plantes ou des animaux, dont le rôle n'est pas encore clairement cerné. Ce sont des hétérosides complexes appartenant aux terpènes cycliques (nom générique donné aux hydrocarbures saturés cycliques ou acycliques ayant pour motif de base le terpène) ou aux stéroïdes. Pour les déterminer dans la plante il faut : 5 ml d'extrait dans 5ml d'eau distillée sont vigoureusement secoués. L'apparition d'une mousse qui persiste pendant au moins 15 minutes affirme la présence de saponines.

- ✓ **Composés Phénoliques**

- ❖ Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence

d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

Réactifs utilisés :

Solution aqueuse de chlorure de fer III ($FeCl_3$) (125ml), méthanol (formol) (CH_3HO) (10 ml), acide chlorhydrique (HCl) (10ml), acétate de sodium (CH_3COONa) (20g), acide sulfurique ($H2sO_4$) 1M (5ml), solution d'ammoniaque (NH4OH) diluée (100ml), alcool iso amylique (25 ml), magnésium (copeaux) (5g), alcool chlorhydrique (éthanol-eau distillée- HCl à volume égal).

Quelques gouttes (1 à 2) de la solution aqueuse de chlorure de fer III ($FeCl_3$) dilué à 1% sont ajoutées à 5mL d'extrait hydroalcoolique, le virage à la couleur bleu-vert de la solution indique la présence de polyphénols [162].

- ❖ Flavonoïdes

Les flavonoïdes, pigments quasiment universels des végétaux, constituent une grande famille de composés très souvent abondamment présents dans les plantes. Pour la détermination des flavonoïdes il faut : quelques copeaux de magnésium, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré, 1 ml d'alcool isoamylique sont additionné à 2 ml d'extrait organique. La coloration rose ou rouge de la solution indique la présence de flavonoïde

- ❖ Tanins

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, d'origine végétale et qui possèdent la capacité de précipiter les

protéines, alcaloïdes et polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse. Pour vérifier la présence des tanins dans une plante il faut : 1 ml d'une solution de chlorure de fer III ($FeCl_3$) dilué à 5% est ajouté à 5 ml d'extrait organique, l'apparition d'un précipité verdâtre sombre indique la présence de tanin

4.2.2.3. Analyses quantitatives : spectrophotomètre UV-visible

- **Spectrophotométrie**

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Un milieu homogène traversé par de la lumière absorbe une partie de celle-ci ; les différentes radiations constituant le faisceau incident sont différemment absorbées suivant leur longueur d'onde et les radiations transmises sont alors caractéristiques du milieu.

Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de la proportionnalité énoncées par la loi de BEER-LAMBERT :

Soit un rayon lumineux monochromatique de longueur d'onde λ traversant un milieu homogène d'épaisseur l. Le taux de décroissance de l'intensité lumineuse en fonction de l'épaisseur du milieu absorbant est donné par la loi de Lambert :

$$A = log\left({}^{I_0}/_{I}\right) = \varepsilon . L . C$$

- ✓ A : Absorbance exprimé en unité arbitraire (u.a.),
- ✓ I_0 : Intensité lumineuse transmise par l'échantillon,
- ✓ ε : Coefficient d'extinction molaire,

- ✓ L : Largeur de la cuve
- ✓ C : Concentration de la solution

- ➢ **Méthode de dosage des PPT, des FVT et des TC**

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible de type Cary 50 (Figure 23), ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques : polyphénols totaux (PPT), flavonoïdes totaux (FVT) et tannins condensés (TC) dans les extraits des plantes étudiées.



Figure 23 : Spectroscopie ultraviolet-visible

4.2.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Les teneurs phénoliques totaux (PPT) ont été déterminées selon la méthode de [163] en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

C'est un mélange de complexes des acides phosphotungstène ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdène ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est

basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 725 nm, le dosage de PPT est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 0,1 ml de l'extrait de plante est introduit dans un tube Eppendorff de 2 ml, l'extrait est ensuite dilué avec 0,9 ml d'eau distillée ensuite 0,9 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) est ajouté puis immédiatement après il est ajouté 0,2 ml d'une solution de Na_2CO_3 (20%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 40 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 725 nm contre une solution de méthanol utilisé comme blanc.

Les teneurs en phénols totaux des extraits ont été exprimées en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (EGA/g Ms). Les teneurs ont été déterminées à partir de l'équation de régression linéaire y= 0,2337x+ 0,1143 de l'étalonnage de l'acide gallique avec un coefficient de corrélation R^2=0,9935 (Figure 24). x étant la concentration d'acide gallique (µg/mL) et y étant la densité optique correspondante.

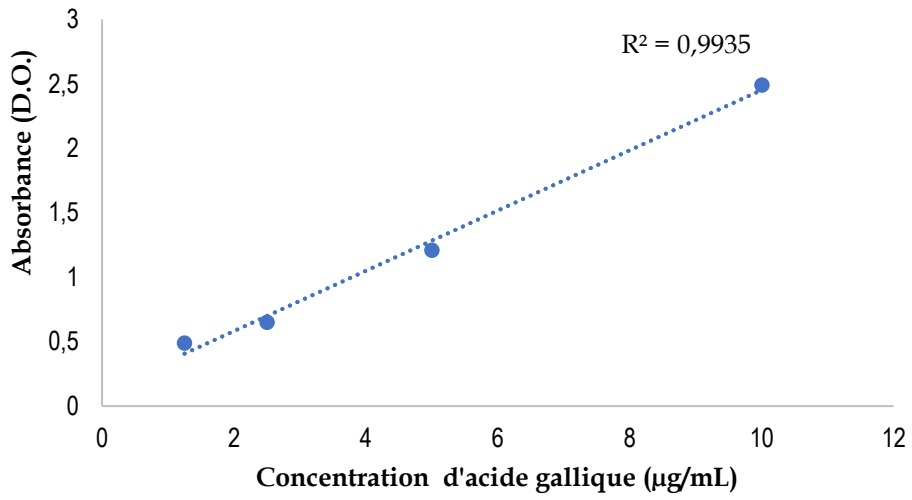


Figure 24 : Etalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la teneur en phénols totaux

4.2.2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

Pour le dosage des flavonoïdes totaux, la méthode utilisée est celle développée par Adolphe et al. [164] avec quelques modifications. Elle consiste à placer dans des tubes à essais et d'une manière successive 250 µl de l'extrait de la plante et 1 ml d'eau distillée. A un temps initial (t = 0), il a été ajouté 75 µl d'une solution de nitrite de sodium à 5%, après 5 minutes 75 µl de chlorure d'aluminium à 10% ont été ajoutés. 6 minutes après 500 µl d'une solution de NaOH à 1N ont été ajoutés ainsi que 2,5 ml d'eau distillée. L'absorbance de chaque mélange obtenu a été directement mesurée au spectrophotomètre UV- visible à 510 nm. Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de plantes ont été exprimées en mg équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche (EC/g MS). Les teneurs ont été déterminées à partir de l'équation de régression linéaire y= 0,0358x - 0,0112 de l'étalonnage de la catéchine avec un coefficient de corrélation R^2=0,9988 (Figure 25) ; x étant la concentration de catéchine (µg/mL) et y étant la densité optique correspondante.

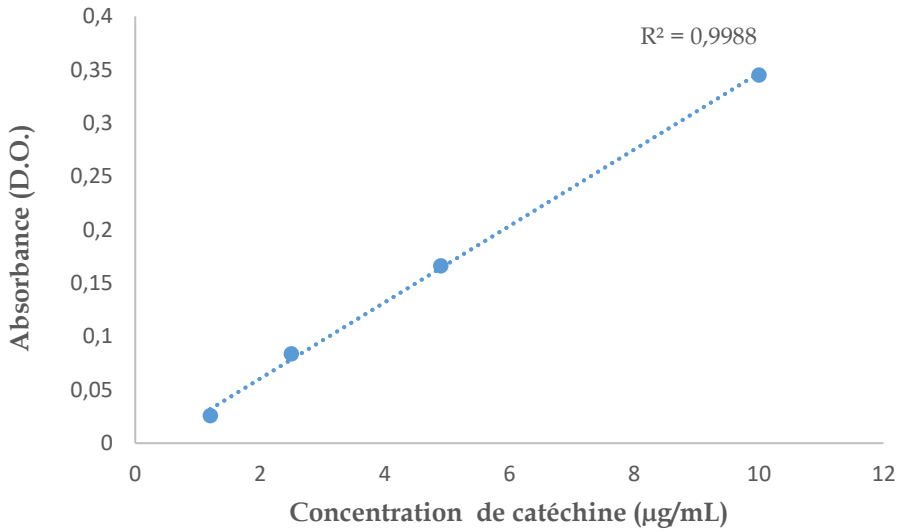


Figure 25: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour la détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

4.2.2.3.3. Dosage des tannins condensés (TC)

Le dosage des quantités de TC a été fait par la méthode de catéchine décrite par [165] et à partir d'une courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration en catéchine. Un volume de 400 µl de chaque extrait de plantes a été ajouté à 3 ml de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 1,5 ml de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu a été laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations de la solution mère de catéchine, a permis de tracer la courbe d'étalonnage. Cette dernière a été établie en utilisant la catéchine référence et les résultats ont été exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mgEC/ gMs). La courbe d'étalonnage (y= 0,0358x - 0,0112) a été établie avec un coefficient de corrélation R^2= 0,99 (Figure 26) avec x qui est égale à la concentration de catéchine (µg/mL) et y la densité optique correspondante.

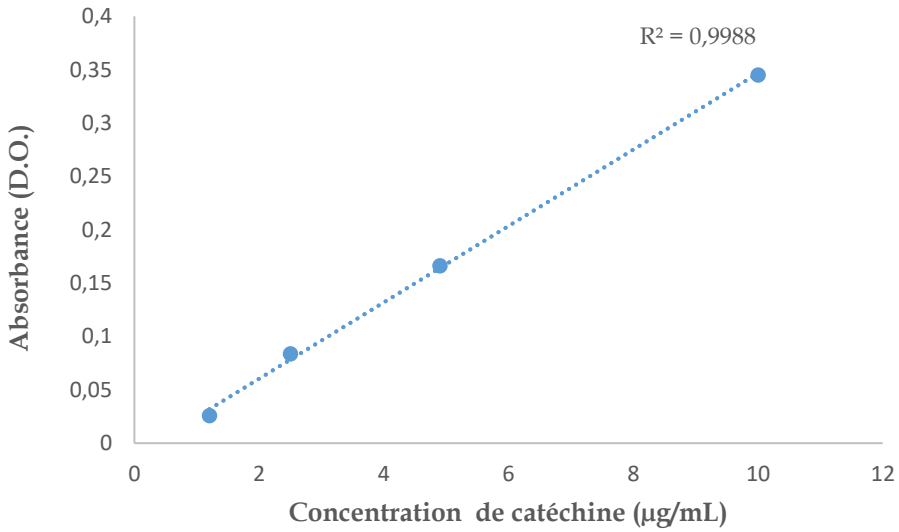


Figure 26 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés

4.2.2.4. Etude des activités antioxydantes des extraits hydro-éthanoliques des deux plantes étudiées

L'évaluation de l'activité antioxydante d'un produit peut se réaliser selon plusieurs méthodes. Au cours de cette étude nous avons choisi d'évaluer l'activité antioxydante par deux tests :

- ✓ le test de l'acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique (sel d'ABTS)
- ✓ le test du 2,2-diphényl picrylhydrazyl (DPPH)

L'intérêt de ces deux tests est que le premier (DPPH) permet de déterminer l'activité antioxydante dans un solvant organique tandis que le deuxième (Sel d'ABTS) s'adresse uniquement à des solutions aqueuses [166].

4.2.2.4.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test du DPPH

- **Principe du test DPPH**

Le test DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle) a été utilisé par Blois [167], ce test consiste en la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire DPPH-H (Figure 27). En effet, la présence des radicaux DPPH• donne une coloration violette à la solution et qui absorbe fortement à 517 nm. Au cours de la réaction, la colorimétrie de la solution change de couleur sous l'effet d'un agent antioxydant qui entraine la décoloration (coloration jaunâtre) de la solution.

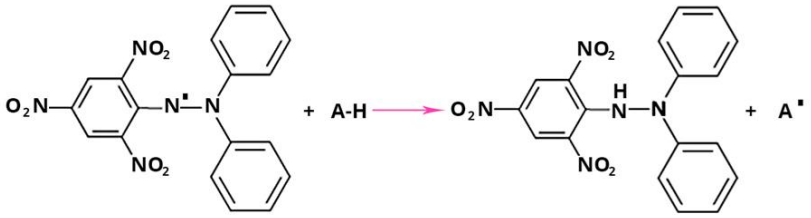


Figure 27 : Mécanisme d'action de DPPH

Méthodes utilisées

La méthode utilisée est celle de [168] avec quelques modifications.

Une solution méthanoïque de DPPH (200 µM) a été préparée à chaque fois et maintenue à l'obscurité. 2,90 ml de la solution du méthanol (200 µM DPPH) est ajouté à 100 µl de l'extrait à étudier. La solution est mélangée et incubée à 37 C° pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc formé de 2,90 ml de la solution méthanoïque de DPPH (200 µM) et 100 µl de méthanol. Les échantillons à étudier et le témoin sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre

UV/visible. Pour exprimer directement l'activité antioxydante en fonction de la concentration, une courbe d'étalonnage (y= -0,8784x + 2,0281) est établie avec un coefficient de corrélation R^2= 0,9925 (Figure 28), avec x qui est égale à la concentration de trolox en µg/ml et y la densité optique. Les résultats obtenus pour les échantillons sont exprimés en mg équivalent trolox par gramme de matière sèche (EqT/g MS).

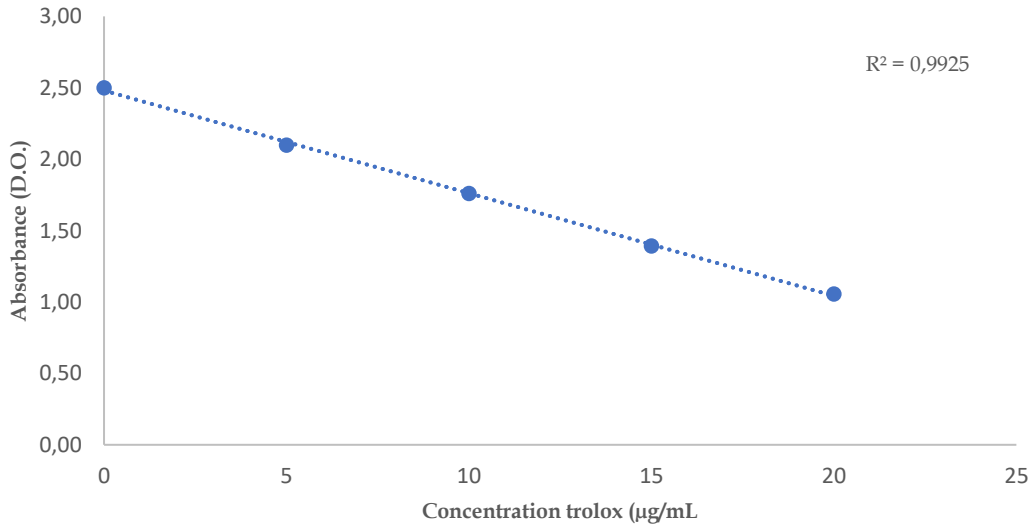


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de trolox dans une solution DPPH.

4.2.2.4.2. Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test de ABTS•+

- **Principe du test ABTS•+**

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique BTS•+ (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de coloration bleu verdâtre. Ce radical cationique est formé pour donner suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore par l'action de 2,2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) dans une solution tamponnée avec du phosphate

de potassium (KH_2PO_4). Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes : au cours de la première étape le radical $ABTS^{\bullet+}$ est formé par arrachement d'un électron e^- à un atome d'azote de l'ABTS. Dans la deuxième étape, le radical d'azote piège un $H^\bullet$ l'antioxydant (trolox) (ou d'donneur de $H^\bullet$), conduisant à l'ABTSH+, ce qui entraîne la décoloration de la solution (Figure 29).

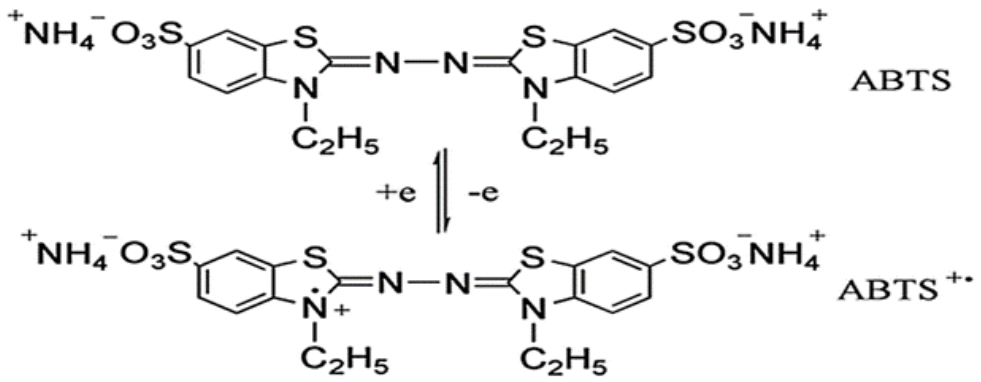


Figure 29 : Formation et piégeage du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de $H^\bullet$

Méthodes utilisées

La méthode utilisée est celle décrite par [157] avec quelques modifications. Ainsi, 1 mM de AAPH (2,2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride) et 2,5 mM d'ABTS ((sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique) sont préparés en utilisant une solution tampon formée de 100 mM de phosphate de potassium (KH_2PO_4) et de 150 mM de chlorure de sodium (NaCl) à pH = 7,4. La solution obtenue est incubée dans un bain marie à 68°C pendant 30 min jusqu'à l'obtention d'une solution bleu-verdâtre.

L'absorbance de la solution obtenue est mesurée à 734 nm puis réglée avec du méthanol jusqu'à avoir une absorbance de 0,7±0,05. 2,94 ml de la solution $ABTS^{\bullet+}$ sont ajoutés à 60 µl de chaque échantillon à tester puis incubés pendant 30 min à 37 °C à

l'abri de la lumière. Le témoin est préparé de la même manière mais avec 60 µl de méthanol. Ainsi, la décroissance de l'absorbance est mesurée à 734 nm.

La courbe d'étalonnage (y=-0,2023x + 0,5099) est réalisée à partir des absorbances en fonction des différentes concentrations de trolox avec une coefficient corrélation de R^2= 0,9807 (Figure 30), avec x qui est égale à la concentration de méthanol et y la densité optique correspondante. Les résultats obtenus sont exprimés en équivalent trolox par gramme de matière sèche (EqT/g MS)

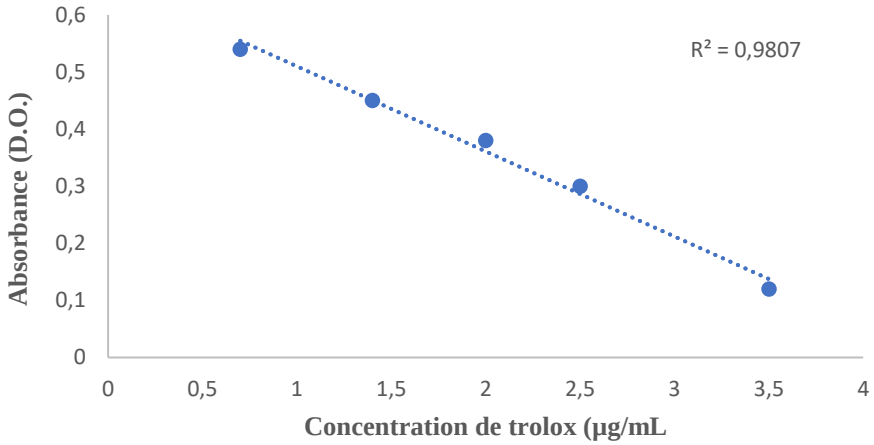


Figure 30 : Courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de trolox dans une solution ABTS$^{\bullet+}$.

4.2.2.5. Chromatographie

La chromatographie est une technique de séparation de composés chimiques, dans un mélange homogène liquide ou gazeux. Cette méthode est basée sur les différences d'interaction entre une phase mobile contenant des composés chimiques et une phase stationnaire. La phase stationnaire est un solide et le mécanisme de la séparation est

basé sur une adsorption à la surface de la phase stationnaire d'un mélange de solutés, suivi d'une désorption différentielle des solutés entrainés par un éluant [169].

Les méthodes chromatographiques peuvent être classées en fonction de la nature des phases utilisées : la phase stationnaire peut être solide ou liquide et la phase mobile peut être gazeuse ou liquide :

- Chromatographie en phase gazeuse : la phase mobile est appelée gaz vecteur.
- Chromatographie en phase liquide : la phase mobile est appelée éluant.

4.2.2.5.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est de nos jours l'un des outils les plus puissants de la chimie analytique. C'est une technique de chromatographie sur colonne simple hautement améliorée. Au lieu de laisser l'éluant s'égoutter à travers une colonne par gravité, l'éluant est introduit dans la colonne sous haute pression [169]. Un appareil de HPLC est composé d'une pompe qui délivre l'éluant sous pression et une colonne couplée à un détecteur.

a) L'injecteur et la pompe

L'injecteur est une vanne qui comporte une boucle d'injection de taille définie (10 et 100 µL) et qui permet de placer une quantité finie de l'échantillon à analyser en tête de colonne. Une pompe pouvant atteindre des pressions élevées d'environ 200 bars (20 000 kPa) ou plus qui permet de pousser l'éluant dans la colonne. Elle peut délivrer un éluant soit de composition fixe en mode isocratique, soit de composition variable en mode gradient.

b) La colonne

Généralement, le diamètre intérieur des colonnes conventionnelles varie de 4 à 10 mm et la longueur est d'environ 5 à 30 cm. Elles peuvent être allongées en couplant une ou plusieurs colonnes. La taille des particules de la phase stationnaire est d'environ 2 à 10 µm. La colonne est remplie par la phase stationnaire qui est choisie en fonction de la nature des solutés et de la polarité relative de l'éluant. Afin de réaliser notre étude, nous avons opté pour l'utilisation d'une colonne phase inverse C18. Des solvants polaires sont utilisés comme éluant. Il n'y aura pas autant d'attraction entre les chaînes hydrocarbonées attachées à la silice et les molécules polaires dans la solution. Les molécules polaires du mélange passent donc la plupart de leur temps à se déplacer avec le solvant et elles sont éluées de la colonne plus tôt que les molécules non polaires.

c) Le détecteur

En HPLC, les détecteurs sont spécifiques à chaque application. Le choix d'un détecteur dépend des caractères et des concentrations des composés à séparer et à analyser. Les différents détecteurs qui sont utilisées en HPLC sont : détecteur d'absorption UV, détecteurs d'absorbance infrarouge, détecteurs de fluorescence, détecteurs électrochimiques, détecteurs réfractométriques et détecteurs par spectrométrie de masse [170]. La détection est souvent multiple par le couplage de deux détecteurs. Le couplage d'un détecteur UV à barrettes diodes et d'un détecteur de spectrométrie de masse a été utilisé lors de nos analyses.

- **Détecteur d'absorption UV**

Le détecteur d'absorption UV est plus couramment utilisé aujourd'hui comme détecteur HPLC car de nombreux composés absorbent dans la région UV (ou visible) (de 190 à 600 nm) [171]. L'absorbance est déterminée par la fraction de lumière transmise à travers une cellule de détection. Il existe trois types de détecteurs UV différents :

- Les détecteurs à longueur d'onde fixe qui reposent sur des longueurs d'onde distinctes.
- Les détecteurs à longueur d'onde variable qui peuvent être réglés pour fonctionner au maximum d'absorbance d'un analyte ou à une longueur d'onde offrant une plus grande sélectivité.
- Les détecteurs à matrice de photodiodes (PDA) qui ont un chemin optique similaire à celui des détecteurs à longueur d'onde variable, à l'exception du fait que la lumière traverse la cellule d'écoulement avant de frapper le réseau, ce qui lui permet d'étaler le spectre sur une matrice de photodiodes.

❖ **Détecteur par spectrométrie de masse**

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qualitative et quantitative permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par la mesure de leur rapport masse sur charge (*m/z*) et ainsi de caractériser leur structure chimique. Il fournit une spécificité en raison de : sa capacité à donner accès à la masse sélectionnée de la forme ionisée de l'analyte sous la forme d'un rapport (*m/z*), sa sensibilité en raison de l'amélioration du rapport sur bruit et sa vitesse d'analyse [170].

Le couplage d'une HPLC avec un détecteur de spectrométrie masse (Figure 17) augmente considérablement la sensibilité de détection, ce qui fournit un outil d'analyse particulièrement puissant.

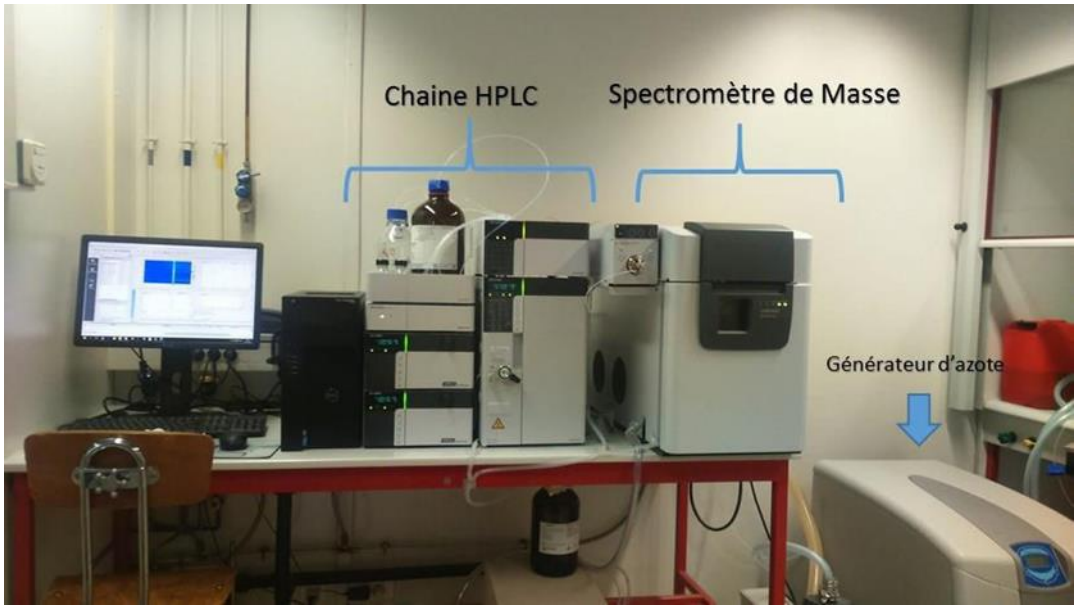


Figure 31 : Appareillage Shimadzu LC-MS 2020.

Le spectromètre de masse est constitué d'une source d'ionisation, d'un analyseur de masse et d'un détecteur d'ions :

- Source d'ionisation : La source d'ionisation par électrospray ou electronébulisation (ESI) est l'une des techniques d'ionisation adaptée pour les échantillons sous forme liquide [170].

Le couplage entre la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse est courant dans la chimie analytique. En premier lieu, la chromatographie sépare les composés au sein de mélanges complexes. Deux techniques sont le plus souvent utilisé en LC-MS. Il s'agit de l'ionisation par électronébulisation ou electrospray (ESI) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). Ces techniques sont adaptées pour les

échantillons sous forme liquide. Seule la technique par électronébulisation sera décrite dans cette étude.

Trois processus permettent de décrire la technique par électronébulisation :

- ✓ La formation de gouttelettes électriquement chargées
- ✓ L'explosion de ces gouttelettes en de plus petites
- ✓ La formation des ions en phases gazeuse

4.2.3 Traitement des données

Toutes les expériences ont été menées en trois exemplaires et les résultats, analysés à l'aide du logiciel SPSS Statistiques 17.0 si nécessaire, ont été rapportés avec des moyennes ± écart-type (S.D). Le logiciel Excel est utilisé pour rentrer les données, qui correspondent aux DO lus pour chaque extrait. Ces valeurs sont saisies après avoir soustrait celles du témoin. Il est utilisé pour tracer des courbes de régression et les différentes concentrations des extraits.

Le logiciel KC Junior 1-31-5 (Bio-teck Instrument Inc. USA) a permis de lire les DO et déterminer les spectres UV effectués à l'aide d'un spectrophotomètre (µQuant Bio-teck Instrument Inc. USA) couplé à un ordinateur. Une analyse de variance (facteur unique ANOVA) a été utilisée pour comparer les moyennes lorsque cela était nécessaire. Le niveau de signification a été défini à 5%.

Pour évaluer les quantités des étalons dans chaque plante, une courbe d'étalonnage à trois niveaux est réalisée pour donner suite à l'injection (3 répétitions) de concentrations connues.

L'efficacité de la méthode est évaluée en déterminant les limites de détection (LOD) et les limites de quantification (LOQ), suivant les formules :

$$LOD = {}^{3\sigma}/_{a} \quad LOQ = {}^{10\sigma}/_{a} \quad \text{avec,}$$

- $\partial = \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{n-1}}$
- a : pente de la courbe de calibration des aires en fonction de la concentration ;
- Y : aire moyenne ;
- Yi : aire moyenne recalculée avec les coefficients de la droite de la régression ;
- n : est le nombre des dilutions réalisés.

A noter que ces calculs sont automatisés grâce à la méthode d'analyse utilisée pour chaque plante et les analyses en trois répétitions.

4.3 Résultats

4.3.1 Composition chimique des plantes

L'analyse phytochimique des deux plantes testées révèle la présence de plusieurs composés phytochimiques (tableau 14). Il s'agit des tanins, des saponines, des flavonoïdes et les composés polyphénoliques. On note une absence d'alcaloïdes au niveau de *Prosopis africana* et quelques traces au niveau de *Anogeissus leiocarpa*.

Tableau 14 : Composés chimiques des écorces de tige des deux plantes

Espèce	Alcaloïdes	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins	Saponines
Anogeissus leiocarpa	+	++	++	++	++
Prosopis africana	-	++	++	++	+

+ + = réaction très positive, + = réaction moyennement positive, - = test négatif.

4.3.1 Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés par spectrophotométrie (UV-visible)

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés des deux plantes sont présentées par les figures 18. Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient d'une plante à l'autre. Les écorces de tronc de *Anogeiusus leiocarpa* possède la teneur la plus élevée en polyphénols totaux (21,51 ± 0,02 mg EAG/g). L'analyse statistique a montré qu'il y a une différence significative ($p = 0,0001$) entres les moyennes des teneurs en polyphénols totaux de *A. leiocarpa* et de *P. africana* (10,46 ± 0,15 mg EAG/g) (figure a). La plus forte teneur moyenne de flavonoïdes a été enregistrée chez *A. leiocarpa* (82,02 ± 0,23 mg EC/gMS). Cette teneur moyenne est significativement différente ($p < 0,0001$) de celle obtenue chez *P. africana* (23,51 ± 0,04 mg EC/gMS) (figure b). Il est a noté que les écorces de tronc de *P. africana* avaient une teneur moyenne plus élevée en tanins condensés (31,53 ± 0,04 mg EC/ gMS) que ceux de *A. leiocarpa* (7,16 ± 0,02 mg EC/ gMS). Cette différence de teneur en tanins condensés est statistiquement différente entre ces deux espèces végétales ($p < 0,0001$) (figure c).

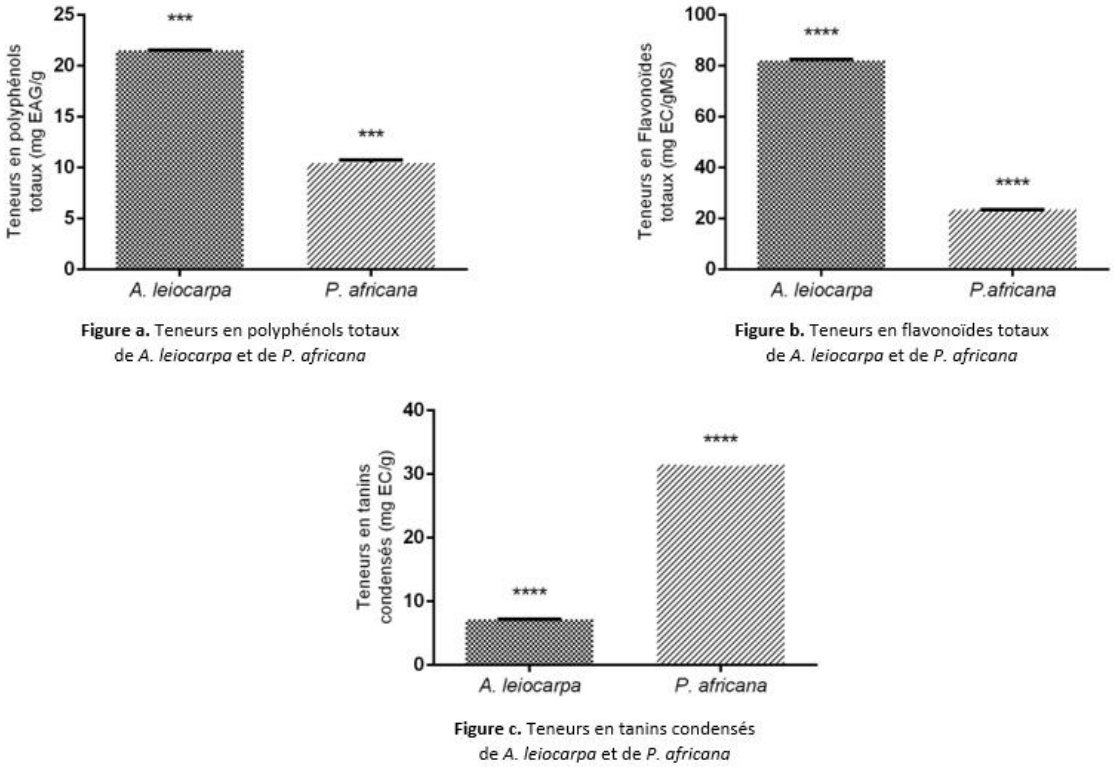


Figure a. Teneurs en polyphénols totaux de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

Figure b. Teneurs en flavonoïdes totaux de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

Figure c. Teneurs en tanins condensés de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

Figure 32 : Teneurs en composés phénoliques de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

4.3.3 Evaluation des activités anti-oxydantes (AAO) des extraits des écorces de *Prosopis africana* et de *Anogeisus leiocarpa*

La figure 19 présente les activités anti-oxydantes des extraits vis-à-vis du radical DPPH et du sel radical **ABTS$^{\bullet+}$**. L'AAO la plus élevée vis à vis du radical DPPH a été obtenue avec l'extrait de *Prosopis africana* (22,92 ± 0,15 mg/g MS) tandis que l'AAO de *Anogeissus leiocarpa* était de 22,64 ± 0.05 mg/g MS. Cependant, contrairement au test du DPPH, avec le test du sel d'ABTS, la valeur de l'AAO la plus élevée a été obtenue chez *Anogeissus leiocarpa* (16,39 ± 0.04 mg/g MS). Cette inversion de résultat s'explique par la solubilité plus grande en solution aqueuse des agents anti-oxydant contenus dans l'extrait d'*Anogeissus leiocarpa.* Il faut noter la différence d'activité antiradicalaire de *A. leiocarpa* vis-à-vis des radicaux DPPH et ABTS était statistiquement significative ($p < 0,0001$). De même pour l'extrait de *P. africana*.

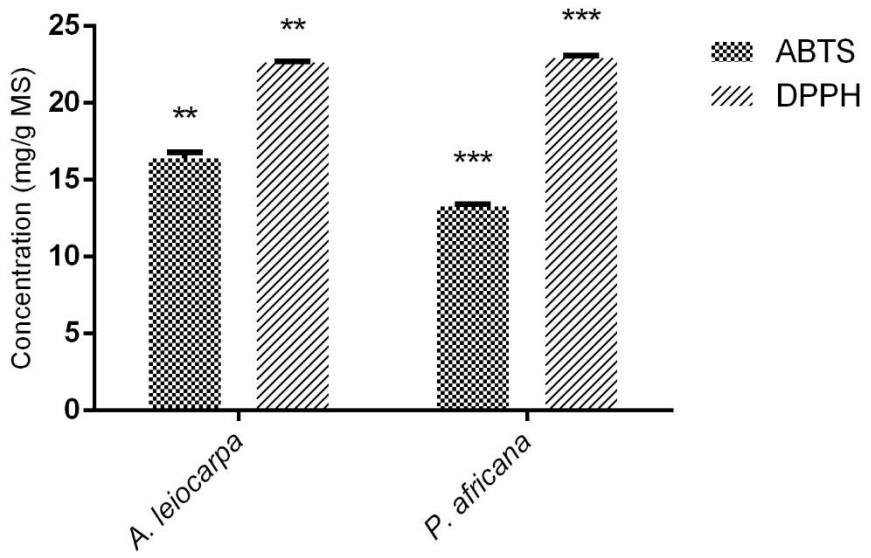


Figure 33 : Activités anti-oxydantes (DPPH et ABTS) des extraits éthanoliques de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

4.3.4 Nature et quantité des composés phénoliques des plantes de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

Les composés bioactifs sont identifiés et caractérisés l'aide d'un appareil Shimadzu LC-MS 2020 muni d'une colonne phase inverse "Ascentis C18'' couplé en série à un détecteur PDA "SPD-M20A'' et SM Quadripôle.

Les deux solvants d'élution sont l'eau (A) (acidifiée à 0.5% avec de l'acide formique) et l'acétonitrile (B). Le gradient utilisé pour analyser nos extraits de plantes est le suivant :

- de 0 à 15 min : gradient linéaire de 90 :10 (A : B) à 50 : 50 ;

- de 15 à 18 min : plateau de 50 : 50 ;

- de 18 à 20 min : gradient linéaire de 50 : 50 à 10 :90 ;

- de 20 à 22 min : gradient linéaire de 10 :90 à 90 :10 ;

- de 22 à 25 min : élution à 90 :10 (étape de rééquilibration).

a) Ecorce de *A. leiocarpa*

Deux composés phénoliques majoritaires ont été identifiés avec l'extrait hydro-alcoolique, à savoir : l'acide ellagique et la quercétine.

En appliquant le gradient ci-dessus, la figures 20 et 21 montrent une bonne séparation entre ces deux composés ; l'acide ellagique étant élué en premier avec un temps de rétention t_R=9,38 min puis après la quercétine avec un temps de rétention $t_{R=}$13,94 min. En revanche, avec l'extrait aqueux, seul l'acide ellagique apparaît relativement majoritaire.

Les profils chromatographiques des extraits alcooliques des écorces de ***A. leiocarpa*** sont représentés sur les figures 34 (PDA 360nm) et sur la figure 35 (SM en mode SIM).

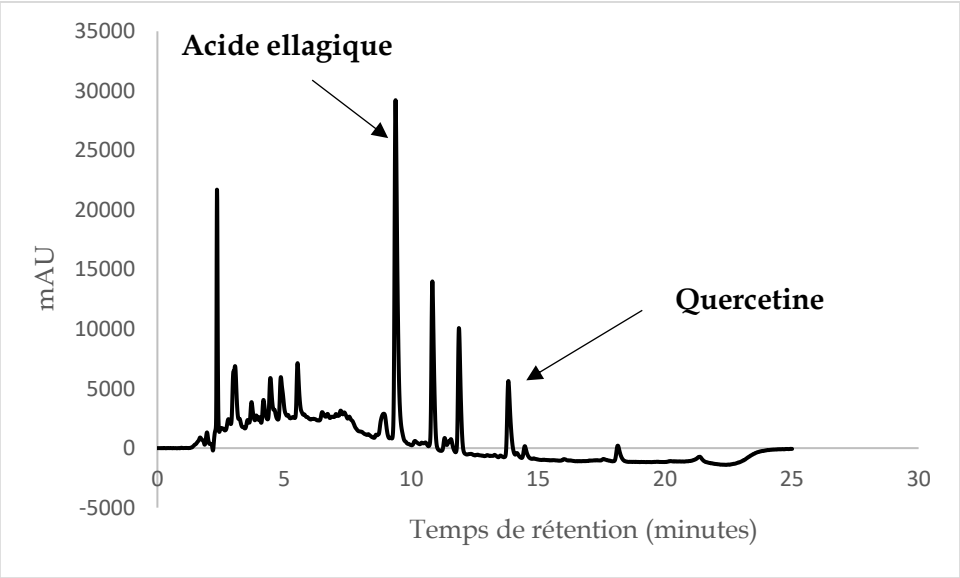
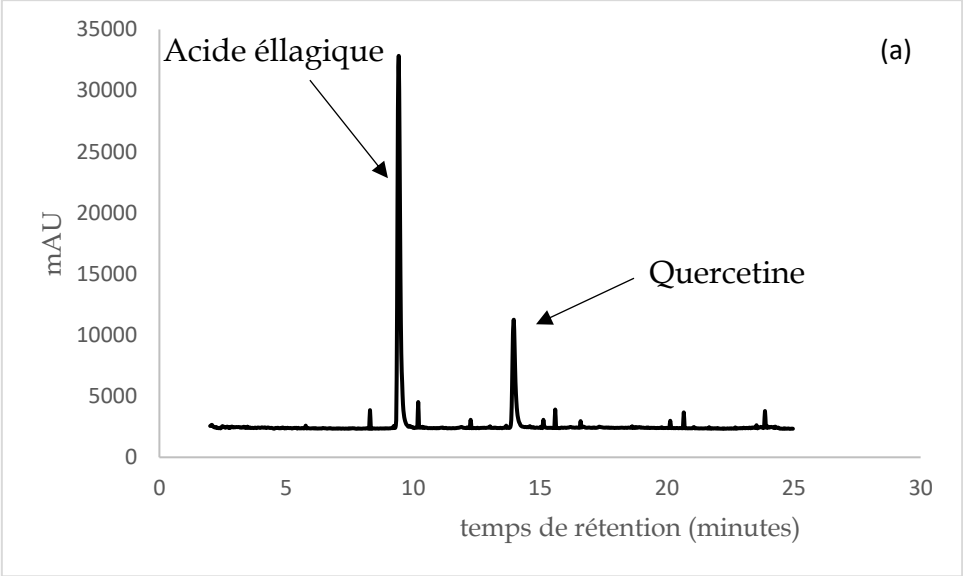


Figure 34 : Profil chromatographique (PDA-360nm) de l'extrait alcoolique de *A. Leiocarpa*



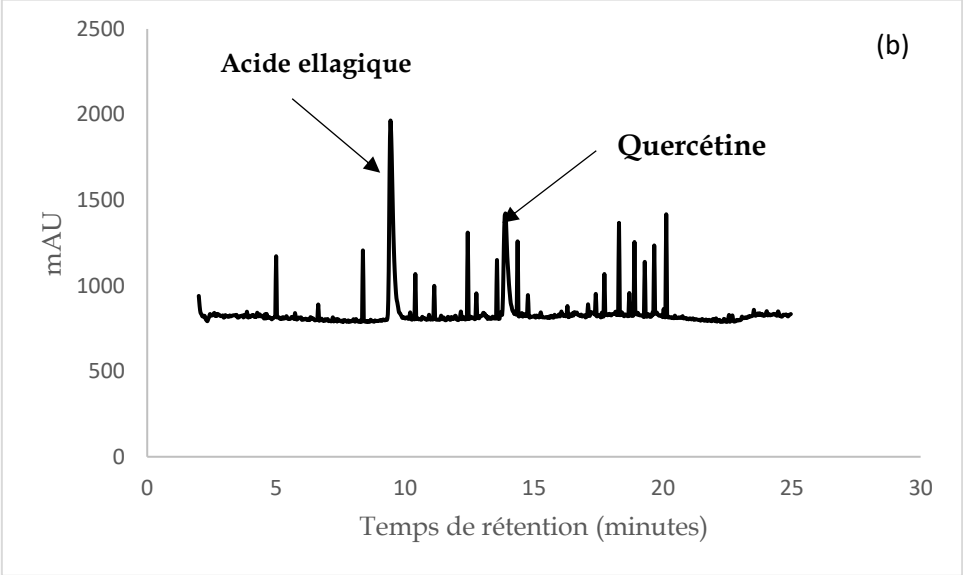


Figure 35 : Profils chromatographiques mode SIM (m/z = 301) d'écorce de *A. Leiocarpa* ; (a) l'extrait alcoolique (b) l'extrait aqueux

b) Ecorce de *P. Africana*

Les profils chromatographiques des extraits alcooliques des écorces de *P. africana* sont représentés sur la figure 36 (PDA 360nm) et sur la figure 37 (SM en mode SIM). La quercétine avec un temps de rétention t_R=13,94 min. L'analyse de ces figures a montré

que les extraits hydro alcooliques de *P. africana* sont très riches en quercétine (figure 13). Cependant, en solution aqueuse, la quantité de quercétine présente dans l'extrait *de P. africana* est en dessous de la limite de quantification, et est donc non déterminée.

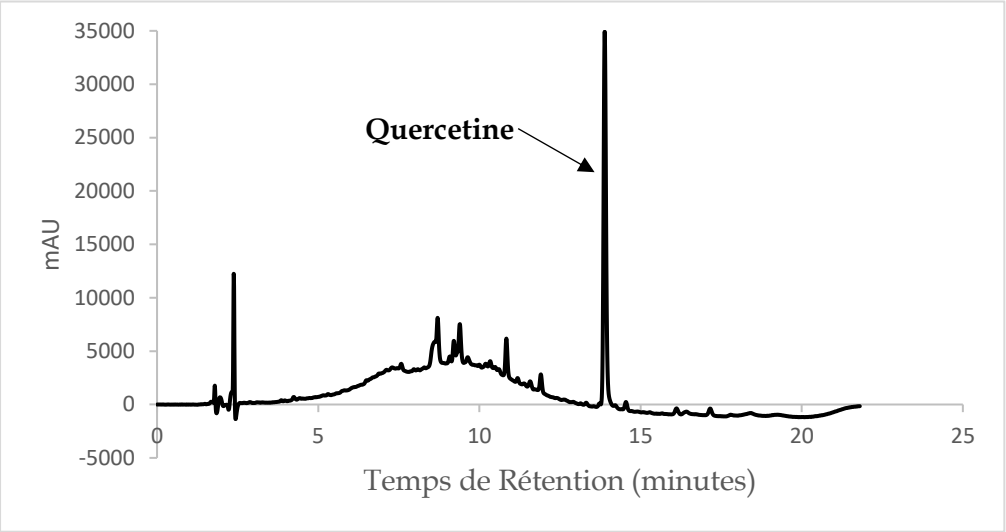


Figure 36 : Profil chromatographique (PDA-360 nm) de l'extrait hydro-alcoolique de l'écorce de *P. africana*.

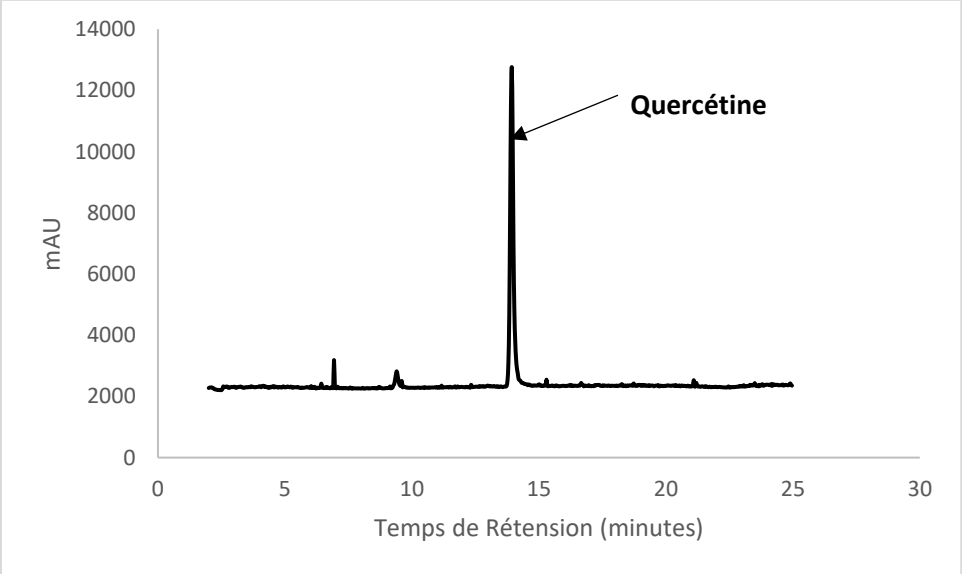


Figure 37 : Profil chromatographique en mode SIM (m/z = 301) de l'extrait hydro alccolique de l'écorce de *P. africana*.

Les résultats obtenus à partir de l'étude quantitative de ces deux composé bioactifs a montré que la concentration moyenne d'acide ellagique était de 1,39 ± 0,04 mg/g MS dans l'extrait aqueux de *A. leiocarpa* et de 17,90 ± 0,34 mg/g MS dans l'extrait hydro-alcoolique de la même espèce végétale (tableau 15). La comparaison de ces deux concentrations moyennes a montré qu'il y a une différence significative (p = 0.0004) de la concentration d'acide ellagique entre l'extrait aqueux et l'extrait hydro-alcoolique de *A. leiocarpa*. Pour ce qui est de la quercétine, sa concentration moyenne était de 1,26 ± 0,005 mg/g MS dans l'extrait aqueux et de 31,83 ± 1,13 mg/g MS dans l'extrait hydo-alcoolique. Le test de comparaison réalisé a montré qu'il y a une différence statistiquement significative (p = 0,0014) des concentrations moyennes de la quercétine obtenues entre les deux extraits utilisés de *A. leiocarpa*. La comparaison des concentrations moyennes d'acide ellagique et de la quercétine entre les deux types d'extrait de *A. leiocarpa* utilisés a montré qu'il n'y a pas, une différence statistiquement significative (p = 0,08) entre les concentrations moyennes de chacun des deux composés bioactifs obtenues à partir le l'extrait aqueux.

En ce qui concerne l'espèce végétale *P. africana*, le seul composé bioactif identifié est la quercétine. Il a été quantifié uniquement dans l'extrait hydro-alcoolique de la plante avec une concentration moyenne de 6,62 ± 0,56 mg/g MS. La comparaison des concentrations moyennes de la quercétine obtenues dans les extraits hydro-alcoolique de *A. leiocarpa* et de *P. africana* ont montré une différence statistiquement significative (p = 0,0003) (tableau 15).

Tableau 15 : Concentration des composés bioactifs des plantes de *A. leiocarpa* et de *P. africana*

		Concentrations des composés bioactifs (mg/g MS)	
Composés bioactifs	Types d'extraits	*A. leiocarpa*	*P. africana*
Acide ellagique	Extrait aqueux	1,39 ± 0,04[a]	ND
	Extrait hydro-alcoolique	17,90 ± 0,34[b]	ND
Quercétine	Extrait aqueux	1,26 ± 0,005[a]	ND
	Extrait hydro-alcoolique	31,83 ± 1,13[c]	6,62 ± 0,56[d]

A. leiocarpa : *Anogeisus leiocarpa ; P. africana* : *Prosopis africana ; Toutes les concentrations moyennes avec des lettres différentes sont significativement différentes.*

La chromatographie des extraits des deux plantes étudiées a indiqué la présence majoritaire d'acide ellagique et de la quercétine dans les écorces de *Anogeisus leiocarpa* alors que, seule la quercétine était présente dans les extraits d'écorces de *Prosopis africana*.

4.4 Discussion

Les plantes constituent un réservoir de molécules aux propriétés biologiques utiles pour le programme moderne de découverte de médicaments. Parmi les classes connues de composés bioactifs, les polyphénols les flavonoïdes et les tanins sont bien connus pour leur potentiel thérapeutique [172], 140, 141]

Au cours de la présente étude, les tests préliminaires de phytochimie révèlent clairement la présence de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés dans les extraits hydro alcooliques des écorces de tronc de *Prosopis africana* et de *Anogeissus leiocarpa.*

Nos résultats sont en concordance avec ceux trouvés par [142, [176] qui ont montré aussi la présence de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés dans les racines de *Anogeissus leiocarpa* récoltées au Togo. Les auteurs indiquent également la présence des mêmes métabolistes secondaires dans les feuilles et les écorces de la même espèce de plante récoltée en Côte d'Ivoire. Selon [177], les feuilles, les écorces de racines et les tiges de cette espèce récoltée au Nigéria sont riches en flavonoïdes.

En ce qui concerne, l'espèce *Prosopis africana*, les fruits récoltés au Nigéria contiennent des tanins, des polyphénols et peu de flavonoïdes [178].

Tout ceci montre une diversité dans la concentration des métabolistes secondaires en fonction du lieu de récolte et des différentes parties de plante choisies. En effet, de nombreux auteurs ont expliqué la différence de composition chimique des plantes d'une même espèce et d'une même zone phytogéographique en fonction du type de

sol, de la saison de la récolte, du lieu de la récolte et des parties de plantes récoltées [146, 147, 148].

Le screening (Tableau 1) a montré d'une part, l'absence des alcaloïdes dans les écorces de *Prosopis africana*, tandis que celles d'*Anogeissus leiocarpa* en contiennent peu, et d'autre part la faible présence des saponosides chez *Proposis africana* contrairement à *Anogeissus leiocarpa*. Cette différence de composition pourrait orienter le choix de l'utilisation de l'une ou l'autre de ces plantes pour le traitement de différentes affections, en plus de celui des affections bucco-dentaires. *Anogeissus leiocarpa* et *Proposis africana* pourrait être utilisées pour le traitement des œdèmes, les inflammations. De plus comme le mentionne [147 ,149], *Anogeissus leiocarpa* peut être utilisée comme analgésique car il contient quelques alcaloïdes et des saponosides.

Les analyses colorimétriques par spectroscopie UV-visible permettent de quantifier les teneurs en polyphénols totaux, en tanins condensés et en flavonoïdes totaux. Les résultats ont montré que l'extrait hydroalcoolique des écorces de *Anogeissus leiocarpa* contenaient plus de polyphénols totaux et de flavonoïdes totaux que les extraits des écorces de *Prosopis africana*. Tandis que, l'extrait de *Prosopis africana* est beaucoup plus riche en tanins condensés que l'extrait de *Anogeissus leiocarpa.* Plusieurs auteurs ont également montré une forte teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés dans différentes parties de *Anogeissus leiocarpa*. En effet, [183] ont rapporté que les racines de *A. leiocarpa* avait une concentration de 74 mg EAG/g MS en polyphénols totaux, de 42 mg EC/g MS en flavonoïdes totaux et 63 mg EC/g MS de tanins condensés. Les résultats obtenus par [176] montrent que la teneur en polyphénols totaux dans les extraits des feuilles et des écorces de *A. leiocarpa* sont de

257 mg EAG/g MS et de 274 mg EAG/g MS respectivement. Les teneurs en flavonoïdes totaux dans les mêmes extraits (feuilles et écorces) sont de 89 mg EC/g MS et de 33 mg EC/g MS respectivement. Et, les teneurs en tanins condensés dans les mêmes extraits (feuilles et écorces) sont 18 mg EC/g MS et de 10 mg EC/g MS respectivement.

Ces résultats confirment la forte présence de ces trois principaux composés dans les écorces de racine de *A. leiocarpa*. Dans le cas de nos extraits une forte teneur aussi bien en flavonoïdes qu'en polyphénols et qu'en tanins condensés dans les écorces de *A. leiocarpa* a été observée.

Les écorces de *P. africana* sont bien connues pour leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et antivirales élevées, apportées par la présence de tanins condensés selon [147, 151] et de flavonoides selon [147 ,152, 153]. [187] ont montré qu'il y une faible présence de tannins condensés (13 mg EC/g MS) et de polyphénols (9,4 EAG µg/g MS) dans la graine et la gousse de *P. africana*. Dans notre cas, qui porte sur des extraits d'écorce de tige de *P. africana* les résultats obtenus indiquent la présence de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés.

Les antioxydants, connus sous le nom de piégeurs de radicaux, chélateurs de métaux, décomposeurs de peroxydes, donneurs d'électrons, extincteurs d'oxygène singulet, sont essentiels au bon fonctionnement de l'organisme car ils aident à prévenir des maladies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires ou la maladie d'Alzheimer [188]. [176] ont montré également que les feuilles et l'écorce de *Anogeisus*

leiocarpa possédaient aussi une bonne activité antioxydante. Nos résultats sont donc en accord avec ceux des auteurs précédents.

Selon [189], les extraits éthanoliques de feuille de *P. Africana* ont un pouvoir anti oxydant, évalué par des tests ABTS et DPPH, supérieur à celui de l'acide ascorbique à concentration égale. L'évaluation par des tests de ABTS et de DPPH de nos extraits hydro alcooliques de *Prosopis africana* indique également un fort pouvoir antiradicalaire. Ces deux espèces végétales possèdent alors une activité antioxydante intéressante.

Il a été démontré que l'acide ellagique possède des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antifibrotiques, antiathérogènes, antimutagènes, antioxydantes et anticancéreuses [190], 158, 159, 160]. La quercétine, quant à elle, est largement répandue dans les fruits, les plantes médicinales et possède de nombreuses fonctions biologiques et pharmacologiques précieuses, telles que des activités antioxydantes, antibactériennes, anticancéreuses, antivirales, anti-inflammatoires et antidiabétiques [161, [195], 163]. Ainsi, la présence de ce composé dans les deux espèces végétales étudiées justifie le fait que ces deux plantes soient majoritairement utilisées pour traiter les affections bucco-dentaires au Bénin car elles sont douées d'activité antibactérienne comme le montre les travaux de [114].

Certains auteurs ont rapporté la présence de quercétine comme flavonoïdes majoritaire aussi bien dans les écorces de *A. leocarpa* que dans celle de *P. africana*. Dans cette étude pour la première fois la quercétine a été quantifiée.

Conclusion

Les écorces de *Anogeissus leiocarpa* et de *Prosopis africana* sont composées de polyphénols, de flavonoïdes et des tanins. Sur le plan quantitatif, les deux espèces ont de très bonnes teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux avec une analyse chromatographique qui a révélé la présence d'acide ellagique et de la quercétine. Ces composés sont connus pour leurs multiples activités biologiques dont les plus importants sont les activités antibactériennes, antifongiques, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antioxydantes.

Ceci justifie d'ailleurs les bonnes activités antioxydantes et antibactériennes des écorces de ces deux espèces végétales démontrées respectivement dans cette étude.

DISCUSSION GENERALE

L'objectif général de cette étude était de contribuer à la valorisation des ressources végétales locales dans la santé bucco-dentaire. Pour atteindre cet objectif, nous avions dans un premier temps étudié la connaissance ethnobotanique des plantes à usage bucco-dentaire au Bénin. Les résultats, de cette première partie de notre étude, nous a révélé que la connaissance ethnobotanique des plantes à usages bucco-dentaire était influencée par la zone phytogéographique, l'ethnie et le niveau d'instruction des individus enquêtés. Les espèces végétales à usages médicinales constituent des apports excellents dans les soins de santé pour les populations pauvres comme celles du Bénin. Pour ce qui est des espèces végétales à usages bucco-dentaire au Bénin, elles représentent une véritable source de revenus supplémentaires pour les femmes et les jeunes ruraux [197]. Outre le fait d'être un moyen d'hygiène bucco-dentaire le plus approprié aux conditions économiques et sociales de la grande majorité des populations africaines, ces produits forestiers non ligneux (PFNL) sont à l'origine de plusieurs considérations alimentaires, ethniques et culturelles selon les groupes ethniques et la zone phytogéographique [198]. Ainsi, selon l'ethnie et la zone phytogéographique, l'espèce végétale et/ou la recette de plantes utilisée pour traiter les affections bucco-dentaires au Bénin change. Au Bénin, plusieurs études ont rapporté que le niveau d'instruction des enquêtés est un facteur qui influence la connaissance des plantes médicinales et les pratiques de la médecine traditionnelle au Bénin, avec une majorité des enquêtés qui est analphabète. Ce qui nous amène à dire que la pratique de la médecine traditionnelle au Bénin est l'apanage des populations majoritairement analphabètes. Bien que le sexe et l'âge de nos enquêtés n'influencent

pas la connaissance ethnobotanique des plantes à usages bucco-dentaires, ils demeurent des facteurs permettant une compréhension de cette connaissance. Dans la culture des Béninois, la femme est celle qui s'occupe du bien être de sa famille. Ainsi donc, elle est impliquée dans la santé bucco-dentaire des membres de sa famille. Ce qui explique la forte représentation des femmes dans notre étude. La connaissance des plantes médicinales et la pratique de la médecine traditionnelle au Bénin nécessitent une expérience, donc demeurent l'apanage des individus d'un certain âge. Ce qui explique la prédominance des personnes adultes dans nos enquêtés. Néanmoins, la connaissance et l'usage des plantes médicinales au Bénin se transmet d'une génération à une autre. De plus, pour se soigner les jeunes béninois j'adonnent à la médecine traditionnelle par manque de moyen financier. C'est ce qui justifie les 15,38 % de jeunes enquêtés dans notre étude. Sur les 347 espèces végétales utilisées par la population béninoise pour le traitement des affections bucco-dentaires. Dix (10) (*Anogeissus leiocarpa, Azadirachta indica, Bridelia ferruginea, Dialium guineense, Diospyros mespiliformis, Parkia biglobosa, Prosopis africana, Pseudocedrela kotschyi Vitellaria paradoxa et Zanthoxylium zanthoxyloïdes*) de ces espèces végétales sont largement citées par nos enquêtes et sont majoritairement utilisées pour le traitement des affections comme la carie dentaire (43,90 %), la mauvaise haleine (21,09 %) et les troubles de dentition (15,49 %).

Pour une meilleure promotion et justifié de façon scientifique les informations recueillies des enquêtés sur les potentiels thérapeutiques des 10 espèces végétales les plus citées, nous avons décidé dans un second temps d'évaluer la cytotoxicité et l'activité antimicrobienne de ces plantes sur quelques souches bactériennes. Le test de

cytotoxicité a été effectué pour avoir de façon préliminaire une idée sur le degré de toxicité des extraits des 10 plantes utilisées. Sur les 10 plantes, seuls les extraits de *Zanthoxylum zanthoxyloides* ce sont montrés cytotoxiques. Ainsi, les extraits de *Anogeissus leiocarpa ; Azadirachta indica ; Bridelia ferruginea ; Dialium guineense ; Diospyros mespiliformis ; Parkia biglobosa ; Prosopis africana ; Pseudocedrela kotschyi* et de *Vitellaria paradoxa* sont non cytotoxique. Ce qui garantit leur utilisation thérapeutique pour le traitement des affections bucco-dentaires et sans aucun risque pour la santé humaine. Cependant, il est nécessaire d'approfondis ce test avec des tests de toxicité aigüe et chronique pour s'assurer de la non-toxicité de ces plantes. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des 10 plantes utilisées a été réalisée sur 6 souches bactériennes, dont 2 souches de références (*Staphylococcus aureus ATCC 25923 and Escherichia coli ATCC 25922*) et 4 souches cliniques (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Staphylococcus epidermidis*). Les extraits de *Prosopis africana* et de *Anogeissus leiocarpa* étaient les plus actif sur 83,3 % des souches bactériennes testées avec de très bons diamètres d'inhibition et de bonne concentration minimale d'inhibition. Ces deux plantes constituent alors de bon candidat pour des études plus approfondie pour identifier et quantifié leur composition en principes actifs.

C'est à cela que nous nous sommes attelés dans la troisième et dernière partie de notre étude. Il était question de réaliser le screening phytochimique et de doser le pouvoir antioxydant des extraits de *Prosopis africana* et de *Anogeissus leiocarpa.* La présence de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés a été révélé dans les extraits de *Prosopis africana* et de *Anogeissus leiocarpa.* Ces trois composés sont connus pour

leurs potentiels antibactérien et antioxydant [147 ; 150 ; 152]. Ce qui justifie ainsi, que ces deux plantes soient majoritairement utilisées pour traiter les affections bucco-dentaires au Bénin car elles sont douées d'activité antibactérienne [164].

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La connaissance ethnobotanique sur les plantes à usages bucco dentaires a un intérêt particulier au Bénin. Ainsi, l'usage des plantes dans le traitement des affections bucco dentaires au Bénin dépend de la zone phytogéographique, l'ethnie et du niveau d'instruction de l'utilisateur.

Compte tenu de ces variabilités, au cours d'une enquête ethnobotanique, nous avons réussi à répertorier 347 espèces végétales utilisées pour traiter les affections bucco dentaires comme la carie dentaire, les troubles de dentition, la mauvaise haleine, la gingivite, le noma, l'apthe, le muget et l'odontalgie. Les espèces les plus utilisées étaient *Zanthoxylum zanthoxyloides, Vitellaria paradoxa, Prosopis africana, Dialium guineense, Pseudocedrela kotschyi, Parkia biglobosa, Azadirachta indica, Diospyros mespiliformis, Anogeissus leiocarpa et Bridelia ferruginea*.

Une étude de la cytotoxicité larvaire de ces dix plantes a révélé que seule une d'entre elle : *Z. zanthoxyloides* s'avère être cytotoxique. De plus l'étude de l'activité antibactérienne menée sur les souches cliniques de *Escherichia coli* ATCC 25922 et de

Klebsiella pneumoniae ont permis de sélectionner les extraits d'écorces de de *A. leiocarpa* et de *P. africana* comme étant les plus actifs.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de ces deux plantes indiquent qu'une corrélation positive peut être établie entre l'activité antibactérienne et antiradicalaire.

Pour la première fois, ce travail a permis, grâce à des analyses LC-UV/ESI MS, de mettre en évidence que les principaux flavonoïdes contenus dans les extraits d'écorces de *A. leiocarpa* et de *P. africana* sont l'acide ellagique et la quercétine.

En termes de perspectives, il serait intéressant de développer les points suivants :

- Approfondir les tests pharmacologiques et toxicologiques *in vivo* pour attester de l'efficacité et de la sécurité de ces plantes.

- Proposer des formes galéniques afin de moderniser leur utilisation dans l'hygiène et le traitement des maladies bucco-dentaires

- Vulgariser cette méthodologie à d'autres ressources végétales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] M. Muller-Bolla and S. Doméjean, "Sucres et santé bucco-dentaire," *Cah. Nutr. Diététique*, vol. 53, no. 6, pp. 341–346, 2018.

[2] A. Sheiham, "Oral health, general health and quality of life." SciELO Public Health, 2005.

[3] R. G. Watt, "Strategies and approaches in oral disease prevention and health promotion," *Bull. World Health Organ.*, vol. 83, pp. 711–718, 2005.

[4] C. P. Gnanglè, R. Glèlè Kakaï, A. E. Assogbadjo, S. Vodounnon, J. Afouda Yabi, and N. Sokpon, "Tendances climatiques passées, modélisation, perceptions et adaptations locales au Bénin," *Climatologie*, no. Volume 8, pp. 27–40, 2011.

[5] A. Le Grand and P. A. Wondergem, "Les phytotherapies anti-infectieuses de la foretsavane, Senegal (afrique occidentale) I. Un inventaire," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 21, no. 2, pp. 109–125, 1987.

[6] H. Lamendin, G. Toscano, and P. Requirand, "Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires," *EMC-Dentisterie*, vol. 1, no. 2, pp. 179–192, 2004.

[7] F. Kanouté, "Intégration sociale et scolaire des familles immigrantes au Québec," *Informations Soc.*, no. 7, pp. 64–74, 2007.

[8] L. Rasingam, "Ethnobotanical studies on the wild edible plants of Irula tribes of Pillur Valley, Coimbatore district, Tamil Nadu, India," *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 2, no. 3, pp. S1493–S1497, 2012.

[9] A. Janot, P.-O. Vandanjon, and M. Gautier, "A generic instrumental variable approach for industrial robot identification," *IEEE Trans. Control Syst. Technol.*, vol. 22, no. 1, pp. 132–145, 2013.

[10] K. Almas and Z. Al-Zeid, "The immediate antimicrobial effect of a toothbrush and miswak on cariogenic bacteria: a clinical study.," *J. Contemp. Dent. Pract.*, vol. 5, no. 1, pp. 105–114, 2004.

[11] R. I. Al Sadhan and K. Almas, "Miswak (chewing stick): a cultural and scientific heritage," *Saudi Dent J*, vol. 11, no. 2, pp. 80–88, 1999.

[12] A. Baba-Moussa, "Prévention des maladies du parodonte le bâtonnet frotte-dents: une solution pour l'Afrique." Thèse de Doctorat en Chirurgie Dentaire, Université de Nancy, 1975.

[13] C. V Djossou, "La brosse végétale: Moyen traditionnel d'hygiène bucco-dentaire des Africains p. 7," 1985.

[14] B. U. Metzler-Zebeli *et al.*, "Nonstarch polysaccharides modulate bacterial microbiota, pathways for butyrate production, and abundance of pathogenic Escherichia coli in the pig gastrointestinal tract," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 76, no. 11, pp. 3692–3701, 2010.

[15] T. J. D. Akpona, R. L. Glèlè Kakai, and A. H. Akpona, "Ethnobotanique et structure des peuplements d'espèces de brosse végétale au Sud et au Centre du Bénin," *Bull. la Rech. Agron. du Bénin*, vol. 63, pp. 1–12, 2009.

[16] E. J. Adjanohoun, V. Adjakidje, and M. R. A. Ahyi, "Aké assi," *L., Akoegninou,*

A., d'Almeida, J., Apovo, F., Boukef, K., Chadare, M., Cusset, G., Dramane, K., Eyme, J., Gassita, J.-N., Gbaguidi, N., Goudote, E., Guinko, P., Houngnon, P., Lo, I., Keita, A., Kiniffo, HV, Kone-Bamba, D., Musampa Nseyya, A., Saadou, M., , pp. 55–63, 1989.

[17] C. régional de l'Afrique, "Stratégie régionale pour la santé bucco-dentaire 2016-2025: combattre les affections bucco-dentaires dans le cadre de la lutte contre les maladies non transmissibles: rapport du Secrétariat," Organisation mondiale de la Santé. Bureau régional de l'Afrique, 2016.

[18] E. Weber, "Problèmes posés par les pathologies bucco-dentaires aux médecins généralistes mosellans." Université de Lorraine, 2017.

[19] L. Vidal, "Pathologie dentaire et hygiène buccale à l'officine," 2019.

[20] E. Feur *et al.*, "Excès pondéral chez les collégiens et lycéens du Val-de-Marne, France, en 1998 et 2005 selon leurs caractéristiques sociales et économiques," *Bull Epidemiol Hebd*, vol. 4, pp. 29–36, 2007.

[21] N. CHELLI-CHENTOUF, "Evaluation Chimique et Antimicrobienne de Salvadora persica sur la Santé Bucco-Dentaire," 2013.

[22] D. Carnet, "Le site d'anglais médical de l'UMVF/UNF3S." 2010.

[23] F. Abdallaoui, B. Chraibi, and M. El Abrari, "Dépistage précoce des lésions carieuses proximales débutantes: étude clinique et radiographique," *Inf Dent*, vol. 83, pp. 1005–1013, 2001.

[24] L. Rosato *et al.*, "Complications of thyroid surgery: analysis of a multicentric

study on 14,934 patients operated on in Italy over 5 years," *World J. Surg.*, vol. 28, no. 3, pp. 271–276, 2004.

[25] C. O. Enwonwu, W. A. Falkler Jr, and R. S. Phillips, "Noma (cancrum oris)," *Lancet*, vol. 368, no. 9530, pp. 147–156, 2006.

[26] T. J. Montine *et al.*, "National Institute on Aging–Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach," *Acta Neuropathol.*, vol. 123, no. 1, pp. 1–11, 2012.

[27] M. Ahariz and P. Courtois, "Candida albicans susceptibility to lactoperoxidase-generated hypoiodite," *Clin. Cosmet. Investig. Dent.*, vol. 2, p. 69, 2010.

[28] P. Laochumroonvorapong, D. P. DiCostanzo, H. Wu, K. Srinivasan, M. Abusamieh, and H. Levy, "Disseminated histoplasmosis presenting as pyoderma gangrenosum-like lesions in a patient with acquired immunodeficiency syndrome," *Int. J. Dermatol.*, vol. 40, no. 8, pp. 518–521, 2001.

[29] P. Gaborit, A. Hauteville, D. H. Phan, and J.-P. Tillich, "Identity-based encryption from codes with rank metric," in *Annual International Cryptology Conference*, 2017, pp. 194–224.

[30] S. R. Porter and C. Scully, "Oral malodour (halitosis)," *Bmj*, vol. 333, no. 7569, pp. 632–635, 2006.

[31] C. Scully and M. Rosenberg, "ORAL MEDICINE Halitosis," *Dent. Updat.*, vol. 30, no. 4, pp. 205–210, 2003.

[32] M. Hernández and T. A. Marshall, "Reduced odds of pulpal exposure when using incomplete caries removal in the treatment of dentinal cavitated lesions: A critical summary of Schwendicke F, Dörfer CE, Paris S. Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis (published corre," *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 145, no. 6, pp. 574–576, 2014.

[33] T. Lauwerier, "L'éducation au service du développement. La vision de la Banque mondiale, de l'OCDE et de l'UNESCO," *Educ. en débats Anal. comparée*, vol. 8, pp. 43–58, 2017.

[34] P. E. Petersen, D. Bourgeois, H. Ogawa, S. Estupinan-Day, and C. Ndiaye, "The global burden of oral diseases and risks to oral health," *Bull. World Health Organ.*, vol. 83, pp. 661–669, 2005.

[35] M. S. Ali-Shtayeh, R. M.-R. Yaghmour, Y. R. Faidi, K. Salem, and M. A. Al-Nuri, "Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 60, no. 3, pp. 265–271, 1998.

[36] A.-C. Cremieux *et al.*, "Evaluation of antibiotic diffusion into cardiac vegetations by quantitative autoradiography," *J. Infect. Dis.*, vol. 159, no. 5, pp. 938–944, 1989.

[37] J. P. Leclerc, D. Schweich, A. Bernard, and C. Detrez, "DTS: un logiciel d'aide à l'élaboration de modèles d'écoulement dans les réacteurs," *Rev. l'Institut Français du pétrole*, vol. 50, no. 5, pp. 641–656, 1995.

[38] M. T. Madigan, J. M. Martinko, and J. Parker, *Brock biology of microorganisms*,

vol. 11. Prentice hall Upper Saddle River, NJ, 1997.

[39] F. Leroy-Lechat, D. Wouessidjewe, J.-P. Andreux, F. Puisieux, and D. Duchêne, "Evaluation of the cytotoxicity of cyclodextrins and hydroxypropylated derivatives," *Int. J. Pharm.*, vol. 101, no. 1–2, pp. 97–103, 1994.

[40] M. Dembélé *et al.*, "Association HTA-Diabète sucré dans le service de Médecine Interne de l'Hopital du Point G-Bamako," *Médecine d'Afrique noire*, vol. 47, pp. 276–280, 2000.

[41] E. Winterstein and G. Trier, "Die Alkaloide, Gebr," *Bornträger, Berlin*, 1910.

[42] F. Epifano, S. Genovese, L. Menghini, and M. Curini, "Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites," *Phytochemistry*, vol. 68, no. 7, pp. 939–953, 2007.

[43] J. Brzozowska and P. Hanower, "sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers," *Ann. l'Université d'Abidjan. Série C Sci.*, vol. 12, pp. 65–87, 1976.

[44] M. H. Zenk and M. Juenger, "Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds," *Phytochemistry*, vol. 68, no. 22–24, pp. 2757–2772, 2007.

[45] A. Sofowora, *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. KARTHALA Editions, 2010.

[46] J. M. Buchanan and Y. J. Yoon, "Symmetric tragedies: Commons and anticommons," *J. Law Econ.*, vol. 43, no. 1, pp. 1–14, 2000.

[47] M. De Bruyne, P. J. Clyne, and J. R. Carlson, "Odor coding in a model olfactory organ: TheDrosophila maxillary palp," *J. Neurosci.*, vol. 19, no. 11, pp. 4520–4532, 1999.

[48] C. Genet *et al.*, "Structure− activity relationship study of betulinic acid, a novel and selective TGR5 agonist, and its synthetic derivatives: potential impact in diabetes," *J. Med. Chem.*, vol. 53, no. 1, pp. 178–190, 2010.

[49] W. Zheng *et al.*, "Association between body-mass index and risk of death in more than 1 million Asians," *N. Engl. J. Med.*, vol. 364, no. 8, pp. 719–729, 2011.

[50] C. Klaas and D. E. Archer, "Association of sinking organic matter with various types of mineral ballast in the deep sea: Implications for the rain ratio," *Global Biogeochem. Cycles*, vol. 16, no. 4, pp. 61–63, 2002.

[51] D. T. Veličković, N. V Ranđelović, M. S. Ristić, A. S. Veličković, and A. A. Šmelcerović, "Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of Salvia officinalis L," *J. Serbian Chem. Soc.*, vol. 68, no. 1, pp. 17–24, 2003.

[52] B. Jean, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier, 2009.

[53] J. Stöckigt, Y. Sheludko, M. Unger, I. Gerasimenko, H. Warzecha, and D. Stöckigt, "High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups," *J. Chromatogr. A*, vol. 967, no. 1, pp. 85–113, 2002.

[54] W. J. Zhang and L. O. Björn, "The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants," *Fitoterapia*, vol. 80, no. 4, pp. 207–218, 2009.

[55] S. Faizi, R. A. Khan, S. Azher, S. A. Khan, S. Tauseef, and A. Ahmad, "New antimicrobial alkaloids from the roots of Polyalthia longifolia var. pendula," *Planta Med.*, vol. 69, no. 04, pp. 350–355, 2003.

[56] C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, and L. Jiménez, "Polyphenols: food sources and bioavailability," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 79, no. 5, pp. 727–747, 2004.

[57] D. A. Drossman *et al.*, "US householder survey of functional gastrointestinal disorders," *Dig. Dis. Sci.*, vol. 38, no. 9, pp. 1569–1580, 1993.

[58] A. Marfak, "Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides," *Univ. LIMOGES*, 2003.

[59] J.-L. Guignard, *Biochimie végétale*. Masson, 1996.

[60] C. Alais and G. Linden, "Editeur: 1997. Abrégé de biochimie alimentaire." Masson (Paris) France 247p, 1997.

[61] K. Jechlitschka, D. Kirschke, and G. Schwarz, *Microeconomics using Excel: Integrating economic theory, policy analysis and spreadsheet modelling*. Taylor & Francis, 2007.

[62] P. M. Dewick, "In JB Harborne (ed.) The Flavonoids: Advances in Research since 1986." Chapman & Hall, London, 1993.

[63] T. Iwashina, "The structure and distribution of the flavonoids in plants," *J. Plant Res.*, vol. 113, no. 3, p. 287, 2000.

[64] O. Yu *et al.*, "Production of the isoflavones genistein and daidzein in non-legume dicot and monocot tissues," *Plant Physiol.*, vol. 124, no. 2, pp. 781–794, 2000.

[65] K. M. Davies, "A cDNA clone for flavanone 3-hydroxylase from Malus.," *Plant Physiol.*, vol. 103, no. 1, p. 291, 1993.

[66] H. Babayi, I. Kolo, J. I. Okogun, and U. J. J. Ijah, "The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms," 2004.

[67] K. Ulanowska, A. Tkaczyk, G. Konopa, and G. Węgrzyn, "Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains," *Arch. Microbiol.*, vol. 184, no. 5, pp. 271–278, 2006.

[68] S. M. Tambe, L. Sampath, and S. M. Modak, "In vitro evaluation of the risk of developing bacterial resistance to antiseptics and antibiotics used in medical devices," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 47, no. 5, pp. 589–598, 2001.

[69] R. N. Okigbo and I. A. Nmeka, "Control of yam tuber rot with leaf extracts of Xylopia aethiopica and Zingiber officinale," *African J. Biotechnol.*, vol. 4, no. 8, pp. 804–807, 2005.

[70] M. A. Senthil, B. S. Mamatha, and M. Mahadevaswamy, "Effect of using

seaweed (eucheuma) powder on the quality of fish cutlet," *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 56, no. 5, pp. 327–335, 2005.

[71] K. MELLOUK, "Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de Pituranthos chloranthus (Guezzeh) de la région de Biskra." .

[72] S. Grujic-Jovanovic, H. D. Skaltsa, P. Marin, and M. Sokovic, "Composition and antibacterial activity of the essential oil of six Stachys species from Serbia," *Flavour Fragr. J.*, vol. 19, no. 2, pp. 139–144, 2004.

[73] B. Ilic, H. G. Craighead, S. Krylov, W. Senaratne, C. Ober, and P. J. Neuzil, "Attogram detection using nanoelectromechanical oscillators," *J. Appl. Phys.*, vol. 95, no. 7, pp. 3694–3703, 2004.

[74] M. M. Cowan, "Plant products as antimicrobial agents," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 12, no. 4, pp. 564–582, 1999.

[75] K. A. Bybee *et al.*, "Systematic review: transient left ventricular apical ballooning: a syndrome that mimics ST-segment elevation myocardial infarction," *Ann. Intern. Med.*, vol. 141, no. 11, pp. 858–865, 2004.

[76] J. Bruneton, "Pharmacognosie," *Phytochim. Plantes Med. París, Ed. Tec-Doc*, 1999.

[77] P. A. Hollander *et al.*, "Role of orlistat in the treatment of obese patients with type 2 diabetes: a 1-year randomized double-blind study," *Diabetes Care*, vol. 21, no. 8, pp. 1288–1294, 1998.

[78] G. Pétroff and J. Doat, "Pyrolyse des bois tropicaux," *Influ. la Compos. Chim. des*

bois sur les Prod. Distill. Bois Forets des Trop., vol. 177, pp. 51–64, 1978.

[79] S. R. Blattnig, S. R. Swaminathan, A. T. Kruger, M. Ngom, and J. W. Norbury, "Parametrizations of inclusive cross sections for pion production in proton-proton collisions," *Phys. Rev. D*, vol. 62, no. 9, p. 94030, 2000.

[80] P. Sarni-Manchado and V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*. Techniques & documentation, 2006.

[81] A. R. Choudhuri, P. Chatterjee, and D. Nandy, "Helicity of solar active regions from a dynamo model," *Astrophys. J. Lett.*, vol. 615, no. 1, p. L57, 2004.

[82] P. Leitao, A. W. Colombo, and F. J. Restivo, "ADACOR: A collaborative production automation and control architecture," *IEEE Intell. Syst.*, vol. 20, no. 1, pp. 58–66, 2005.

[83] D. J. Harris and S. Sivakumaran, *Cases and materials on international law*, vol. 134. Sweet & Maxwell London, 2004.

[84] T.-J. Yeh, Y.-J. Chung, and W.-C. Wu, "Sliding control of magnetic bearing systems," *J. Dyn. Sys., Meas., Control*, vol. 123, no. 3, pp. 353–362, 2001.

[85] C. Ekoumou, "Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite," *Bamako Thèse Dr. en Pharm. l'Université Bamako*, 2003.

[86] K. Bessho, D. L. Carnes, R. Cavin, H. Chen, and J. L. Ong, "BMP stimulation of bone response adjacent to titanium implants in vivo," *Clin. Oral Implants Res.*, vol. 10, no. 3, pp. 212–218, 1999.

[87] P. J. Thornalley *et al.*, "Quantitative screening of advanced glycation endproducts in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry," *Biochem. J.*, vol. 375, no. 3, pp. 581–592, 2003.

[88] P. Ajmone-Marsan, G. Monfredini, W. F. Ludwig, A. E. Melchinger, and P. Franceschini, "Identification of genomic regions affecting plant height and their relationship with grain yield in an elite maize cross," *Maydica*, vol. 39, no. 2, pp. 133–139, 1994.

[89] S. Chakraborty, O. P. Singh, A. Dasgupta, N. Mandal, and H. N. Das, "Correlation between lipid peroxidation-induced TBARS level and disease severity in obsessive–compulsive disorder," *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry*, vol. 33, no. 2, pp. 363–366, 2009.

[90] J. P. Curtay and J. M. Robin, "Intérêt des complexes antioxydants," *Nutr. Info*, pp. 1–4, 2000.

[91] A. Akoègninou, W. J. Van der Burg, and L. J. G. Van der Maesen, *Flore analytique du Bénin*, no. 06.2. Backhuys Publishers, 2006.

[92] A. Akoègninou, "Recherches botaniques et écologiques sur les forêts actuelles du Bénin." 2004.

[93] A. Adomou, *Vegetation patterns and environmental gradients in Benin*. 2005.

[94] T. G. Monique, H. YÉDOMONHAN, A. C. ADOMOU, D. B. B. A. Akpovi, and D. TRAORÉ, "Caractérisation pollinique des miels d'un élevage apicole dans l'arrondissement de Manigri en zone Soudano-Guinéenne au Bénin," 2011.

[95] V. Adjakidjè, “Contribution à l’étude des savanes guinéennes de la République Populaire du Bénin: 245 p.” Thèse Doct. 3ème cycle. Univ. Bordeaux III, 1984.

[96] A. Aubréville, *Les forêts du Dahomey et du Togo: extrait d’un rapport de mission au Dahomey et au Togo*. Larose, 1937.

[97] F. White, “La végétation de l’Afrique,” *Rech. sur les Ressources Nat.*, 1986.

[98] Q. R. G. de la INSAE, “Population et de l’Habitation (RGPH-4),” *Inst. Natl. la Stat. l’analyse économique, Cotonou*, 2013.

[99] M. A. SANNI and C. M. ATODJINOU, “État et dynamique des langues nationales et de la langue française au Bénin.”

[100] O. R. C. M. INSAE, “Enquête Démographique et de Santé au Bénin.” Cotonou, 2002.

[101] P. INSAE and UNICEF, “USAID.” UNFPA, 2007.

[102] D. des Pêches, “Document de politique des Pêches,” *Bénin/MAEP/DP*, 2013.

[103] S. Kate *et al.*, “Simulation du climat futur et des rendements agricoles en region Soudano-Sahelienne en Republique du Benin,” *African Crop Sci. J.*, vol. 25, no. 4, pp. 405–417, 2017.

[104] M. Y. Najem, F. Couturaud, and C. A. Lemarié, “Cytokine and chemokine regulation of venous thromboembolism,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 18, no. 5, pp. 1009–1019, 2020.

[105] M. Ezewudo *et al.*, “Integrating standardized whole genome sequence analysis

with a global Mycobacterium tuberculosis antibiotic resistance knowledgebase," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–10, 2018.

[106] G. B. D. 2016 L. R. of S. Collaborators, "Global, regional, and country-specific lifetime risks of stroke, 1990 and 2016," *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, no. 25, pp. 2429–2437, 2018.

[107] C. Boelen, "La stratégie de l'OMS «Vers l'Unité Pour la Santé» et la responsabilité sociale des facultés de médecine," *Sante Publique (Paris).*, vol. 15, no. HS, pp. 137–145, 2003.

[108] G. Lafortune and F. Kanouté, "Vécu identitaire d'élèves de 1ère et de 2ème génération d'origine haïtienne," *Rev. l'Université Monct.*, vol. 38, no. 2, pp. 33–71, 2007.

[109] M. Arbatti, X. Shan, and Z. Cheng, "Ceramic–polymer composites with high dielectric constant," *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 10, pp. 1369–1372, 2007.

[110] Y. Rosas-Piñón, A. Mejía, G. Díaz-Ruiz, M. I. Aguilar, S. Sánchez-Nieto, and J. F. Rivero-Cruz, "Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 141, no. 3, pp. 860–865, 2012.

[111] D. Macey, *Frantz Fanon, une vie*. la Découverte, 2011.

[112] L. Iauk *et al.*, "Activity of Berberis aetnensis root extracts on Candida strains," *Fitoterapia*, vol. 78, no. 2, pp. 159–161, 2007.

[113] F. Baba-Moussa, K. Akpagana, and P. Bouchet, "Antifungal activities of seven

West African Combretaceae used in traditional medicine," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 66, no. 3, pp. 335–338, 1999.

[114] Y. Hounnankpon, D. Nestor, and H. Hurgues, "Diversity of plants used for oral hygiene in Benin," *J. Med. Plants*, vol. 5, no. 6, pp. 100–108, 2017.

[115] P. L. De Micheaux, R. Drouilhet, and B. Liquet, *Le logiciel R*. Springer, 2011.

[116] H. G. Dassou, H. Yédomonhan, A. C. Adomou, C. A. Ogni, M. G. Tossou, and A. Akoègninou, "Facteurs socioculturels et environnementaux déterminant la connaissance ethnovétérinaire au Bénin," *Afrique Sci.*, vol. 11, no. 5, pp. 335–360, 2015.

[117] H. G. Dassou *et al.*, "Diversité, usages vétérinaires et vulnérabilité des plantes médicinales au Nord-Bénin," *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 8, no. 1, pp. 189–210, 2014.

[118] M. Heinrich, A. Ankli, B. Frei, C. Weimann, and O. Sticher, "Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance," *Soc. Sci. Med.*, vol. 47, no. 11, pp. 1859–1871, 1998.

[119] D. Ngom, M. Charahabil, O. Sarr, A. Bakhoum, and L. Akpo, "Perceptions communautaires sur les services écosystémiques d'approvisionnement fournis par le peuplement ligneux de la Réserve de Biosphère du Ferlo (Sénégal)," *VertigO la Rev. électronique en Sci. l'environnement*, vol. 14, no. 2, 2014.

[120] L. Beltrán-Rodríguez, A. Ortiz-Sánchez, N. A. Mariano, B. Maldonado-Almanza, and V. Reyes-García, "Factors affecting ethnobotanical knowledge in

a mestizo community of the Sierra de Huautla Biosphere Reserve, Mexico," *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–19, 2014.

[121] A. Byg and H. Balslev, "Factors affecting local knowledge of palms in Nangaritza Valley in South-Eastern Ecuador," *J. Ethnobiol.*, vol. 24, no. 2, pp. 255–278, 2004.

[122] I. Mensah, *Isidore de Souza: figure fondatrice d'une démocratie en Afrique: la transition politique au Bénin (1989-1993)*. KARTHALA Editions, 2011.

[123] E. Agbodjento *et al.*, "Larval cytotoxic and subacute toxicity of Gardenia ternifolia, Rourea coccinea, and Cassytha filiformis used in traditional medicine of Benin (West Africa)," *J. Toxicol.*, vol. 2020, 2020.

[124] P. Bénin, "Quatrième rapport national du Bénin sur la diversité biologique." Ministère de l'Environnement et de la Protection de la Nature, PNUD Bénin, 2009.

[125] A. Daoudi, M. Sabiri, M. Bammou, T. Zair, J. Ibijbijen, and L. Nassiri, "Valorisation des extraits de trois espèces du genre Urtica: Urtica urens L., Urtica membranacea Poiret et Urtica pilulifera L.," *J. Appl. Biosci.*, vol. 87, pp. 8094–8104, 2015.

[126] C. Anyinam, "Ecology and ethnomedicine: exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices," *Soc. Sci. Med.*, vol. 40, no. 3, pp. 321–329, 1995.

[127] B. Legba *et al.*, "Toxicological Characterization of Six Plants of the Beninese

Pharmacopoeia Used in the Treatment of Salmonellosis," *J. Toxicol.*, vol. 2019, 2019.

[128] B. Lègba *et al.*, "Exploration of the antibacterial and chemical potential of some Beninese pharmacopoiea traditional plants," *Microbiol. Medica*, vol. 32, no. 4, 2017.

[129] H. M. Burkill, *The useful plants of West Tropical Africa. Vol. 1. Families AD.*, no. Ed. 2. Royal Botanic Gardens, 1985.

[130] J. O. Adigun, J. O. Amupitan, and D. R. Kelly, "Isolation and investigation of antimicrobial effect of 3, 4, 3'-tri-O-methylflavellagic acid and its glucoside from Anogeissus leocarpus," *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, vol. 14, no. 2, pp. 169–174, 2000.

[131] I. Coulibaly *et al.*, "Evaluation du risque de contamination des preparations lactees au service de neonatalogie du chu de Treichville et resistance aux antibiotiques de la flore bacterienne," *Agron. Africaine*, vol. 30, no. 2, pp. 206–214, 2018.

[132] H. Koudokpon *et al.*, "Antibacterial activity of chalcone and dihydrochalcone compounds from Uvaria chamae roots against multidrug-resistant bacteria," *Biomed Res. Int.*, vol. 2018, 2018.

[133] L. Tsirinirindravo and B. Andrianarisoa, "Activités antibactériennes de l'extrait des feuilles de Dalechampia clematidifolia (Euphorbiaceae)," *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 3, no. 5, 2009.

[134] M. N. Ullah, A. Mahmood, S. Razzaq, M. Ilahi, R. D. Khan, and N. Javaid, "A survey of different residential energy consumption controlling techniques for autonomous DSM in future smart grid communications," *arXiv Prepr. arXiv1306.1134*, 2013.

[135] M. Mousseux, "Test de toxicité sur larves d'Artemia salina: entretien d'un élevage de balanes," 1995.

[136] V. Houmènou, A. Adjatin, F. Assogba, J. Gbénou, and A. Akoègninou, "Etude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Benin," *Eur. Sci. J.*, vol. 14, no. 6, pp. 156–171, 2018.

[137] D. Dah-Nouvlessounon *et al.*, "Phytochemical analysis and biological activities of Cola nitida bark," *Biochem. Res. Int.*, vol. 2015, 2015.

[138] A. L. Parra, R. S. Yhebra, I. G. Sardiñas, and L. I. Buela, "Comparative study of the assay of Artemia salina L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts," *Phytomedicine*, vol. 8, no. 5, pp. 395–400, 2001.

[139] C. D. Goodman, A. T. Hoang, D. Diallo, K. E. Malterud, G. I. McFadden, and H. Wangensteen, "Anti-plasmodial Effects of Zanthoxylum zanthoxyloides," *Planta Med.*, vol. 85, no. 13, pp. 1073–1079, 2019.

[140] G. G. E. Osuagwu and C. F. Eme, "The phytochemical composition and antimicrobial activity of Dialium guineense, Vitex doniana and Dennettia

tripetala leaves," *Asian J. Nat. Appl. Sci.*, vol. 2, no. 3, pp. 69–81, 2013.

[141] F. A. Olajubu, I. Akpan, D. A. Ojo, and S. A. Oluwalana, "Antimicrobial potential of Dialium guineense (Wild.) stem bark on some clinical isolates in Nigeria," *Int. J. Appl. Basic Med. Res.*, vol. 2, no. 1, p. 58, 2012.

[142] E. O. Ali, T. A. Tor-Anyiin, J. O. Igoli, J. V Anyam, and C. Hammuel, "Antimicrobial activity of Anogeissus leiocarpus stems bark extracts and an isolate from the plant against some microbes," *Am. J. Res. Commun.*, vol. 5, no. 8, pp. 20–37, 2017.

[143] I. T. Gbadamosi and A. O. Ogunsuyi, "An appraisal of the potency of roots of Anogeissus leiocarpus (DC.) Guill. & Perr. and Terminalia glaucescens Benth. in the management of E. coli related infections," *J. Appl. Biosci.*, vol. 78, pp. 6646–6653, 2014.

[144] B. E. Odozi, I. N. Ibeh, P. I. Odozi, A. A. Osakwe, and C. S. O. Otoikhian, "Antimicrobial activity of aqueous and methanol extract of Prosopis africana on selected bacteria isolates," *Indo-American J. Life Sci. Biotechnol.*, vol. 2, no. 2, pp. 2243–2347, 2014.

[145] H. J. von Maydell, "Arbres et arbustes du Sahel: leurs caractéristiques et leurs utilisations," *Dtsch. Gesellschaft für Tech. Zusammenarbeit (GTZ)/GmbH, Eschborn*, 1983.

[146] M. Sacandé and H. W. Pritchard, "Seed research network on African trees for conservation and sustainable use," *For. Genet. Resour.*, vol. 31, pp. 31–35, 2004.

[147] O. G. Nacoulma, "Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso," *Univ. Ouagadougon*, vol. 2, p. 285, 1996.

[148] G. O. Aspinall, J. J. Carlyle, J. M. McNab, and A. Rudowski, "Anogeissus leiocarpus gum. Part II. Fractionation of the gum and partial hydrolysis of leiocarpan A," *J. Chem. Soc. C Org.*, no. 5, pp. 840–845, 1969.

[149] G. O. Aspinall and A. S. Chaudhari, "Base-catalyzed Degradations of Carbohydrates. X. Degradation by β-Elimination of Methylated Degraded Leiocarpan A," *Can. J. Chem.*, vol. 53, no. 14, pp. 2189–2193, 1975.

[150] M. J. Bigendako-Polygenis and J. Lejoly, "La pharmacopée traditionnelle au Burundi," *Pestic. médicaments en santé Anim. Pres Univ Namur*, pp. 425–442, 1990.

[151] H.-J. von Maydell, "Arbres et arbustes du Sahel," *GTZ, Eschborn*, 1983.

[152] L. Ada and A. Mahamane, "Les ressources forestières naturelles et les plantations forestières au Niger," *Rapp. du Program. Parten. CE-FAO*, 1999.

[153] A. S. A. Ambe, D. Ouattara, M.-S. Tiebre, B. T. A. Vroh, G. N. Zirihi, and K. E. N'guessan, "Diversité des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel de la diarrhée sur les marchés d'Abidjan (Côte d'Ivoire)," *J. Anim. Plant Sci.*, vol. 26, no. 2, pp. 4081–4096, 2015.

[154] J. T. Barminas, M. Charles, and D. Emmanuel, "Mineral composition of non-conventional leafy vegetables," *Plant foods Hum. Nutr.*, vol. 53, no. 1, pp. 29–36, 1998.

[155] O. Collectif, "Phytothérapie, la santé par les plantes," *Sel. du Reader's Dig. Paris*, 2007.

[156] P. Ferris, *Le guide des fleurs de Bach*. Marabout, 2013.

[157] F. Muanda, "Phytochemical composition and antioxidant capacity of three malian medicinal plant parts," *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, 2009.

[158] N. Ćujić, K. Šavikin, T. Janković, D. Pljevljakušić, G. Zdunić, and S. Ibrić, "Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique," *Food Chem.*, vol. 194, pp. 135–142, 2016.

[159] M. H. H. Roby, M. A. Sarhan, K. A.-H. Selim, and K. I. Khalel, "Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (Thymus vulgaris L.), sage (Salvia officinalis L.), and marjoram (Origanum majorana L.) extracts," *Ind. Crops Prod.*, vol. 43, pp. 827–831, 2013.

[160] A. Roko, A. Almu, A. Mohammed, and I. Saidu, "An Enhanced Data Sparsity Reduction Method for Effective Collaborative Filtering Recommendations," *Int. J. Educ. Manag. Eng.*, vol. 10, no. 1, p. 27, 2020.

[161] P. Houghton and A. Raman, *Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts*. Springer Science & Business Media, 2012.

[162] S. S. Fakhri, M. A. Hassan, and S. T. Hashim, "Probiotic Marine Pigmented Bacillus Pumilus SF214," *Int. J. Sci. Technol.*, vol. 143, no. 583, pp. 1–10, 2013.

[163] A. Noori, M. F. El-Kady, M. S. Rahmanifar, R. B. Kaner, and M. F. Mousavi, "Towards establishing standard performance metrics for batteries,

supercapacitors and beyond," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 48, no. 5, pp. 1272–1341, 2019.

[164] L. Delhalle, G. Daube, Y. Adolphe, S. Crevecoeur, and A. Clinquart, "Les modèles de microbiologie prévisionellepour la maitrise de la sécurité des aliments (synthèse bibliographique)," *Biotechnol. Agron. Société Environ.*, vol. 16, no. 3, pp. 369–381, 2012.

[165] B. Liu, "Some research problems in uncertainty theory," *J. Uncertain Syst.*, vol. 3, no. 1, pp. 3–10, 2009.

[166] H. Çelik, M. Özgen, S. Serçe, and C. Kaya, "Phytochemical accumulation and antioxidant capacity at four maturity stages of cranberry fruit," *Sci. Hortic. (Amsterdam).*, vol. 117, no. 4, pp. 345–348, 2008.

[167] M. S. Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical," *Nature*, vol. 181, no. 4617, pp. 1199–1200, 1958.

[168] W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995.

[169] L. Panaiva, "Techniques chromatographiques orientées sur les materiaux composites," in *Conférence Eurocopter Marseille, France*, 2006, vol. 3.

[170] P. Kebarle and L. Tang, "From ions in solution to ions in the gas phase-the mechanism of electrospray mass spectrometry," *Anal. Chem.*, vol. 65, no. 22, pp. 972A-986A, 1993.

[171] J.-J. Macheix, A. Fleuriet, and C. Jay-Allemand, *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques, 2005.

[172] C. M. Bjerum *et al.*, "Efficacy and Safety of a Single Dose of Ivermectin, Diethylcarbamazine, and Albendazole for Treatment of Lymphatic Filariasis in Côte d'Ivoire: An Open-label Randomized Controlled Trial," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 71, no. 7, pp. e68–e75, 2020.

[173] V. Kumar, A. K. Abbas, and J. C. Aster, *Robbins basic pathology e-book*. Elsevier Health Sciences, 2017.

[174] A. G. McArthur *et al.*, "The comprehensive antibiotic resistance database," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, no. 7, pp. 3348–3357, 2013.

[175] M. Saitoh *et al.*, "Metamorphic origin of anastomosing and wavy laminas overprinting putative microbial deposits from the 3.22 Ga Moodies Group (Barberton Greenstone Belt)," *Precambrian Res.*, vol. 362, p. 106306, 2021.

[176] P. Guedeney *et al.*, "Efficacy and safety of alirocumab and evolocumab: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials," *Eur. Heart J.*, 2019.

[177] J. Cox and M. Mann, "MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized ppb-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification," *Nat. Biotechnol.*, vol. 26, no. 12, pp. 1367–1372, 2008.

[178] J. A. Bosha, I. U. Asuzu, and P. A. Onyeyili, "Pharmacological Effects of a

Fraction of The Methanolic Extract of Prosopis Africana Fruit (Guill and Perr) Taub," *Niger. Vet. J.*, vol. 31, no. 3, 2010.

[179] A. Roko, A. Babakura, A. Bui, and I. Saidu, "Re-Estimated Ergodic Hidden Markov Model for Decision Support Among Subsystems in Intelligent Building," *Adv. Sci. Eng. Med.*, vol. 12, no. 5, pp. 680–689, 2020.

[180] A. J. Agbankpé *et al.*, "Phytochemical screening and cytotoxic analysis of three local vegetables used in the treatment of bacterial diarrhoea in Southern Benin (West Africa): A comparative study," *Biotechnol. J. Int.*, pp. 1–13, 2015.

[181] N. P. Audu, "The impact of fiscal policy on the Nigerian economy," *Int. Rev. Soc. Sci. Humanit.*, vol. 4, no. 1, pp. 142–150, 2012.

[182] S. Krief, "Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées." Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS, 2003.

[183] L. Jolivet, L. Catita, O. Delpoux, C.-P. Lienemann, L. Sorbier, and V. Motto-Ros, "Direct multi-elemental imaging of freshly impregnated catalyst by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy," *J. Catal.*, vol. 401, pp. 183–187, 2021.

[184] P. O. Agbaire, J. O. T. Emudainohwo, and B. O. Peretiemo-Clarke, "Phytochemical screening and toxicity studies on the leaves of Manniophyton fulvum," *Int. J. Plant, Anim. Environ. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–6, 2013.

[185] G. Pickering *et al.*, "Oral magnesium treatment in patients with neuropathic pain: a randomized clinical trial," *Magnes. Res.*, vol. 24, no. 2, pp. 28–35, 2011.

[186] S. Akroum, "Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.," 2011.

[187] J. H. Doughari and M. Saa-Aondo, "PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF CRUDE METHANOL EXTRACTS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF N-HEXANE FRACTIONS OF METHANOL SEED AND POD EXTRACTS OF PROSOPIS AFRICANA ON SOME SELECTED MICROOGANISMS," *Phytochem. Anal.*, vol. 2, pp. 121–137, 2021.

[188] N. B. Sadeer *et al.*, "Chemical profiling, antioxidant, enzyme inhibitory and molecular modelling studies on the leaves and stem bark extracts of three African medicinal plants," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 174, pp. 19–33, 2019.

[189] M. L. Diarra, M. Mariko, M. S. Mbaye, and K. Noba, "Plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme à Bamako (Mali)," *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 10, no. 4, pp. 1534–1541, 2016.

[190] A. Rios and R. Kavuluru, "Few-shot and zero-shot multi-label learning for structured label spaces," in *Proceedings of the Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing. Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing*, 2018, vol. 2018, p. 3132.

[191] N. Savic *et al.*, "Covalent linkage of the DNA repair template to the CRISPR-Cas9 nuclease enhances homology-directed repair," *Elife*, vol. 7, p. e33761, 2018.

[192] G. Bottari *et al.*, "Chemical functionalization and characterization of graphene-based materials," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 46, no. 15, pp. 4464–4500, 2017.

[193] H. S. Kilic, S. Zaim, and D. Delen, "Development of a hybrid methodology for ERP system selection: The case of Turkish Airlines," *Decis. Support Syst.*, vol. 66, pp. 82–92, 2014.

[194] C. Q. Y. Yong, S. Valiyaveetill, and B. L. Tang, "Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 17, no. 5, p. 1509, 2020.

[195] O. N. Oktyabrsky, K. V Bezmaternykh, G. V Smirnova, and A. V Tyulenev, "Effect of resveratrol and quercetin on the susceptibility of Escherichia coli to antibiotics," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 36, no. 11, pp. 1–14, 2020.

[196] K. Kawabata, R. Mukai, and A. Ishisaka, "Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability," *Food Funct.*, vol. 6, no. 5, pp. 1399–1417, 2015.

[197] N. A. Koné, K. Yéo, S. Konaté, and K. E. Linsenmair, "Socio-economical aspects of the exploitation of Termitomyces fruit bodies in central and southern Côte d'Ivoire: raising awareness for their sustainable use.," *J. Appl. Biosci.*, vol. 70, pp. 5580–5590, 2013.

[198] B. Soro, L. P. L. Vanié-Léabo, S. Konaté, A. Bakayoko, and D. Koné, "Phytogeographical and sociolinguistical patterns of the diversity, distribution, and uses of wild mushrooms in Côte d'Ivoire, West Africa," *J. Ethnobiol.*

Ethnomed., vol. 15, no. 1, pp. 1–12, 2019.

ANNEXES

Annexe 1 : Article paru

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

IJPSR (2021), Volume 12, Issue 12 (Research Article)

INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH

Received on 27 January 2021; received in revised form, 04 May 2021; accepted, 29 May 2021; published 01 December 2021

CYTOTOXICITY, ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND CHEMICAL PROPERTIES OF TEN PLANTS FROM THE BENIN PHARMACOPOEIA USED FOR ORAL CARE

T. G. P. Guezodje [1,*2], A. J. Agbankpe [3], G. H. Dassou [1], T. V. Dougnon [3], A. Dicko [2] and H. Yedomonhan [1]

Laboratory of Botany and Plant Ecology [1], Faculty of Sciences and Techniques, University of Abomey-Calavi, Benin.
Laboratory of Chemistry and Physics-Multi-scale Approach of Complex Media (LCP-A2MC) [2], University of Lorraine in France.
Research Unit in Applied Microbiology and Pharmacology of Natural Substances [3], Research Laboratory in Applied Biology, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Benin.

Keywords:
Oral diseases, Medicinal plants, Toxicity, Antibacterial activity, Benin

Correspondence to Author:
T. G. P. Guezodje

Université de Lorraine – Metz, Laboratoire de Chimie et de Physique Approche Multi- Echelle de Matériaux Complexe LCP-A2MC1 Boulevard Arago-57078 Metz (France).

E-mail: dahguezodje@gmail.com

ABSTRACT: This study aims to valorizeten medicinal plants traditionally used for oral care in Benin by producing scientific data on their toxicities, antimicrobial activities, and chemical properties. The ten medicinal plants (*Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Vitellaria paradoxa*, *Prosopis africana*, *Dialium guineense*, *Pseudocedrela kotschyi*, *Parkia biglobosa*, *Azadirachta indica*, *Diospyros mespiliformis*, *Anogeissus leiocarpa*, and *Bridelia ferruginea*) were identified following an ethnobotanical survey conducted in Benin. With the exception of the hydroethanolic extract of *Z. zanthoxyloides*, all extracts have an LC_{50} greater than 0.1 mg/mL, indicating that these plants are non-cytotoxic. Of the ten extracts tested, only the hydroethanolic extract of *Z. zanthoxyloides* stem has no activity on the bacterial strains used. The results of the antibacterial test show that the largest diameter of inhibition was obtained in the extract of *A. leiocarpa* on *Escherichia coli* ATCC 25922, a reference strain with 25.67mm. The highest levels of total flavonoids (FVT) and total polypenols (TPP) are recorded respectively in *P. kotschyi* (145.86±0.7 EC/gMS) and *D. guineense* (70.194±0.220 EGA/g Ms). The antiradical powers of the extracts with respect to DPPH and ABTS radicals were determined respectively by the equation lines $y = -0.8784x + 2.0281$ ($R^2 = 0.9925$) and $y = -0.2023x + 0.5099$ ($R^2 = 0.9807$) expressed in Trolox (Trolox Eq mg/gMS). The strongest antiradical activity (ABTS) was recorded in *A. leiocarpa* (14.97±0.83mgET/gMS), *B. ferruginea* (15.57±0.4 mg ET/gMS), *P. africana* (13.25±0.1 mg ET/gMS). These results justify the traditional use of these medicinal plants and deserve to be valued in the fight against oral diseases.

IJPSR GALLEY PROOF COPY, DECEMBER ISSUE, 2021

INTRODUCTION: Oral diseases are a global public health problem affecting nearly 3.5 billion people [1].

QUICK RESPONSE CODE	DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.12(12).1000-11
	This article can be accessed online on www.ijpsr.com
DOI link: http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.12(12).1000-11	

They cause a considerable burden of disease, leading to lifelong pain, discomfort, disfiguring lesions, and even death [1]. Among oral diseases, tooth decay and periodontal disease are the most common chronic conditions in the world [1]. More than 530 million children have deciduous decay, while periodontal disease affects nearly 10% of the world's population [1].

In general, the risk factors for oral diseases take into account, in a non-exhaustive way, poor living

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

conditions, low level of education (implying a lack of knowledge in terms of dental prevention), and method of life (poor oral hygiene practices, consumption of sugars, tobacco, and alcohol) [3]. The main problem associated with the management of oral diseases is the high cost of treatment, especially since they are not included in the Universal Health Coverage. Most low- and middle-income countries have serious challenges in managing oral conditions[1]. Several studies report the use of medicinal plants in the management of oral diseases in Africa [4, 5] but also outside the continent [6]. An ethnobotanical survey carried out in Benin made it possible to identify the medicinal plants used for oral care. The most recorded medicinal plants are: *A. leiocarpa*, *A. indica*, *B. ferruginea*, *D. guineense*, *D. mespiliformis*, *P. biglobosa*, *P. africana*, *P. kotschyi*, *V. paradoxa* and *Z. zanthoxyloides* [7]. These plants are used for their dual interest of vegetable brush and medicinal plant. Unfortunately, there is no relevant scientific work to promote these medicinal plants in the management of oral diseases. Indeed, there are insufficient data on their chemical composition, their toxicity and their activity on microbial strains responsible for oral infections. It is to fill this gap that this study was initiated with the aim of producing scientific data on the toxicity, phytochemistry and antimicrobial activity of these medicinal plants.

MATERIALS AND METHODS:

Material:

Plant Material: The plant material consists of the stems of *Anogeissus leiocarpa* (YH 536/HNB; Combretaceae), *Azadirachta indica* (YH 537/HNB; Meliaceae), *Bridelia ferruginea* (YH 538/HNB; Euphorbiaceae), *Dialium guineense* (YH 539/HNB; Leguminosae), *Diospyros mespiliformis* (YH 540/HNB; Ebenaceae), *Parkia biglobosa* (YH 541/HNB; Legopuminosa bigosae Africana) *Prosopis africana* (YH 542/HNB; Leguminosae Africana), *Pseudocedrela kotschyi* (YH 543/HNB; Meliaceae), *Vitellaria paradoxa* (YH 544/HNB; Spotaceae) and *Zanthoxylum zanthoxyloides* (YH 545/HNB; Rutaceae). The plants used were collected during ethnobotanical surveys. They were carefully washed in distilled water and then dried at laboratory temperature (16-20 °C) for 20 days. These dried plants were then crushed and turned into powder. The powders obtained were passed through a 0.2 mm mesh sieve, then stored in sterile containers at laboratory temperature.

Biological Material:

Microorganisms: Six bacterial strains were used for antimicrobial testing: two reference strains (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), four clinical and multidrug resistant strains isolated from oral ulcer samples (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*). The bacterial strains used were obtained from the bacteriology section of the National Laboratory of the Ministry of Health (LNMSP) in the Republic of Benin.

The Eggs of *Artemia salina*: The eggs of *Artemia salina* (ARTEMIO JBL GmbH D-67141 Neuhofem) were used for the larval cytotoxicity test.

Methods:

Obtaining Extracts: The hydro-ethanolic extracts were obtained by maceration. One hundred grams (100 g) of vegetable powder were macerated for 72 h with continuous stirring in 500 ml of the mixture of ethanol and water (50: 50). The macerate was filtered twice through cotton wool and once through Whatman No. 1 filter paper. The filtrate obtained was evaporated in an oven at 50°C [8]. The yield is the ratio between the mass of the dry extract obtained and the mass of the plant material treated [9]. This yield was calculated by the formula:

R= (mass of the extract after evaporation of the solvent) / (mass of the powder of the plant species used for the extraction) × 100

Larval Cytotoxicity: The tests were carried out on larvae obtained by hatching 10 mg of eggs of *Artemia salina* (ARTEMIO JBL GmbH D-67141 Neuhofem) with continuous agitation in 1 L of seawater for 72 h. To 1 ml of each ½ geometric serial dilution of extract prepared from a 40 mg/ml stock solution was added 1 ml of seawater containing 16 larvae. The number of surviving larvae was counted after 24 h of incubation.

The Lethal Concentration 50 (LC_{50}) was determined from the regression line obtained from the curve representative of the number of surviving larvae as a function of the concentration of extracts [10]. Each treatment was repeated once. To interpret

FOR PEER REVIEW ONLY NOVEMBER ISSUE 2021

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

these results, correlation grids associating the degree of toxicity with the LC_{50} were used [11] **Table 1.**

TABLE 1: CORRESPONDENCE BETWEEN LETHAL CONCENTRATION (LC_{50}) AND TOXICITY

Mean Lethal Concentration (LC_{50}) value ranges	Toxicity
LC_{50} > 0,1 mg/ml	- (Non toxic)
0,1 mg/ ml > LC_{50} ≥0,050 mg/ml	+ (Low toxicity)
0,050 mg/ ml > LC_{50}≥0,01 mg/ml	++ (Moderate toxicity)
LC_{50} < 0,01 mg/ml	+ + + (High toxicity)

Antibacterial Tests:

Dissolution of the Extract: The extracts were taken up in sterile distilled water at a rate of 100 mg per 1 ml. Stock solutions of extracts concentrated at 100 mg/ml were thus prepared. They were then sterilized by filtration through a 0.22 µm Millipore membrane using a sterile syringe. The sterility of the stock solutions of extracts was verified by inoculating aliquots of each solution on Mueller Hinton medium, followed by incubation at 37 °C for 24 to 48 h [12].

Preparation of the Bacterial Suspension: A portion of the pure 24-hour colony from Mueller Hinton's medium from each strain was emulsified in 5 ml of physiological water to obtain turbidity of 0.5 on the Mc Farland standard.

Diffusion Test in Agar Medium: Each inoculum was inoculated by swabbing onto Petri dishes containing Mueller Hinton agar [12]. Using the sterile Pasteur pipette tip, wells 6 mm in diameter were made in the agar. 50 µl of each extract were placed in the wells. A well containing sterile distilled water served as a negative control. The Petri dishes were left for 1 hour at room temperature for pre-diffusion of the extracts before being incubated at 37 °C in an oven for 18 h [12]. After the incubation period, the dishes were examined for the measurement of the diameters of zones of inhibition around the wells. The standards used to interpret the inhibition diameters are summarized in **Table 2.**

TABLE 2: CORRESPONDENCE USED FOR READING THE RESULTS OF ANTIBACTERIAL TESTS OF PLANT EXTRACTS [13]

Diamètre de zone d'inhibition (Δ)	Degré de sensibilité du germe	Symbole
Δ < 7 mm	Insensitive	-
7 mm ≤ Δ < 8 mm	Sensible	+
8 mm ≤ Δ < 9 mm	Assez sensible	++
Δ ≥ 9 mm	Very sensitive	+++

Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and Antibiotic Power (AP) of Extracts: Microdilution on 96-well plates was used to determine the MICs of the extracts on the strains. 100 µl of Mueller-Hinton broth (MHB) was deposited in each well of the microplate (1 to 10 wells). 100 µl of the stock solution of each extract was deposited in the first well. After homogenization by aspiration-discharge using a micropipette, 200 µl of extract solution at 50 mg/ml is obtained.

100 µl of this new solution was taken and mixed with the Mueller Hinton broth contained in the second well and this dilution series was carried out from well to well until the 10th well from which the 100 µl was discarded to have concentrations of 50 mg/ml; 25 mg/ml; 12 mg/ml; 6.250 mg/ml; 3.125 mg/ml; 1.562 mg/ml; 0.781 mg/ml; 0.391 mg/ml; 0.195 mg/ml and 0.098 mg/ml.

Finally, 100 µl of the bacterial suspension was added to each well. A positive control consisted of 100 µl of Mueller Hinton broth and 100 µl of the bacterial suspension, while the negative control contained 100 µl of Mueller Hinton broth and 100 µl of the extract stock solution. The microplates were covered with para-film and incubated for 24 h at 37°C. MICs were determined by adding Tetrazolium (developer).

For the determination of MBC, all wells with higher MIC concentrations were then inoculated onto Mueller Hinton agar and placed at 37°C for 24 h. This resulted in the determination of the MBC corresponding to the lowest concentration of extract that showed no bacterial colonies. The antibacterial potency of extracts is judged to be bactericidal or bacteriostatic based on the ratio R= MBC/MIC[11].

Chemical Characterization of Medicinal Plants:

Phytochemical Screening: Qualitative phyto-chemical screening was performed on the powder using the method based on staining and/or precipitation reactions, described by Houghton and Raman [14]. **Table 3** shows the different chemical groups searched for and the principle of the reactions.

IJPSR GALLEY PROOF COPY, DECEMBER ISSUE, 2021

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

TABLE 3: SUMMARY TABLE OF CHEMICAL GROUPS, IDENTIFICATION REACTIONS AND INDICATORS USED

Chemical families	Identification reagents	Indicator (Positive Reaction)
Polyphenols	Ferric chloride $FeCl_3$ (2%)	Appearance of a more or less dark blue-blackish or green coloration
Flavonoids	Hydrochloric Alcohol, Magnesium Copals, Isoamyl Alcohol	Heat release followed by pinkish-orange or purplish coloration
Tannins	Formaldehyde, Concentrated hydrochloric acid	Blue tint
Alkaloids	Dragendorff (Potassium iodobismuthate solution)	Precipitation of reddish-brown coloring
Saponines	Mousse index	Appearance of persistent mossen

Dosages of Phenolic Compounds: The determination of the phenolic compounds: total polyphenols (TPP), total flavonoids (FVT) present in the various plants studied was carried out using a UV-visible spectrophotometer type Cary 50.

Determination of Total Polyphenols (TPP): The total phenol content of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method [15]. A quantity of 200 µl of the plant extract is introduced into a 2 ml Eppendorf tube; the extract is then diluted with 1800 µl distilled water. Subsequently, 1800 µl of "Folin-Ciocalteu" reagent (1N) and 400 µl of Na_2CO_3 (20%) are added successively. The resulting mixture is incubated at room temperature for 40 minutes in the dark. The absorbance is then measured with a spectrophotometer at 725 nm; a methanol solution is used as a blank. The results obtained are expressed in mg gallic acid equivalent per gram of dry matter (EGA/g Ms). The total phenol contents of the extracts were expressed in mg gallic acid equivalent per gram of dry matter (EGA/g Ms). The contents were determined from the linear regression equation (TPP: y=0.2337x+ 0.1143) of the gallic acid calibration **Fig. 1**.

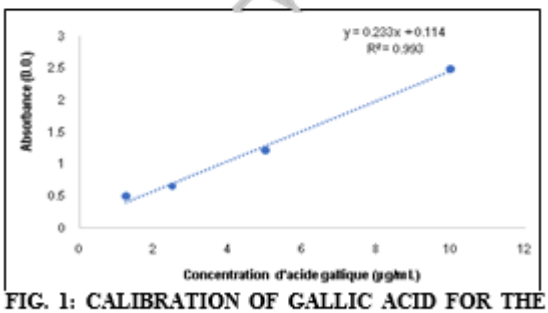


FIG. 1: CALIBRATION OF GALLIC ACID FOR THE DETERMINATION OF TOTAL PHENOL CONTENT

Determination of Total Flavonoids (FVT): The flavonoid content of the extracts was determined using the aluminum trichloride colorimetric method [16]. 250 µl of the studied extract and 1 ml of distilled water were initially deposited in test tubes. At an initial time (t=0) 75 µl of a 5% sodium nitrite solution is added. After 5 minutes, 75 µl of 10% aluminium chloride is added. Six (6) minutes later, 500 µl of a 1N sodium hydroxide (NaOH) solution and 2.5 ml distilled water are added. The absorbance of each mixture obtained is directly measured with the UV-visible spectrophotometer at 510 nm. The results obtained are expressed in mg catechin equivalent per gram dry matter (EC/g DM).

The total flavonoid contents of the extracts were expressed in mg equivalent of catechin per gram of dry matter (EC/g DM). The levels were determined from the linear regression equation (FVT: y= 0.0358x - 0.0112) of the catechin calibration **Fig. 2**.

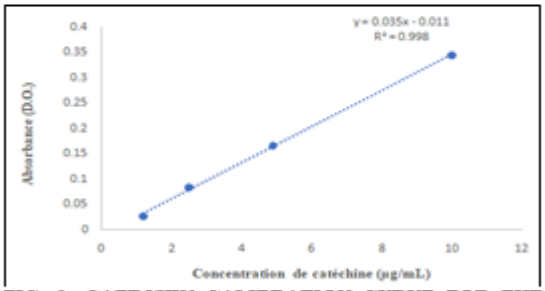


FIG. 2: CATECHIN CALIBRATION CURVE FOR THE DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT

Anti-Radical Activity by ABTS Test: This test is based on the ability of an antioxidant to stabilize the cationic radical $ABTS^{\bullet+}$ (ammonium salt of 2,2'- azino bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) of greenish-blue coloring. This cationic radical is formed as a result of the oxidation of the initially colourless ABTS with various compounds such as potassium phosphate (KH_2PO_4) and 2,2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH). Thus, the reaction takes place in two steps: In the first step the radical $ABTS^{\bullet+}$ is formed by the removal of an electron e- from a nitrogen

PROOF COPY DECEMBER ISSUE 2021

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

atom of the ABTS. The second takes place in the presence of trolox (or antioxidant donor of $H^{\bullet}$), the nitrogen radical concerned traps a $H^{\bullet}$, leading to ABTSH+, resulting in the discoloration of the solution.

Anti-Radical Activity by the DPPH Test: The method used by Nounagnon *et al.*, [17] was used. Trolox was used as an antioxidant, donor of H^{+}.

Statistical Analyses: For larval toxicity, the lethal concentration causing 50% larval death (LC_{50}) was calculated with a 95% confidence interval using linear regression analysis and the prohibit analysis method. For the spectophotometric tests, Excel software was used to enter the data, which corresponded to the ODs read for each extract. The KC Junior 1-31-5 software (Bio-teck Instrument Inc. USA) was used to read the ODs and determine the UV spectra using a spectrophotometer (µQuant Bio-teck Instrument Inc. USA) coupled to a computer.

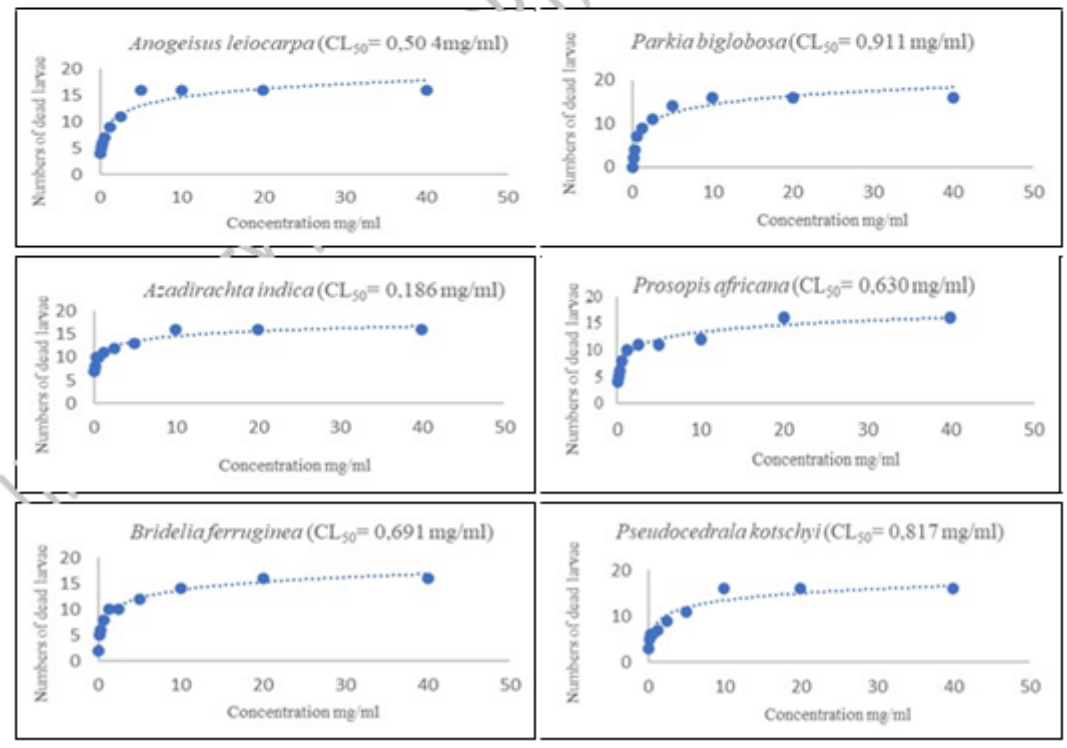
RESULTS:

Extraction Yield: Extraction yields varied from plant to plant **Table 4**. The best yield was obtained in *V. paradoxa* (31.46%) while *D. mespiliformis* had the lowest yield (10.75%).

TABLE 4: EXTRACTION YIELD OF TESTED PLANTS

Plants studied	Performance (%)
Anogeissus leiocarpa	23.02
Azadirachta indica	16.4
Bridelia ferruginea	14.21
Dialium guinense	19.1
Diospyros mespiliformis	10.75
Parkia biglobosa	13.01
Prosopis africana	20.7
Pseudocedrala kotschyi	21.3
Vitellaria paradoxa	31.46
Znathoxylum zanthoxyloides	12.2

Cytotoxicity of Extracts: The number of dead larvae of Artemia salina increases with increasing concentration. The mean lethal concentrations (LC_{50}) obtained for the extracts are shown in **Fig. 3**. With the exception of the hydroethanolic extract of *Z. zanthoxyloides*, all extracts have an LC_{50} greater than 0.1 mg/mL. Based on the toxicity scale established by sparkling [10], the nine (9) other plants are therefore non-cytotoxic. With an LC_{50} = 0.047 mg/ml, the extract of *Z. zanthoxyloides* shows moderate toxicity.



Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

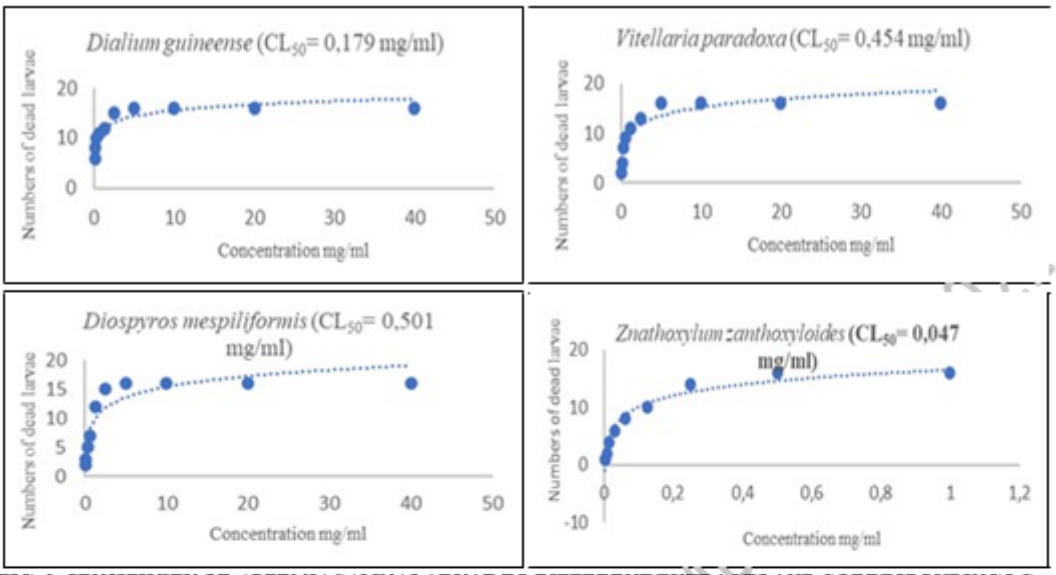


FIG. 3: SENSITIVITY OF *ARTEMIA SALINA* LARVAE TO DIFFERENT EXTRACTS AND CORRESPONDING LC_{50}

Antimicrobial Activity of Extracts:

Results of Diffusion Test in Agar Medium: Of the ten extracts tested, only the hydro-ethanolic extract of the stem of *Z. zanthoxyloides* has no activity on the bacterial strains used in **Table 5**. All other extracts are active on the reference strains. The hydro-ethanolic extracts of the stems of *P. africana* and *A. leiocarpa* are sensitive to all strains except *Klebsiella oxytoca*. The largest diameter inhibition was obtained in the extract of *A. leiocarpa* on *Escherichia coli* ATCC 25922 (25.67mm).

TABLE 5: AVERAGE DIAMETERS OF INHIBITION ZONE OF THE PLANTS EXTRACTS

Plants extracts	Diameter of inhibition zone (mm)					
	Reference strains		Clinical strains			
	Escherichia coli ATCC 25922	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923	*Klebsiella pneumoniae*	*Klebsiella oxytoca*	*Escherichia coli*	*Staphylococcus epidermidis*
A. leiocarpa	25.67	17.33	23.67	0	23.67	16.33
A.indica	15.67	15	0	0	0	10.67
B.ferruginea	15	14.33	0	0	0	0
D. guineense	13	13.67	0	0	0	12
D. mespiliformis	15	14.67	0	0	0	11.33
P. biglobosa	11	13	0	0	0	13.33
P. africana	20.33	16.33	20.67	0	21	13.67
P. kotschyi	12.33	14.33	0	0	0	13.33
V. paradoxa	15	14.67	10	0	0	11.67
Z. zanthoxyloides	0	0	0	0	0	0

Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration and Antibiotic Power: The microplate liquid dilution technique used to determine the MICs and BMCs of the extracts gave the results shown in **Table 6**. The calculation of the MBC/MIC ratio indicates that only the extracts of *A. leiocarpa* and *P. africana* have bactericidal power. These two extracts have bactericidal power on two clinical strains (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*). The extract of *A. leocarpa* has bactericidal power on the two reference strains (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923); on the other hand, *P. africana* has bactericidal power on only one (*E. coli* ATCC 25922).

IRD GALLEY PROOF COPY NOT FOR SALE

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

TABLE 6: MIC, MBC AND ANTIBIOTIC POTENTIAL OF HYDRO-ETHANOL EXTRACTS FROM SELECTED LEAVES ON THE BACTERIAL STRAINS USED

Plants extracts	Parameters (mg/ml)	*Escherichia coli ATCC 25922*	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Klebsiella oxytoca*	*Staphylococcus aureus ATCC 25923*	*Staphylococcus epidermidis*
A. leiocarpa	CMI	6.25	6.25	6.25	-	6.25	12.50
	CMB	6.25	6.25	6.25	-	12.5	50
	P.a.	1*	1*	1*	-	2*	4
A. indica	CMI	6.25	-	-	-	6.25	12.50
	CMB	25	-	-	-	25	> 50
	P.a.	4	-	-	-	4	-
B. ferruginea	CMI	6.25	-	-	-	6.25	-
	CMB	50	-	-	-	50	-
	P.a	8	-	-	-	8	-
D. guineense	CMI	12.50	-	-	-	6.25	6.25
	CMB	> 50	-	-	-	25	25
	P.a.	-	-	-	-	4	4
D. mespiliformis	CMI	12.50	-	-	-	12.50	12.50
	CMB	50	-	-	-	50	> 50
	P.a.	4	-	-	-	4	-
P. biglobosa	CMI	12.50	-	-	-	12.50	12.50
	CMB	> 50	-	-	-	> 50	> 50
	P.a.	-	-	-	-	-	-
P. africana	CMI	6.25	3.13	6.25	-	6.25	6.25
	CMB	12.50	3.13	12.50	-	25	25
	P.a.	2*	1*	2*	-	4	4
P. kotschyi	CMI	6.25	-	-	-	6.25	12.50
	CMB	50	-	-	-	25	50
	P.a.	8	-	-	-	4	4
V. paradoxa	CMI	6.25	-	-	-	6.25	6.25
	CMB	50	-	-	-	50	50
	P.a.	8	-	-	-	8	8

P.a with * = Bactericidal power; P.a. without * = bacteriostatic power

Chemical Characterization of Medicinal Plants: The chemical characterization of the extracts took into account the qualitative screening, the dosage of phenolic compounds and the determination of the antioxidant power of the extracts. Only the active extracts (9) were taken into account.

Results of the Qualitative Screening: Phytochemical analysis of the plants tested revealed the presence of several phytochemical compounds **Table 7**. These are alkaloids, tannins, saponins, flavonoids and polyphenolic compounds. Alkaloids are present only in *P. biglobosa*.

TABLE 7: RESULTS OF PHYTOCHEMICAL SCREENING

Plants: Bark of trunk	Major groups of chemical compounds				
	Alkaloids	Polyphenols	Flavonoids	Tannins	Saponines
A. leiocarpa	-	++	++	++	++
A. indica	-	+	++	+	++
B. ferruginea	-	++	++	++	++
D. guineense	-	++	++	++	++
D. mespiliformis	-	++	++	++	++
P. biglobosa	+	++	++	+	++
P. africana	-	++	++	++	+
P. kotschyi	-	++	++	++	+
V. paradoxa	-	+	++	-	++

+ = very positive reaction, + = moderately positive reaction, - = negative test

Content of Phenolic Compounds: Table 8 shows the levels of total polyphenols (TPP) and total flavonoids (FVT) in the various extracts. The levels vary from plant to plant. The highest FVT levels are recorded in *Pseudocedrala kotschyi* with 145.86±0.7 EC/gMS. This is followed by *A. leiocarpa* (82.04±0.4 EC/gMS), *B. ferruginea* (81.34±0.7 EC/gMS), *P. biglobosa* (32.22±0.01 EC/gMS) and *P. africana* (23.49±0.07 EC/gMS). *D. guineense* has the highest PPT content (70.194±

IJPSR ONLY PROOF COPY

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

0.220 EGA/g Ms) while the lowest polyphenol content is obtained from the hydro-ethanol extract of *D. mespiliformis* (3.068±0.050 EGA/g Ms).

TABLE 8: DOSAGES OF TOTAL POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS

Species	Total flavonoid content (FVT)	Total polyphenol content (TPP)
A. leiocarpa	82.04±0.4	21.51±0.04
A. indica	4.22±0.02	20.43±0.4
B. ferruginea	81.34±0.7	30.98±0.5
D. guineense	3.58±0.13	70.19±0.2
D. mespiliformis	22.02±0.3	3.06±0.05
P. biglobosa	32.22±0.01	9.40±0.6
P. africana	23.49±0.07	10.79±0.5
P. kotschyi	145.86±0.7	64.71±0.2
V. paradoxa	5.7±0.1	19.67±0.2

Antioxidant Power of Extracts: The Antioxidant Power of the extracts was evaluated based on their ability to inhibit free radicals ABTS and DPPH. Trolox and catechin were used as reference molecules. The antiradical powers of the extracts with respect to DPPH and ABTS radicals were determined respectively by the equation lines $y = -0.8784x + 2.0281$ ($R^2 = 0.9925$) in Trolox (Trolox Eq mg/gMS) and $y = -0.2023x + 0.5099$ ($R^2 = 0.9807$) in catechin (Eq cat mg/MS). **Fig. 4** shows the antiradical capacities of extracts with respect to the DPPH and ABTS radicals. The highest antiradical power with respect to the DPPH radical is obtained with the hydro-ethanolic extract of *P. biglobosa* (22.92±0.15 mg ET/gMS), which records the lowest antiradical power with respect to the ABTS radical (1.61±0, mg ET/gMS).

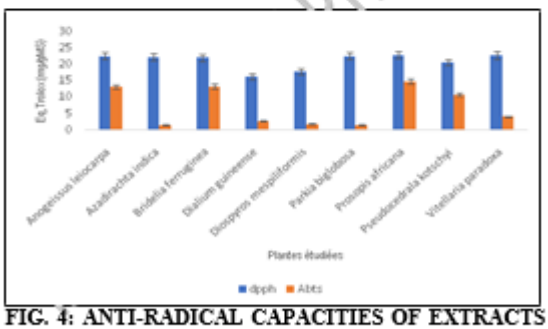


FIG. 4: ANTI-RADICAL CAPACITIES OF EXTRACTS WITH RESPECT TO THE DPPH AND ABTS

The strongest antiradical activity (ABTS) is recorded in the species *A. leiocarpa* (14.97±0.83 mg Cat/gMS), *B. ferruginea* (15.57±0.4 mg Cat/gMS), *P. africana* (13.25±0.1 mg Cat/gMS) and *P. Kotschyi* (17.35±0.08 mg Cat/gMS). As the ABTS radical of these plants increases, so does their DPPH. These species, therefore, have interesting antioxidant activity. These same species have practically the highest levels of flavonoids and total polyphenols.

DISCUSSION: This study aimed at valorizing 10 medicinal plants traditionally used in Benin for oral care: *Z. zanthoxyloides*, *V. paradoxa*, *P. africana*, *D. guineense*, *P. kotschyi*, *P. biglobosa*, *A. indica*, *D. mespiliformis*, *A. leiocarpa* and *B. ferruginea*. The proposed valorisation strategy involves the production of scientific data on their toxicity, antimicrobial activities and chemical properties.

Extraction results showed variability in extraction yields from one extract to another. The yield expresses the percentage of active ingredients extracted by the solvent. It is an important parameter to discuss the biological activities of an extract. It is known that the affinity of a solvent for phytomolecules and its polarity influence the yield [18]. Thus, the variability of yields could be explained by the variable presence in plants of active molecules with affinity for the water-ethanol mixture.

The *Artemia salina* model was used to assess the cytotoxic effect of the extracts. With the exception of the hydroethanolic extract of *Z. zanthoxyloides*, all extracts have an LC_{50} greater than 0.1 mg/mL. Based on the Toxicity Scale established by sparkling wine [11]; these plants are therefore non-cytotoxic. The cyotoxicity test, according to the *Artemia salina* model is a preliminary screening to determine the degree of cytotoxicity of a product. The work of Parra *et al.*, [19] has shown a good correlation ($r= 0.85$; $p<0.05$) between this test and the toxicological effects of a substance on a whole animal. The larval cytotoxicity of *Z. zanthoxyloides* confirms the results of previous work that attributed toxicity to this plant. Indeed, Goodman *et al.*, [20] found that the dichloromethane extract of *Z. zanthoxyloides* was cytotoxic with an LC_{50} of less than 0.1 mg/Ml. The non-cytotoxic character of the extracts guarantees the therapeutic use of medicinal plants without risk to human health. However, the cytotoxicity test is only a preliminary test. Extensive toxicity work, such as acute and chronic toxicity, is necessary to guarantee the non-toxicity of the medicinal plants.

PROOF COPY, DECEMBER ISSUE, 2021

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

Of the ten extracts tested, only the hydro-ethanolic extract of the *Z. zanthoxyloid* stem has no activity on the bacterial strains used. *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (reference strains) and *Staphylococcus epidermidis* (clinical strain) are sensitive to the hydro-ethanolic extract of *D. guineense*. This confirms the work of Osuagwu and Eme [21] who have shown the activity of extracts of this plant on these strains. Olajubu *et al.*, [22] also showed the activity of *D. guineense* extracts on *S. aureus* 25923. Of all the strains, the most active extracts are those of *P. africana* and *A. leiocarpa*. The extracts of these two plants inhibited 83.3% of the strains tested, while presenting the largest diameters of inhibition. With regard to *A. leiocarpa*, the results obtained confirm the data previously obtained by Ali *et al.*, [23] who showed the inhibition of *S. aureus* and *K. pneumoniae* by the ethyl acetate extract of the stem bark of *A. leiocarpa*. But the diameters of inhibition are much larger than those obtained with the hydro-ethanolic extract in this study, which can be assimilated to the difference in polarity of the extraction solvents.

The inhibition of clinical strains of *E. coli* by aqueous and ethanolic extracts of *A. leiocarpa* roots, as reported by Gbadamosi and Ogunsuyi [24] also supports the results of the present study, making this species a reservoir of bioactive molecules with antimicrobial activities to be used in the fight against microbial infections. With regard to *P. africana*, the results obtained corroborate the work of Kukushe *et al.*, [25], which showed inhibition of *S. aureus*, *K. pneumoniae* and *E. coli* by aqueous and methanolic extracts of *P. africana*.

It should be noted that the hydro-ethanol extracts of the stems of *D. guineense*, *P. kotschyi*, *P. biglobosa*, *A. indica*, *D. mespiliformis*, *V. paradoxa* and *B. ferruginea* were only active on the reference strain *Escherichia coli* ATCC 25922 and not on the clinical strain *E. coli*. This difference in activity could be explained by the fact that the reference strains are usually already characterized.

Differences in the sensitivity of the strains to the extracts compared to other studies could be related to different parameters: the origin of the strains, the characteristics of the strains and the manipulation techniques. Moreover, the remarkable antibacterial activities recorded to justify the use of medicinal plants for oral care because the extracts have inhibited bacterial strains involved in oral ulcers.

To explain the antimicrobial activity of the extracts, chemical characterization of the extracts was performed. The results of the phytochemical screening show, at the level of the tested plants, the presence of alkaloids, tannins, saponins, flavonoids and polyphenolic compounds. Quantitatively, interesting and variable contents of polyphenol and flavonoid extracts were found. All the extracts showed antioxidant activity with an inhibitory power of DPPH and ABTS radicals.

The variability in the chemical composition of the extracts could be explained by the taxonomic diversity of plant species. In addition, the interesting antibacterial properties of the plants involved in the present study could be explained by their content of polyphenols and flavonoids. Indeed, it is believed that the ability of an herbal remedy to inhibit microbial growth is due to its various components [26]. These are mostly the products of plant metabolism, which from a chemical point of view can belong to the most varied groups of substances: phenolic compounds, tannins, anthocyanins, coumarins, alkaloids and flavonoids [27, 28].

Data on the phytochemistry of extracts support scientific works in the literature that have shown the same chemical components in extracts of *P. africana* [29], *D. guineense* [21], *V. paradoxa* [30], and *A. leiocarpa* [24]. *A. leiocarpa* and *P. africana* presented the best antioxidant activities. These plants can thus effectively contribute to reduce oxidative stress which is associated with several pathologies. Authors believe that the use of natural products rich in antioxidants could play an important role in the prevention of these diseases [31]. An antioxidant activity associated with good antimicrobial activity is therefore an asset.

CONCLUSION: *V. paradoxa*, *P. africana*, *D. guineense*, *P. kotschyi*, *P. biglobosa*, *A. indica*, *D. mespiliformis*, *A. leiocarpa* and *B. ferruginea* have a chemical composition likely to be valued in the management of oral infections, especially since they are non-cytotoxic. The extracts of *A. leiocarpa*

IJPSR GALLEY PROOF COPY, DECEMBER ISSUE, 2021

and *P. africana* have been distinguished by having better antioxidant activities, associated with an interesting antibacterial activity. More in-depth work is necessary on these plants for optimal valorization.

CONFLICTS OF INTEREST: The authors declare that there is no potential conflict of interest between them.

REFERENCES:

1. Organisation Mondiale de la Santé: Santé bucco-dentaire. 2018. https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/oral-health. Accessed 29 Aug 2020.
2. Sheiham A: Oral health, general health and quality of life. Bulletin of the World Health Organization 2005; 83: 644.
3. Watt R: Strategies and approaches in oral disease prevention and health promotion. Bulletin of the World Health Organisation 2005; 83: 711-8.
4. le Grand A and Wondergem PA: Les phytotherapies anti-infectieuses de la foretsavane, Senegal (*Afrique occidentale*) I. Un inventaire. Journal of Ethno-pharmacology 1987; 21: 109-25.
5. Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso : cas des Sanan | Bois& Foretsdes Tropiques. https://revues.cirad.fr/index.php/BFT/article/view/20481. Accessed 29 Aug 2020.
6. Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. EMC – Dentisterie 2004; 1: 179-92.
7. Guezodje G: Rapport Technique d'enquête ethnobotanique sur les plantes utilisées pour les soins bucco-dentaires au Bénin. 2020.
8. Legba B, Dougnon V, Deguenon E, Agbankpe J, Senou M and Aniambossou A: Toxicological characterization of six plants of the beninese pharmacopoeia used in the treatment of Salmonellosis. Journal of Toxicology 2019; 2019. doi:10.1155/2019/3530659.
9. Lègba B, Dougnon V, Ahoyo A, Agbankpè J, Hounmanou G and Aniambossou A: Exploration of the antibacterial and chemical potential of some Beninese pharmacopoiea traditional plants. Microbiology Media 2018; 32. doi:10.4081/mm.2017.6998.
10. Mousseux M: Test de toxicité sur les larves d'Artemia salina et d'entretien d'un élevage debalanes. Rapport de stage de deuxième année. DEUST Aquaculture. Centre Universitaire de Nouvelle-Calédonie, France 1995: 75.
11. Agbankpe AJ, DougnonTV, BankoleHS, HoungbegnonO, Dah-Nouvlessounon D and Baba-Moussa L: *In vitro* antibacterial effects of Crateva adansonii, Vernonia amygdalina and *Sesamum radiatum* used for the treatment of infectious diarrhoeas in Benin. Journal of Infectious Diseases & Therapy 2016; 4: 1-7.
12. CA-SFM / EUCAST: Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie 2018.
13. Tsirinirindravo L and Andrianarisoa B: Activités antibactériennes de l'extrait des feuilles de Dalechampia clematidifolia (Euphorbiaceae). International Journal of Biological and Chemical Sciences 2009; 3. doi:10.4314/ijbcs.v3i5.51098.
14. Houghton P and Raman A: Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Springer US 1998. doi: 10.1007/978-1-4615-5809-5.
15. Majhenic L, Skerget M and Knez Z: Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food chemistry. 2007. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300780529. Accessed 30 Aug 2020.
16. Zhishen J, Mengcheng T and Jianming W: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry 1999; 64: 555-9.
17. Nounagnon MS, Dah-nouvlessounon D, N'tcha C, Legba B, Baba-moussa F and Adjanohoun A: Phytochemistry and biological activities of *Crateva adansonii* extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2018; 10: 62.
18. Dah-Nouvlessounon D, Adoukonou-Sagbadja H, Diarrassouba N, Sina H, Adjanohoun A and Inoussa M: Phytochemical Analysis and Biological Activities of Cola nitida Bark. Biochemistry Research International. 2015. doi:10.1155/2015/493879.
19. Parra AL, Yhebra RS, Sardiñas IG and Buela LI: Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. Phytomedicine 2001; 8: 395-400.
20. Goodman C, Hoang A, Diallo D, Malterud K, Mcfadden G and Wangensteen H: Anti-plasmodial effects of *Zanthoxylum zanthoxyloides*. Planta Medica 2019; 85.
21. Osuagwu GGE and Eme CF: The phytochemical composition and antimicrobial activity of *Dialium guineense*, *Vitex doniana* and *Dennettia tripetala* leaves. Applied Sciences 2013; 2: 13.
22. Olajubu F, Akpan I, Ojo D and Oluwalana S: Antimicrobial potential of *Dialium guineense* (Wild.) stem bark on some clinical isolates in Nigeria. International Journal of Applied Basic Medical Research 2012; 2: 58-62.
23. Ali E, Anyam J and Chrinius H: Antimicrobial activity of *Anogeissus leiocarpus* stems bark extracts and an isolate from the plant against some microbes. American Journal of Research Communication 2017; 5(8): 9-25.
24. Gbadamosi IT and Ogunsuyi AO: An appraisal of the potency of roots of *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. and *Terminalia glaucescens* Benth. in the management of *E. coli* related infections. Journal of Applied Biosciences 2014; 78: 6646-53.
25. Kukushe K, Ibeh N, Odozi P and Otoikhian C: Antimicrobial activity of aqueous and methanol extract of *Prosopis africana* on selected bacteria isolates. Indo-American Journal of Life Sciences and Biotechnology 2014; 2: 10-4.
26. Kanoun K, Abbouni B, Bénine ML, Benmahdi FZ and Marouf B: Etude de l'efficacité de l'extrait ethanolique d'ecorces de *Punica granatum* linn sur deux souches phytopathogenes : *Ascocyhta rabiei* (pass.) Labr. et *Fusarium oxysporum* f.sp.radicis –lycopersici. European Scientific Journal, ESJ. 2014; 10. https://eujournal.org/index.php/esj/article/view/3181. Accessed 31 Aug 2019.
27. Bruneton J: Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris: Tec & Doc; 2009.
28. Chevallier A: Larousse des plantes médicinales. Paris: Larousse; 2013.
29. Idris MM and Idris U: Assessment of cytotoxicity and antiplasmodial activities of *Prosopis africana* leaf extracts. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 2019; 12: 380-5.
30. Fa K, Oyedum UM, Sa G, Bala, Sa A and Abdulameen S: Antibacterial activity of *Vitellaria paradoxa* onsome enteric bacteria. 2018; 3882-92.
31. Pousset JL: Place des médicaments traditionnels en Afrique. Médecine Tropicale 2006; 66: 606-09.

IJPSR (2021), Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

Guezodje et al., IJPSR, 2021; Vol. 12(12): 1000-11. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

How to cite this article:
Guezodje TGP, Agbankpe AJ, Dassou GH, Dougnon TV, Dicko A and Yedomonhan H: Cytotoxicity, antimicrobial activities and chemical properties of ten plants from the Benin Pharmacopoeia used for oral care. Int J Pharm Sci & Res 2021; 12(12): 1000-11. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.12(12).1000-11.

All © 2013 are reserved by the International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. This Journal licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported License.

This article can be downloaded to **Android OS** based mobile. Scan QR Code using Code/Bar Scanner from your mobile. (Scanners are available on Google Playstore)

Annexe 2 : Monographie des plantes dix plantes étudiées

1-Anogeissus leiocarpa (DC.) Guill. &Perr









SYSTEMATIQUE

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédone

Ordre : Myrtales

Famille : Combretaceae

Genre : Anogeissus.

Espèce : *Anogeissus leiocarpa*

Noms locaux : Bouleau d'Afrique en Français, hlihon en Fon , karakarah en Bariba.

2- *Azadirachta indica A. Juss.*



SYSTEMATIQUE

Regne : Végétal

Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotyledone

Ordre : Spindales

Famille : Meliaceae

Genre : Azadirachta

Espèce : *Azadirachta Indica*

Noms locaux : Margousier ou neem (Français), kininou (Fon), titousk

3- Bridelia ferruginea Benth





SYSTEMATIQUE

Règne : végétal

Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédons

Ordre : Euphorbiales

Famille : Euphorbiacea

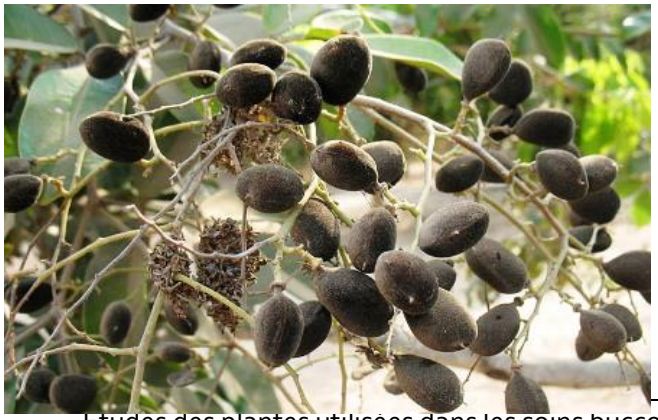
Genre : Bridelia

Espèce : *Bridelia Ferruginea*

Noms locaux : hongla, honsoukokwe (Fon, goun), bamon (Yom), ira, tchantchala (Yoruba)

4- Dialium guineense Willd.





SYSTEMATIQUE

Règne : Végétal

Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédone

Ordre : Fabales

Famille : Leguminosae

Genre : Dialium

Espèce : *Dialium guineense.*

Noms locaux : tumble tree (anglais.) asèmswèn, asiswe, asiswetin, asswensswen (fon, goun); anwin, iwin igianyi, agiya, agiraja (yoruba, nago)..

5- ***Diospyros mespiliformis Hochst. ex A. Rich.***





SYSTEMATIQUE

Régne : Végétal

Classe : Magnolopsida (Dicotylédones)

Ordre: Ebenales

Famille: Ebenaceae

Genre: Diospyros

Espèce: ***Diospyros mespiliformis***

Noms locaux : kinwoui (Fon), tokoi (Dendi), bougordou (Gourmanché)

6- Parkia biglobosa (Jacq.) G.Don.





SYSTEMATIQUE

Règne : Végétal

Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédone

Ordre Fabales

Famille : Leguminosae

Genre Parkia

Espèce : ***Parkia biglobosa***

Noms locaux : Caroubier africain (Français, awatin en Fon, hraboro tchakpa en Bariba et sèssè, koutchoum en Kotakoli.

7- Prosopis africana (Guill. & Perr.) Taub.





SYSTEMATIQUE

Règne : Végétal

Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones vraies

Ordre : Fabales

Famille : Leguminosae

Genre : Prosopis

Espèce : *Prosopis africana*

Noms locaux : **Mesquite (Français), kakè (Fon), guinsohbah (Berba) et likpanli (Peulh)**

8- Pseudocedrela kotschyi (Schweinf.) Harms





SYSTEMATIQUE

Règne : Plantae

Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédone

Ordre : Sapindales

Famille : Meliaceae

Genre : Pseudocedrela

Espèce : *Pseudocedrela kotschyi*

Noms locaux : Bissisoussoumbou (Bariba), atissoudonkpwè, tchaklikli (Fon, Goun), alotètèhoulé (Loukpa)

9- *Vitellaria paradoxa C. F. Gaertn.*





SYSTEMATIQUE

Règne : Végétal

Embranchement: Angiospermes

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Ebénales

Famille: Sapotaceae

Genre: Vitelaria

Espèce : ***Vitellaria paradoxa***

Noms locaux : Or des femmes (Français), ougo, kotoblè (Fon), sombouh, (Bariba) et coutchékou, tamou (Kotokoli)

10 - *Zanthoxylum zanthoxyloides L.*





SYSTEMATIQUE

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rutalées

Famille : Rutacéae

Genre : Zanthozylum

Espèce : ***Zanthozylum zanthoxyloides***

Noms locaux : Fagara (Français), hêtin (Fon), ata (Yoruba)

Annexe 3 : Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires



Figure 1a. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922.

6 : *Azadirachta indica* ; 7 : *Pseudocedrala kotschyi* ; 8 : *Dialium guineense* ; 9 : *Anogeissus leiocarpa* ; 10 : *Diospyros mespiliformis*



Figure 1b. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922.

1 : *Zanthoxylum zanthoxyloides* ; 2 : *Vitellaria paradoxa* ; 3 : *Prosopis africana* ; 5 : *Bridelia ferruginea* ; 5 : *Parkia biglobosa* ; T- : Témoin négatif



Figure 2a. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Escherichia coli*.

1 : *Zanthoxylum zanthoxyloides* ; 2 : *Vitellaria paradoxa* ; 3 : *Prosopis africana* ; 5 : *Bridelia ferruginea* ; 5 : *Parkia biglobosa* ; T- : Témoin négatif



Figure 2b. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Escherichia coli*

6 : *Azadirachta indica* ; 7 : *Pseudocedrala kotschyi* ; 8 : *Dialium guineense* ; 9 : *Anogeissus leiocarpa* ; 10 : *Diospyros mespiliformis*



Figure 3a. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Klebsiella pneumoniae*.

1 : *Vitellaria paradoxa*; 2 : *Zanthoxylum zanthoxyloides*; 3 : *Prosopis africana* ; 5 : *Bridelia ferruginea* ; 5 : *Parkia biglobosa* ; T- : Témoin négatif



Figure 3b. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Klebsiella pneumoniae*

6 : *Azadirachta indica* ; 7 : *Pseudocedrala kotschyi* ; 8 : *Dialium guineense* ; 9 : *Anogeissus leiocarpa* ; 10 : *Diospyros mespiliformis*



Figure 4a. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Staphylococcus epidermidis*.

1 : *Vitellaria paradoxa*; 2 : *Zanthoxylum zanthoxyloides*; 3 : *Prosopis africana* ; 5 : *Bridelia ferruginea* ; 5 : *Parkia biglobosa* ; T- : Témoin négatif



Figure 4b. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Staphylococcus epidermidis*

6 : *Azadirachta indica* ; 7 : *Pseudocedrala kotschyi* ; 8 : *Dialium guineense* ; 9 : *Anogeissus leiocarpa* ; 10 : *Diospyros mespiliformis*



Figure 5a. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Klebsiella oxytoca*.

1 : *Vitellaria paradoxa*; 2 : *Zanthoxylum zanthoxyloides*; 3 : *Prosopis africana* ; 5 : *Bridelia ferruginea* ; 5 : *Parkia biglobosa* ; T- : Témoin négatif



Figure 5b. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche clinique de *Staphylococcus epidermidis*

6 : *Azadirachta indica* ; 7 : *Pseudocedrala kotschyi* ; 8 : *Dialium guineense* ; 9 : *Anogeissus leiocarpa* ; 10 : *Diospyros mespiliformis*



Figure 6a. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1 : *Vitellaria paradoxa*; 2 : *Zanthoxylum zanthoxyloides*; 3 : *Prosopis africana* ; 5 : *Bridelia ferruginea* ; 5 : *Parkia biglobosa* ; T- : Témoin négatif



Figure 6b. Diamètres de zone d'inhibition des extraits hydroéthanoliques des dix plantes prioritaires à usages bucco dentaires sur la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

6 : *Azadirachta indica* ; 7 : *Pseudocedrala kotschyi* ; 8 : *Dialium guineense* ; 9 : *Anogeissus leiocarpa* ; 10 : *Diospyros mespiliformis*

Annexe 4 : Fiche de collecte de données ethnobotaniques

Date :……Commune :……Village: .....

Identité de l'enquêté

Nom et prénom de l'enquêté……Age :……Sexe :……Ethnie :……

Profession : ……...

Milieu (rural ; péri-urbain, urbain) : .....

Niveau d'instruction (0-nul, 1-primaire, 2-secondaire, 3-universitaire) : .....

Données ethnobotaniques

1- Utilisez-vous des plantes pour votre hygiène et vos traitements bucco-dentaires ?.....……

Oui ☐ Non ☐

2- Quels sont les espèces que vous utilisez ou vendez dans l'hygiène et le traitement des affections bucco-dentaires (citer les avec les renseignements afférents) ?

N	1	2	3
Nom vernaculaire			
Nom scientifique			
Maladies traitées (types d'affections)			
Organes utilisés (tige, racines, feuilles, autres)			
Rôle bucco-dentaire (hygiène, thérapeutique , magique, autres)			
Mode d'utilisation (brosse, mâchage, Gargarisme, autre)			
Moment d'usage (matin, midi, soir)			
Nombre de jour d'utilisation par mois			
Nombre de personnes qui l'utilisent dans le Ménage/total			
Critères d'usage (tendresse du bois, goût			

Amère, piquant, fade, autres à décrire)			
Mode d'approvisionnement (récolte, achat, Autres à préciser)			
Lieu d'approvisionnement (terroir villageois, ane, foret, marché, etc…)			
Disponibilité (rare, fréquent, abondant)			
Autres usage de la plante (alimentaire, Médicinale *, culturel, bois de chauffe, autre)			

* dans le cadre médicinal, indiquez les maladies traitées avec leur recette

3-Connaissez-vous les affections (maladies ou symptomes) bucco-dentaires ?.....

Si oui, citer les dans l'ordre décroissant de prévalence :…….....

……

(a-aphte, **b**-carie dentaire, **c**-gingivite, **d**-stomatite, **e**-odontalgie, **f**-muguet, **g**-mauvaise haleine, **h**-trouble de dentition, **i**-noma, **j**-fluorose)

4-Parmi les affections citées, lesquelles sont traitées par les plantes ? (citer les avec renseignements afférents)

Maladies ou symptômes traités	**Plantes utilisées** (nom vernaculaire)	**Organes utilisées** (tige, racine, feuilles, rhizome tubercule, fleur, fruit)	**Mode d'utilisation** (brosse, mâchement, décoction, Infusion, macération, autres à préciser)	**Mode d'administration** (gargarisme,pansement, autres à préciser)	**Posologie** (quantité et nombre de prises)

5-Avez-vous autres choses à indiquer ?.....

TABLE DES MATIERES

DEDICACE I

REMERCIEMENTS II

SOMMAIRE IV

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS VI

LISTE DES FIGURES VII

LISTE DES TABLEAUX X

LISTES DES ANNEXES XII

RESUME XIII

ABSTRACT XV

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ET PRESENTATION DU MILIEU D'ETUDE 6

1.1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 7

1.1.1 Généralités sur les affections bucco-dentaires 7

1.1.2 Prise en charge des affections bucco-dentaires et problématique de résistance des germes responsables des affections bucco-dentaires aux antibiotiques conventionnelles.. 17

1.1.3 Activité antibactérienne 18

1.1.4 Utilisation des phytomédicaments comme une solution alternative aux phénomènes de résistance des germes dans le traitement des affections bucco-dentaires 21

1.2 PRESENTATION DU MILIEU D'ETUDE 47

1.2.1 Situation géographique 47

1.2.2 Caractéristiques climatiques et pédologiques 47

1.2.3 Caractéristiques phytogéographiques 49

1.2.4 Population humaine et activités 51

CHAPITRE 2 : DIVERSITE, USAGES ET VULNERABILITE DES PLANTES MEDICINALES UTILISEES DANS LE TRAITEMENT DES AFFECTIONS BUCCO DENTAIRES AU BENIN 55

INTRODUCTION 56

2.1 METHODOLOGIE 57

2.1.1 Collectes de données 57

2.1.3 Analyse des données 63

2.2 RESULTATS 68

2.2.1 Influence des facteurs socioculturels et environnementaux sur la connaissance des plantes à usages bucco dentaires 68

2.2.2 Diversité floristique des plantes à usages bucco dentaires 71

2.2.3 Affections et symptômes bucco-dentaires et plantes prioritaires utilisées pour leur traitement 101

2.3 DISCUSSION 103

CONCLUSION 106

CHAPITRE 3 : CYTOTOXICITE ET ACTIVITES ANTIMICROBIENNE DES PLANTES VULNERABLES DE LA PHARMACOPEE BENINOISE UTILISEES POUR LES SOINS ET LE TRAITEMENT DES AFFECTIONS BUCCO-DENTAIRES 108

INTRODUCTION 109

3.1 MATERIELS ET METHODES 109

3.1.1 Matériels 109

3.1.2 Méthodes 110

3.2 ANALYSES STATISTIQUES 116

3.3 RESULTATS 116

3.3.1 Rendement à l'extraction 116

3.3.2 Cytotoxicité des extraits 117

3.4.3 Activité antimicrobienne des extraits 121

3.5 DISCUSSION 126

CONCLUSION 129

CHAPITRE 4 : SCREENING PHYTOCHIMIQUE ET LE DOSAGE DU POUVOIR ANTI RADICALAIRE (ANTIOXYDANT) 130

INTRODUCTION 131

4.1 MATERIEL ET METHODES 132

4.1.1 Matériel végétal 132

4.2.2 Méthodes *137*

4.2.3 Traitement des données *155*

4.3 RESULTATS **156**

4.3.1 Composition chimique des plantes *156*

4.3.1 Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés par spectrophotométrie (UV-visible) *157*

4.3.3 Evaluation des activités anti-oxydantes (AAO) des extraits des écorces de Prosopis africana et de Anogeisus leiocarpa *158*

4.3.4 Nature et quantité des composés phénoliques des plantes de A. leiocarpa et de P. africana *159*

4.4 DISCUSSION **165**

CONCLUSION **169**

DISCUSSION GENERALE **170**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES **174**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... **A**

ANNEXES ..... **AA**