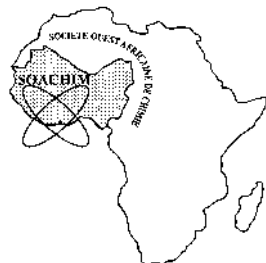


Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

SOACHIM 2024



Tél/Fax (226) 25 30 39 67
Email : soachimsp1994@yahoo.fr
site : www.soachim.org / www.soachim.info

Institut National Polytechnique Félix
Houphouët Boigny



24^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM 12 – 16 Août 2024 à Yamoussoukro, COTE D'IVOIRE

THEME :

Thème Général : « Chimie et économie circulaire : quelles contributions pour un développement durable des populations et des entreprises en Afrique ? ».

Actes des communications orales et des affiches



Sous le très Haut Patronage de son Excellence Monsieur Alassane Dramane OUATTARA, Président de la République de Côte d'Ivoire

Sous la Présidence de Prof.esseur Adama DIAWARA, Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire

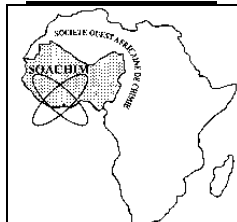
Sous la Bienveillance du Directeur Général de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

SOACHIM 2024



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67

Email : soachimsp1994@yahoo.fr

site : www.soachim.org

Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

24^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**12 – 16 Août 2024 à Yamoussoukro,
COTE D'IVOIRE**

Comité d'Organisation

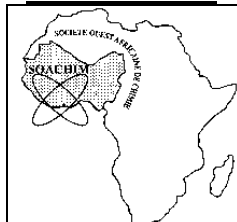
Président : Pr Gustave BEDI		
Vice-Présidente : Pr Benjamin YAO		
Conseillère : Pr Mambo Véronique		
Trésorière : Dr ASSOMA Benjamine		
Membres:		
Commission scientifique Pr AVO BILE EHUI Bernadette Pr ZIAO Nahossé Pr KONE Kouwelton Patrick Franck Olivier Pr BAMBA Kafoumba Dr KABLAN Landry Commission financement Pr OUATTARA Lassiné Pr ANDJI Jonas Dr ASSOMA Benjamine Dr OUATTARA Adama Dr KONAN Dibi Dr ZOUNGRANAN Yacouba Dr YEO Sounta	Commission logement Dr ABRO Koutouan Désiré Martial Dr AKMEL Djedjro Clément Dr SEKA Clovis Dr SANOU Ferdinand Commission logistique Dr SORO Kanigui Aminata Dr MANOUAN Wedjers Max Robin Dr KOUAKOU Victorien Dr DIKI Silvére Dr KOUASSI Béranger Dr Cisse Gaoussou Commission transport Dr MELEDJE Djedjess Essoh Jules-César Dr MEITE Namory Dr EHOUMAN Donatien Dr KOUAME Alfred	Commission accueil Dr NIAMKE Bobelé Florence Dr YAPO Yomen Cynthia Dr EKISSI Alice Dr ABLO Evrard Dr TIGORI Mougo André Commission restauration Dr AW ZITA Dr OHOUO-YAO Marie Jeanne Dr NEA Fatim Dr AMON Lydie Dr YOBOUE Antoinette
Commission secrétariat:		
Pr Mohamed SEYNOU	Dr Moustapha SAWADOGO	Dr Ignace SAWADOGO
Dr BAGAYOKO BEDE Lucie	Dr GORE Stéphane	Dr Remy BATIONO
Dr N'GAMAN Kohué Chantal	Dr TOURE Daouda	Mme Claire SOMDA

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

SOACHIM 2024



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67

Email : soachimsp1994@yahoo.fr

site : www.soachim.org

Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

24^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**12 – 16 Août 2024 à Yamoussoukro,
COTE D'IVOIRE**

Comité Scientifique

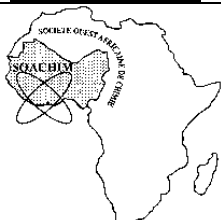
Président : Pr Karifa BAYO (Burkina Faso).		Vice-Président : Pr Nah TRAORE (Mali)	
Membres:			
 Côte d'Ivoire BEDI Gustave , YAO Kouassi Benjamin, AVO BILE EHUI Bernadette, SIAKA Sorho, SORO YAYA, BEKRO Yves-Alain, MAMYRBEKOVA Epse BEKRO,TONZIBO Zanahi, ATTIOUA Barthélemy, KADJA Amani Brice, KONE Mawa, BALLO Daouda, BAMBA Kafoumba, BIDIE Alain, ABOLLE Abollé, CISSE Ibrahima, COULIBALI Sioménan, DOUMBIA Mohamadou Lamine , ELLO Aimé Serge, ESSI Marc Marie-Maurice Mélédge, FANTE Bamba, BEDE Affoué Lucie épse BAGAYOKO, Dr KABRAN Aka Faustin, KABRAN Guy Roger, KONAN Kouakou Séraphin, KONE Souleymane, KOUAME Kan Benjamin, KOUASSI Akoua Philomène, KOUASSI N'Dri Jacob, MAMBO Véronique, MEITE Ladji, N'GORAN Zita Essan Bla Epse AW, N'GAMAN Kohué Christelle Chantal épse KOUASSI, KOUAKOU Lébé Prisca Epse AKRE, OKPEKON Aboua Timothée, Dr OUSSOU Koffi, YAO Marcel Konan, BOUA Boua Benson, YEBOUE N'guessan Lucie Natatou Ibrahim,		 Guinée Diaka SIDIBE, Ahmadou Sadio Diallo, Mamadou Lamarana Souaré, Ahmed Amara Konaté, Boubacar Diallo, Taliby Dos Camara,  Mali Aimé Ainin SOMBORO, Adama TOLOFOUDIE, Drissa SAMAKE, Zoumana TRAORE, Brahima B. TRAORE, Issiaka TOGOLA, Mahamane HAIDARA.  Sénégal Momar NDIAYE, Moussa DIENG, Nicolas AYEISSOU, Mady CISSE, Abdoulaye GASSAMA, Magatte CAMARA, Amadou DIOP,  Togo BABA Gnon, TCHANGBEDJI Gado, SANDA Komla, BAWA L. Moctar, TCHAKALA Ibrahim, SEGBEAYA Kwamivi N., NOVIDZRO Kosi, BOROZE Tchamye, AKPALO Edefia,  Burkina Faso MILLOGO Younoussa, GUEL Boubié, DJANDE Abdoulaye, KINI Félix, SAWADOGO Moustapha, DABIRE Constantin, MEDAH Roland, SORGHO Brahima, NITIEMA YEFANOVA Svetlana, OUEDRAOGO Jean Claude, MAIGA Stéphanie,	
 Commission du rapport général Président: David BOA Vice-Président : Tambi RAMDE Membres : Rapporteurs des Groupes Thématiques Malam Alma Maman Mousbahou, Abdel Karim Sani Souna Sido. Yaou Chaibou KOUADIO Georges. GUEU Soumahoro, Zoumana TRAORE, Donatien KONE, Nouhoum DIARRA, Mamadou KONARE, Amadou DIOP, Issa SAMB, OUATTARA N. Jean Pierre, BAKOUAN Corneille,			

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

SOACHIM 2024



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67

Email : soachimsp1994@yahoo.fr

site : www.soachim.org

Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

24^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**12 – 16 Août 2024 à Yamoussoukro,
COTE D'IVOIRE**

Commission du Jury

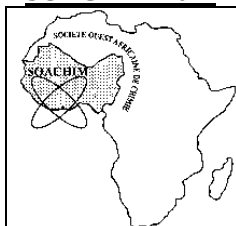
Président : Pr Emmanuel ASSIDJO	
Vice-Président : Pr Eloi PALE	
Membres :	
 Niger Hassimi Sadou, Rabani Adamou, Gourouza Marou Zanguina Adamou Ilagouma Amadou Tidjani, Bakasso Sahabi, Hassidou Saidou,  Guinée Adama Sacko, Kalaya Gomou, Hamidou Bah, Alhassane Djami Diallo, Daouda Konaté, Demba Aissata Samoura, Mamoudou Diallo,  Côte d'Ivoire ANDJI-YAPI Yao Jonas, OUATTARA Lassiné, ZIAO Nahossé, ATCHIBRI Louise Anin, AW Sadat, ABOUA Kouassi Narcisse, KABLAN Ahmont Landry Claude, SORO Doudjo, OHOU-YAO Marie Jeanne Adelaïde, NIAMKE Bobelé Florence, KOUAME Bosson Antoine, KASSI Amian Brice,  Burkina Faso PALE Eloi, MILLOGO Younoussa, TAPSOBA Issa, BAYO/BANGOURA Mabinty, ZERBO Lamine BOUGOUMA Moussa	 Mali Mamadou BADIAGA, Amadou MAIGA, Cheickna DAOU, Mamou Rachel NIAKATE, Moussa TAMBOURA, Boubacar TRAORE, Farba Bouyagui TAMBOURA,  Sénégal Adama SY, Fatou Dieng FAYE, El Hadji Alioune FALL, Cheikh SALL, Nicolas AYEISSOU, Mady CISSE, Dr Maryam Mbacké, Abdou Khadre Djily DIME, Alpha Ousmane TOURE, Mouhamadou Masseck FALL, Mbaye Diagne MBAYE,  Togo KOLEDZI Edem, TCHAKALA Ibrahim, NOVIDZRO Kosi, MELILA Mamatchi, BOROZE Tchamye, SEGBEAYA Kwamivi N., KODOM Tomkouani,

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

SOACHIM 2024



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67

Email : soachimsp1994@yahoo.fr

site : www.soachim.org

Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

24^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**12 – 16 Août 2024 à Yamoussoukro,
COTE D'IVOIRE**

Page nécrologique

Hommage aux :

✚ Pr Cheick DEMBELE (SOACHIM Mali)

✚ Pr Drissa SAMAKE (SOACHIM Mali)

✚ Pr Ané ADJOU (SOACHIM Côte d'Ivoire)

1. Etat civil

Nom : Dembélé

Prénom : Cheick

Date et lieu de naissance : 23 juin 1953 à Kayes/Mali

Situation familiale: marié, 4 enfants

Nationalité: malienne



2. Etudes et formation

- **1969-1973 Lycée Prosper Kamara** Baccalauréat série Sciences Biologiques Terminales (juin 1973 mention assez bien)
- **Janvier 1980 : Université des Sciences et de la Technologie d'Alger (Algérie) :** Diplôme d'ingénieur, option génie chimique, sujet de mémoire sur "Adsorption de la vapeur d'eau sur les bentonites".
- **Septembre 1981 : Institut National Polytechnique de Toulouse (France) :** Diplôme d'Etudes Approfondies en Génie chimique ;
- **Septembre 1983: Institut National Polytechnique de Toulouse (France)** Diplôme de Docteur-ingénieur en Génie chimique, thèse de doctorat sur " Etude des catalyseurs de déshydrogénation à base d'oxyde de fer: application à la déshydrogénation de l'éthylbenzène";
- **Novembre 1993: Université Friedrich-Alexander d'Erlangen-Nuremberg (Allemagne) :** Docteur d'état des Sciences de l'Ingénieur, thèse de doctorat sur « Caractérisation des techniques de réaction de différents catalyseurs pour la réduction sélective des oxydes d'azote contenus dans les fumées » ;

3. Expériences professionnelles

- **Février 1984 à septembre 1988: Institut National de l'Enseignement Supérieur de Génie Civil de Chlef (Algérie) :** Maître-assistant.
- **Octobre 1988 à avril 1989 :** Cours de langue allemande à l'Institut Goethe de Fribourg im Bresgau.
- Avril 1989 à mars 1994 : Institut de Chimie Technique de l'Université Erlangen-Nuremberg (Allemagne):** Assistant;
- **Juin 1994-septembre 1995 :** Expert associé au **Projet Pourghère (GTZ/DNHE)** pour la production d'insecticides à base d'huile végétale;
- **Septembre 1996-août 2000:** Expert associé au **Projet Union Européenne/4è PCRD** pour la production d'insecticides à partir d'huile de pourghère;
- **De septembre 1997 à ce jour: Faculté des Sciences et Techniques de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako,** Maître de Conférences, Chargé des cours de chimie analytique et de chimie des solutions ; Responsable du Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux ;
- **Depuis Janvier 2009 :** Membre du bureau du « Réseau des Matériaux Ouest Africains » (REMOA) de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM).
- **Depuis Septembre 2011 :** Responsable du Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux (L.P.C.M.) de la Faculté des Sciences et Techniques.
- **Depuis janvier 2015** Maître de Conférences suivant l'arrêté n° 2015 -0435/MESRS-SG du 23 mars 2015.
- **Depuis 2014-2015 :** Responsable du Master option « Chimie des matériaux »
- Membre du Secrétariat Codex sur les résidus de pesticide

4- Stages

- **Du 1er septembre au 30 novembre 2008 :** séjour à Limoges pour une étude sur le Bogolan
- **Du 19 Avril au 18 juin 2010 :** Stage de perfectionnement en Anglais au : « International Centre for Professional Studies » (ICPS) à Accra (Ghana).
- **Du 22 au 26 juillet 2013 :** Atelier de formation sur la Spectroscopie dans le proche Infrarouge (SPIR) au Laboratoire Sol-Eau-Plante de l'IER de Sotuba

5 – Publications Scientifiques

- « Déshydrogénation de l'éthylbenzène catalysée par des oxydes de fer ; F Saussay, B. Gilot, C. Dembélé, H.-S. Park, M. Boumahaza, Ch. Duangden, *Revue Entropie* 17/ 13, 1992
- **Mechanism of traditional Bogolan dyeing technique with clay on cotton fabric** P P.

- Blanchart, A. Dembélé, C. Dembélé, M. Pléa, L. Bergström, R. Granet, V. Sol, V. Gloaguen, M. degot, P. Krausz, *Applied Clay Science* 50 (2010) 455 – 460
- **Strength and creep behavior of geomaterials for building with tannin addition** B. Sorgho, L. Zerbo, I. Keita, C. Dembélé, M. Pléa, V. Sol, M. Gomina, P. Blanchart *Materials and Structures*, 2013 DOI 10.1617/s11527-013-0104-7
 - **Ageing of clay and clay-tannin geomaterials for building** I.Keita, B. Sorgho, C. Dembélé, M. Pléa, L. Zerbo, B. Guel, R. Ouedraogo, M. Gomina, P., *Construction and Building Materials* 61 (2014) 114 – 119

6 - Communications orales

- **Utilisation du N'galama et des argiles du Mali dans la technique du Bogolan** Atelier régional en chimie des matériaux et chimie du solide - Bamako du 26 au 29 Janvier 2009
- **Mechanism of of traditional Bogolan dyeing technique with clay on cotton fabric** 7ème Conférence internationale de la Société Africaine de Recherche sur les Matériaux – Addis Abéba (Ethiopie) du 8 au 13 Décembre 2013

7 -. Travaux de consultation

- **2002** : Consultant auprès de *Pesticide Action Network Africa* pour une étude sur la réglementation des pesticides au Mali.
- **Mars 2001** : Consultant auprès de l'ONG *Pesticide Action Network Africa* pour l'étude des effets des pesticides utilisés en culture du coton sur les agriculteurs et l'environnement au Mali;
- **Mars 1999**: Consultant auprès de la Société **Energie du Mali** (EDM) pour faire des propositions en vue de la création d'une structure de contrôle de la qualité de l'eau au niveau de la Direction de l'Eau du Mali;
- **Décembre 1995-juin 1996** : Consultant auprès de la Société **EDM** pour faire des propositions en vue de l'amélioration de la qualité de l'eau distribuée par l'EDM.

Bamako, le 30 septembre 2018

QUE SON AME REPOSE EN PAIX
AMEEN

Prénom : SAMAKE
Nom : Drissa
Date de naissance : 02 décembre 1969
Place of Birth : Ouelessebouougou
Nationalité : Malienne
Status : Marié
Nombre of children : 7



Formation professionnelle

2006 : Formation à l'Université Joseph Fourier sur les analyses instrumentales (2 mois).

2009 : Training course in English in Accra (Ghana) (2 months)

2010 : Formation au Burkina Faso sur le spectrophotomètre à Absorption Atomique (15 jours)

2011 : Laboratory training at Novartis and Harvard University, Boston USA (9 weeks)

Experiences professionnelle

2016 à aujourd'hui Directeur Adjoint de l'Institut des Sciences Appliquées

2011 – to now: Head of chemistry laboratory in Faculty of Sciences and Technique - University of Sciences, Techniques and Technology of Bamako.

- Lecturer of chemistry
- Chemistry department Academic Supervisor in professional course in the Faculty of Sciences and Technique University of Bamako
- Head of Applied chemistry Department in Institute of Applied Sciences.
- Responsible of analytical chemistry laboratory
- Coordinate and conduct laboratory analysis (samples of soil, various plant extract, water, foods, drugs, etc.)
- Maintain laboratory equipment to the highest quality standards to ensure effective data management
- Focal point of laboratory training of multi actors including private actors, students and other national partners
- Focal Point of partnership between the University and national companies and enterprises
- Supervision of chemistry research activities.
- Production of technical and annual reports on chemistry Research; preparation of PowerPoint
- Powerpoint Presentation during national and international seminars.
- Contribution to the preparation of publications and scientific documents.
- Responsible of the technical function of several laboratory equipments included Atomic absorption Spectrophotometer (AAS), Molecular Spectrophotometer (SM), High Performance Liquid Chromatograph (HPLC), Simple Gaze Chromatograph (CG), Gaze Chromatograph coupled to The Mass Spectrometer (CG MS), ovens, Mineralization Kjeldahl with distillatory ...

1997 – 2011 : Professeur de chimie à Université de Bamako, Mali

1994 – 1997 : Professeur de Physiques et chimie au Lycée Technique Agricole de Koutiala, Mali

Education

2005 – 2008: PhD degree: Université Josef Fourier (France) / Université de Bamako (Mali).

Thèse titre : "Traitement des eaux usées de tannerie à l'aide des matériaux à base d'argile"

1987 – 1993 : Master of science à l'Institut de chimie de Ivanova, Russia

Consultations Expert agréé en chimie près des cours et tribunaux

2012 : Formateur des techniciens de laboratoire de AGRA (Alliance for a green revolution in Africa) à Ouagadougou, Niamey et Bamako, pour l'analyse des sols.

2011 : Expert de l'UNESCO pour le traitement des eaux usées de teintureries.
2009: Expert pour l'élaboration des méthodes d'analyse des comprimés au Laboratoire National de la Santé Mali (1 an).

2009: Expert pour Installation des équipements de laboratoire et formation des techniciens du Laboratoire National des Eaux.

Association - Membre de l'ONG humanitaire "Action Secours Sans Frontière"
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie SOACHIM.

Publications

1. D. SAMAKE and als. 2012 A natural nanokaolinite clay from Marakabassi (Mali) for Chromium (III) removal in tanning effluents : I. Structure and surface characterization, *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2012) 034 ; 1-11

2. V. TRAORE, F. KANTE, I.I. YATTARA, D. SAMAKE, K. KEITA, A. COULIBALY, Polykova O.V., Kotelevtsev S.V, 2012: Establishment of promotional Program of the valorization of the arable lands by biological Depollution in the area of Sikasso and Segou in Mali. . ISESCO Journal of Science and Technology, Vol. 8 – Number 13 – may 2012 (9 – 24).

3. Drissa Samake , Brahim B Traoré1, Kalifa Keita1, Laurent Charlet, Véronique Jacob, Christophe Tournassat; 2015, Natural nano-kaolinite from Niono (Mali) II: Adsorption of chromium in tannery waste water in presence of organic compounds. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 040 ; 8- 16

4. D. Samake, B. B. Traore, K. Keita, A. Maiga, A. Doumbia, A. S. Cisse: 2014, Contamination des eaux souterraines par les éléments traces métalliques issus des décharges d'ordures ménagères dans les six communes du district de bamako, MSAS

5. B. Traore; c. Dembele; d. Samake; m. Plea1; f. Elsass; j. Duplay; m. Millet: 2014, Interaction argile - pesticide dans les sols de l'Office du Niger au Mali MSAS journal.

6. Kante Fallaye, Coulibaly Alou, Traoré Vital, Samake Drissa, Keita Kalifa, Yattara Inamoud Ibny: 2016, Biodegradation of pollutants contained in the agricultural soils of bougouni and niono (mali). Cahiers du CBRST, N° 10 Décembre 2016 Environnement et Sciences de l'Ingénieur ISSN : 1840-703X, Cotonou (Bénin).

Société Ouest-Africaine de Chimie

La nano-kaolinite naturelle de Niono (Mali) Absorption du chrome dans les eaux usées de tannerie en présence des composés organiques

Geological Society of America Arsenic and heavy metals in groundwater and surface water in Mali, West Africa

Malian Symposium of Applied Sciences

Contamination des eaux souterraines par les éléments traces métalliques issus des décharges d'ordures ménagères dans les six communes du District de Bamako.

Sixth Nepal Geological Congress : Journal of Nepal Geological Society

Comparison of surface water and groundwater arsenic in the floodplains of the Ganges and Niger Rivers

Presentation

Poster Malian Symposium of Applied Sciences

Arsenic mobilization in the wells by poor sanitation in Mali,

Malian Symposium of Applied Sciences

Traitement des eaux usées de la FST par les filtres plantés de macrophytes (typha sp et vetiveria zizanioides).

Bamako, le 30 septembre 2018

**QUE SON AME REPOSE EN PAIX
AMEEN**

Professeur ADJOU Ané

est un Chimiste ivoirien né à Agoua (S/P Bongouanou) en 1966 et décédé en octobre 2023 à Abidjan.

Formation académique

1988 : Baccalauréat série D au Lycée Moderne de Daoukro - Côte d'Ivoire

1990 : DUES II PC (FAST Université de Cocody)

1991 : Licence ès Sciences Physiques (FAST Université de Cocody)

1992 : Maîtrise ès Sciences Physiques (FAST Université de Cocody)

1995 : DEA des Sciences Physiques des Structures : option Chimie Organique à l'Université de Cocody - Abidjan - Côte d'Ivoire

2000 : Thèse de Doctorat de Chimie à l'Université de Nantes - France

Fonction à l'Université de Cocody - Abidjan - Côte d'Ivoire

2000-2003 : Assistant

2003-2007 : Maître-Assistant

2008-2014 : Maître de Conférences

Depuis 2014 : Professeur Titulaire

Titre à l'Université de Cocody - Abidjan - Côte d'Ivoire

2006-2008 : Responsable de Filière Licence de Chimie.

2008-2010 : Directeur Adjoint du laboratoire de Chimie Organique Structurale

2010-2011 : Vice Doyen chargé de la Pédagogie à l'UFR SSMT

2011- 2022: Doyen de l'UFR SSMT

Distinction

Lauréat du prix de la recherche du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire, Edition 2000

Production scientifique

Directeur ou codirecteur d'une dizaine de thèse et vingtaine de DEA et Master. Auteur d'une cinquantaine de publications et communications



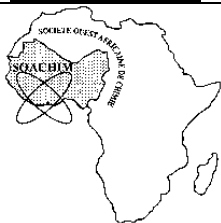
**QUE SON AME REPOSE EN PAIX
AMEEN**

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

SOACHIM 2024



Tél./Fax : (226) 50 30 39 67

Email : soachimsp1994@yahoo.fr

site : www.soachim.org

Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

24^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM

**12 – 16 Août 2024 à Yamoussoukro,
COTE D'IVOIRE**

SOMMAIRE

Conférences plénières

N°	Titres & Auteurs	Page
P1	Les opportunités de l'économie circulaire pour un développement économique et social de nos pays : la contribution du centre d'excellence d'Afrique de la Banque mondiale pour la valorisation des déchets en produits à haute valeur ajoutée (CEA VALOPRO) Benjamin Kouassi YAO	2
P2	Chimie et économie circulaire : quelles contributions pour un développement durable des populations et des entreprises en Afrique ? Bernadette EHUI AVO BILE, Olivier François Aristide Bertrand KOFFI	4
P3	L'eau dans le cadre de l'économie circulaire et de la résilience TCHAKALA Ibrahim	5
P4	Capteurs fluorescents pour la détection des ions métalliques toxique pour l'environnement Issa Samb, Jeremy Bell, Patrick Y. Toullec, Véroniques Michelet and Isabelle	6
P5	Utilisation des sols latéritiques pour le traitement des eaux contaminées par l'arsenic et le cyanure : Efficacité, cinétique et conditions optimums Yacouba Sanou	7
P6	Contribution de la chimie dans l'industrie minière au Burkina Faso : élaboration de matériaux réfractaires à base matières premières minérales Moustapha Sawadogo, Issiaka Sanou, Brahim Sorgho, Lamine Zerbo, Mohamed Seynou, Philippe Blanchart	13
P7	Activité anti-staphylococcique et effet modulateur des disques d'antibiotiques des extraits de <i>Terminalia avicennioides</i> Engl. et Diels Meda Nâg-Tiéro Roland, Kam Sami Eric, Kabré Zachari, Koama Kouliga Benjamin, Ouoba Yempabou Hermann, Yameogo Victorien, Zon Madjo Drissa, Zongo Eliasse et Ouedraogo Georges Anicet	14
P8	Analyse discriminante des feuilles et des tiges de <i>Lippia chevalieri</i> Moldenke par métabolomique basée sur la spectrométrie proche infrarouge à transformée en série de Fourier (FT-IR) couplée à l'analyse des composantes principales (ACP) BANGOU Mindiériba Jean ; NACOLMA Aminata P.; MEGALIZZI Véronique	15
P9	Etude diagnostique de la qualité des eaux de consommation dans la commune est-mono 2 (Togo) : cas de Morétan-Fodjoayé-Tchèkèlè TCHAKALA Ibrahim, LARE Bakenanmè, AYAH Masabalo	16
P10	Challenge du traitement des eaux usées dans les villes africaines, couplage digestion anaérobie avec les filtres plantés comme une alternative Tomkouani KODOM, Dègninou HOUNDEDJIHOU, Ibrahim TCHAKALA, Moutar Limam BAWA	17
P11	Étude de l'efficacité d'inhibition de la corrosion des aciers à faible teneur en carbone de quatre extraits de <i>Cymbopogon Citratus</i> dans une solution d'acide chlorhydrique Tambi Ramdé ; Souleymane Kologo	18

GT 1 (ReMOA): Réseau des Matériaux Ouest-Africain

Titre & Auteurs	Pages
Optimisation du procédé coagulation- floculation pour le traitement des effluents d’huile de palme à l’aide de déchets de peaux de manioc YAPO M’besso Edith Christine, KOUADIO David Léonce, GOULEDEHI Sehontinhin Gilles	28
Criblage d’une série de pérovskites hybrides pour l’élaboration de Diode électroluminescentes Kama Antoine Blaise , Sidibé Mamadou , Diop Cheikh A.K., Gautier Romain	32
Optimisation de la cicatrisation par un biomatériau hydrogel contenant un extrait de la plante <i>Adansonia digitata</i> Abdou-Rachidou GAFFO; Amivi Edéfia AKPALO	39
<i>Élaboration de surfaces nanostructurées parahydrophobe par électropolymérisation sans gabarit de monomères difonctionnel à base de naphthalène</i> Diawo Diallo, Abdoulaye Dramé, Aboubacary Sène, Alioune Diouf, Frédéric Guittard, Thierry Darmanin	44
Insertion de la microperoxydase-8 dans les nanoparticules de MIL-101(Cr/Fe) : un nouveau biocatalyseur pour l’oxydation du styrène Xavier Kesse, Clémence Sicard, Nathalie Steunou, Remy Ricoux and Jean-Pierre Mahy	50
Elimination des colorants industriels des eaux par photocatalyse sur des matériaux en argile : Cas de l’indigo carmine N’GUETTIA Kossonou Roland, SORO Baba Donafologo, TRAORE Karim Sory	55
Adsorption du paracétamol sur charbon actif dérivé des noyaux de mangue OURO-AGORO Faouzou TCHAKALA Ibrahim , FIATY Koffi , CHARCOSSET Catherine , DOUGNA Akpéné Amenuvevega	63
Synthèses, caractérisation, diffraction par rayon X du complexe homobinucléaire du Pr (III), de base de schiff et d’ion acétate. Mbossé Ndiaye-Gueye, Amar Diop, Papa Aly Gaye, Ibrahima Elhadji Thiam, Farba Bouyagui Tamboura and Mohamed Gaye	68
Synthèse par recristallisation dans le DMF et caractérisation structurale par IR puis par DRX d’un nouveau monocristal β-octamolybdate [(C₄H₉)₂NH₂]₄Mo₈O₂₆.2DMF Serigne Fallou POUYE, Ibrahima CISSE1, Waly DIALLO, Mamadou SISDIBE et Sylvain BERNÈS	74
Electrodéposition de l’étain, du sélénium et du séléniure d’étain en milieu chlorure de choline-glycérol (1 :2) Lassina SORO, Fousséni SOMA, Moussa BOUGOUMA	78
Influence de la granulométrie des granules de pépins de corossol sur les propriétés mécanique et hydrique de Briques de Terre Comprimée Alfred Niamien Kouamé, Moussa Ouédraogo, Lébé Prisca M.-S Kouakou, Namory Méité, Wedjers Max Robin Manouan, Bi Irié Hervé Gouré Doubi, Esmel Privat Zokou, Léon Koffi Konan	85

Synthèses, activité antioxydante et structures cristallines du 1-Nicotinoyl-4-Phénylthiosémicarbazide et de son dérivé N-Phenyl-5-(Pyridin-3-yl)-1,3,4-Oxadiazol-2-amine	91
Ndama Faye, Aissatou Alioune Gaye, Alioune Fall, Cheikh Ndoeye, Mayoro Diop, Gregory Excoffier, Mohamed Gaye	
Effet de la mullite sur la performance des filtres céramiques dans l'élimination de l'arsenic d'une eau de forage	96
K. Barry, Sorry Nassio, M. Seynou, G.L. Lecomte-Nana, M. Sawadogo, L. Zerbo, P. Blanchart	
Développement de capteurs électrochimiques à base d'électrodes de graphène induit par laser (LIGE) pour l'analyse de la dopamine et de l'acide urique dans les fluides biologiques	100
Bibata Ouedraogo · Sabrina Baachaoui · Amidou Tall. Issa Tapsoba ; Noureddine Raouafi	
Évaluation de la résistance chimique et thermique d'une porcelaine	106
Youssef Sawadogo, Joël Samba, Soungalo Ouattara, Moustapha Sawadogo, Mohamed Seynou, Philippe Blanchart, Lamine Zerbo	
Mise en place de méthodes simplifiées de détection des contaminants dans les produits halieutiques : cas du vert malachite, vert leucomalachite, chloramphénicol et chlorhydrate de 4-(diméthylamino)phénol	111
POMI Bi Boussou Narcisse, ESSY Kouadio Fodjo, AKA Alla Martin, IRIE Bi Irie Williams KOFFI Kra Sylvestre	
Caractéristiques microstructurales, physiques et mécaniques des adobes adjuvés de la bagasse de canne à sucre	117
Moussa Ouedraogo, Halidou Bamogo, Issiaka Sanou, Vanessa Mazars, Jean-Emmanuel Aubert , Younoussa Millogo	
La vitamine C comme inhibiteur de corrosion de l'aluminium en milieu acide : étude potentiodynamique	124
DIKI N'Guessan Yao Silvère , COULIBALY Nagnonta Hippolyte, OUEDRAOGO Augustin, TROKOUREY Albert	
Caractérisation et comparaison des propriétés physico-mécaniques des matrices de matériaux de construction modifiées par les déchets plastiques de PET	127
Dodo KAYENTAO, Moussa TAMBOURA, Antoine Padou DIARRA, Mah Fatoumata TRAORE, Adama COULIBALY, Aboubacar Sidiki TOURE, Mohamed L.O DIAWARA, Kélégui DAOU	
Synthèse, caractérisation structurale et activités biologiques de bases de Schiff dérivées de 1,6-diaminohexane, de l'ortho-diaminocyclohexane et du méta-diaminobenzène	134
Kangah Niameke Jean-B, Tuo Nanou Tieba, Kodjo Charles Guillaume et Ziao Nahosse	
Effet de la dilution sur les propriétés photomagnétiques de solutions solides de composés à transition de spin de $[FeM_{1-x}(1,10\text{-phenanthroline})_2(NCS)_2]$ (M = Ni (II), Zn (II), et Cd (II))	139
Mame Seyni Sylla, Chérif Baldé, Nathalie Daro, Cédric Desplanches, Mathieu Marchivie, and Guillaume Chastanet	
Etude de l'influence d'argiles dans la dégradation du bleu de méthylène par procédé photo-fenton	144
Namory Méité, Lébé Prisca Marie-Sandrine Kouakou, Aliou Guillaume Lemeyonouin Pohan, Alfred Niamien Kouamé, Issiaka Sanou, Gaoussou Cissé, Christelle Adja Kouakou, Yao Jonas Andji-Yapi	
Etude de l'influence du ciment sur l'exploitation des sachets plastiques comme liant alternatif pour la production de pavés	151
AMEWOUAME Komi Jean-Marcel, SEGBEAYA Kwamivi N., KOUTO Eugène, AYITE Dany	

Synthèse, caractérisation et étude des propriétés antioxydantes d'un ligand base de Schiff et de son complexe tétranucléaire de cuivre II	156
Ngoné Diouf, Ibrahima El hadj Thiam, Rokhaya Sylla-Gueye, Nango Gaye, James Orton , Simon Coles et Mohamed Gaye	
Nouveau complexe à base de complexe Fe (III) trichlorure dérivé du ligand N-(thiophène-2-ylméthylène) isonicotinohydrazide bidenté : Synthèse, structure aux rayons X, caractérisation spectrale et étude électrochimique	161
Dame Gadiaga, Adama Sy, Cheikh Ndoeye, Bocar Traoré, Grégory Excoffier, Ousmane Diouf et Mohamed Gaye	
Synthèse, caractérisation et structure cristalline aux rayons X d'un co-cristal 1:1 de bis{bis[[(2-(1H-imidazol-2-yl)méthylidène) amino]phénolato-κ³N,N',O]nickel(II)} et bis{bis[[(2-(1H-imidazol-2-yl)méthylidène)amino]phénol-κ³N,N',O]nickel(II)}tétrachlorure pentahydrate..	170
Babacar DIOP , Thierno Moussa SECK, Ousmane DIOUF, Farba B. TAMBOURA Mohamed Lamine GAYE	
Synthèse de biopolymère à partir de coquilles d'escargots : application dans l'élimination de bleu de méthylène	175
Kouakou vianet BOSSOMBRA, Fatoumata KONE, Tchirioua EKOUE, Lynda EKOUE	
Développement et validation d'une technique d'extraction liquide-liquide du valium (assurance qualité sur 10 échantillons saisies)	181
Fadjimata SALIFOU KARIMOUNE, Rabani ADAMOU, Idrissa MOUSSA , Khalid IKHIRI	
Elaboration d'hydroxyapatite à partir du marbre d'Idadjo pour des applications biomédicales : Influence des méthodes.	186
Igor Bien-Aimé AKODEDJROHOUN, Etienne V. SAGBO, David DODOO-ARHIN, Marielle Y. AGBAHOUNGBATA	
Détection électrochimique d'un perturbateur endocrinien, le propylparabène	193
Teadouanka Luciano LOUA, Bernadette EHUI AVO BILE, Olivier François Aristide Bertrand KOFFI, De Serifou MATYLA, Koffi Jules N'DA	
Caractéristiques physicomécanique et thermique des adobes amendés au ciment et aux fibres de noix de coco	200
Issiaka Sanou, Halidou Bamogo, Moussa Ouedraogo, Yalé Abdoul Aziz Serebe , Seynou Mohamed, Jean-Emmanuel Aubert, Younoussa Millogo	
Nanocomposite hybride d'hydroxyde double lamellaire : un excipient pour la norfloxacin	207
N'guadi Blaise Allou, N'goran Séverin Eroi, Rajib Lochan Goswamee, Ello Aimé Serge	
Réactivité pouzzolanique de deux argiles calcinées de l'ouest de la Côte d'Ivoire dans une solution saturée de chaux	214
Manouan Wedjers Max Robin, Gouré Doubi Bi Irié Hervé, Kouakou Lébé Prisca Marie-Sandrine, Koffi Atta Kouamé Brice, Kouamé Alfred Niamien, Méité Namory	
Etude électrochimique d'une électrode de supercondensateur à base de charbon actif de coques de coco	220
KOUTOUAN Djako Oscar Eric, DIABATE Donourou, OSSONON Diby Benjamin, Ana C. Tavares	

Typologie des sources potentielles de contamination des produits maraichers par les métaux lourds	225
Souleymane DAMBE, Sanata TRAORE, Sékou sala GUINDO, Kélétigui DIALLO Mamou Rachel NIAKATE , Aliou Dadda Maiga	
Etude préliminaire de la préparation des bionanomatériaux à partir de polymères issus de biomasses agricoles	231
Fato Tano Patrice, Kakou Charles Kinimo, Koffi Pierre Dit Adama N’Goran	
Valorisation des bouteilles en verre dans la fabrication des Briques en Terre Comprimée (BTC) cuites	236
Talardja DIADI, Youssouf SAWADOGO, Brahima SORGHO, Lamine ZERBO, Mohamed SEYNOU	
Impact du rayonnement ultraviolet sur la structure du graphène	242
Tamboura Mamadou , Gosteva Ekaterina Aleksadrovna , Chichkov Maxim Vladimirovitch, Mikhailova Anna Mikhailovna, Tamboura Moussa	
Apport des déchets minéraux (bouteilles en verre) dans la formulation d’une porcelaine	245
Joël Samba, Youssouf Sawadogo, Moussa Ouedraogo, Moustapha Sawadogo, Brahima Sorgho, Mohamed Seynou, Philippe Blanchart, Lamine Zerbo	
Les transitions de monocristal à monocristal : canaux ioniques avec les éthers couronnes et les tri-halogénures alcalins.	251
Cyrille Dagri Assouma, Aurelien Crochet, Yvens Chérémond, Berned Giese, Katharina M. Fromm	
Potentialités pouzzolaniques de la poudre de verre et de la silice fine du quartz	258
Saada Zoungrana, Issiaka Sanou, Moussa Ouédraogo, Halidou Bamogo, Mohamed Seynou, Younoussa Millogo	
Etude électrochimique d’une électrode de supercondensateur à base de charbon actif de coques de coco	265
KOUTOUAN Djako Oscar Eric, DIABATE Donourou, OSSONON Diby Benjamin, Ana C. Tavares	
Etude de l’influence de quelques cations métalliques sur l’adsorption des phosphates par des matériaux argileux de Côte d’Ivoire	270
AKE Aké Pierre ; COULIBALY Vamoussa ; SEI Joseph; OYETOLA Samuel	
Valorisation de cendre de balle de riz (CBR) de Côte d’Ivoire pour la réduction de l’utilisation du ciment dans la fabrication de blocs de terre comprimée (BTC)	277
GARBA LABO Mahaman Nazirou ; YAO Kouassi Benjamin	
Synthèse et caractérisation d’une électrode de diamant dopé au bore modifiée par des nanoparticules d’or	282
Kambiré Ollo, Alloko Kouamé Serge Pacome, Koffi Konan Sylvestre, Sadia Sahi Placide, Berté Mohamed, Gnamba Corneil Quand-même Kimou Kouakou Jocelin, Kouadio Kouakou Etienne, Ouattara Lassiné	
Impact de l’estimation des oxydes de potassium et des pyrophosphates sur les propriétés diélectriques des poussières	287
Tamboura Mamadou , Gosteva Ekaterina Aleksadrovna, Mikhailova Anna Mikhailovna , Diawara Mohamed Lamine Ousseiny, Kayentao Dodo	
Caractérisation de deux argiles de l’ouest de la Côte d’Ivoire en vue de les valoriser dans les ciments bas carbone	291
Manouan Wedjers Max Robin, Gouré Doubi Bi Irié Hervé, Kouakou Lébé Prisca Marie-Sandrine, Koffi Atta Kouamé Brice, Kouamé Alfred Niamien, Méité Namory	

Perception paysanne de la contamination des produits maraichers par les métaux lourds Sanata TRAORE, Sékou Sala GUINDO, Souleymane DAMBE, Mamou Rachel NIAKATE, Kélétigui DIALLO, Aliou Dadda Maiga	297
Réactivité de trois échantillons argileux consommés en Côte d'Ivoire dans les conditions digestives : biodisponibilité des éléments minéraux COULIBALY Vamoussa ; KOUAME N'dri ; SEI Joseph; OYETOLA Samuel	304
Caractérisation et évaluation de la réactivité pouzzolanique de deux argiles du Togo pour la substitution partielle du clinker de ciment BABAKOUA Dilami , TCHEGUENI Sanonka , FIATY Koffi , CHARCOSSET Catherine , KORIKO Moursalou BAFI Diyadola Dihéénane, TCHANBEDJI Gado	312
Optimisation de la production de panneaux de particules thermopressés sans ajout de liant à partir de cosques de cabosses de cacao : utilisation de la méthodologie de la surface de réponse OUATTARA Leygnima Yaya, SANOU Ali, KOUASSI Esaïe Kouadio Appiah, YAO Kouassi Benjamin	316
Stabilisation des adobes adjuvés de chaux dolomitique et de fibres de lin F Groupe thématique 2 (ReSBOA) : Chimie des Substances Biologiquement Actives Nikiema, Adamah Messan, Jean Emmanuel-Aubert, Jacob Sanou, , Younoussa Millogo	323
Caractérisation physico-chimique et géotechnique des argiles de quatre (4) sites au Mali (Mopti dans la ville de Mopti, Ségou dans la commune de Farako, Bougouni dans la commune Tiagadougou-Dialakoro et Kayes dans la ville de Kita). Bamba COULIBALY , Youssouf BERTH, Souleymane DAMBE , Amadou CISSE	330

Titres et auteurs	Page
Analyse phytochimique et activité antioxydante des miels des colonies sauvages et de l'apiculture de cinq régions de la Côte d'Ivoire Gnangouli bi Koffi Albert, Traoré Koba Fatou Kouamé Kan Benjamin,	345
Isolement et sélection de potentiels starters de levures issues de la pulpe des fruits de <i>Cola cordifolia</i> Soumahoro Souleymane, Kouame Maimouna Liliane, Toure Abdoulaye, Soro Yadé René	352
Optimisation d'une méthode de préparation d'échantillons biologiques basée sur le Salting-out Assisted Liquid - liquid Extraction (SALLE) Jean Simon Thodhekes YAO; Yoann LADNER; Jerome MONTEL; N'Cho Christophe AMIN; Catherine PERRIN	358
Étude statistique de la variabilité chimique des huiles essentielles de feuilles de <i>Lippia multiflora</i> Mold (Verbenaceae) collectées dans cinq régions de Côte d'Ivoire Philatryho ATCHE, Yaya SORO	363
Mise en évidence du pouvoir intercalant des anthraquinones antimicrobiennes isolées des racines <i>Morinda morindoïdes</i> (Rubiaceae), une plante médicinale de la Côte d'Ivoire MOROH Jean-Luc Aboya, BAH Calixte , KOKORA Aya Philomène , KARAMOKO Detto , FLEURY Yannick , LABIA Roger , COULIBALY Adama et LEGUERINEL Ivan	369
Activité antioxydante et cytotoxicité des feuilles des <i>Caesalpinia benthiana</i> (Baill). Herend & Zarucchi (Fabaceae) sur les cellules du cancer du côlon (HCT-116) Tanoh Aya Honorine , Kporou kouassi Elisée, Choho Meney Frédéric	375
Conception et Synthèse de quelques Dérivés N-Alkylbenzimidazolyl Dimercapto-Propénones Mabintou KALO, Fatogoma DIARRASSOUBA, Gouegoui Serge-Pacôme BOHUI, Yaya SORO, Mahama OUATTARA, Peter G. GOEKJIAN	381
Potentiel anticholestérolémiant du « datou », un condiment traditionnel malien Haoussatou SIDIBE, Fatoumata TOUNKARA, Amadou A. KODIO, Mamadou A. KONARE, Issiaka TOGOLA	392
Analyse pollinique et évaluation de l'activité antioxydante de miels issus de quatre localités de la Côte d'Ivoire Yeboué Koffi Apollinaire, Adou Axel Demel, Bredou Jean Brice, Kabran Guy Roger Mida, Assi-Kaudjhis Chimène, Mamyrbékova-BékroJanat Akhanovna, Békro Yves-Alain	397
Cartographie de la vulnérabilité à la pollution des zones productives du bassin versant de la Lobo à Nibéhé (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire) Kamenan Yiwa Monique epse Mangoua , Mangoua Oi Mangoua Jules, Kré Yon Edwige	405
Conception assistée par ordinateur d'inhibiteurs de l'oncoprotéine E6 HPV16, molécules prometteuses pour le traitement du cancer du col de l'utérus Bléhoué Clémence Ingrid , Koné Mawa , Kéïta Mélélie , Fofana Issouf , Eugène Megnassan, Kré Raymond	411

Teneurs en Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) des eaux de la lagune Ébrié dans quelques zones à fortes pressions urbaines : Secteurs Plateau, Cocody, Koumassi et Zimbabwe Sylvie ASSEMIAN-NIANGO, Albéric Charles AKA, Ehu Camille AKA	418
Enquête ethnobotanique et activité antimicrobienne des extraits de <i>Vitex doniana</i> (Lamiaceae) et <i>Terminalia mantaly</i> H.Perrier (Combretaceae) A KOKORA Aya Philomène, KARAMOKO Detto, OULAI Sylvie Florence, SORO Yébéssoul Ibrahima	426
Etude chimique sur l'isolement et la synthèse des composés acétyléniques de la plante <i>Conyza bonariensis</i> acclimatée au Togo Kodjo ADANDE, Stéphanie Ballereau, Oudjaniyobi SIMALOU, Kodjo Elo, Isabelle Fabing, Marie-France BAKAÏ, Yves Génisson, Kafui KPEGBA	432
Caractérisation des stéroïdes de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Turraea heterophylla</i> Sm. (Meliaceae). Kouadio Kouassi Blaise, Douhore Gnaoré Yoh Toussaint Oussou Kouamé Raphael ; Konan Dibi Jacques ; Kablan Ahmont Landry Claude; Attioua Koffi Barthélemy ; Dongui Bini kouamé	438
Activités cicatrisantes d'un phytomédicament traditionnel "Daoutra Epigastro" commercialisé en Côte d'Ivoire ChohoMeney Frederic, Kporou Kouassi Elisée, Ouattara Sitapha	445
Effets de <i>Bacillus Subtilis</i> et <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> sur les performances de croissances et le bien-être du Tilapia du Nil (<i>Oreochromis Niloticus</i>) Amanahan Mauricette Prisca ANGOUA, Jean-Luc Aboya MOROH1, Detto KARAMOKO, Aya Philomène KOKORA, Ahou Roseline N'DRI, Marius Ebaley Yves-Magloire ANGORATCHI, Emmanuelle ROQUE-D'ORBCASTEL, Yvan BETTAREL, Adama COULIBALY	450
Analyse des extraits d'écorces de racines de <i>strychnos innocua</i> par UHPLC-MS/MS Mawaté Florance Brukum, El Omri Abdelhakim, Kafui Kpegba, Kodjo Selom Evenamede, Amegnona Agbonon, Oudjaniyobi Simalou	454
Contribution à l'étude de la variabilité chimique de l'huile essentielle de <i>Dacryodes edulis</i> en fonction de l'organe (Agboville-Côte d'Ivoire) Konan Marius, Wognin Esse Leon, Kambiré Didjour Albert, Acafou Yapi Thierry, Soro Yaya, Touré Kidjegbo Augustin, Tomi Félix et Boti Jean Brice	461
Isolement, caractérisation et évaluation du potentiel antioxydant des différents extraits et biomolécules des racines de <i>Paullinia pinnata</i> (sapindaceae) Jeanne Bervis ADJADI, Amian Brise Benjamin KASSI, Daouda BALLO, David VIRIEUX, Jean-Luc PIRAT, Doubou DANHO, Ané ADJOU.	470
Profils CCM et potentiel antioxydant des tubercules de <i>Cyperus esculentus</i> L. (Cyperaceae) et leurs farines (tubercules dégraissés) ALLOKA Gbaka Alice épouse KOUAME, BAGUIA-BROUNE Fatou Diane Micheline, NGAMAN-KOUASSI Kohué Christelle Chantal, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna, BEKRO Yves-Alain	479
Action antibactérienne et antibiofilm d'un extrait de la plante <i>Ageratum conyzoides</i> Linn. dans le processus de la cicatrisation KOTOUTOU Akoua Okpeh Dr AKPALO Amivi Edefia Université de Lomé-TOGO	490

Variabilité chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de tiges de <i>Solenostemon monostachyus</i>	494
KOUAMÉ Akissi Christelle Euphrasie, OUATTARA Zana Adama, KAMBIRÉ Didjour Albert, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna, TOMI Félix, BÉKRO Yves-Alain	
Etude du potentiel antioxydant des feuilles de <i>Newbouldia laevis</i>	501
Rawendé Sédégo, Lassané Tarpaga, Téeda Hamidou Ganamé, Benjamin Ouédraogo, Bakouan Youssouf, Jules Yoda Bintou Sessouma, Karifa Bayo	
Synthèse et Activités des dérivés Coumarines Hydrazides-hydrazones	506
Dro Monlé Méléne, Kouassi Allegra, Coulibaly Souleymane, Ballo Daouda	
Déliquine DAD3.473 : un nouvel inhibiteur d'oraïl pour la régulation SOCE (Store Operated Calcium Entry) dans le cancer du pancréas	510
oli Lou Anna Laetitia Rosine, Dago Déliko Camille Asséké Amandine , Mignen Olivier, Békro Yves-Alain , Mamyrbekova-Békro Janat Akhanovna, Jean-Pierre Bazureau	
Screening phytochimique et évaluation de la cytotoxicité de l'extrait éthanolique 70 % des fruits de <i>Solanum torvum</i> Swartz (Solanaceae) sur les cellules HFF (Human Foreskin Fibroblasts)	518
KANGA Yao, COULIBALY Kiyinlma, ZIRIHI Guédé Noel	
Contribution à la mise au point d'un MTA anticancéreux à base des feuilles de trois espèces de <i>Datura</i>	522
Haraba Dembélé, Issiaka Togola, Diakité Méminata, Mamadou A. Konaré, Cheickna Cissé, Nouhoum Diarra	
Etude phytochimique et activité anticancéreuse des extraits des racines de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Waterman (Rutaceae) récoltées au Mali	527
Cissé Salimatou, Caldefie-Chezet Florence, Dembélé Niaboula, Somboro Aimé Ainin , Chalard Pierre	
Effet du cultivar et du stade de maturité sur les caractéristiques physico-chimiques de l'huile vierge d'amande de coco	533
KOUADIO Marcellin Konan, KONE Fankroma Martial Thierry, SORO Pégnonsienrè Lacina, DOUBI BI Tra Serges ; KONAN Konan Jean Louis	
Développement d'une étude de procédé technologique et de désémulsifiant pour la préparation d'huiles lourdes très visqueuses pour le raffinage	536
Dosso Ouehi, Souleymane Coulibaly et Siomenan Coulibali	
Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de jeunes feuilles non ouvertes de <i>Piliostigma thonningii</i>	542
Thomas Konan KOUAMÉ, Sorho SIAKA, Amian Brise Benjamin KASSI, Yaya SORO	
Un nouveau Nucléoside Indole Tribromé isolé d'une Eponge Marine Sénégalaise <i>Diplastrella</i> sp.	550
Mohamet Diop, Abou Moussa Sow Mouhamadou Fofana, Dior Samb, Ibrahima Ndiaye1 , Dominique Bonhomme, Mohamed Mehiri	
Optimisation de la production de l'acide citrique à partir des déchets de mangue	554
DOUAKORE André Josiane, SORO Yaya, MBENGUE Malick	
Évaluation de la bioefficacité de trois extraits hydroéthanoliques issus du broyat du duramen de trois espèces botaniques ligneuses durables ivoiriennes contre <i>Bemisia tabaci</i>, Gennadius, 1889	559

Appolinaire Bley BLEY-ATSE, Armand Nahoulé ADJA, Florence Bobelé NIAMKE, Jean Claude N'guessan Y. Tahiana RAMANANANTOANDRO, Mathias DANHO, Augustin Amissa ADIMA, Nadine AMUSANT	
Synthèse et Caractérisation de Nouveaux Bis-benzimidazole/N-acylhydrazones Asso Obé JeanYannick Lévy, Coulibaly Souleymane, Coulibali Siomenan	563
Composition phytochimique des écorces de tiges de <i>Gardenia ternifolia</i> Schumach. & Thonn. (Rubiaceae) de Côte d'Ivoire Bamba Souleymane, Ouattara Logopho Hyacinthe, Traoré Lanciné, Katou Yapo Séverin, Gué Lieuné Alexis	568
Screening phytochimique et évaluation des Activités antioxydante et antiplasmodiale de « Ahoutou », une recette utilisée dans le traitement du paludisme en Côte d'Ivoire Serge-Pacôme Gouegoui BOHUI, Sylvain Béourou, Mabintou KALO, Jean David N'GUESSAN, Augustin Amissa ADIMA, Attioua Barthélémy	574
Investigations ethnobotanique, phytochimique et micrographique de plantes médicinales utilisées contre les envenimations de serpents ADIKO-TAPE N'dri Marcelline, TRA BI Boli Francis, YAO Konan, BASSA-YAO Ahou Edwige, COULIBALY Wacothon Karime, AKOUBET-OUAYOGODE Aminata, KABLAN Ahmont Landry Claude	582
Validation d'une méthode HPLC pour le dosage de l'ibuprofène et la recherche de ses produits de dégradation Yao A. M., Meless D. F. R. Able N.C., Yao N.T, He L. I., Yéhé D.M., Tuo-Kouassi A.N. Kpaibe S. A, Bony N., Amin N. C.	590
Contribution à la mise au point d'un MTA antihypertenseur à base de <i>Leptadenia hastata</i> Decne (Asclepiadaceae) HAIDARA Mahamane, DIARRA Mamadou Lamine, DOUMBIA Sékou et SANOGO Rokia	594
Nouveaux alcaloïdes cyclopeptides à activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses k 562 Michel Boni Bitchi, Abdulmagi Alabdul Magid, Philomène Akoua Yao-Kouassia, Faustin Aka Kabran, Dominique Harakat Agathe Martinez, Hamid Morjani, Félix Zanahi Tonzibo, Laurence Voutquenne-Nazabadioko	600
Synthèse de bases de Schiff dérivées du gossypol contenu dans l'écorce du tronc de <i>Thespesia populnea</i> Kokou WUIVI, Ata Martin LAWSON, Oudjaniyobi SIMALOU, Kafui KPEGBA	603
Activités antibactériennes d'extraits de feuilles de <i>Hyptis suaveolens</i> et de <i>Lippia multiflora</i> contre trois souches bactériennes productrices de Beta-lactamase à spectre élargi GOLY Kouassi Roselin Cyrille, SORO Yaya, DADIE Adjehi	611
Optimisation de la production du bioéthanol à partir des biomasses locales : poudre de néré et fruits de rônier TAKIN M'Ponkrou, SEGBEAYA Kwamivi Nyonuwasro	619
Contribution à la mise au point d'un vaccin contre le paludisme placentaire Bacary Soumana Diarra, Mamadou A. Konare, Nouhoum Diarra, Alassane Dicko, Michal Fried	625
Evaluation des risques écologiques et sanitaires des pesticides contenus dans les eaux des fleuves transfrontaliers Comoé, Bia et Tanoé (Côte d'Ivoire) KONE Siriki1, Gnonsoro Urbain Paul, KOUAME Konan Lopez, Trokourey Albert	632

Variabilité chimique et activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> de l'huile essentielle de feuilles de <i>Neuropeltis acuminata</i> de Côte d'Ivoire Didjour Albert Kambiré, Ahmont Claude Landry Kablan, Logopho Hyacinthe Ouattara , Jean Brice Boti, Félix Tomi.	638
Effet de sept (07) combinaisons d'huiles essentielles sur les larves de la tique <i>Rhipicephalus microplus</i> des bovins Anass Coulibaly, Abel S. Biguezoton, Delphine M. Héma, Firmin F. Dah, Ignace Sawadogo, Rémy K. Bationo, Moussa Compaoré, Martin Kiendrebeogo, Roger C.H Nébié	648
Optimisation de la teneur du 1,8-cinéole dans l'huile essentielle des feuilles <i>Aframomum exscapum</i> (Zingiberaceae) de Côte d'Ivoire par la distillation fractionnée Koffi Affouet Muriel Laure , Tanoh Amenan Evelyne, Gilles Figuerodo , Tonzibo Zanahi Félix	653
Extraction assistée par ultrasons des composés phénoliques de <i>Combretum velutinum</i> D.C (Combretaceae) TRAORE Lanciné, KONAN N'Dri Séraphin, BAMBA Souleymane, COULIBALY Samuel Aimé, BEKRO Yves-Alain	657
Métabolites secondaires des feuilles de <i>Mareya micrantha</i> (Euphorbiaceae) et leurs activités dans les troubles gastroentériques OKPEKON Aboua Timothée , KOFFI Konan Léon, BONY François Nicaise , SERI Seri Chardin , KPAÏBE André Sawa , AMIN Christophe N'Cho	662
Isolement et Identification d'un nouveau flavonol glycosilé des feuilles de <i>Guibourtia ehie</i> (Fabaceae) KOFFI Yao Hermann, OKPEKON Aboua Timothée, SERI Seri Chardin, DADE Joël Maxime Eric, AGNES Akpa Salemon, KOUADIO Affoué Yvette	673
Teneurs en coumarines aglycones et évaluation du potentiel antioxydant des feuilles <i>Dichrostachys cinerea</i> et de <i>Morinda lucida</i> Demel Axel ADOU , Severin Yapo KATOU , Kouassi Pierre-Alain KONAN, Djele Alette Edwige ZIALE , Janat Akhanovna Mamyrbékova-Békro , Yves-Alain Békro	679
Etudes chimique et biologique de <i>Ficus exasperata</i> Didier G. Mouho, Andreia P. Oliveira, Charles Guillaume Kodjo ^c , Patrícia Valentão, Angel Gil-Izquierdo, Paula B. Andrade, Zana Adama Ouattara, Yves-Alain Bekro, Federico Ferreres	685
Détermination de la teneur en composés polyphénoliques et évaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'<i>Azelia africana</i> et de <i>Kahya senegalensis</i>, deux ligneux fourragers au Nord de la Côte d'Ivoire KONE Monon, KABLAN Ahmont Landry Claude	694
Caractérisation chimique des huiles essentielles de <i>Praxelis clematidea</i> de Côte d'Ivoire OUAO Toffé Alexis, KOUAME Bosson Antoine, YEO Doferé, KADJA Amani Brice, MALAN Djah François ² , MAMYRBEKOVA-BE Janat Akhanovna, BEKRO Yves-Alain	698
Isolement des dérivés coumariniques de l'écorce de racine de <i>Detarium microcarpum</i> (Fabaceae) Hama Hamadou Habibou, Khalid Ikhiri	702
Profil chimique et efficacité insecticide de combinaisons d'huiles essentielles de <i>C. citratus</i> et <i>H. suaveolens</i> récoltés au Burkina Faso Constantin M. DABIRE, Bily NEBIE, Dieudonné D. SOMA, Remy K. BATIONO, Siaka SOSSO, Moussa NAMOUNTOUGOU, Roger C.H. NEBIE, Eloï PALE ² , Roch K. DABIRE et Pierre DUEZ	705

Activité hépatoprotectrice de <i>Acacia nilotica</i> (L.) Willd. ex Del (Fabaceae) Doumbia Sékou, Dembélé Daouda, Ballo Mahamadou, N'Guessan Bra Yvette Fofié, Sanogo Rokia	711
Contribution à l'évaluation quantitative de l'influence de la fructification sur la composition chimique des familles de terpénoïdes de l'huile essentielle de feuilles de <i>Dacryodes edulis</i> (Agboville-côte d'ivoire) Wognin Esse Leon, Konan Yao Marius, Kambiré Didjour Albert, Acafou Yapi Thierry, Boti Jean Brice, Soro Yaya, Touré Kidjegbo Augustin, Tomi Félix et Tonzibo Zanahi Felix	716
Effet des alcaloïdes totaux de <i>Detarium microcarpum</i> (Guill et Perr) récolté au Mali sur les microtubules Niaboula DEMBELE, Mamadou BADIAGA, Salimatou CISSE, Mody CISSE Aimé SOMBORO, Nah TRAORE	722
Etude phytochimique et toxicité de l'extrait hydroéthanolique de feuilles de <i>Dichapetalum guineense</i> (DC.) Keay Kodjo Selom Evenamede, Kokou Idoh, Komi Michael Fulbert Adanlemegbe, Essowè Badanèzi Potcho, Kafui Kpegba, Agbonon Amegnona	729
Synthesis comprehension of poly(acrylic acid) gel containing <i>Adansonia digitata</i> plant extract Amivi Edéfia AKPALO , Abdou-Rachidou GAFFO	736
Evolution de l'indice de Scoville de cinq variétés de piments dans cinq sauces couramment consommées dans la ville de Man, Côte d'Ivoire KONE Mohamed Ba, KOUADIO Kouakou K. Armand, SORO L. Chantal	743
Exploration de l'activité antifongique sur la croissance in vitro de <i>Candida albicans</i> et triphytochimique de l'extrait hydroéthanolique de deux taxons ivoiriens YAPO Yomeh Cynthia Viviane, BOLOU Gbouhoury Eric-Kévin, ADOU Demel Axel, ZIHIRI Guédé Noël	746
Criblage phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits d'écorces de <i>Lannea velutina</i> A. Rich, plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Burkina Faso KABORE Boukaré, KOALA Moumouni, COMPAORE Souleymane, BATIONO K. Remy, BELEMNABA Lazare, DABIRÉ M. Constantin, OUEDRAOGO Sylvain, PALE Eloi	751
Nouveaux alcaloïdes indolomonoterpéniques des feuilles de <i>Pavetta corymbosa</i> (Rubiaceae) de Côte d'Ivoire et leur activité antiplasmodiale KOUADIO Affoué Yvette, OKPEKON Aboua Timothée , KOFFI Akissi Jeanne , SERI Séri Chardin , KOFFI Yao Hermann , AGNES Akpa Salemon , SEON-MENIEL Blandine , LE POGAM Pierre , CHAMPY Pierre	758
Evaluation des activités antioxydante et antimycobactérienne des extraits de feuilles et tiges de <i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) Guill. & Perr. et de <i>Saba senegalensis</i> (A.DC.) Pichon : deux plantes médicinales du nord de la Côte d'Ivoire Ouattara Logopho Hyacinthe, N'guessan Patrick Audrey, Bamba Souleymane, Ambeu-Loko N'ta Christelle Mélissa, Timotou Adéyolé, Zon Doumadé, Sima Obiang Cédric, Kablan Ahmont Landry Claude	765
Analyse UPLC-MS et potentiel antioxydant de la partie aérienne de <i>Mitracarpus scaber</i> Zucc. (Rubiaceae) : une plante médicinale du nord de la Côte d'Ivoire N'guessan Patrick Audrey, Ouattara Logopho Hyacinthe, Konan Dibi Jacques, Kablan Ahmont Landry Claude, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna Békro Yves-Alain	772
Dosage quantitatif de composés phénoliques et activité antioxydante des extraits d'écorces de tige de <i>Kaya senegalensis</i> (desv) A.Juss., (Meliaceae).	779

GBOKO Abiba Ouattara, KAMAGATE Tidiane , KASSIM Dosso, TOURE Abdoulaye	
Cytotoxicité des extraits et des diterpénoïdes de type cassanes isolés des écorces de racines et de tiges de <i>Erythrophleum suaveolens</i> Konan Dibi Jacques, N'Tamon Amon Diane Marina, Kablan Ahmont Landry Claude, Kabran Aka Faustin, Attioua Barthélemy, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna, Békro Yves-Alain	785
Variation diurne de la composition chimique et activité insecticide de l'huile essentielle d' <i>Ageratum conyzoides</i> Linn Mouinatou Yeroukiriki , Kafui Kpegba , Koffi M. Ahadji-Dabla, Catherine Malhiac, Ata Martin Lawson , Kodjo Selom Evenamede , Yawo G. Apetogbo, Yovo Kondo, Oudjaniyobi Simalou	791
L'Association des huiles essentielles : une opportunité dans la lutte contre les moisissures toxigènes Ignace Sawadogo, Bationo Remy Delphine M. HEMA, Anass COULIBALY, Roger Honorat Charles Nebié & Henri Nestor Bassolé	797
Les huiles essentielles des plantes du genre <i>Cymbopogon</i> : une alternative à la lutte contre les tiques de bétail au Burkina Faso Hema M. D, Coulibaly A., Sawadogo I., Biguezoton A., Bationo K. R., Compaoré M., Kiendrebéogo M., Nebié C.H.R.	803

Conférences plénières

P1

Les opportunités de l'économie circulaire pour un développement économique et social de nos pays : la contribution du centre d'excellence d'Afrique de la Banque mondiale pour la valorisation des déchets en produits à haute valeur ajoutée (CEA VALOPRO)

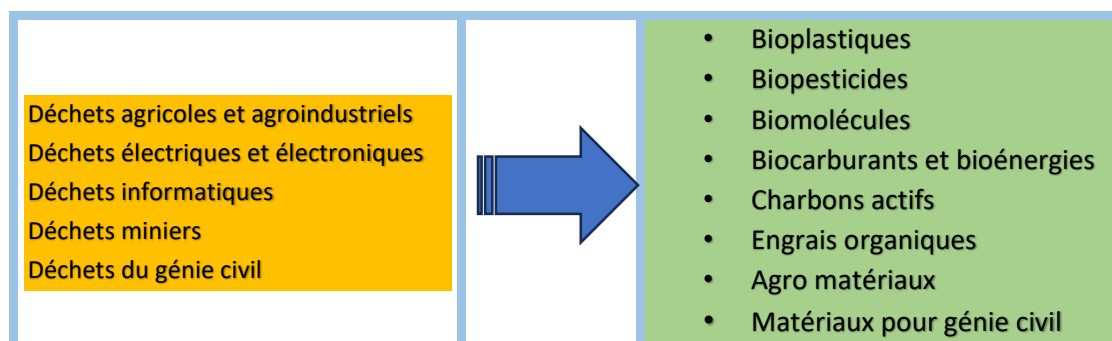
Benjamin Kouassi YAO

Professeur Titulaire des Universités et Grandes Ecoles

Unité Mixte de Recherche et d'Innovation Sciences Agronomiques et Procédés de Transformation ; Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles. Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INP-HB), Yamoussoukro BP 1093, Côte d'Ivoire

Résumé

Avec l'économie circulaire, nous entrons dans un nouveau paradigme qui permet de sortir de la logique de prélèvement, de transformation, de consommation abusive des ressources et de pollution des milieux récepteurs par des déchets de plus en plus toxiques pour les milieux récepteurs. Cette conférence, présente le concept de l'économie circulaire et la contribution du CEA VALOPRO à la réalisation de ce concept. Ainsi, des résultats inédits au niveau de la valorisation des déchets solides et liquides en bioénergie, bioproduits, agromatériaux, bioplastiques, etc. seront présentés. Nous indiquerons les résultats du transfert des technologies élaborées et leur impact sur le développement durable.



Mots clés : Economie circulaire, déchets, agroressources, valorisation

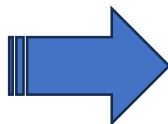
The opportunities of the circular economy for the economic and social development of our countries: the contribution of the World Bank's African center of excellence for the recovery of waste into high value-added products (ACE VALOPRO)

Abstract

With the circular economy, we are entering a new paradigm which allows us to move away from the logic of collection, transformation, abusive consumption of resources and pollution of receiving environments with waste that is more toxic for the receiving environments. Through this conference, we will present the concept of the circular economy and the significant contribution of CEA VALOPRO. Thus, unprecedented results in the valorization of solid and liquid waste into bioenergy, bioproducts, agromaterials, bioplastics, etc. will be presented. We will indicate the results of the transfer of developed technologies and their impact on development.



Agricultural and agro-industrial waste
Electrical and electronic waste
Computer waste
Mining waste
Civil engineering waste



- Bioplastics
- Biopesticides
- Biomolecules
- Biofuels and bioenergy
- Activated carbons
- Organic fertilizers
- Agro materials
- Materials for civil engineering

KeyWord : Circular economy, waste, agroresources, recovery

References

1. Loi n° 2020-105 du 10 février 2020 relative à la lutte contre le gaspillage et à l'économie circulaire
2. Akossi Moya Joëlle Carole, Kouassi Konan Edmond, Abolle Abollé, Kouassi Esaie Kouadio Appiah & Yao Kouassi Benjamin (2023): Transesterification of vegetable oils into biodiesel by an immobi-lized lipase: a review, Biofuels, DOI: 10.1080/17597269.2023.2203433
3. Ibrahim Grema Maman Hamissou, Kouassi Esaie Kouadio Appiah, Konan Affoué Tindo Sylvie, Sanda Mamane Ousmaila, Brou Yao Casimir, Yao kouassi Benjamin, Valorization of cassava pee-lings into biochar: Physical and chemical characterizations of biochar prepared for agricultural pur-poses. Scientific African 20 (2023) e01737

Chimie et économie circulaire : quelles contributions pour un développement durable des populations et des entreprises en Afrique ?

Bernadette EHUI AVO BILE¹, Olivier François Aristide Bertrand KOFFI¹

¹Laboratoire de constitution et réaction de la matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

Résumé

La chimie et l'humanité constitue un binôme indissociable, depuis les pratiques ancestrales à la modernité. C'est pourquoi, il ne peut avoir de développement sans chimie.

L'économie circulaire, formalisée en 2002(1), fait suite à un concept de circularité proposé par Kenneth Boulding, en 1966 (2).

A la différence des modèles économiques classiques qui basent le développement économique sur une production de richesse avec destruction de ressources, l'économie circulaire prône un système économique et industriel sobre en carbone et en énergie ainsi qu'en ressources naturelles.

Des pratiques circulaires telles que la permaculture, l'utilisation de biomatériaux et le partage communautaire existent depuis des centaines d'années dans les pays africains. Appliquée comme stratégie d'industrialisation, l'économie circulaire a le potentiel de dissocier l'utilisation des ressources du développement économique afin d'aider à relever les principaux défis africains liés au changement climatique, la sécurité alimentaire, la pénurie d'eau et la gestion des ressources naturelles. L'adoption généralisée des principes circulaires crée des opportunités génératrices d'emplois verts. La chimie est un secteur de référence dans la mesure où les industriels de la chimie apportent des réponses crédibles et concrètes aux préoccupations majeures de santé publique, d'environnement, de préservation des ressources ou d'efficacité énergétique, autant d'exigences clés d'un développement durable.

Mots clé : Economie circulaire développement durable

Chemistry and circular economy: what contributions for sustainable development of populations and businesses in Africa?

Summary

Chemistry and humanity constitute an inseparable pair, from ancestral practices to modernity. This is why there cannot be development without chemistry. The circular economy, formalized in 2002(1), follows a concept of circularity proposed by Kenneth Boulding, in 1966 (2). Unlike economic models classics which base economic development on the production of wealth with the destruction of resources, the circular economy advocates an economic and industrial system that is low in carbon and energy as well as in natural resources. Circular practices such as permaculture, the use biomaterials and community sharing have existed for hundreds of years in African countries. Applied as an industrialization strategy, the circular economy has the potential to decouple resource use from economic development to help address key African challenges related to climate change, food security, water scarcity and natural resource management. Widespread adoption of circular principles creates opportunities to generate green jobs. Chemistry is a benchmark sector to the extent that chemical manufacturers provide credible and concrete responses to the major concerns of public health, the environment, preservation of resources or energy efficiency, all key requirements of sustainable development.

Keywords : Circular economy sustainable development

Bibliographic references :

(1) Michael Braungart and William McDonough, The theory "From cradle to cradle", (2002)

(2) Kenneth Boulding, Book, (196

L'eau dans le cadre de l'économie circulaire et de la résilience

TCHAKALA Ibrahim

Laboratoire d'Hydrologie Appliquée et environnement, Université de Lomé, Togo
Faculté des sciences, Université de Lomé, Togo

Résumé : Les problématiques liées à des sécheresses récurrentes, l'augmentation de la consommation d'eau et de la croissance démographique incitent à repenser nos modèles de gestion de l'eau, afin d'assurer un accès durable et rationnel à l'eau pour tous. C'est pourquoi, la réutilisation des eaux usées traitées peut être une solution bénéfique pour réduire nos impacts environnementaux. Le présent travail a pour but de s'inspirer du cycle naturel de l'eau en s'appuyant naturellement sur le traitement des eaux usées et le recyclage de l'eau. Le travail consiste d'une part à récupérer les eaux de ruissellement à travers les bassins d'orage et d'autre part à récupérer les eaux usées de l'abattoir très gourmand en eau et produisant d'énormes quantités d'eaux usées à fortes teneurs en matières organiques. L'analyse physicochimique des différents types d'échantillons d'eaux des bassins d'orage montre que ces eaux peuvent être valorisées en agriculture et en génie civil. Par contre l'analyse des eaux de l'abattoir montre qu'on peut développer non seulement un traitement intégré des eaux usées, mais également mettre au point un système de récupération des nutriments et de l'énergie qui se compose de quatre unités de traitement distinctes mais liées entre elles (la ligne de l'eau, la ligne de la boue, la ligne de l'énergie et la ligne des algues).

Mots clés : abattoir, bassins d'orage, eaux usées, recyclage d'eau.

Water in the context of the circular economy and resilience

Abstract ; The problems linked to recurrent droughts, the increase in water consumption and population growth encourage us to rethink our water management models, in order to ensure sustainable and rational access to water for all. This is why the reuse of treated wastewater can be a beneficial solution to reduce our environmental impacts. The aim of this work is to draw inspiration from the natural water cycle by naturally relying on wastewater treatment and water recycling. The work consists on the one hand of recovering runoff water through the storm basins and on the other hand of recovering wastewater from the slaughterhouse, which is very water-intensive and produces enormous quantities of high-volume wastewater. organic matter contents. The physicochemical analysis of different types of water samples from storm basins shows that this water can be used in agriculture and civil engineering. On the other hand, the analysis of the water from the slaughterhouse shows that we can develop not only an integrated treatment of wastewater, but also develop a nutrient and energy recovery system which is made up of four treatment units. distinct but linked together (the water line, the mud line, the energy line and the algae line).

. **Key words:** slaughterhouse, storm ponds, wastewater, water recycling.

1. **P. H. Gleick et M. Palaniappan**, « Peak water limits to freshwater withdrawal and use », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 107, n° 25, p. 11155-11162, juin 2010, doi: 10.1073/pnas.1004812107.
2. **T. Lefèvre**, « La répartition de l'eau sur la Terre », *Planète viable*, 29 octobre 2013. <https://planeteviable.org/repartition-eau-sur-terre/> (consulté le 25 octobre 2023).
3. **A. Rathier**, Global Compact France : les 17 Objectifs de Développement Durable et leurs 169 cibles, 20 p.
4. **UNESCO**, « 2005-2015 : Décennie internationale d'action « L'eau, source de vie » », *UNESCO*, 24 novembre 2015. <https://fr.unesco.org/themes/securite-approvisionnement-eau/eau-source-vie> (consulté le 25 octobre 2023).
5. « Eau potable ». <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water> (consulté le 25 octobre 2023).

Capteurs fluorescents pour la détection des ions métalliques toxiques pour l'environnement

Issa Samb^{1,2*}, Jeremy Bell³, Patrick Y. Toullec², Véronique Michelet² and Isabelle Leray³

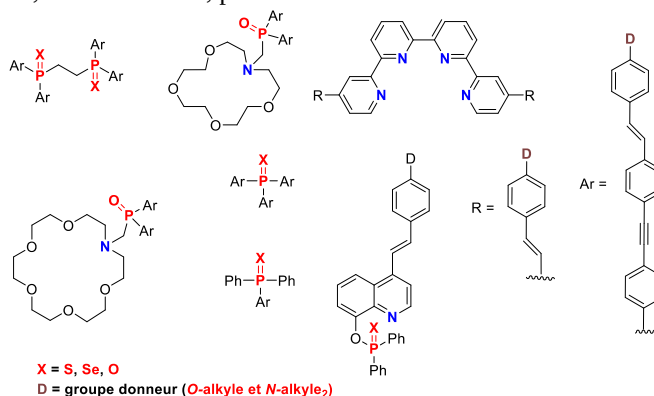
¹ Équipe de recherche Chimie Organique et Thérapeutique (ECOT), Département de chimie, Université Alioune Diop, Bambey (UADB), BP 30, Bambey, Sénégal

² PSL Research University, Chimie ParisTech CNRS, Institut de Recherche de Chimie Paris, 11 rue P. et M. Curie, 75005 Paris, France

³ PPSM, ENS-Cachan, Université Paris Saclay, 61 avenue du Président Wilson, 94235 Cachan Cedex, France
Email: issa.samb@uadb.edu.sn

Résumé : La lutte contre la pollution des eaux par des ions métalliques lourds comme le mercure (Hg^{2+}), le plomb (Pb^{2+}) et le cadmium (Cd^{2+}) constitue un impératif de santé publique en raison des pathologies variées que peuvent engendrer ces éléments. L'utilisation de la fluorescence comme méthode de détection des ions métalliques a rencontré un grand succès lié aux avantages en termes de sensibilité, sélectivité et de temps de réponse. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la détection de différents ions métalliques à partir de structures supramoléculaires fluorescentes à base de systèmes polyphénylacétylènes fonctionnalisés par des oxydes et sulfures de phosphines jouant le rôle de complexant des ions. D'importants travaux ont été réalisés et ont permis la synthèse et l'étude de propriétés photophysiques et optiques de plusieurs composés à base de ligands phosphorés.¹⁻⁵ Des fluorophores de type D- π -A possédant des noyaux phénylacétylènes comme système π conjugué, des groupes accepteurs avec des fonctions $\text{P}=\text{O}$ ou $\text{P}=\text{S}$ et des groupes donneurs (*O*-alkyle et *NMe*₂) ont été préparés. Les synthèses et les résultats de complexation seront présentés.

Mots clés : capteurs, fluorescents, environnement, pollution



Fluorescent sensors for the detection of environmentally toxic metal ions

Combating water pollution by heavy metal ions such as mercury (Hg^{2+}), lead (Pb^{2+}) and cadmium (Cd^{2+}) is a public health imperative, given the wide range of pathologies that can be caused by these elements.¹ The use of fluorescence as a method of detecting metal ions has met with great success, thanks to its advantages in terms of sensitivity, selectivity and response time. In this context, we have focused on the detection of various metal ions using fluorescent supramolecular structures based on polyphenylacetylene systems functionalized by phosphine oxides and sulfides acting as ion complexing agents. Extensive work has been carried out to synthesize and study the photophysical and optical properties of several compounds based on phosphorus ligands.²⁻⁸ D- π -A type fluorophores possessing phenylacetylene rings as the π -conjugated system, acceptor groups with $\text{P}=\text{O}$ or $\text{P}=\text{S}$ functions and donor groups (*O*-alkyl and *NMe*₂) have been prepared. Syntheses and complexation results will be presented.

Keywords: sensors, fluorescent, environment, pollution

Références

1. Bell, J., Samb, I., Toullec, P. Y., Michelet, V., and Leray, I., *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2016**, 318, 25–32.
2. Samb, I., Bell, J., Toullec, P. Y., Michelet, V. and Leray, I., *Org. Lett.*, **2011**, 13, 1182-1185.
3. Jeremy Bell, Issa Samb, Patrick Y. Toullec, Olivier Mongin, Mireille Blanchard Desce, Veronique Michelet and Isabelle Leray. *New Journal of Chemistry*, **2014**, 38, 1072-1078.
4. Jeremy Bell, Issa Samb, Patrick Y. Toullec, Veronique Michelet and Isabelle Leray, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2016**, 318, 25–32.
5. Issa samb and Véronique Michelet. *Asian Journal of Chemical Sciences*, **2022**, 12, 4, 1-6.

Contribution des sols latéritiques dans le traitement des eaux : Elimination de l'arsenic et du cyanure dans les eaux contaminées

Yacouba Sanou ^(1*)

(1) Laboratoire de Chimie Analytique, Environnementale et Bio-Organique (LCAEBiO), Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso. 03 BP 7021 Ouagadougou 03. Burkina Faso. Tel: +226 25 30 70 64.

Auteur correspondant : prosper_yacson@yahoo.fr

GT 5 (R3EMOA) : Eau, Energies Environnement et Mines ouest-africains

Résumé

Au Burkina Faso, l'approvisionnement en eau potable est handicapé par la pollution à l'arsenic et aux cyanures des eaux superficielles et souterraines dans les zones minières. La présente étude a été initiée pour évaluer la performance des sols latéritiques pour le traitement de ces eaux arsénisées et cyanurées. Les expériences étaient conduites en mode batch avec des eaux synthétiques de cyanure et d'arsenic. L'optimisation des paramètres opératoires a indiqué une forte influence du temps de contact, de la teneur initiale en polluant et la masse de la latérite. En éliminant l'arsenic, le taux de traitement a atteint 85 à 100%. Concernant le cyanure, les capacités d'adsorption étaient de 0,35 et 0,19 mg.g⁻¹ correspondant à un traitement de 28 % pour LB et 53 % pour LT. Le traitement de ces eaux aurait lieu par adsorption en multicouche suivant une cinétique pseudo-second ordre. Aussi, la latérite traitée a montré une meilleure efficacité dans le traitement due à l'amélioration des propriétés surfaciques. Par conséquent, ces latérites seraient de bons filtres dans un réacteur en dynamique pour le traitement des eaux cyanurées et arsénisées.

Mots clés : Adsorption, arsenic, cyanure, latérite.

Contribution of laterite soils in treatment of water: Removal of cyanide and arsenic removal from contaminated water

Abstract

In Burkina Faso, drinking water supply is affected by water pollution due to high concentration of arsenic and cyanide in the mining areas. At this regard, this study was realized to assess the efficiency of laterites soils in arsenic and cyanide removal from water. Experiments were carried out using batch adsorption with synthetic enriched arsenic and cyanide water. Optimization of operating parameters such as contact time, initial concentration of pollutant and adsorbent amount indicated a strong influence on the adsorption process. Indeed, Arsenic removal was more efficient in acid conditions with removal rate between 85 and 100%. By removing cyanide, adsorption capacities were 0.35 and 0.19 mg.g⁻¹ corresponding to a removal rate of 28% for LB and 53% for LT. The isotherm modelling concluded on multilayer adsorption following pseudo-second order kinetic. Better efficiency of treated laterite for arsenic and cyanide were due to the improvement of its surface properties. Consequently, these laterites would be good filters for the treatment of water in rural areas.

Key words: Adsorption, arsenic, cyanide, laterite.

1. Introduction

De nos jours, les ressources en eau sont menacées par des facteurs naturels et anthropiques entraînant leur pollution et leur rareté dans les zones rurales. Ces facteurs comprennent les sécheresses prolongées, la croissance démographique, les conditions climatiques et la demande croissante en eau douce [1]. A cela s'ajoute, la pollution des ressources en eau due à la présence naturelle ou anthropique de certains métaux (zinc, cadmium, mercure, arsenic...) et de composés organiques et inorganiques comme les phénols, les hydrocarbures et les cyanures dans les eaux [2]. Le cyanure est largement utilisé dans les industries telles que le textile, les plastiques, la photographie, les peintures, la galvanoplastie, le traitement des métaux, l'agriculture et l'exploitation minière [3]. La présence des composés cyanurés dans les eaux entraîne des problèmes de santé publique tels que les irritations, les plaies, les lésions nerveuses et la perte de poids à une dose au-delà de la valeur maximale admissible [4, 5]. Par conséquent, il s'est avéré nécessaire de concevoir une technique de traitement des eaux cyanurées pour éliminer ces contaminants afin de protéger la santé humaine et l'environnement. Pour ce faire, plusieurs méthodes de traitement des eaux telles que l'oxydation électrochimique, la coagulation chimique, la coagulation-précipitation, l'extraction par solvant, la séparation par membrane et la dégradation photocatalytique ont été développées afin de réduire la concentration de ces polluants dans l'environnement aqueux [1, 6]. Au Burkina Faso, les latérites sont disponibles dans plusieurs régions comme le centre, le sud-ouest, les haut-bassins, etc. Dans les travaux antérieurs [7, 8], les latérites ont été largement utilisées avec efficacité dans l'élimination de l'arsenic, des phosphates et d'autres métaux lourds toxiques dans les eaux [9, 10]. Dans cette dynamique, les sols latéritiques se présentent comme une opportunité pour servir d'adsorbants dans la mise en œuvre de l'adsorption en mode statique pour décontaminer les eaux potables. C'est ainsi que nous sommes intéressés à l'utilisation de la latérite pour éliminer les cyanures dans les eaux par adsorption en mode statique. L'objectif général de cette étude est d'évaluer l'efficacité des sols latéritiques pour l'élimination du cyanure et de l'arsenic en milieu aqueux. Il s'agit spécifiquement de caractériser les matériaux adsorbants, d'évaluer l'influence des conditions opératoires sur l'efficacité du processus et d'étudier la cinétique d'adsorption.

2. Matériel et discussion

2.1. Préparation des adsorbants

La latérite a été prélevée à Balkuy (12°17'23" N, 1°27'48" O), un site situé à la sortie sud de Ouagadougou aux accotements de la RN°5. Le prélèvement a été effectué à une profondeur d'environ vingt centimètres (20 cm) à partir de la surface de la terre.

La latérite brute (LB) a été lavée à l'eau distillée afin d'éliminer les éventuelles impuretés. La latérite traitée (LT) obtenue est préparée suivant le protocole décrit par Maiti *et al.* [11]. Le mode opératoire a consisté à sécher une quantité de latérite brute dans une étuve à 105°C durant 24 h. Ensuite, 50 g de LB ont été mélangés avec 200 ml d'acide chlorhydrique (6 M, Honeywell de 37 %) dans un bécher de 500 ml et le mélange acide-latérite a été agité manuellement à $70 \pm 5^\circ\text{C}$ pendant trois heures. La latérite traitée (LT) a été lavée avec de l'eau distillée jusqu'à un pH compris entre 6 et 7,5 puis séchée dans une étuve à 105°C pendant 24 h.

Ces deux latérites (LB et LT) ont été par la suite utilisées comme adsorbants dans l'élimination des cyanures.

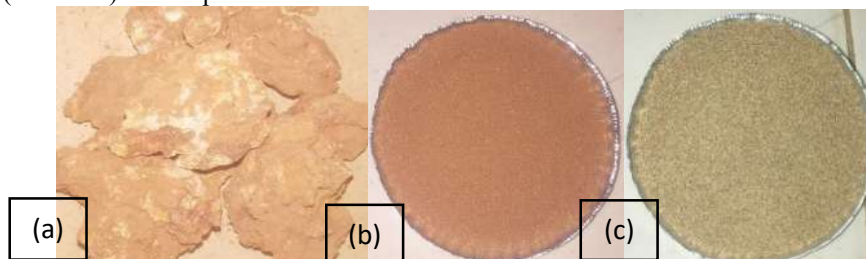


Figure 1 : Latérite : (a) brute tel que prélevée sur le site ; (b) : broyée et tamisée et (c) : traitée

Les caractéristiques des latérites sont consignées dans le **tableau I** où nous notons une amélioration des propriétés adsorptives des latérites.

Tableau I : Caractéristiques des latérites

		LB			LT				
pH_{PCN}		6,29			4,06				
Surface spécifique (m²/g)		24,5			42,4				
Densité apparente (g/mL)		0,99			1,11				
Elément		Al	O	Si	Fe	C	Ca	Mg	Na
Teneur massique (%)	Latérite brute	28,49	25,34	22,97	17,83	4,67	0,7	-	-
	Latérite traitée	10,74	37,29	10,60	7,69	32,71	-	0,05	0,05

2.2. Expériences d'élimination de l'arsenic et du cyanure

Des tests d'adsorption d'arsenic (V) ont été réalisés en mode batch avec de la latérite naturelle et de la latérite traitée sur la capacité d'adsorption de la latérite. Les solutions d'arsenic (V) ont été préparées par dilution d'une solution étalon de H₃AsO₄ (1 000 mg/L) dans de l'eau distillée. Des solutions avec des concentrations allant de 1 à 9 mg/L ont été utilisées dans les expériences suivantes. La solution étalon d'arsenic (V) a été obtenue commercialement dans des magasins de produits chimiques.

Le cyanure libre dans les différentes solutions est analysé par la méthode colorimétrique décrite par Nagashima *et al.* [13]. Le cyanure réagit avec la chloramine-T pour former du chlorure de cyanogène qui, à son tour réagit avec l'acide 1,3-diméthylbarbutrique en présence de la pyridine pour donner un complexe rouge qui vire au bleu et dont la longueur d'onde d'absorbance maximal est de 605 nm. Une solution standard de HCN à 1000 mg.L⁻¹ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt) a été utilisée pour la préparation des étalons. Les analyses ont été effectuées sur un spectromètre Hach DR-3900. L'analyse de l'arsenic a été analysée par spectrométrie d'émission optique/plasma couplée à l'induction (ICP-OES).

La capacité d'adsorption Q_e (mg/g) a été calculée comme suit :

$$Q = \frac{(C_0 - C_e)}{m} * V \quad (1)$$

Où C_0 et C_e représentent respectivement les concentrations initiales et finales d'arsenic en solution (μg/L).

V représente le volume de la solution (L) et m : le poids ou la masse d'adsorbant.

Le pourcentage d'élimination du cyanure noté %E est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%E = \frac{C_0 - C_e}{C_0} * 100 \quad (2)$$

Avec C_0 et C_e : les concentrations initiale et à l'équilibre du cyanure dans la solution (mg.L⁻¹)

2.3. Etude cinétique et modélisation des isothermes d'adsorption

Afin d'étudier non seulement les capacités d'adsorption de la latérite naturelle et celle dopée en fonction du temps de contact, mais également la cinétique d'adsorption, des solutions de 100 mL d'As (V) à 5 mg/L ont été préparées et placées dans des flacons Erlenmeyer d'une capacité de 250 ml. Le temps d'agitation varie de 1 heure à 24 heures pour laisser suffisamment de temps pour atteindre l'équilibre. Des expériences d'adsorption ont été réalisées en mettant en contact 1 g d'adsorbant avec 100 mL de solutions d'arsenic (V) dans des flacons Erlenmeyer à différentes concentrations initiales d'arsenic allant de 1 mg/L à 9 mg/L. Les mélanges dans chaque flacon Erlenmeyer ont été agités pendant 17 h. Pour étudier la cinétique d'adsorption, nous avons fait varier le temps de contact de 10 à 180 minutes pour une solution synthétique de concentration connue. Les concentrations initiales ont été variées de 2 à 35 mg.L⁻¹ pour les latérites (brute et traitée) afin d'étudier les isothermes.

3. Résultats et discussion

3.1. Effet du temps de contact

L'évolution de la capacité d'adsorption en fonction du temps de contact est représentée sur la **figure 2**. Il ressort que la capacité d'adsorption pour le cyanure augmentait progressivement au cours du temps jusqu'à atteindre un maximum autour de 75 mn et 40 min pour LB et LT, respectivement. Cela pourrait s'expliquer par la disponibilité et la facilité d'accès des sites d'adsorption au début du processus pour latérite (LT). Au-delà du temps considéré comme temps optimal, on note une légère désorption du cyanure à la surface de l'adsorbant qui se traduit par une faible décroissance de la capacité d'adsorption en fonction du temps. Cette désorption peut être liée au fait que le processus d'adsorption serait assuré par des liaisons faibles [14].

En variant le temps de contact entre 60 et 1 440 min, deux phases sont observées dans l'adsorption de l'arsenic (Figure 1). Une étape rapide entre 60 et 540 min serait due à la disponibilité de sites actifs à la surface des matériaux au début pour fixer les ions arséniate. La phase croissante serait le résultat de la formation d'un complexe plus fort ou de la migration d'arséniate à la surface de l'adsorbant [8-12]. La phase constante de 540 min jusqu'à 1440 min pourrait s'expliquer par la saturation des sites actifs sur chaque adsorbant. Un résultat similaire a été obtenu antérieurement [12] qui ont conclu que les deux étapes du processus de sorption de l'arsenic pourraient être dues à l'implication d'un échange d'ions rapide suivi d'une chimisorption. La capacité maximale du DL était de 0,49 mg/g tandis que le NL a une capacité de 0,47 mg/g durant 10h20 min de contact.

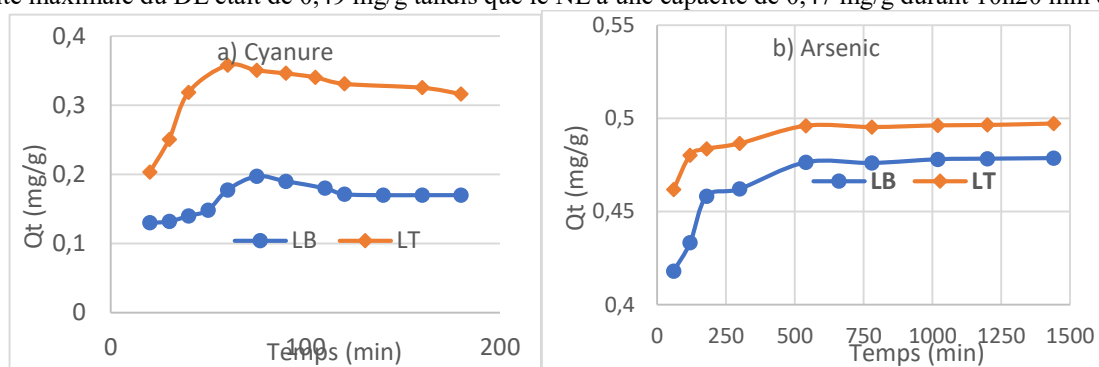


Figure 2 : Influence du temps de contact sur l'adsorption du cyanure et de l'arsenic

3.2. Effet de la concentration initiale

En variant la concentration initiale du cyanure entre 2 et 37 mg/L, une augmentation du pourcentage d'élimination est observée avec la concentration initiale en ion cyanure jusqu'au seuil (12 et 28 mg.L⁻¹ respectivement pour LB et LT). En variant de 1 à 9 mg/L la concentration initiale d'arsenic, la quantité d'As (V) adsorbée sur chaque latérite augmente de 0,1 à 0,8 mg/g lorsque la concentration initiale augmente entre 1 et 9 mg/L (**Figure 3**). Cette augmentation du taux d'adsorption serait due à l'occupation des sites libres aux faibles concentrations de l'adsorbât [8, 9,12]. Au-delà de ces valeurs, on observe une diminution de l'élimination du cyanure avec l'augmentation de la concentration initiale. Cela peut être dû au fait qu'au-delà de ces concentrations seuils ; correspondant aux concentrations de saturation du matériau ; le nombre d'ions cyanures présent est plus important que le nombre de sites disponibles.

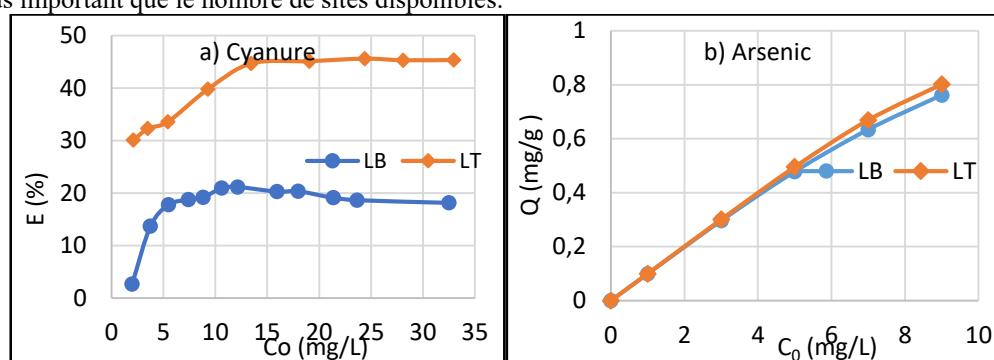
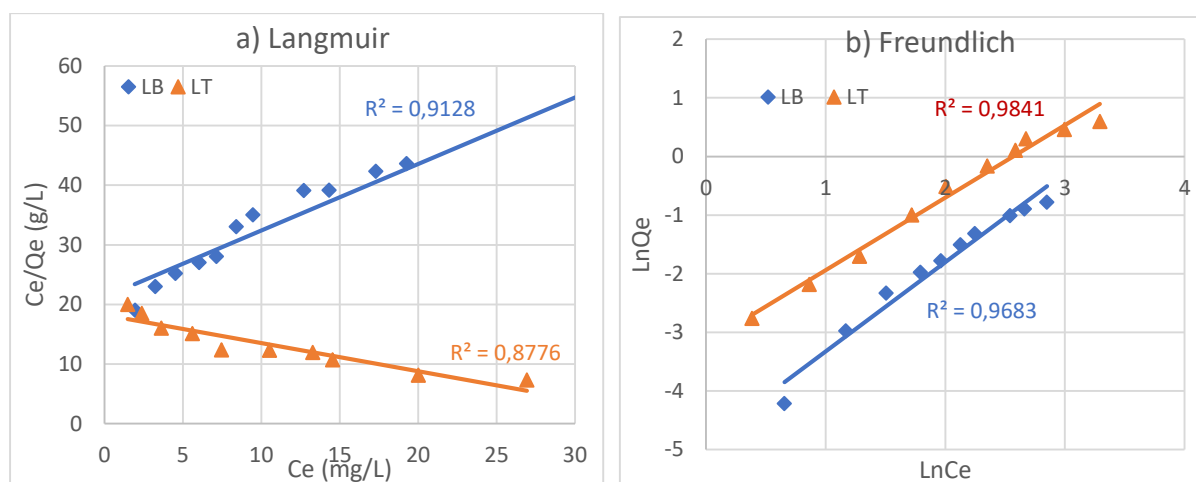


Figure 3 : Effet de la concentration initiale sur l'adsorption du cyanure et de l'arsenic

3.3. Modèles d'isothermes

Afin de déterminer la relation décrivant la répartition du cyanure entre la surface de la latérite et la phase liquide, nous avons appliquées les données expérimentales aux modèles d'isothermes de Langmuir et de Freundlich dont les représentations graphiques sont données par la **figure 4** respectivement pour Langmuir et Freundlich.


Figure 3 : Représentation des isothermes d'adsorption

Les constantes de ces isothermes sont données dans le **tableau II**. De ces deux modèles, l'isotherme de Freundlich décrirait mieux le processus car les coefficients de corrélations R^2 sont proches de l'unité. Cela indique que le processus d'adsorption des ions cyanures sur la latérite se ferait en multicouche et de manière non spécifique. L'analyse des indices de Freundlich obtenus révèle que l'adsorption des ions cyanures est modérée ($0,5 < n_f < 1$) à la surface du matériau latéritique [15].

Tableau II : Constantes des isothermes d'adsorption du cyanure

Modèle	Constantes	LT	LB
Freundlich	K_f (mg.g^{-1})	0,042	0,008
	n_f	1	1
	R^2	0,984	0,968
Langmuir	Q_m (mg.g^{-1})	2,118	0,897
	K_L (L.g^{-1})	0,025	0,052
	R^2	0,877	0,912

Tableau III: Constantes des isothermes d'adsorption de l'arsenic

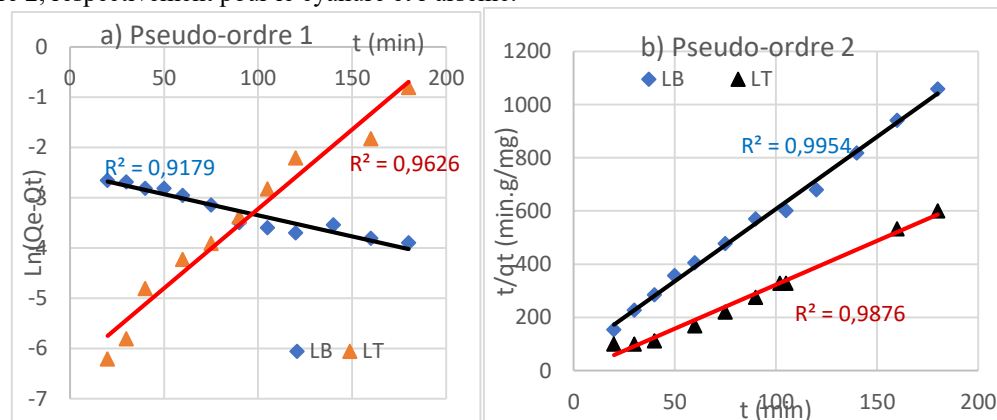
Adsorbant	Langmuir				Freundlich		
	Q_m ($\frac{\text{mg}}{\text{g}}$)	K_F ($\frac{\text{L}}{\text{mg}}$)	R^2	ΔG (kJ/mol)	n	K_F (mg/g)	R^2
LB	0,79	10,05	0,89	-2,52	3	0,76	0,94
LT	0,82	32,69	0,9	-3,75	3	0,98	0,96

La valeur de Q_m avec LT (0,82 mg/g) était

supérieure à celle obtenue avec LB (0,79 mg/g). De plus, les valeurs des coefficients de corrélation (R^2) étaient proches de l'unité (1) pour deux latérites et ce résultat a montré que l'adsorption d'As (V) était ajustée à l'isotherme de Freundlich, indiquant qu'un processus d'adsorption multicouche s'est produit sur des surfaces hétérogènes [12, 15]. De plus, l'énergie libre de Gibbs (ΔG_0) a été calculée et ses valeurs négatives (-3,75 kJ/mole et -2,52 kJ/mole) suggèrent que l'adsorption de l'arsenic (V) s'est produite selon un processus spontané.

3.4. Modèles cinétiques

L'étude de la cinétique d'adsorption permet de comprendre le processus spécifique par lequel l'adsorption se produit à la surface du matériau. Ainsi, les modèles cinétiques du pseudo-premier ordre et du pseudo-second ordre ont été appliqués. Les représentations graphiques de ces modèles cinétiques sont données par les **figures 5 et 6** pour la cinétique de pseudo ordre 1 et pseudo-ordre 2, respectivement pour le cyanure et l'arsenic.



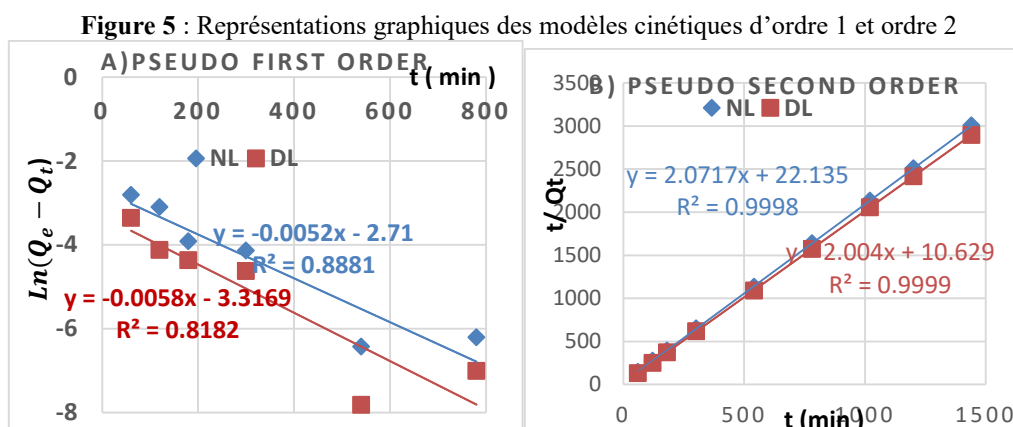


Figure 6 : Courbes cinétiques dans l'adsorption de l'arsenic(V)

Les différentes constantes des isothermes sont déterminées et présentées dans le **tableau IV**. Il en ressort que le modèle cinétique du pseudo-second ordre décrit mieux le processus d'adsorption des ions cyanures sur la latérite car la capacité d'adsorption théorique (0,30 et 0,18 mg.g⁻¹ respectivement pour LT et LB) est assez proche de la capacité d'adsorption expérimentale (1,35 et 0,62 mg.g⁻¹ respectivement pour LT et LB).

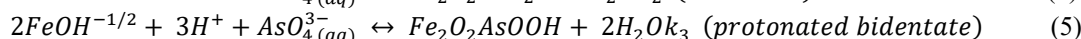
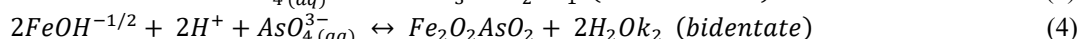
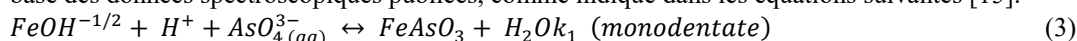
Tableau IV : Constantes des modèles cinétiques d'adsorption du cyanure

Modèle cinétique	Constantes	LT	LB
Pseudo premier ordre	Q_{exp} (mg.g ⁻¹)	1,35	0,62
	$Q_{thé}$	0,001	0,081
	K_1	-0,031	0,008
	R^2	0,962	0,917
Pseudo second ordre	$Q_{thé}$	0,300	0,180
	K_2	-1,330	0,450
	R^2	0,987	0,995

Tableau V : Constantes des modèles cinétiques d'adsorption de l'arsenic

Pseudo-premier ordre							
LB				LT			
k_1 (min ⁻¹)	$Q_{théo}$ (mg/g)	Q_{exp} (mg/g)	R^2	K_1 (min ⁻¹)	$Q_{théo}$ (mg/g)	Q_{exp} (mg/g)	R^2
0,005	0,06	0,47	0,89	0,006	0,03	0,49	0,82
Pseudo-second ordre							
LB				LT			
K_2 (g/mg.min)	$Q_{théo}$ (mg/g)	Q_{exp} (mg/g)	R^2	K_2 (g/mg.min)	$Q_{théo}$ (mg/g)	Q_{exp} (mg/g)	R^2
0,19	0,48	0,47	0,99	0,38	0,49	0,49	0,99

On remarque que les valeurs expérimentales (Q_{exp}) et théoriques ($Q_{théo}$) sont du même ordre de grandeur pour le modèle cinétique de pseudo-second ordre pour les deux latérites avec une capacité d'adsorption plus élevée avec la latérite dopée. De même, la constante k_2 qui exprime la constante de vitesse de l'adsorption de As (V) sur la latérite dopée est supérieure à la constante k_2 avec la latérite naturelle. De plus, on retrouve des valeurs plus élevées des coefficients de corrélation R^2 pour le modèle de pseudo-second ordre avec les deux latérites. Ces résultats indiquent que l'adsorption de l'arsenic (V) sur deux latérites pourrait être expliquée par le modèle cinétique du pseudo-second ordre et que la chimisorption pourrait être l'étape limitante. Un mécanisme plus détaillé de sorption d'As (V) à la surface des oxydes ferriques hydratés a été proposé sur la base des données spectroscopiques publiées, comme indiqué dans les équations suivantes [15].



À partir des équations ci-dessus (3-5), la littérature suggère que l'adsorption de l'arsenic sur les matériaux se produit par un mécanisme de chimisorption où l'arsenic est directement lié aux groupes fonctionnels de surface [15]. Cette hypothèse est en accord avec les données expérimentales.

4. Conclusion

Ce travail a permis de valoriser les matériaux locaux disponibles à moindre coût (latérites) dans le traitement des eaux. Le processus est fortement influencé par les paramètres opératoires tels que le temps de contact, la concentration initiale de l'adsorbât et le rapport solide/liquide. L'étude de la cinétique d'adsorption a montré que le temps d'équilibre pour la latérite brute était plus long (75 minutes) que celui de la latérite traitée (40 minutes). Le modèle cinétique du pseudo-second ordre décrit mieux le processus d'adsorption du cyanure et de l'arsenic à la surface de la latérite. L'élimination du cyanure serait

mieux décrite par le modèle de Freundlich indiquant une adsorption en multicouche sur une surface hétérogène contenant des sites non localisés. Le traitement de l'arsenic a donné une capacité d'adsorption maximale de 0,83 mg/g et 0,79 mg/g pour LT et LB, respectivement. À cet égard, la latérite dopée devrait être un adsorbant prometteur pour le traitement des eaux contaminées à l'arsenic ou au cyanure en utilisant des expériences continues.

5. Remerciements

L'auteur remercie l'Académie Mondiale des Sciences (TWAS) en collaboration avec l'UNESCO pour le soutien financier dans la conduite de cette étude et la participation aux 24^{èmes} Journées de la Soachim à travers le projet « Individual Research » Grant No. 22-087 RG/CHE/AF/AC_I FR 3240325133.

6. Références

- [1] Kariim I., Abdulkareem A. S., Tijani J. O., et Abubakre O. K., *Sci. Afr.* (2020) 10, 1-17, doi: 10.1016/j.sciaf.2020.e00593.
- [2] Halet F., Yeddou A. R., Chergui A., Chergui S., Nadjemi B., et Ould-Dris A., *Dispers. J. Sci. Technol.* (2015) 36, 12, 1736-1741, doi: 10.1080/01932691.2015.1005311.
- [3] Alvillo-Rivera A., Garrido-Hoyos S., Buitrón G., Thangarasu-Sarasvathi P., et Rosano-Ortega G., *J. Mater. Res. Technol.* (2021) 12, 1418-1433, doi: 10.1016/j.jmrt.2021.03.030.
- [4] Dash R. R., Balomajumder C., et Kumar A., *Chem. Eng. J.* (2009) 146, 3, 408-413, doi: 10.1016/j.cej.2008.06.021.
- [5] Knoblauch A. M. et al., *J. Clean. Prod.* (2019) 252, 9, doi: doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119689.
- [6] Dash R. R., Gaur A., et Balomajumder C., *J. Hazard. Mater.* (2009) 163, 1, 1-11, doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.06.051.
- [7] Maulana I. et Takahashi F., *J. Water Process Eng.* (2018) 22, 80-86, doi: 10.1016/j.jwpe.2018.01.013.
- [8] Sanou Y., Kaboré R., et Paré S., *French-Ukrainian J. Chem.* (2020) 8(2), 227-242.
- [9] Sanou Y., Tiendrebeogo R., et Paré S., *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2020) 049, 22-30.
- [10] Sanou Y. et Pare S., *J. Environ. Treat. Tech.* (2021) 9 (3), 559-565, doi: https://doi.org/10.47277/JETT/9(3)565.
- [11] Maiti A., Basu J. K., et De S., *Ind. Eng. Chem. Res.* (2010) 49 (10), 4873-4886.
- [12] Sanou Y., « Etude des performances des charbons actifs, du granulé d'hydroxyde ferrique et la latérite pour l'élimination de la demande chimique en oxygène, du calcium et de l'arsenic des eaux », Thèse, Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso, 2017.
- [13] Nagashima S. et Ozawa T., *Int. J. Env. Anal. Chem.* (1981) 10 (2), 99-106, doi:10.1080/03067318108071535.
- [14] Kifuani K. M., Mehrez I., Younsi M., Nacef M. et Affoune A.M., *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2018) 1 (12), 558-575.
- [15] Katsoyiannis I. A., Zouboulis A. I., *Water Research.* (2002) 36, 5141-5155.

Contribution de la chimie dans l'industrie minière au Burkina Faso : élaboration de matériaux réfractaires à base matières premières minérales

Moustapha Sawadogo¹, Issiaka Sanou^{1,2}, Brahima Sorgho¹, Lamine Zerbo¹, Mohamed Seynou¹, Philippe Blanchart³

¹Université Joseph KI-ZERBO, UFR-SEA, Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LC2M), Equipe Physico-Chimie et Technologie des Matériaux (EPCTM) 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Université Nazi BONI, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

³Institute of Research for Ceramic - IRCER, European Ceramic Centre (CEC), 87068 Limoges, France

Auteur correspondant : sawtapha22@yahoo.fr ; moustapha.sawadogo@ujkz.bf

Résumé :

Au Burkina Faso, une quantité importante de matériaux réfractaires tels que les creusets, les coupelles et briques sont importés par les sociétés minières et les laboratoires, pour le traitement et les analyses des minerais. Les matières premières nécessaires pour l'élaboration de ces types de matériaux et la technologie sont pourtant disponibles. L'objectif de ce travail est d'élaborer ces matériaux réfractaires à base de matières premières minérales locales afin de réduire les importations. Deux argiles et du sable naturel prélevés au Burkina Faso ont été caractérisés (par ICP, ATD/TG, DRX) et utilisés pour l'élaboration des céramiques réfractaires. Des matériaux élaborés par pressage de mélanges proportionnels de ces matières premières, ont été frittés à 1200 °C et puis caractérisés. Sous charge à haute température, le comportement des matériaux est influencé par la nature de la phase de la matrice argileuse et la proportion en argile fondant. Ces matériaux résistent aux attaques chimiques et aux chocs thermiques et ont une résistance la compression diamétrale de 1,34 MPa et une refractarité minimale sous charge de 1173,6°C. Ce travail montre que la production locale de matériaux réfractaires à partir de matières premières minérales est possible. Ces matériaux sont prêts à être employés dans des conditions corrosives et à des températures atteignant 1173,6°C.

Mots clés : argile, mullite, matériau réfractaire, attaque chimique et choc thermique.

Contribution of chemistry to the mining industry in Burkina Faso: development of refractory materials based on mineral raw materials

Abstract :

In Burkina Faso, a significant quantity of refractory materials such as crucibles, cups and bricks are imported by mining companies and laboratories, for the processing and analysis of minerals. The raw materials necessary for the development of these types of materials and the technology are nevertheless available. The objective of this work is to develop these refractory materials based on local mineral raw materials in order to reduce imports. Two clays and natural sand taken from Burkina Faso were characterized (by ICP, ATD/TG, DRX) and used for the production of refractory ceramics. Materials produced by pressing proportional mixtures of these raw materials were sintered at 1200°C and then characterized. Under load at high temperature, the behavior of the materials is influenced by the nature of the phase of the clay matrix and the proportion of melting clay. These materials resist chemical attack and thermal shock and have a diametric compressive strength of 1.34 MPa and a minimum refractoriness under load of 1173.6°C. This work shows that the local production of refractory materials from mineral raw materials is possible. These materials are ready for use in corrosive conditions and at temperatures up to 1173.6°C.

Keywords: clay, mullite, refractory material, chemical attack and thermal shock.

Références :

- (1) M. Sawadogo; I. Sanou; Y. Dah; B. Traoré; Y. sawadogo; D. Samaké; C. Dembelé; L. Zerbo; M. Seynou. Résistance Aux Chocs Thermiques Etaux Attaques Chimiquesde Briques Réfractaires à Base d'argile Kaolinitique et de Sable. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* **2021**, 050, 50–56.
- (2) M.O. Adeoti; O.A. Dahunsi; O.O. Awopetu; F.O. Aramide; O.O. Alabi; O.T. Johnson; A.S. Abdulkarim. Suitability of Selected Nigerian Clays for Foundry Crucibles Production. *Procedia Manufacturing* **2019**, 35, 1316–1323.
- (3) A. El Haddar; Azdimousaa, A.; Iz-Eddine El Amrani El Hassani; Ahmed Manni; Nathalie Fagel; Abdelilah Bellil; Meriam Ouahabi; Chaouki Sadik. Elaboration of a High Mechanical Performance Refractory from Halloysite and Recycled Alumina. *Bol. Soc. Esp. Cerám. Vidr.* **2019**, 169, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bsevcv.2019.08.002>.

P7

Activité anti-staphylococcique et effet modulateur des disques d'antibiotiques des extraits de *Terminalia avicennioides* Engl. et Diels

Meda Nâg-Tiéro Roland¹, Kam Sami Eric^{1,2}, Kabré Zachari^{1,3}, Koama Kouliga Benjamin^{1,3}, Ouoba Yempabou Hermann¹, Yameogo Victorien¹, Zon Madjo Drissa¹, Zongo Eliasse¹ et Ouedraogo Georges Anicet¹

¹Laboratoire de Recherche et d'Enseignement en Santé et Biotechnologies Animales, Université Nazi BONI, 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

²Laboratoire de recherche en Biochimie, INSP/ Centre MURAZ, 01 BP 390 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

³Laboratoire de médecine et pharmacopée traditionnelle, Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Direction Régionale de l'Ouest, 01 BP 545 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

Auteur présentateur : **KAM Sami Eric**, Biomédical Chercheur, kamsamieric@yahoo.fr, +22676644973

Résumé : Cette étude avait pour but d'évaluer le potentiel anti-staphylococcique des extraits bruts et des fractions de *Terminalia avicennioides*. Les teneurs totales des extraits en composés phénoliques, flavonoïdes et tannins ont été évaluées par les méthodes de Folin-Ciocalteu, de chlorure d'aluminium et de la vanilline, respectivement. Les propriétés antibactériennes des extraits ont été étudiées par les méthodes de diffusion sur disque et de microdilution. Les meilleures teneurs en phénoliques, flavonoïdes et tannins, ont été obtenues respectivement, avec la fraction d'acétate d'éthyle du décocté des écorces du tronc, le macéré hydro-acétoniques des racines et le macéré hydro-acétoniques des écorces du tronc. La fraction aqueuse du décocté des feuilles a montré la meilleure inhibition, avec un effet bactéricide (CMB/CMI ≤ 4) contre des souches de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; et des souches cliniques: *Staphylococcus aureus* et 2 souches de *Staphylococcus haemolyticus* résistantes à la méthicilline. Cette fraction a également démontré une meilleure potentialisation des effets anti-staphylococciques des disques de Triméthoprim (25 µg), de Tétracycline (30 µg) et de Céfoxitine (30 µg). Les feuilles de *T. avicennioides* pourraient être recommandées pour la recherche de nouvelles thérapies contre les souches résistantes à la méthicilline, voir multirésistantes.

Mots clés: anti-staphylococcique; *Terminalia avicennioides*; méthicilline multirésistant; effet modulateur

Anti-staphylococcal activity and antibiotic-modulating effect of *Terminalia avicennioides* Engl. and Diels extracts

Abstract: This study aimed to evaluate the anti-staphylococcal potential of crude extracts and fractions of *Terminalia avicennioides*. The total contents of the extracts in phenolic, flavonoids and tannins compounds were evaluated by the Folin-Ciocalteu, aluminum chloride and vanillin methods, respectively. The antibacterial properties of the extracts were studied by disk diffusion and microdilution methods. The most contents in phenolics, flavonoids and tannins were obtained respectively, with the ethyl acetate fraction of the trunk bark aqueous extract, hydro-acetonic macerate of roots and hydro-acetonic macerate of trunk barks. The aqueous fraction of the leaf decoction showed the best inhibition, with a bactericidal effect (MBC/MIC ≤ 4) against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; and clinical strains: *Staphylococcus aureus* and 2 strains of *Staphylococcus haemolyticus* resistant to methicillin. Further this fraction demonstrated better potentiation of the anti-staphylococcal effects of Trimethoprim (25 µg), Tetracycline (30 µg) and Cefoxitin (30 µg) discs. The leaves of *T. avicennioides* could be recommended for research into new therapies against methicillin-resistant or even multi-resistant strains.

Keywords: anti-staphylococcal; *Terminalia avicennioides*; methicillin-resistant; modulator effect

Références bibliographiques:

1. Adewuyi, A. M., Akangbe, Y. T., Animasahun, D. A., Durodola, F. A., and Bello, O. B. 2015. *Terminalia avicennioides* as a potential candidate for pharmaceutical industry: A review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(2), 748–754
2. Kam, S.E., Meda, R.N., Sanou, S.D., Kagambega, W., and Ouedraogo, C., Somda, F.T., Boni, I.S., Zongo, E., Gnada, D.K., Da, A., Koama, B.K., Ouoba, H.Y., Ouedraogo G.A. 2022. Antioxidant and Antimicrobial Capacities of Two Medicinal Plants Used against Urinary Infections in Burkina Faso. *Advances in Microbiology*, 12 (12): 671-683
3. Adim, E. U., Dingwoke, E. J., Adamude, F. A., Edenta, C., Nwobodo, N. N., Offiah, R. O., Onyeka, I. P., and Ezeaku, I. N. 2018. Bacteriostatic and Bactericidal effects of ethyl acetate root bark extract of *Terminalia avicennioides* on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Biochemistry Research*, 12(5), 45–54

P8

Analyse discriminante des feuilles et des tiges de *Lippia chevalieri* Moldenke par métabolomique basée sur la spectrométrie proche infrarouge à transformée en série de Fourier (FT-IR) couplée à l'analyse des composantes principales (ACP)

BANGOU Mindiédba Jean^{1,3*}; NACOLMA Aminata P.^{2,3}; MEGALIZZI Véronique³

¹Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre, Université Nazi BONI, Département de Biochimie et Microbiologie, 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

²Unité de Formation et de Recherche en Sciences de Santé, Université Joseph Ki-ZERBO, 01 BP 1939 Ouagadougou 01, Burkina Faso

³Laboratoire de Toxicologie, Faculté de Pharmacie, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium

Résumé : Cette étude vise à analyser *Lippia chevalieri* par métabolomique, en utilisant la spectrométrie proche infrarouge transformée en série de Fourier (FT-IR) couplée à l'analyse des composantes principales (ACP) pour identifier les différences métaboliques observées entre les feuilles et les tiges de cette plante utilisée en médecine traditionnelle. Cette approche holistique est utilisée pour l'analyse discriminante des extraits et l'identification de biomarqueurs responsables des activités biologiques. La mise en place de procédures d'analyse des plantes par métabolomique permettra d'étudier la corrélation entre les parties de la plante et leurs activités biologiques dans le but d'identifier les molécules responsables des activités biologiques observées. Des résultats préliminaires obtenus sur l'analyse des données spectrales donnent comme meilleur résultat celui du proche infrarouge. Dans ce modèle, les 2 premières composantes expliquent 89,58% de la variabilité du modèle (CP1: 79,36% et CP2: 10,22%) et permettent une distinction des groupes. Également, les 3 premières composantes principales expliquent 87,56% de la variabilité du modèle (CP1: 49,06%, CP2: 21,89% et CP3: 16,61%). Cette méthode spectrale non invasive, ne nécessitant pas l'utilisation de solvants, permet la réalisation d'analyses aussi bien qualitatives que quantitatives de manière rapide, simple, juste et reproductible, tout en permettant une analyse globale et multiparamétrique des échantillons.

Mots clés : métabolique, infrarouge, analyse en composantes principales, *Lippia chevalieri*

Abstract : This study aims to analyze *Lippia chevalieri* by metabolomics, using near-infrared spectrometry transformed into Fourier series (FT-IR) coupled with the principal components analysis (PCA) to identify the metabolic differences observed between the leaves and stems of this plant used in traditional medicine. This holistic approach is used for discriminant analysis of extracts and identification of biomarkers responsible for biological activities. The implementation of plant analysis procedures by metabolomics will make it possible to study the correlation between plant parts and their biological activities in order to identify the molecules responsible for the observed biological activities. Preliminary results obtained on the analysis of spectral data give as better result that of the near infrared. In this model, the first two components explain 89.58% of the variability of the model (PC1: 79.36% and PC2: 10.22%) and allow a distinction of the groups. Also, the first 3 principal components explain 87.56% of the variability of the model (PC1: 49.06%, PC2: 21.89% and PC3: 16.61%). This non-invasive spectral method, not requiring the use of solvents, allows the realization of qualitative as well as quantitative analyses in a fast, simple, fair and reproducible way, while allowing global and multiparametric analysis of samples.

Keywords : metabolic, infrared, principal component analysis, *Lippia chevalieri*

Références

- Nacoulma AP., Megalizzi V., Pottier LR., Lorenzi M., Thoret S., Dubois J., Vandeputte OM., Duez P., Vereecke D., Jaziri M. (2013). Potent Antiproliferative Cembrenoids Accumulate in Tobacco upon Infection with *Rhodococcus fascians* and Trigger Unusual Microtubule Dynamics in Human Glioblastoma Cells. *Cells*. PLoS ONE 8(10): e77529. doi:10.1371/journal.pone.0077529
- Mbinze JK., Sacré PY., Yemoa A., Mbay JMT, Habyalimana V., Kalenda, N., Ph. Hubert, Marini R.D, Ziemons E. (2015). Development, validation and comparison of NIR and Raman methods for the identification and assay of poor-quality oral quinine drops, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 111: 21-27.
- Mbinze JK., Yemoa A., Lebrun P., SacréP-Y., Habyalimana V., Kalenda N., Bigot A., Atindehou E., Hubert P., Marini RD. (2015). Fighting Poor Quality Medicines: Development, Transfer and Validation of Generic HPLC Methods for Analyzing Two WHO Recommended Antimalarial Tablets. *American Journal of Analytical Chemistry*, 6, 127-144.
- Tshilumba PM. (2021). Etude de la falsification de médicaments et mise au point de méthodes analytiques pour détecter les antibiotiques de qualité inférieure. Faculté des Sciences Pharmaceutiques. Université De Lubumbashi. 206p.

P9

Etude diagnostique de la qualité des eaux de consommation dans la commune est-mono 2 (Togo) : cas de Morétan-Fodjoayé-Tchèkèlè

TCHAKALA Ibrahim, LARE Bakenanmè, AYA Masabalo

Laboratoire d'Hydrologie Appliquée et environnement, Université de Lomé, Togo
Faculté des sciences, Université de Lomé, Togo

Résumé : L'accès à l'eau potable demeure un véritable défi pour nos populations surtout en milieu rural où l'offre des services en matière d'eau n'est pas à la hauteur des attentes. La cible 6.1 des ODD appelle à l'horizon 2030 à

assurer l'accès universel et équitable à l'eau potable à un coût abordable. L'objectif est d'évaluer à mi-parcours la qualité des eaux de consommées dans trois villages du Togo (Morétan, Fodjoayé et Tchèkèlè). L'étude transversale descriptive et analytique s'est focalisée sur la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux et a pris en compte dix points d'eau. Trois cent trente-cinq ménages ont été enquêtés par sondage aléatoire stratifié. Il ressort que la principale source d'eau de consommation demeure le puits (47,16%), suivie par les bornes fontaines (31,94%) et les forages (20,9%). Microbiologiquement, 100% des eaux ne sont pas conformes aux directives OMS par rapport aux bactéries de la flore aérobique mésophile totale, 60% par rapport aux coliformes totaux et coliformes thermotolérants. Sur le plan physico-chimique 40% des échantillons ont des concentrations en nitrates supérieures à la norme, 100% ont des teneurs faibles en calcium, magnésium et 90% en fluorures. La sensibilisation et la formation des ménages aux techniques de traitement de potabilisation des eaux s'avèrent indispensable pour l'amélioration de la santé des populations.

Mots clés : Eau potable, pollution, santé

Diagnostic study of the quality of consumption water in the commune Est-Mono 2 (Togo) : Case of Morétan-Fodjoayé-Tchèkèlè

Abstract: Today, access to drinking water remains a real challenge for our populations, especially in rural areas, where the supply of water services does not meet expectations. Target 6.1 of the MDGs calls for universal and equitable access to drinking water at an affordable cost by 2030. This is the background to our study, the general aim of which is to assess the quality of drinking water used in Morétan, Fodjoayé and Tchèkèlè. Our cross-sectional, descriptive and analytical study, running from May to September 2023, focused on the physico-chemical and microbiological diagnosis of water using Association Française de Normalisation (AFNOR) methods, and took into account ten (10) water points. In addition, 335 households were surveyed by stratified random sampling. The main source of drinking water remains wells (47.16%). This is followed by standpipes (31.94%) and boreholes (20.9%). Microbiologically, 100% of the water did not comply with WHO guidelines for total aerobic mesophilic bacteria. Similarly, 60% did not comply with total coliforms and thermotolerant coliforms, and 30% with fecal streptococci. Borehole water, which in some cases contains only total aerobic mesophilic flora, and in others total and thermotolerant coliforms, does not comply with WHO guidelines, but is less polluted than well water. Physico-chemically, 40% of our samples have nitrate concentrations above the standard, 100% have low levels of calcium and magnesium and 90% fluoride (below health requirements). Household awareness-raising and training in water treatment techniques are important for improving the quality of drinking water.

Keywords : Drinking water, pollution, health, comply

Références Bibliographiques

- [1] P. H. Gleick et M. Palaniappan, « Peak water limits to freshwater withdrawal and use », *Proceedings of the National Academy of Science / PNAS*, vol. 107, n° 25, p. 11155-11162, juin 2010, doi: 10.1073/pnas.1004812107.
- [2] A. Rathier, *Global Compact France : les 17 Objectifs de Développement Durable et leurs 169 cibles*, 20 p. 2005.
- [3] « Eau potable ». <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water> (consulté le 25 octobre 2023).
- [4] Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques et Démographiques (INSEED), « Rapport QUIBB_Togo_2015 », 157 p. 2015.
- [5] L. Tampo, M. Ayah, T. Kodom, I. Tchakala, P. Boguido et B. Djaneye, « Impact de la demande en chlore et de la chloration sur la désinfection des eaux de puits des quartiers de Lomé : cas des quartiers de Démakpoé et d'Agbalépédogan (Togo) », *Revue du Journal of Applied Biosciences*, vol. 75, p. 6272-6281, 2014.a, doi.10.4314/jab.v75i1.12

Challenge du traitement des eaux usées dans les villes africaines, couplage digestion anaérobie avec les filtres plantés comme une alternative

Tomkouani KODOM, Dègninou HOUNDEDJIHOU, Ibrahim TCHAKALA, Mactar Limam BAWA

Laboratoire d'Hydrologie Appliquée et Environnement (LHAE), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01BP:1515 - Lomé -Togo, tchakodotom@yahoo.fr

L'état des lieux montre que plus de deux (2) milliards de personnes ne disposent toujours pas d'un assainissement correct de base, de stations d'épuration ni de réseaux d'égouts dans leur ville engendrant des pollutions et des maladies. Les coûts élevés des ouvrages, leur gestion et maintenance, le manque d'expertise locale, la croissance rapide et horizontale des villes etc. sont des arguments pour les pouvoirs publics pour ne pas prioriser le secteur de l'assainissement collectif, plongeant les villes africaines dans une laideur inégalable. Pour répondre au besoin en assainissement viable des villes africaines, particulièrement les villes secondaires, le couplage de la digestion anaérobie et d'une série de filtres plantés, le tout comme un système intégré dans un espace vert pourrait être une alternative. La digestion anaérobie est essentiellement basée sur un processus biologique où divers types de bactéries dégradent de la matière organique produisant du biogaz (Filer et al., 2019). Les filtres plantés vertical et horizontal en avant serviront d'affinage. C'est une technologie simple efficace utilisée pour traiter les eaux usées des industries alimentaires (Paing et al., 2015), des eaux usées domestiques (Sathe and Munavalli, 2019). L'optimisation des paramètres dans les deux techniques ont permis une élimination de la DCO, NTK, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, BOD_5 supérieur à 80% dans les eaux usées d'abattoir. Cependant, une nitrification significative a lieu rendant les effluents riches en minéraux utiles pour un usage agricole. La digestion anaérobie permet de générer du biogaz avec un taux de 74% en méthane.

Un financement plus accru pour une ingénieuse conception permettra la mise en place d'une nouvelle filière d'économie circulaire.

Wastewater treatment challenges in African cities, anaerobic digestion followed up with constructed wetland as an alternative

The diagnostic shows that more than two (2) billion people still do not have proper basic sanitation, sewage treatment plants or sewage systems in their cities with all the dangers of pollution and health concerns. The high costs of sanitation infrastructures, their management and maintenance, the lack of local expertise, the rapid and horizontal growth of cities, etc. are arguments for public authorities not to prioritize the collective sanitation system. To meet the need for viable sanitation in African secondary cities, we propose a coupling of anaerobic digestion and a series of constructed wetlands, all as a system integrated into a green space. Anaerobic digestion is based on a biological process where various types of bacteria work in a chain for the biodegradation of organic matter producing biogas (Filer et al., 2019). The vertical and horizontal constructed wetland will follow up to polish wastewater. Constructed wetlands are effective technology used to treat wastewater from food industries (Paing et al., 2015), domestic wastewater (Sathe and Munavalli, 2019) etc. The optimization of the parameters in both techniques allowed a removal yield greater than 80% for COD, TKN, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, BOD_5 in slaughterhouse wastewater. However, significant nitrification takes place making the mineral-rich effluent useful for agricultural. Anaerobic digestion makes it possible to generate biogas with a methane content of 74%.

Anaerobic digestion coupled with a constructed wetland reactor or a series of constructed wetland seem to be an alternative for the treatment of wastewater produced in African cities. Increased funding for ingenious design will allow the establishment of a new circular economy sector.

Key words: sanitation, African cities, anaerobic digestion, constructed wetlands.

References:

- Filer, J., Ding, H.H., Chang, S., 2019. Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. *Water* 11, 921. <https://doi.org/10.3390/w11050921>
- Paing, J., Serdobbel, V., Welschbillig, M., Calvez, M., Gagnon, V., Chazarenc, F., 2015. Treatment of high organic content wastewater from food-processing industry with the French vertical flow constructed wetland system. *Water Science & Technology* 72, 70. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.190>
- Sathe, S.M., Munavalli, G.R., 2019. Domestic wastewater treatment by modified bio-rack wetland system. *Journal of Water Process Engineering* 28, 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.02.010>

Étude de l'efficacité d'inhibition de la corrosion des aciers à faible teneur en carbone de quatre extraits de *Cymbopogon Citratus* dans une solution d'acide chlorhydrique

Investigation of low carbon steel corrosion inhibition efficiency of four extracts of *cymbopogon citratus* in hydrochloric acid solution

Tambi Ramdé^{1*} ; Souleymane Kologo¹

¹ Equipe Chimie Physique et Electrochimie ; Laboratoire de Matières et de Matériaux Moléculaires ; Unité de Formation en Sciences Exactes et Appliquées ; Université Joseph Ki-Zerbo

03 BP 7021 Ouagadougou 03 ; BURKINA FASO

*Auteur Correspondant : tambi.ramde@ujkz.bf

Résumé

L'inhibition de la corrosion des extraits aqueux, décoction et hydroalcooliques et de l'huile essentielle de *Cymbopogon Citratus* a été évaluée pour l'acier à faible teneur en carbone dans un milieu d'acide chlorhydrique 0,5 M par tracé de courbes de polarisation et de mesures d'impédance électrochimique. Les résultats ont révélé que la décoctions, l'extrait hydroalcoolique et l'huile essentielle sont des inhibiteurs de corrosion efficaces pour l'acier à faible teneur en carbone grâce à l'adsorption de leurs constituants actifs sur la surface de l'acier. L'influence de la durée d'immersion a été étudié pour évaluer la durabilité du film adsorbé dans la protection de la surface de l'acier sur une période de 45 jours. Les résultats obtenus ont été analysés par une analyse de surface (MEB-EDX et IRTF). Une étude théorique impliquant des calculs de chimie quantique et une simulation de la dynamique moléculaire sont également réalisées pour le constituant abondant dans chaque type d'extrait de *Cymbopogon Citratus*.

Mots clés : Inhibiteur de corrosion ; Analyse électrochimique ; calcul de chimie quantique; simulation moléculaire

Abstract

The corrosion inhibition of aqueous, decoction and hydroalcoholic extracts and essential oil of *cymbopogon citratus* was evaluated for low carbon steel in 0.5 M hydrochloric acid media using polarization curves and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The results revealed that decoction and hydroalcoholic extracts serves as an effective corrosion inhibitor for low-carbon steel via adsorption of theirs active constituents on the steel surface. The effect of long time immersion was studied in order to assess the durability of the adsorbed film in protecting steel surface over a period of 45 days. The obtained results were further supported by surface examination of steel samples using SEM-EDX and FTIR analyses. Theoretical study involved quantum chemical calculations and molecular dynamics simulation is also performed for abundant component in *Cymbopogon Citratus* extract.

Keywords: Corrosion inhibitor; Electrochemical analysis; quantum chemical calculation; molecular simulation

1. Introduction

Les inhibiteurs de corrosion jouent un rôle important dans la protection des matériaux métalliques contre la corrosion [1 ; 2]. Les inhibiteurs de corrosion les plus efficaces sont des composés organiques qui comportent dans leur structure des hétéroatomes (P, N, S et O) et les inhibiteurs inorganiques comme les chromates, les dichromates, les nitrites etc...[3 - 8]. Du fait de réglementations environnementales stricte de nos jours, l'utilisation d'un grand nombre d'inhibiteurs minéraux est restreinte. Les recherches dans le domaine des inhibiteurs de corrosion sont orientées vers les composés biocompatibles, le plus souvent d'origine naturelle. Beaucoup d'études scientifiques sur l'inhibition des la corrosion de matériaux métalliques ont porté sur des

extraits de plantes. Ces extraits de plantes pouvant être des décoction, des macération, des huiles essentielles, encore des extraits hydroalcooliques ou encore des extraits par d'autres types de solvant.

Les avantages majeurs de ces types d'inhibiteurs de corrosion par rapport aux inhibiteurs de synthèse sont les suivants : ils sont biodégradables, moins toxiques que les molécules de synthèse, et plus faciles à élaborer. Le *cymbopogon citratus*, connu sous le nom de citronnelle est une plante herbacée tropicale dont plusieurs types de ses extraits sont étudiés dans beaucoup de disciplines scientifiques. Dans le domaine de la lutte contre la corrosion, Deyab *et al.* ont étudié l'inhibition de la corrosion d'un acier par un extrait aqueux du citronnelle dans une eau de rejet de champ pétrolifère. Olesgun *et al.* On également évalué l'efficacité inhibiteur de la corrosion du fer à béton d'extrait de la citronnelle en milieu chloruré. Bien d'autres études ont été consacré à l'inhibition de la corrosion de matériaux métalliques divers par les extraits aqueux du *cymbopogon citratus*. Cependant, il nous a semblé qu'aucune étude ne s'est intéressé à la nature de l'extrait de *cymbopogon citratus* sur l'efficacité de l'inhibition. De ce fait, nous analysons dans ce travail l'influence de la nature de l'extrait sur l'efficacité de l'inhibition de la corrosion d'un acier à faible teneur de carbone en milieu acide chlorhydrique.

2. Matériel et méthodes

Quatre extraits de *Cymbopogon citratus* sont utilisés pour tester l'inhibition de corrosion d'un acier à faible teneur de carbone. Il s'agit d'un extrait par macération (EM), d'un extrait par décoction à reflux (EDR), d'un extrait décoction par hydrodistillation (HDR) et l'huile essentielle (HE). Le milieu agressif utilisé est une solution d'acide chlorhydrique 0,5 M contenant les pour chaque type d'extrait des concentrations massiques de 0 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8 et 10 g/L.

Le substrat métallique utilisé est un acier à faible teneur de carbone, fourni par Q-panel, en coupons de dimensions 3,8 cm × 4 cm × 0,1 cm. Les échantillons métalliques sont d'abord nettoyés à l'éthanol dans un bain à ultrason pendant 10 minutes, rincer abondamment à l'eau déminéralisée puis séché avec de l'air comprimé.

Les essais de corrosion ont été réalisés par des méthodes électrochimiques classique et la spectroscopie d'impédance électrochimique. Le potentiostat utilisé est de marque AutoLab de type 302N, piloté par une ordinateur. Le logiciel d'acquisition et de traitement de données est Nova 2.3. Le montage utilisé dans ces mesures est un montage à trois électrodes comprenant une électrode de travail qui est l'échantillon étudié ; une électrode de référence de type Ag|AgCl ; KCl 3M dont le potentiel est de 197 mV par rapport à l'électrode normale à hydrogène. Toute valeur de potentiel sera donner par rapport à cette référence. Les courbes de polarisation potentiodynamique ont été tracées par un balayage en potentiel, en partant d'un potentiel de 500 mV plus négatif que le potentiel d'abandon jusqu'à un potentiel de 500 mV plus anodique par rapport au potentiel d'abandon. La vitesse de balayage utilisé est de 0,2 mV.s⁻¹. Les spectre d'impédance électrochimiques ont été enregistré au potentiel en circuit ouvert (OCP), en superposant à ce potentiel une perturbation sinusoïdale d'amplitude 10 mV. La gamme de fréquence balayée s'étend de 10 mHz à 10⁵ Hz. La modélisation des diagramme d'impédance par de circuits électriques équivalents a été fait à l'aide du logiciel ZsimpWin version 3.50.

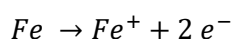
Les échantillons testé ont fait l'objet d'analyse de surface au microscope électronique à balayage couplé à une sonde EDX.

3. Résultats et discussion

3.1. Les courbes de polarisation potentiodynamique

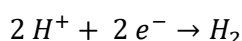
Les courbes de polarisation potentiodynamique de l'acier à faible teneur de carbone dans la solution d'acide chlorhydrique 0,1M contenant différentes concentration massique des trois type d'extraits étudiés sont reportées sur les **Figures 1 ; 2 et 3**.

On observe que pour tous les trois types d'extrait, une forte diminution des densités de courant de corrosion est observée aussi bien au niveau des branches cathodiques qu'au niveau des branches anodiques. La baisse des densités de courant de corrosion au niveau des branches anodique est due au ralentissement de la réaction d'oxydation du métal, principalement la réaction.



Le processus physicochimique qui pourrait expliquer le ralentissement de cette réaction est généralement un phénomène d'adsorption à la surface du métal. Les phénomènes d'adsorption sont de deux types : la physisorption qui consiste à une interaction de nature électrostatique entre les molécules inhibitrice et la surface du métal. Les forces d'interaction sont du type Van der Waals et les énergie d'interaction sont faible ($< 150 \text{ KJ.mol}^{-1}$) et c'est un processus généralement réversible. L'autre type d'adsorption est la chimisorption qui est un processus au cours duquel il y a établissement de véritable liaison chimique entre la surface du métal et les molécules de l'inhibiteur. L'interaction entre le substrat et la couche de molécules adsorbées est forte et le processus est généralement irréversible. L'un ou l'autre de ces deux processus conduit à la formation d'une couche plus ou moins compacte de l'inhibiteur à la surface du matériaux métallique, fournissant à ce dernier une protection contre l'attaque corrosive du milieu.

La baisse des densités de courant cathodiques est attribuée à la baisse de la vitesse de la vitesse de réduction du proton.



Le ralentissement de cette réaction est généralement dû au blocage des sites actifs de la surface du matériaux du fait du développement du couche protecteur formée de molécules adsorbé d'inhibiteur.

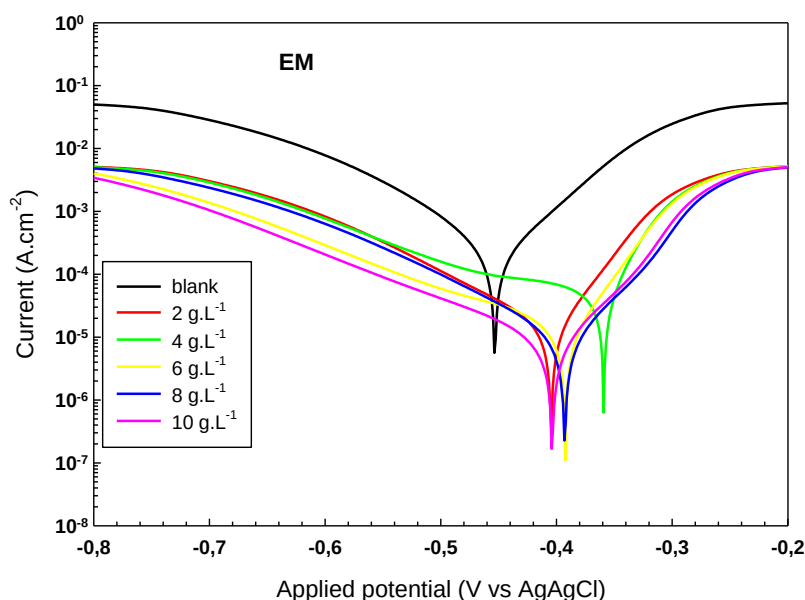


Figure 4 : courbes de polarisation potentiodynamique de l'échantillon d'acier en milieu NaCl sans inhibiteur et avec différentes concentration de l'extrait par macération de *symplocos citratus*

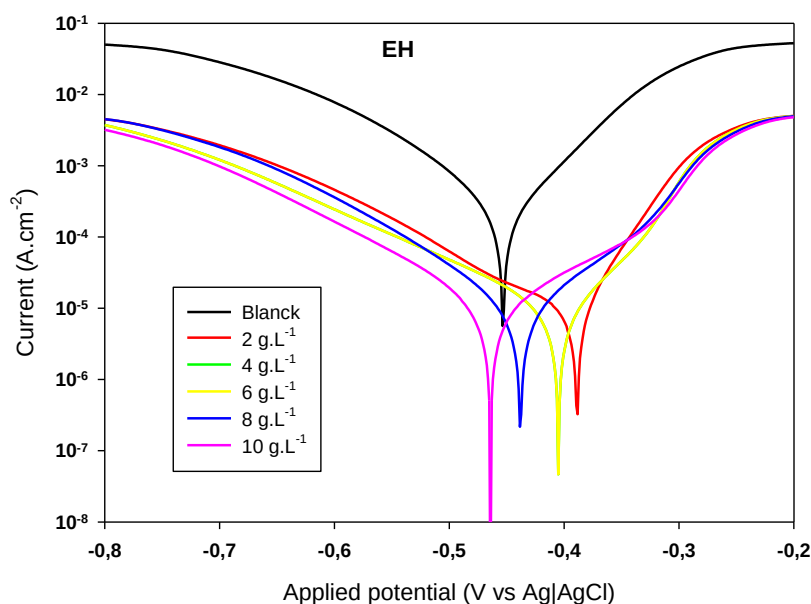


Figure 5 : courbes de polarisation potentiodynamique de l'échantillon d'acier en milieu NaCl sans inhibiteur et avec différentes concentration de l'extrait hydroalcoolique de *sympopogon citratus*

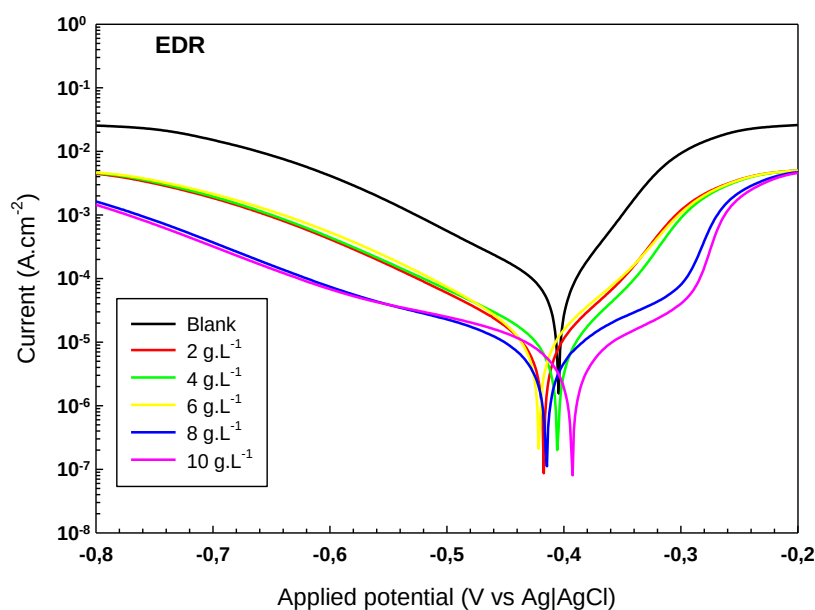


Figure 6 : courbes de polarisation potentiodynamique de l'échantillon d'acier en milieu NaCl sans inhibiteur et avec différentes concentration de l'extrait par hydrodistillation de *sympopogon citratus*

Les paramètres électrochimiques dérivés de ces courbes sont reportés dans le **Tableau 1**. Ces paramètres sont obtenus par extrapolation de droites de Tafel autour du potentiel de corrosion. Les paramètres électrochimiques déterminés sont le potentiel de corrosion, la densité de courant de corrosion. Ces paramètres ont permis de calculer l'efficacité de l'inhibiteur selon la formule

$$EI(\%) = \frac{I_{corr} - I'_{corr}}{I_{corr}} \times 100$$

où I_{corr} et I'_{corr} représentent respectivement les valeurs de la densité de courant de corrosion de l'acier dans 0,5 M de HCl en absence et présence d'inhibiteur

Tableau 1 : paramètres cinétiques

	<i>C en g/L</i>	<i>E_{corr} (mV)</i>	<i>R_p (Ω.Cm²)</i>	<i>I_{corr} (μA/Cm²)</i>	<i>Efficacité (%)</i>
BLANC	0	-500,4	28,91	454,46	-
EM	2	-500,8	36,16	344,4	24,22
	4	-492,2	42,71	340,90	25,09
	6	-498,2	53,45	270,40	40,51
	8	-475,8	122,06	95,31	79,03
	10	-482,2	144,02	57,84	87,27
EDR	2	-497,0	64,55	142,5	68,64
	4	-477,7	128,95	93,11	79,51
	6	-480,5	116,21	89,32	80,34
	8	-469,6	151,22	61,64	86,43
	10	-409,6	398,99	35,26	92,24
EDH	2	-487,1	49,74	182,2	59,91
	4	-449,6	122,32	103,87	77,14
	6	-471,3	173,95	54,48	88,01
	8	-454,3	187,28	27,76	93,89
	10	-471,4	240,4	27,39	93,97

Ces résultats montrent que :

- Le potentiel de corrosion (E_{corr}) se déplace vers les potentiels anodiques de –500,4 à – 482,2 mV pour EM, de – 500,4 à – 409,6 mV pour EDR et de –500,4 à – 471,4 mV. Ces variations sont accompagnées d'une augmentation de la résistance de la polarisation (R_p). L'extrait par macération (EM) et l'extrait hydroalcoolique (EH) se comportent comme des inhibiteurs anodiques, tandis que l'extrait par reflux (EDR) se comporte comme un inhibiteur mixte.
- l'efficacité inhibitrice (EI) atteint 87,27 % pour EM, 92,24 % pour EDR et 93,77 pour EDH pour des concentrations de 10 g/L.

3.2. La spectroscopie d'impédance électrochimique

Le comportement à la corrosion de l'acier au carbone dans une solution de HCl 0,5 M en l'absence et en présence de différentes concentrations des trois types d'extraits du *Cymbopogon Citratus* a été étudié par la spectroscopie d'impédance électrochimique.

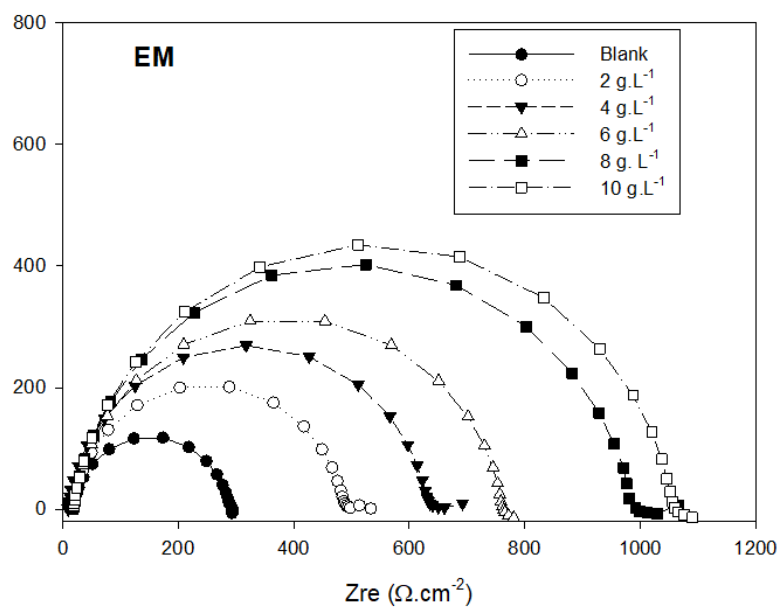


Figure 7 : diagrammes d'impédance de l'échantillon d'acier dans la solution de NaCl 0,5 M sans et avec différentes concentrations de l'extrait par macération

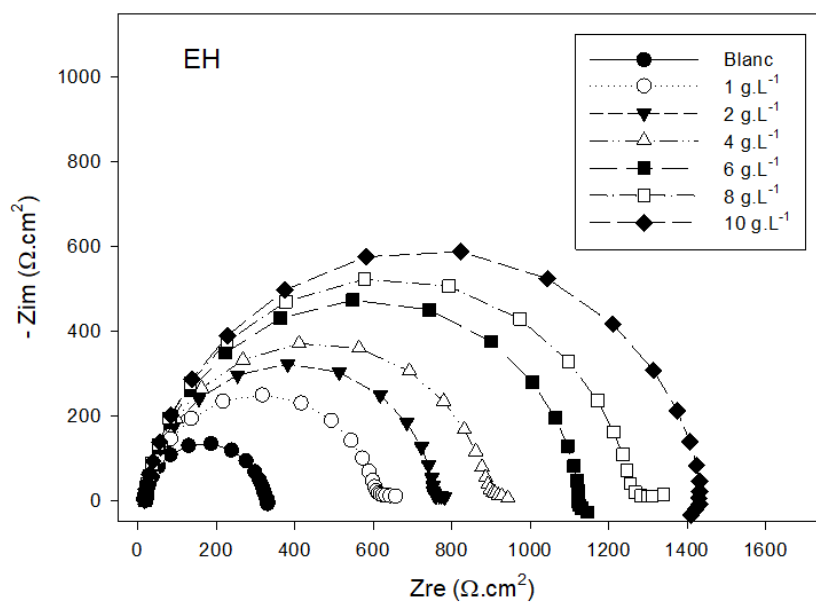


Figure 8: diagrammes d'impédance de l'échantillon d'acier dans la solution de NaCl 0,5 M sans et avec différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique

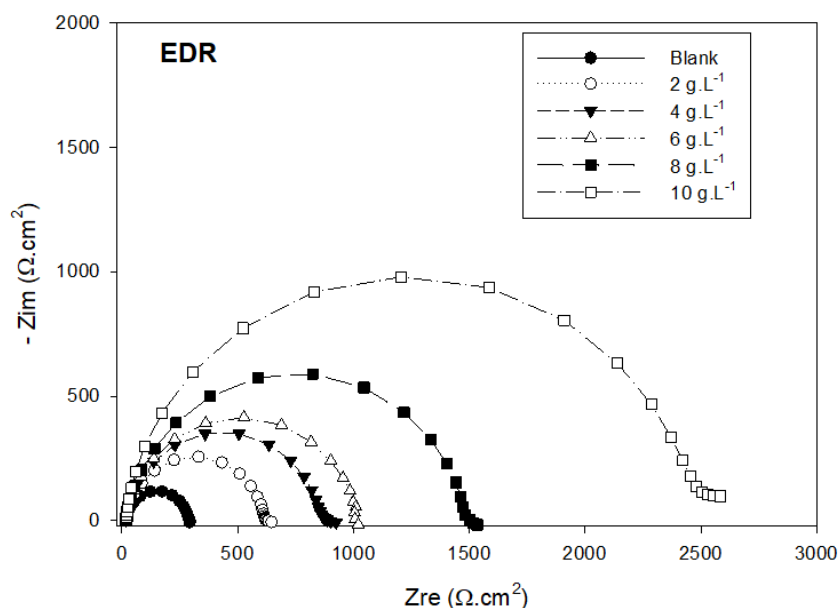
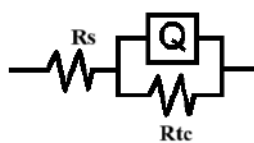


Figure 9: diagrammes d'impédance de l'échantillon d'acier dans la solution de NaCl 0,5 M sans et avec différentes concentrations de l'extrait par macération

Les diagrammes d'impédance électrochimique en représentation de Nyquist sont représentés dans les figures 4 ; 5 et 6. Les diagrammes d'impédance de Nyquist obtenus dans la plupart des cas ne montrent pas de demi-cercle parfait, généralement attribué à la dispersion de fréquence [12] en raison de la rugosité et des homogénéités de la surface de l'électrode. Les données révèlent que chaque diagramme d'impédance est constitué d'une grande boucle capacitive avec dispersion des basses fréquences (arc inductif). Cet arc inductif est généralement attribué aux intermédiaires adsorbés anodiques contrôlant le processus anodique [13, 14]. En suivant cela, l'arc inductif a été négligé. Les spectres d'impédance ont été modélisés par le logiciel ZsimWin 3.50 au moyen du circuit équivalent de la figure 7, qui comprend la résistance de solution R_s et la pseudo-capacitance Q qui est placée en parallèle à la résistance de transfert de charge R_{tc} . Dans de HCl 0,5M avec la présence de diverses concentrations du *Cymbopogon Citratus*, les diagrammes d'impédance montrent la même tendance (une boucle capacitive), cependant, le diamètre de cette boucle capacitive augmente avec l'augmentation de la concentration. Les principaux paramètres déduits de l'analyse du diagramme de Nyquist sont : La résistance de transfert de charges R_{tc} (diamètre de la boucle haute fréquence) et la pseudo-capacité de la double couche.



L'efficacité d'inhibition (EI) et le taux de couverture de surface (θ) de l'inhibiteur peuvent être calculés à partir des données d'impédance par l'équation suivante :

$$EI(\%) = \theta \times 100 = \frac{R_{tc} - R_{tc}^0}{R_{tc}} \times 100$$

R_{tc} et R_{tc}^0 sont respectivement la résistance de transfert de charge en présence et en absence d'inhibiteur.

La valeur de R_{tc} augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur et donc, l'efficacité inhibitrice augmente également. L'existence d'un seul demi-cercle montre qu'un processus de transfert de charge unique se produit pendant dissolution de l'acier et qu'il n'est pas affecté par la présence de l'extrait. La valeur de la double couche la pseudo-capacité diminue en augmentant la concentration de l'extrait. Ceci est attribué à l'augmentation de l'épaisseur de double couche électronique .

Les % IE obtenus à partir des mesures EIS sont presque proches de ceux obtenus à partir de méthodes de polarisation.

	<i>C en g/L</i>	<i>R_S (Ω Cm²)</i>	<i>R_{tc} (Ω Cm²)</i>	<i>Q – Y₀ (S.sⁿ)</i>	<i>EI (%)</i>
BLANC	0	18,02	308,80	63,02	-
EM	2	17,89	475,90	$60,56 \times 10^{-6}$	35,11
	4	19,06	632,10	$56,22 \times 10^{-6}$	51,15
	6	17,24	7450,63	$42,19 \times 10^{-6}$	58,59
	8	18,19	977,73	$32,36 \times 10^{-6}$	68,42
	10	18,10	1041,37	$25,45 \times 10^{-6}$	70,35
EDR	2	18,02	602,76	$54,73 \times 10^{-6}$	48,77
	4	19,02	870,54	$48,54 \times 10^{-6}$	64,53
	6	18,70	1150,63	$42,19 \times 10^{-6}$	73,16
	8	18,37	1470,73	$30,36 \times 10^{-6}$	79,00
	10	18,02	2480,37	$17,45 \times 10^{-6}$	87,55
EDH	2	19,02	602,76	$64,03 \times 10^{-6}$	48,77
	4	18,70	950,40	$58,14 \times 10^{-6}$	67,51
	6	18,37	1112,68	$38,19 \times 10^{-6}$	72,25
	8	18,02	1370,70	$32,36 \times 10^{-6}$	77,47
	10	18,07	1480,17	$27,135 \times 10^{-6}$	79,14

4. Conclusion

Des extraits de *Cymbopogon Citratus* étudiés sont de bon inhibiteurs de la corrosion de l'acier en milieu NaCl 0,5 M. Les extraits par macération et hydroalcooliques agissent comme des inhibiteurs anodiques tandis que l'extrait par hydrodistillation par reflux agit comme un inhibiteur de type mixte pour. Les résultats obtenus à partir de toutes les mesures ont montré que la propriété inhibitrice augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur. Capacités double couche diminuer par rapport à la solution à blanc lorsque l'extrait de plante est ajouté. Ce fait confirme l'adsorption des molécules d'extraits végétaux sur les surfaces en acier au carbone. Les valeurs des efficacités d'inhibition obtenues à partir des différents des techniques indépendantes ont montré la validité des résultats.

Bibliographie

- [1] G. Gece; Drugs: A review of promising novel corrosion inhibitors; Corrosion Science 53 (2011) 3873–3898
- [2] R. Hausler, Corrosion Inhibition and inhibitors, in: G.R. Brubaker, P.B.P. Phipps (Eds.), Corrosion Chemistry, ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC, (1979) 262.
- [3] D. K. Verma, Y. Dewanga A. K. Dewangan, A. Asatkar; Heteroatom-Based Compounds as Sustainable Corrosion Inhibitors: An Overview; Journal of Bio- and Tribo-Corrosion 7:15 (2021); <https://doi.org/10.1007/s40735-020-00447-7>
- [4] C. Verma, A. Singh, P. Singh, K. Y. Rhee, A. Alfantazi; Regioisomeric effect of heteroatoms and functional groups of organic ligands: Impacts on coordination bonding and corrosion protection performance; Coordination Chemistry Reviews 515 (2024) 215966; <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2024.215966>

- [5] A. Dehghani, E. Berdimurodov, C. Verma, D. K. Verma, K. Berdimuradov, M. A. Q. · Nizomiddin Aliev; Constructing efficacy: a novel perspective on organic corrosion inhibitors and interfacial interactions; Chemical Papers 78 (2024) 1367–1397; <https://doi.org/10.1007/s11696-023-03181-9>
- [6] S. Hamed Alrefaee, K. Y. Rhee, C. Verma, M.A. Quraishi, E. E. Ebenso; Challenges and advantages of using plant extract as inhibitors in modern corrosion inhibition systems: Recent advancements; Journal of Molecular Liquids 321 (2021) 114666
- [7] C. Verma, A. Alfantazi, M. A. Quraishia, K. Y. Rhee; Are extracts really green substitutes for traditional toxic corrosion inhibitors? Challenges beyond origin and availability; Sustainable Chemistry and Pharmacy 31 (2023) 100943
- [8] Popoola, Lekan Taofeek; Organic green corrosion inhibitors (OGCIs): a critical review" Corrosion Reviews 37 (2019) 71-102.
- [9] I.B. Obot, A. Meroufel, I. B. Onyeachu, A. Alenazi , A. A. Sorour; Corrosion inhibitors for acid cleaning of desalination heat exchangers: Progress, challenges and future perspectives, Journal of Molecular Liquids 296 (2019) 111760,
- [10] A. Akiyama, K. Nobe, Electrochemical characteristics of iron in acidic solutions containing ring-substituted benzoic acids. J Electrochem Soc 1970; 117: 999–1003.
- [11] A. Miralrio, A. E. Vázquez ; Plant Extracts as Green Corrosion Inhibitors for Different Metal Surfaces and Corrosive Media: A Review; Processes 8 (2020); 942;
- [12] M. Elachouri, M.S. Hajji, M.Salem, S. Kertit, J. Aride, R. Coudert and E. Essassi, Corrosion, 52(2) (1996) 103.
- [13] A.M.S. Abdennabl, A.I. Abdullhadi, S.T. Abu-Orabi and H. Saricimen, Corros. Sci., 38(10) (1996) 1791.

GT 1 (ReMOA): Réseau des Matériaux Ouest-Africain

Optimisation du procédé coagulation- floculation pour le prétraitement des effluents d'huile de palme à l'aide de déchets de peaux de manioc

YAPO M'besso Edith Christine¹, .GOULEDEHI Schontinhin Gilles¹, KOUADIO David Léonce¹

¹Laboratoire des sciences et technologies de l'environnement, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa
yapoedith16@gmail.com

Résumé :

Les petites et moyennes industries produisent annuellement une importante quantité de déchets de peaux de manioc. Afin de limiter les problèmes de pollution, une nouvelle stratégie encourage l'utilisation totale des matières premières pour minimiser les résidus. La transformation de ces sous-produits en un matériau éliminant les polluants toxiques pourrait accroître leur valeur et profiter aux producteurs à terme. Les déchets de peaux de manioc ont été utilisés pour explorer leur potentiel en tant que coagulant, pour l'élimination de la DCO et la turbidité dans les effluents des usines d'huile de palme (POME). Ce travail concerne l'optimisation du procédé de coagulation floculation par la méthodologie de plan d'expérience. Pour ce faire, un plan factoriel complet (PFC) a été utilisé pour observer l'effet des paramètres expérimentaux (dose de coagulant, pH et temps de sédimentation) sur l'élimination de la DCO et la turbidité lors du traitement des effluents d'une de palme. Le taux d'élimination était de 93,10 et 72,24 % sur la turbidité et la DCO. Les coefficients de détermination R^2 et R^2 ajusté étaient supérieures à 80 % et 77% respectivement. Cependant les pourcentages de déviation (%D) supérieures à 5 % ce qui ne nous permet pas de valider le modèle. Un plan de second degré box- behnken (PBB) serait envisagé pour l'optimisation du processus sur les conditions optimales.

Mots clés : valorisation des déchets de peaux de manioc, effluent d'huile de palme, coagulation- floculation, plan factoriel complet

Abstract:

small and medium-sized industries produce a large quantity of cassava skin waste annually. In order to limit pollution problems, a new strategy encourages the total use of raw materials to minimize residues. Transforming these byproducts into a material that eliminates toxic pollutants could increase their value and ultimately benefit producers. Cassava skin waste was used to explore its potential as a coagulant, for the removal of COD and turbidity in palm oil mill effluent (POME). This work concerns the optimization of the coagulation flocculation process using experimental design methodology. To do this, a full factorial design (PFC) was used to observe the effect of experimental parameters (coagulant dose, pH and sedimentation time) on the elimination of COD and turbidity during the treatment of wastewater effluents. One of palm. The removal rate was 93.10 and 72.24 on turbidity and COD. The determination coefficients R^2 and adjusted R^2 were greater than 80% and 77% respectively. However, the deviation percentages (%D) exceed 5% which does not allow us to validate the model. A second degree box-behnken (PBB) plan would be considered for optimizing the process on optimal conditions.

Key words: valorization of cassava skin waste, palm oil effluent, coagulation-flocculation, complete factorial design

1. Introduction

Les industries d'huile de palme sont reconnues pour produire de grands volumes d'eaux usées appelé effluents d'huile de palme (POME) provenant des unités de production et de nettoyage des installations [1]. Le POME brut est un déchet liquide épais et visqueux brunâtre qui contient des paramètres polluantes tels que des solides totaux (405 000 mg/L) et de la graisse/huile (6 000 mg/L), ainsi qu'une forte demande biochimique en oxygène (DBO) (25 000 mg/L) et la demande chimique en oxygène (DCO) (50 000 mg/L) [2]. De ce fait, leur déversement sans traitement adéquat dans l'environnement peut réduire le niveau d'oxygène dissous des cours d'eau, causer l'eutrophisation des milieux aquatiques, affecter négativement la vie biologique et la santé humaine [3]. Le procédé de prétraitement par coagulation floculation à attirer notre attention pour son efficacité et son applicabilité. Il s'agit d'une méthode qui permet de déstabiliser les matières organiques en suspension afin de faciliter leur agglomération par la suite être éliminer par sédimentation [4]. Cette déstabilisation se fait par ajout de coagulants chimiques ou naturels. Les déchets de peaux de manioc ont été sélectionnés comme coagulant naturels pour ses propriétés riches en protéines et en glucides qui font parisi des critères à sélectionner comme coagulant [5], aussi pour la valorisation de ces déchets. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de prétraiter les eaux usées d'huile de palme par coagulation-floculation en utilisant la méthodologie des surfaces de réponses.

2. Matériel et méthodes

2.1. Effluents d'huile de palme

Les échantillons obtenus à l'usine de production, Divo (Côte d'Ivoire) ont été placé dans un flacon stérilisé et conservé à 4°C pour prévenir la biodégradation. Avant l'expérience une quantité de POME brut a été caractérisé.

2.2. Peau de manioc

Les déchets de peaux de manioc (DPM) seront obtenus à partir d'une unité de production d'atieké à Daloa, Lobia, où ils subissent un processus de lavage, de broyage et de tamisage pour obtenir de la poudre.

2.3. Traitement par Coagulation- Flocculation

Les échantillons de POME de 500 ml ont été transférés dans des béchers de 600 ml dédiés à chaque analyse. Le pH initial a été ajusté à l'aide de HCl 5 M ou de NaOH 5 M. Par la suite, le bécher est positionné sur un agitateur et différents dosages de coagulants (DPM) sont incorporés. Le mélange rapide à 250 tr/min pendant 3 minutes, suivi d'un mélange plus lent à 30 tr/min pendant 30 minutes. Les floccs ont été ensuite laissés en suspens pour une durée déterminée. Des échantillons sont prélevés à environ 2 cm sous la surface de l'eau afin d'effectuer les analyses de DCO et de turbidité, constituant les réponses de l'expérience. La mesure de la DCO est réalisée au moyen d'un spectrophotomètre HACH basé sur une méthode photométrique et une méthode de digestion en réacteur chimique. Tandis que La turbidité à l'aide d'un turbidimètre. . Le taux d'élimination a été calculé à l'aide de l'équation 1 :

$$Y (\%) = ((C_i - C_f) / C_i) \times 100 \quad (1)$$

Où C_i et C_f sont les concentrations initiale et résiduelle de la DCO et la turbidité.

2.4. Conception expérimentale

Le plan expérimental de la méthodologie de surface de réponse a été utilisé pour déterminer l'interaction entre les facteurs et les réponses utilisées avec un nombre limité d'expérience. Dans cette étude, trois facteurs ont été examinés à l'aide d'un plan factoriel complet (PFC) à deux niveaux (2^3) : le dosage du coagulant (X_1), le pH (X_2) et le temps de stabilisation (X_3). Ce plan a été utilisé pour étudier tout d'abord les effets principaux et d'interaction des facteurs sur l'élimination de la DCO et la turbidité et par la suite, pour optimiser le processus de traitement Coagulation Flocculation. **Le tableau 1** présente les niveaux des facteurs.

Tableau 1 : domaine expérimental

Facteurs	Variables réelles	Variables codées	Niveau bas (-1)	Niveau haut (+1)
Dose de coagulant (g)	U1	X1	3	6
pH	U2	X2	5	9
Temps de stabilisation (min)	U3	X3	20	30

Les facteurs et les plages sélectionnés pour les DPM sont basés sur des publications antérieures qui montrent ces facteurs étaient les plus dominants dans le processus Coagulation Flocculation en utilisant un autre coagulant. [6].

Le modèle polynomial linéaire, associé au plan factoriel 2^3 s'écrit selon l'équation

2 :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + \varepsilon \quad (2)$$

Où Y , b_0 , b_i , b_{ij} et X_i représentent respectivement les réponses expérimentales (le taux d'élimination de la DCO et la turbidité), la valeur moyenne des réponses observées, l'effet principal du facteur i sur la réponse, l'effet d'interaction entre les facteurs i et j et la variable codée (-1 ou 1). Le signe positif des coefficients des facteurs indique un effet synergique sur la réponse tandis que le signe négatif indique un effet antagoniste [7]. Le coefficient de détermination, le coefficient de détermination ajusté et les pourcentages de déviations ainsi que l'analyse ANOVA ont été obtenus à l'aide du logiciel Minitab 19.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractéristiques des effluents d'huile de palme

L'effluent de palme se caractérise par une forte demande chimique en oxygène (DCO) de 105200 mgO₂/L. Cette eau usée contient également une turbidité élevée (21450 NTU), un pH de 4,2 et une température 80,7 °C. Les caractéristiques de cette eau usée, largement supérieures à la réglementation ivoirienne, montrent que son traitement est indispensable.

3.1. Analyse de régression et ajustement du modèle

La combinaison des niveaux des trois facteurs permet de construire un protocole expérimental de 8 essais. Le tableau 2 représente le plan d'expérimentation et les résultats des différents taux d'élimination Obtenus. Le taux d'élimination varie de 78,14 à 93,10 % pour la turbidité et de 10,84 à 72,24 pour la DCO (Tableau 2). Le taux

d'élimination moyen obtenu est de 43,91 % pour la DCO et 85,405 pour la turbidité (Valeur de coefficient moyen b_0 tableau 3 et 4). Y1 et Y2 : les taux d'élimination de la DCO et turbidité respectivement.

Tableau 2 : Résultats des taux d'élimination de la DCO et turbidité

N°Exp	Dose de coagulant (g)	pH	Temps de sédimentation (min)	Y1 (%)	Y2 (%)
1	3	5	20	15,02	79,25
2	6	5	20	10,84	78,14
3	3	9	20	72,24	93,10
4	6	9	20	61,60	90,68
5	3	5	30	22,24	78,55
6	6	5	30	22,81	81,59
7	3	9	30	65,59	91,24
8	6	9	30	64,07	91,10

Tableau 3: Coefficients liés aux différents facteurs du plan factoriel complet (2K) de la DCO

Nom	Coefficient	Ecart-type
b0	43,91	1,06
b1	-2,38	1,06
b2	23,08	1,06
b3	1,69	1,06
b12	-1,7	1,06
b13	2,40	1,06
b23	-1,20	1,06

Tableau 4: Coefficients liés aux différents facteurs du plan factoriel complet (2K) de la turbidité

Nom	Coefficient	Ecart-type
b0	85,405	0,324
b1	-0,367	0,324
b2	5,772	0,324
b3	0,068	0,324
b12	-0,490	0,324
b13	1,090	0,324
b23	-0,312	0,324

Ce modèle donne une corrélation linéaire satisfaisante $R^2=97,37$ et $98,21$ % pour la turbidité et la DCO respectivement. L'analyse des résidus ne montre pas un ajustement de qualité de ce modèle. En effet, la comparaison entre les réponses Y_{exp} et Y_{calc} confirme que la différence de tous les résidus dépasse 5 %. Cela ne permet pas alors de valider ce modèle. Nous avons alors un modèle linéaire validé. [8].

4. Conclusion

En somme, ce travail a porté sur la modélisation du procédé de coagulation-floculation à partir des déchets de peaux de manioc. Grâce à la méthodologie des surfaces de réponse, un modèle de prédiction a été établi. Etant donné que Y_{exp} et Y_{calc} étaient supérieures à 5 %, le modèle n'a pas été validé. Il serait envisageable d'effectuer un modèle de degré deux afin d'optimiser le processus de coagulation floculation avec les déchets de pelures de manioc.

5. Références bibliographiques

- [1]. Jacquemard, Jean-Charles. 2012. Le palmier à huile. Editions Quae, 275 p.
- [2] Ahmad, AL, Sumathi, S., Hameed, BH, 2006. Coagulation of oil residues and suspended solids in palm oil factory effluents by chitosan, alum and PAC. Chemical. Eng. J.118, 99105.
- [3] Robinson Gk, Practical Strategies for experimentation, John Wiley & Sons, New York, 2000.
- [4] Choong Lek, BL, Peter, AP, Qi Chong, KH, Ragu, P., Sethu, V., Selvarajoo, A.,

- Arumugasamy, SK, 2018. Traitement des effluents des usines d'huile de palme (POME) en utilisant le pois chiche (*Cicer arietinum*) comme coagulant et floculant naturel : évaluation, optimisation du processus et caractérisation de la poudre de pois chiche. *J. Environ. Chimique. Ing.* 6, 6243-6255
- [5] Kumar, V., Al-Gheethi, A., Asharuddin, SM & Othman N. (2021). Potential of cassava peels as a sustainable coagulant aid for institutional characterization, optimization waste treatment : and techno-analysis economic. *Chemical. Eng. J.*, vol. 420. 127642 p.
- [6] Birjandi, N., Younesi, H., Bahramifar, N., 2016. Traitement des effluents d'eaux usées des usines de recyclage de papier par procédé de coagulation et optimisation des conditions de traitement avec la méthodologie des surfaces de réponse. *Appl. Sciences de l'eau*. <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0231-5>
- [7]. Briton, B.G.H. ; Yao, B.K. ; Richardson, Y. ; Duclaux, L. ; Reinert, L. ; Soneda, Y. *Arab J Sci Eng.* (2020) 45; 7231–7245.
- [8] Feinberg M., (1996). La validation des méthodes d'analyse : Approche chimiométrique de l'assurance qualité en laboratoire. Ed. Masson, 457 p.

Criblage d'une série de pérovskites hybrides pour l'élaboration de Diode électroluminescentes

Antoine Blaise Kama ^{a*}, Mamadou Sidibé ^b, Cheikh A.K. Diop ^b, Romain Gautier ^c

^aUniversité Alioune Diop de Bambey, UFR Sciences Appliquées et Technologies de l'Information et de la communication (SATIC), Equipe Chimie des Matériaux Inorganiques et Organiques (ECMIO).

^bUniversité Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté des sciences et techniques, Département de Chimie, Laboratoire de Chimie Minérale et Analytique (LA.CHI.MIA), Dakar, Sénégal. ^cInstitut des Matériaux Jean Rouxel (IMN), Université de Nantes, CNRS, 2 rue de la Houssinière, BP 32229, 44322 Nantes cedex 3, France.

Résumé

Ces deux dernières décennies, une nouvelle technologie d'éclairage s'est développée, celle des "Phosphors converted LEDs" (pc-LED). Elle se base sur l'utilisation de matériaux luminescents convertissant la lumière bleu/UV produite par une LED en lumière blanche. Ces LED consomment peu d'énergie comparés aux lampes à incandescence. En effet, l'utilisation des anciennes sources est coûteuse pour l'économie énergétique mondiale vue le rendement de conversion lumière/électricité très faible [1-2]. Cependant, la technologie actuelle de fabrication d'une diode électroluminescente (DEL ou LED en anglais) blanche a plusieurs inconvénients, d'où l'entrée remarquable de la filière pérovskite hybride dans cette technologies [3].

Notre objectif général est de trouver des matériaux pouvant être des sources singulières de lumière blanche et spécifiquement changer les précurseurs toxiques en utilisant ceux moins toxiques abondants dans nos sous-sols pour la valorisation de nos ressources minières.

Nous adoptons la synthèse par cristallisation rapide à basse température permettant de cribler un grand nombre de matériaux et d'isoler ceux présentant les propriétés ciblées.

Nous avons isolé des phases de pérovskites intéressantes avec les halogénures d'étain (rendement quantique 13%), comparé à ceux de la littérature à base de PbBr₂ ou PbCl₂ potentiellement toxiques (rendement quantique record 9%) [4]. Nous envisageons réaliser des prototypes LED au laboratoire.

Mots clés : Pérovskites; luminescents; lumière; blanche

Abstract

This last two decades, a new lighting technology has been developed namely "Phosphors converted LEDs" (pc-LED). They are based on the use of luminescent materials converting the blue/UV light produced by an LED into white light. These LEDs energy consumption is low compared to incandescent lamps. Indeed, the use of old sources is costly for the global energy economy due to the very low light/electricity conversion efficiency [1-2]. However, the current technology for manufacturing a white light-emitting diode (LED) has several drawbacks, hence the remarkable entry of the hybrid perovskite sector into this technology [3]. Our general objective is to find materials that can be single sources of white light and specifically change toxic precursors by using less toxic ones abundant in our subsoils for the valorization of our mining resources. We adopt synthesis by rapid crystallization at low temperature, making it possible to screen a large number of materials and isolate those exhibiting the targeted properties. We have isolated interesting perovskite phases with tin halides (quantum yield 13%), compared to those in the literature based on potentially toxic PbBr₂ or PbCl₂ (record quantum yield 9%) [4]. We plan to produce LED prototypes in the laboratory.

Key word: perovskites; luminescents; white; light

1. Introduction

L'homme a pendant longtemps tenter par plusieurs manières d'éclairer son environnement à la tombée de la nuit pour suppléer à la lumière solaire. Depuis la préhistoire à nos jours, trois types de technologies d'éclairage ont été développés [1-2]. Les lampes à combustion (huile, gaz) ont été les premières à être utilisées, puis, à partir de 1880, les lampes à incandescence (filament chaud de tungstène sous gaz inerte ou halogène) et, depuis les années cinquante, les lampes à décharge (tubes fluorescents à mercure, lampes à vapeur de sodium) [1-2]. L'intérêt de ces différentes sources lumineuses peut être classé suivant différents critères : le coût (achat, fonctionnement, durée de vie), les caractéristiques de la lumière émise (température de couleur, indice de rendu des couleurs), et l'impact environnemental (rendement énergétique de conversion lumière/électricité, fabrication et recyclage, degrés de pollution entre autre). En effet, les tubes fluorescents à mercure sont considérés comme dangereux pour les ouvriers qui les manipulent. Il faut noter également que le rendement de conversion lumière/électricité des sources traditionnelles reste faible. Le plus élevé est de 25 % au maximum pour les lampes à décharge. De ce fait, les 20% environ de la consommation d'électricité au niveau mondiale sont attribués à l'éclairage [1-3]. En 2002, La facture énergétique globale pour l'éclairage mondiale était estimée à 230 milliards de dollars [4]. Face à cette situation, l'industrie de l'éclairage tente de diminuer ce coût. Les solutions phares étaient d'augmenter la durée de vie des lampes, améliorer leur rendu de couleur, miniaturiser les sources et les systèmes, supprimer le mercure et autres éléments toxiques sans perte d'efficacité.

Pour des perspectives d'économie d'énergie, la plupart des grands pays industrialisés se sont fixés comme objectif à l'horizon 2020 de diminuer le chiffre de consommation d'électricité par deux, ce qui revient à multiplier par deux le rendement des sources lumineuses [1]. C'est dans cette perspective que la technologie de l'éclairage basée sur les transistors à semi-conducteur s'est développée. On parle en effet de « Solid-State Lighting », autrement dit d'éclairage par source à l'état solide comme la diode électroluminescente (DEL ou LED : Light Emitting Diode en anglais). Les avantages de cette technologie sont l'excellente résistance mécanique des matériaux (choc, écrasement, vibrations), faible consommation électrique (quelques dizaines de milliwatts) grâce à un très bon rendement, durée de vie beaucoup plus longue qu'une lampe à incandescence classique ou même qu'une lampe fluorescente (50.000 à 100.000 heures contre 6.000 à 15.000 heures pour les lampes fluorescentes et au maximum un millier d'heures pour les lampes à incandescence) [3]. Cependant, bien que cette technologie soit maîtrisée, l'efficacité lumineuse des sources et la qualité de leur lumière n'ont pas encore atteint leurs limites: il reste encore beaucoup de place pour l'innovation. La mise au point de meilleures sources de lumière pour l'éclairage est un enjeu scientifique et technologique, mais aussi économique et environnemental. En 2002, dans un « papier blanc » commandé par le Sénat des Etats-Unis, R. Haitz *et al.* avaient élaboré 2 scénarii [5]: le premier était de pouvoir réaliser une diode blanche de 50 lm/W en 2010, tandis que le deuxième défi était de réaliser une autre de 200 lm/W en 2025. Pourtant jusqu'en 2007, l'efficacité des diodes blanches commerciables était de 25 lm/W [2]. Certains aspects doivent être encore améliorés. Notamment, les matériaux luminescents utilisés pour convertir la lumière bleu/UV vieillissent au fil du temps, réduisant l'efficacité de la lampe et la qualité de la lumière blanche produite (c'est à dire le rendu de couleur). De plus, des terres rares telles que l'yttrium, le cérium sont utilisés dans les matériaux photoluminescents des pc-LEDs. Ces éléments sont principalement extraits de mines en Chine, qui est actuellement le plus grand producteur mondial de terres rares [6]. Afin de réduire la dépendance aux terres rares dans les technologies de type LED blanche, plusieurs alternatives utilisant moins de terres rares ou des éléments de substitution sont actuellement étudiées.

Dans ce contexte, les pérovskites hybrides organiques-inorganiques ont fait une entrée remarquable dans cette technologie grâce à leurs propriétés optoélectroniques uniques. Par exemple, ils peuvent constituer une source unique d'émission de lumière blanche [7], contrairement à la technologie actuelle où la fabrication d'une diode électroluminescente blanche de haute qualité résulte de la combinaison de plusieurs sources lumineuses ou dopants de type terres rares [2,8]. De plus, ces matériaux sont constitués d'éléments abondants et peu coûteux. Cependant, les pérovskites hybrides étudiées sont majoritairement à base de plomb [9]. Ainsi, il est important de trouver des alternatives à base de métaux peu toxiques et abondants.

Notre objectif général est de trouver des matériaux pouvant être des sources singulières de lumière blanche et spécifiquement changer les précurseurs toxiques en utilisant ceux moins toxiques abondants dans nos sous-sols pour la valorisation de nos ressources minières. Nous adoptons la synthèse par cristallisation rapide à basse température permettant de cribler un grand nombre de matériaux et d'isoler ceux présentant les propriétés ciblées. Nous avons isolé des phases de pérovskites intéressantes avec les halogénures d'étain (rendement quantique 13%), comparé à ceux de la littérature à base de PbBr₂ ou PbCl₂ potentiellement toxiques (rendement quantique record 9%). Nous envisageons réaliser des prototypes LED au laboratoire.

2. Matériels et Méthodes

Des halogénures d'étain, cuivre et fer sont utilisés sans purification supplémentaire. On a trois étapes dans notre procédure: la synthèse, l'étude préliminaire des propriétés optiques, ensuite la caractérisation (optique et structurale).

La méthode de synthèse par cristallisation rapide à température ambiante permet de préparer simplement et rapidement les matériaux présentant les propriétés de photoluminescence intéressantes. Pour synthétiser les composés avec un haut débit, plusieurs béchers sont utilisés, chacun contenant une solution de MX₂ (M = Cu, Sn, Fe) dans HX (X = Cl ou Br). Ces derniers sont mélangées avec des amines et une cristallisation rapide est ensuite effectuée par addition d'un anti-solvant tel que l'éthanol.

Une fois les composés obtenus, il est possible de vérifier rapidement leurs luminescences à l'aide d'une lampe UV émettant à deux longueurs d'onde (254 et 365 nm). Cette étape permettra d'identifier les meilleurs candidats pour une caractérisation approfondie des matériaux. Avec ce screening préliminaire des propriétés de luminescence, les matériaux pourront être classés (absence/présence de luminescence, couleur de luminescence). On procède ensuite à la rationalisation des relations structures-propriétés grâce à la détermination structurale et à la caractérisation des propriétés optiques des matériaux les plus prometteurs identifiés précédemment.

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Etude Otique préliminaire

Pour une étude rapide et efficace, nous avons procédé à la synthèse d'une série de composés en utilisant deux précurseurs (le SnBr_2 et le $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) avec une série d'amines. Après avoir vérifié la couleur de ces composés sous une lumière blanche, nous avons ensuite procédé à un scan de ces derniers pour voir les plus luminescents sous une lampe UV émettant dans les deux longueurs d'onde 254 et 365 nm.

Dans la série on peut noter pour les deux longueurs d'onde 254 et 365 nm des zone sombres et des zone plus ou moins claires. On enregistre les zones sombres pour les composé ne présentant aucune luminescence. Les zones plus ou moins claires sont pour les composés plus ou moins luminescents (**Fig. 1**).

Nous nous sommes intéressés par la suite aux plus luminescents (**Fig. 2**) pour effectuer l'étude approfondie.

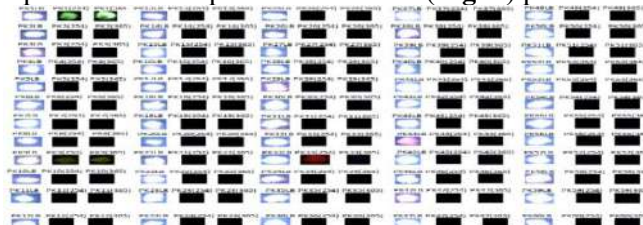


Figure 1: Série d'échantillons de pérovskites à base de SnBr_2 vue sous la lumière blanche (LB), sous les longueurs d'ondes 254 nm et 365 nm

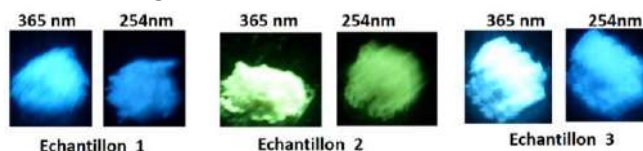


Figure 2: Vue des échantillons les plus luminescents à l'œil nu sous la lampe UV

3.2 Etude approfondi des propriétés optiques et détermination structurale des matériaux

3.2.1 Etude de l'échantillon 1

3.2.1.1 Etude de la photoluminescence (PL)

L'échantillon 1a été obtenu par action du benzamidine (PhNHCNH_2) sur le chlorure d'étain dihydraté ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 50 ml de HCl (37%). La photoluminescence du composé a été étudiée en température ambiante sur des monocristaux à l'aide d'un spectrofluoromètre pour une série d'excitation allant de 250 à 395 nm.

La cartographie ainsi que les spectres de PL révèlent que le maximum d'émission se trouve à 450 nm (**Fig 3**). On remarque que la bande d'émission est centré dans le bleu (450 nm).

La littérature prévoit qu'en augmentant l'électronégativité de l'halogène dans les pérovskites hybride c'est-à-dire en passant du brome au chlore, la liaison M-X devient plus ionique et la bande interdite de l'halogénure métallique s'élargit et par conséquent, la couleur de la photoluminescence tourne vers le bleu [7,10]. Le rendement quantique du matériau est de 4%. L'étude structurale a été faite et a révélée une pérovskite 0D formée d'un hexachlorure d'étain(II) stabilisé par le benzamidinium.

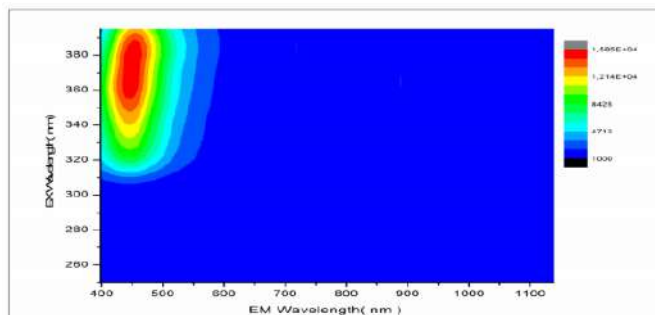


Figure 3: Cartographie de la PL de l'échantion 1 : l'échelle d'intensité de l'émission pour chaque excitation est représentée à droite sous forme de bande de couleur (la couleur rouge représente l'intensité maximale)

3.2.2 Etude de l'échantillon 2

3.2.2.1 Etude de la photoluminescence

Les réactifs utilisés lors de la synthèse de ce composé sont 1-(2- aminoethyl)piperazine et le SnBr_2 dans 50 ml de HBr. Nous nous attendons à la formation d'une pérovskite, ayant des propriétés semi-conductrices. La photoluminescence du composé a été étudiée en température ambiante à l'aide d'un spectrofluoromètre pour une

série d'excitation allant de 250 à 410 nm. Le composé est très luminescent et l'intensité maximale de luminescence est atteinte pour une excitation de 315 nm (**Fig. 4a&b**). Le rendement quantique pour $\lambda=315$ nm est de 5% très proche du rendement 9% trouvé en 2014 par Dohner *et al.* [7, 10] pour les pérovskites 2D (N-MEDA)[PbX₄] (N-MEDA = N1-méthyléthane-1,2-diammonium) et (EDBE)[PbX₄] (EDBE = 2,2'(éthylènedioxy) bis(éthylammonium)) avec X = Cl ou Br. En se basant sur le spectre, pour cette longueur d'onde d'excitation, le maximum d'émission se situe à 510 nm. Le diagramme de chromaticité de l'émission du composé C1 basé sur la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) montre que le maximum d'émission se situe dans le vert (**Fig. 4c**). Donc ce composé pourrait être utilisé pour fabriquer une DEL verte.

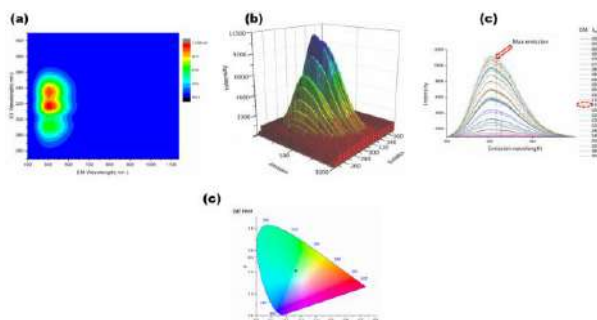


Figure 4 : (a) Cartographie de la PL du composé C1 ; (b) Représentation 3D de la PL du composé; Spectre d'émission du composé; (c) Diagramme chromaticité de la PL du composé

3.2.2.2 Etude structurale

➤ Etude UV-Visible

La transformation Kubelka-Munk du spectre de réflexion de l'échantillon 2 montre de forte absorption de 200 à 400 nm (**Fig. 5a**). Nous pouvons remarquer que dans notre échantillon en consultant les réactif utilisés, qu'il n'existe pas de chromophores capables d'absorber dans la zone 250 à 400 nm. Les seules transitions qu'on pouvait envisager sont $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ou $n \rightarrow \sigma^*$ alors que celles-ci nécessiteraient plus d'énergies c'est-à-dire de plus courtes longueurs d'onde. Donc ces bandes peuvent être attribuées à des transitions électroniques de la BV vers la BC d'un semi-conducteur, confirmant la formation de la pérovskite.

➤ Etude de la diffraction des rayons-X

Nous n'avons pas pu obtenir des monocristaux pour l'échantillon 2. Nous avons donc effectué la diffraction sur poudre. La diffraction des rayons X sur poudre du composé révèle un diagramme superposable à celui du diagramme d'un composé connu, synthétisé par le même procédé que notre composé et caractérisé par diffraction sur monocristal (**Fig. 5b**). Ce dernier est obtenu à base de la même molécule organique 1-(2-aminoéthyl)piperazine (1,2AEP) et du PbBr₂. En superposant les deux diagrammes, on constate que les deux composés sont isostructuraux. Ce composé est une pérovskite 1D où on a une polymérisation d'un motif PbBr₅ sous forme chaînes infinies. Ces chaînes sont reliées par des liaisons hydrogène N-H...Cl formées par la pipérazine après protonation (**Fig. 5c**). Le composé cristallise avec une molécule d'eau reliée aux chaînes par deux chlores voisins à travers des liaisons hydrogène H-O...Cl. Les pérovskites 1D sont considérées comme des fils quantiques.

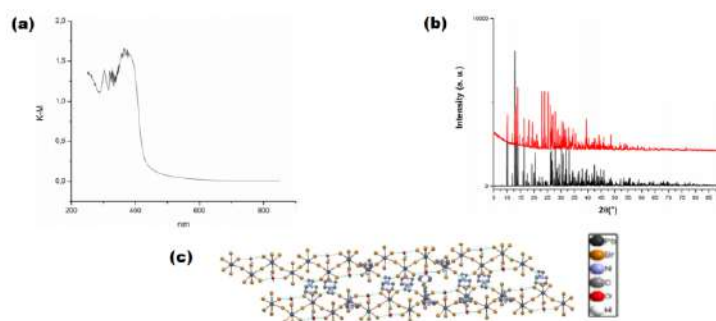


Figure 5 : (a) Transformé Kubelka-Munk du spectre de réflexion du composé; (b) Superposition du diagramme de poudre du composé de l'échantillon 2 et celle du composé connu à base de Pb (en rouge l'échantillon 2 et en noir le composé connu);

(c) Chaîne infinies du 1,2AEPHPbBr₅.H₂O isostructurale au composé de l'échantillon 1: 1,2AEPHSnCl₅.H₂O

3.2.3 Etude de l'échantillon 3

3.2.3.1 Etude de la photoluminescence

Cet échantillon a été obtenu à partir $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et du 2-(2-pyridyl)benzimidazole dans l'acide chlorhydrique 37%.

La cartographie de photoluminescence révèle que la longueur d'onde d'excitation maximale se trouve à 412 nm (**Fig.6a**). Ceci est compatible avec le spectre d'absorption UV-Visible qui avait déjà révélé que le composé a une bande d'absorption vers 400 nm. Donc l'excitation maximale se trouve dans le bleu. La lumière émise à cette longueur d'onde d'excitation est blanche. Le rendement quantique (Φ) (**Fig.6b**) a été déterminé ($\sim 13\%$) et très prometteuse car supérieur à celui trouvé par Dohner et al. 2014 [7] pour le composé (N-MPDA)[PbBr₄] (N-MPDA = N-méthylpropane -1,3-diammonium).

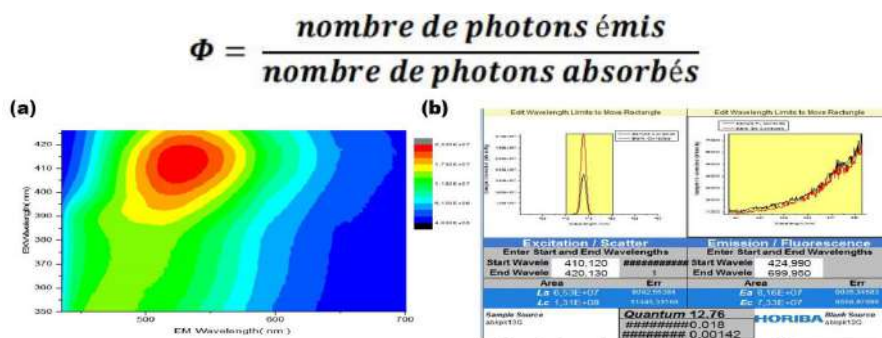


Fig. 6: (a) Cartographie de la photoluminescence de l'échantillon 3; (b) Rendement quantique de photoluminescence de l'échantillon 3

3.2.3.2 Etude structurale

➤ Etude UV-Visible

La transformation Kubelka-Munk du spectre de réflexion de ce composé montre de fortes bandes d'absorption de 250 nm à 400 nm (**Fig. 7**). Les réactifs utilisés lors de la synthèse de ce composé sont 2-(2-pyridyl)benzimidazole et le $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans HCl. Nous nous attendons à la formation d'une pérovskite, ayant des propriétés semi-conductrices. A température ambiante, le spectre d'absorption optique montre une signature très similaire à celui des transitions bande à bande des pérovskites hybrides 2D (N-MPDA)[PbBr₄] et (N-MEDA)[PbBr₄] reporté par Dohn *et. al* (2014) [7, 10] et celle 2D reporté par Sue *et. al* (2020) [12].

En se basant sur le profil des gaps de la partie organique et inorganique dans une pérovskite hybride décrit à la **Fig. 8**, la bande vers 400 nm peut être attribuée à une transition électronique de la BV vers la BC d'un semi-conducteur, confirmant la formation de la pérovskite.

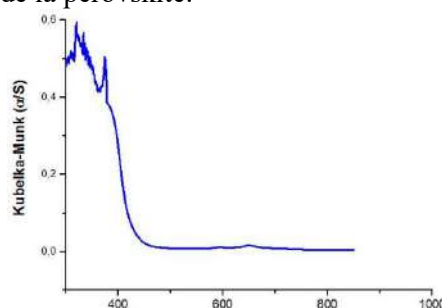


Figure 7: Transformé Kubelka-Munk du spectre de réflexion de l'échantillon 3

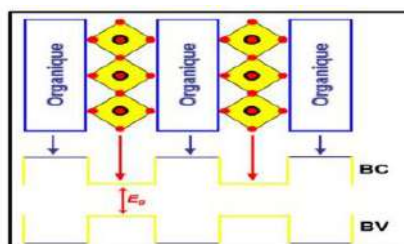


Figure 8 : La structure en couche d'un matériau hybride 2D, de type pérovskite

➤ Etude de la diffraction des rayons-X

L'échantillon 3 étant intéressant, on se propose de confirmer sa structure afin de corréler propriété et structure. Une partie de la poudre du composé a ainsi été recristallisée dans du méthanol. L'analyse DRX des monocristaux révèle que le composé cristallise dans un système orthorhombique avec un groupe d'espace $Pbca$. L'analyse DRX révèle une molécule de méthanol qui cristallise dans le réseau et donc une destruction de la pérovskite de départ laissant place à un complexe (**Fig. 9**). Le diagramme (diffractogramme) sur poudre de cet échantillon montre des pics qui ne sont pas superposables avec ceux du diagramme sur monocristal, confirmant la destruction de la pérovskite (**Fig. 10**). La modification de la structure affecte sans doute les propriétés optiques du composé, ce qui reste à confirmer. Donc la détermination de la structure réelle de la poudre du composé est jusque là un défi.

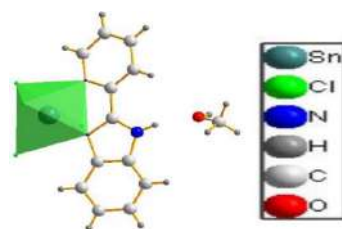


Figure 9: structure cristalline obtenue à partir d'une recristallisation du matériau

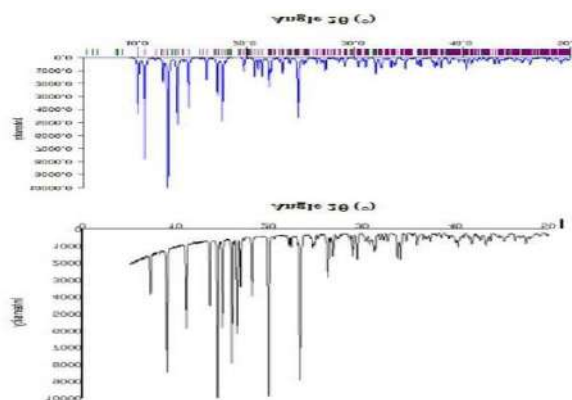


Figure 10 : Diagramme sur poudre (noir) du matériau de l'échantillon 3 et diagramme de diffraction du monocristal (bleu) obtenu après recristallisation.

4. Conclusion et perspectives

La nouvelle technologie de l'éclairage basée sur l'utilisation de diodes électroluminescentes blanches rencontre d'énormes défis tels que la perte d'efficacité des lampes avec le temps, dû au fait que plusieurs sources lumineuses sont combinées pour produire du blanc.

Dans le cadre de la recherche de matériaux pouvant constituer des sources singulières émettrices de lumière blanche, nous avons effectué une série de synthèses en utilisant des précurseurs moins toxiques que ceux utilisés dans la littérature. En effet, des résultats intéressants ont été trouvés avec le plomb, un métal très toxique. Les analyses effectuées sur nos échantillons ont révélé des rendements quantiques similaires ou dépassant les rendements records rapportés dans la littérature avec des précurseurs potentiellement toxiques. La prochaine étape sera de concevoir un prototype LED avec nos matériaux.

5. Références

- [1] G. Zissis, État de l'art de la science et technologie des systèmes d'éclairage : Economies d'énergie et Développement Durable, JEEA 2007 ENS Cachan – Antenne de Bretagne (2007):DOI: 10.1051/j3ea:2007005.
- [2] M. Abderrazak, M. Fathi, A. Chikouche, Eclairage public solaire autonome à LEDs Blanches haute puissance, Conference Paper October (2010) : <https://www.researchgate.net/publication/281589100>.
- [3] U.S. Department of Energy and Optoelectronics Industry Development Association. The promise of Solid State Lighting for General Illumination; Optoelectronics Industry Development Association: Washington DC, (2002).

- [4] P. Mills, Why we're here: The \$230-billion global lighting energy bill, Proc. 5th Right Light Conference, Nice (France), May **(2002)** 369-385.
- [5] R. Haitz R., Kish F., Tsao J., Nelson J., Another semiconductor revolution: This time it's lighting, Comp. Semiconductor Magazine, March **(2002)**.
- [6] G. Zissis, optique et environnement, <http://dx.doi.org/10.1051/photon/20168225> Photoniques 82.
- [7] E. R. Dohner, E. T. Hoke and H. I. Karunadasa, J. Am. Chem. Soc. 136 **(2014)** 1718-1721.
- [8] S. Ye, F. Xiao, Y. X. Pan, Y. Y. Ma, Q. Y. Zhang, Mater. Sci. Eng., R 71 **(2010)** 1-34.
- [9] S. Brochard-Garnier, M. Paris, R. Génois, Q. Han, Y. Liu, F. Massuyeau, R. Gautier, Adv.Funct. Mater. 29 **(2018)** 1806728.
- [10] E. R. Dohner, A. Jaffe, L. R. Bradshaw, H. I. Karunadasa, J. Am. Chem. Soc. 136 **(2014)** 13154-13157.
- [11] M. Sessolo, L. Gil-Escrig, G. Longo, H. J. Bolink, Top Curr Chem (Z) 52 **(2016)** 374.
- [12] B. Su, M. S. Molokeev, Z. Xia, J. Phys. Chem. Lett. 11 **(2020)** 2510–2517

Optimisation de la cicatrisation par un biomatériau hydrogel contenant un extrait de la plante *Adansonia digitata*

Abdou-Rachidou GAFFO; Amivi Edéfia AKPALO

Lab COSNat, Université de Lomé Faculté Des Sciences, Département de Biochimie, BP1515, TOGO

Gaff4377@gmail.com

Résumé

Contexte : L'innovation dans le domaine du traitement des plaies s'oriente vers le développement des pansements dits actifs, dont des hydrogels.

Objectif : Optimiser la cicatrisation par application d'un biomatériau hydrogel à base de poly (acide acrylique) contenant un extrait de la plante *Adansonia digitata*.

Méthodologie : Des analyses chromatographiques (CCM) et des tests de cicatrisation ont été réalisés. Différents gels de PAA3000 à 2,5% contenant un extrait hydroalcoolique (80:20) de la plante *Adansonia digitata* dans un mélange gélifié ou non, ont servi d'applications.

Résultats : Des molécules de références ont été identifiées (catéchine, acide gallique, acide tanique). La réduction de la surface des plaies est plus poussée dès les 3^{ème} et 6^{ème} jours d'application du mélange gélifié (Gel⁺/R₁) par rapport au non gélifié (Gel⁻/R₁). De même, le taux d'hydroxyproline ($P < 0,0001$) du lot traité avec (Gel⁺/R₁) est beaucoup plus élevé par rapport au lot traité avec (Gel⁻/R₁) ($P < 0,0001$).

Conclusion : Le mélange (Gel⁺/R₁) a favorisé une cicatrisation rapide avec une synthèse du collagène plus importante. En perspectives, nous envisageons de caractériser ce gel.

Mots clés : cicatrisation, *Adansonia digitata* ; hydrogel ; PAA3000

Optimization of wound healing with a hydrogel biomaterial containing an extract of the plant *Adansonia digitata*

Background: Innovation in wound treatment is moving towards the development of so-called active dressings, including hydrogels.

Objective: To optimise wound healing by applying a poly (acrylic acid)-based hydrogel biomaterial containing an extract of the *Adansonia digitata* plant.

Methodology: Chromatographic analysis (TLC) and wound healing tests were carried out. Various 2.5% PAA3000 gels containing a hydroalcoholic extract (80:20) of the *Adansonia digitata* plant in a gelled or non-gelled mixture were used as applications.

Results: Reference molecules were identified (catechin, gallic acid, tannic acid). The reduction in wound surface area was greater from the 3rd and 6th days of application of the gelled mixture (Gel⁺/R₁) compared with the non-gelled mixture (Gel⁻/R₁). Similarly, the hydroxyproline level ($P < 0.0001$) of the batch treated with (Gel⁺/R₁) was much higher than that of the batch treated with (Gel⁻/R₁) ($P < 0.0001$).

Conclusion: The (Gel⁺/R₁) mixture promoted rapid healing with greater collagen synthesis. In the future, we plan to characterise this gel.

Key words: wound healing, *Adansonia digitata* ; hydrogel ; PAA3000

1. Introduction

Déjà en 2024, le budget des produits de traitement des plaies pourrait connaître une croissance économique de l'ordre de 15 à 22 milliards de dollars [1]. Les pansements doivent présenter certaines caractéristiques comme l'apport d'humidité au site de la plaie, la rétention de l'exsudat, une légère adhésion au tissu de la plaie et, être biocompatibles [2]. Les hydrogels définis comme un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles [3], offrent de grands avantages pour le pansement des plaies en raison de leurs conditions de traitement douces et de leur capacité à incorporer et à relarguer de nombreux agents bioactifs [4]. Ils sont similaires aux tissus mous humains et les réseaux hydrophiles permettent la diffusion des principes actifs, favorisant ainsi la croissance cellulaire [5]. Ces hydrogels peuvent être préparés avec des polymères naturels ou synthétiques [6]. Ainsi le poly (acide acrylique) est un polymère synthétique utilisé comme conducteur de nombreux médicaments et connu pour ses propriétés de gonflement, de bioadhésion, biodégradabilité, de biocompatibilité [7]...etc. Plus de 30 % des médicaments à base de plantes sont considérés comme bénéfiques pour le traitement des plaies et des maladies de la peau dans le monde entier [8]. A cet effet, le gel Carbopol 934 contenant de l'extrait d'Aloe vera [9], le gel à base de la plante de *Basella alba* [10], ont été évalués sur la cicatrisation des plaies cutanées induites chirurgicalement chez les rats Wistar. Au Togo les écorces de tige de la plante *Adansonia digitata* sont utilisées pour les propriétés cicatrisantes [11].

Ainsi ce travail est entrepris pour optimiser la cicatrisation par application d'un biomatériau hydrogel à base de poly (acide acrylique) contenant un extrait de la plante *Adansonia digitata*. De façon spécifique nous allons synthétiser l'hydrogel à base de poly (acide acrylique) contenant l'extrait (80:20) de la plante *Adansonia digitata* d'une part gélifié et d'autre part non gélifié ; caractériser l'extrait hydroalcoolique (80 : 20) par l'analyse CCM ; déterminer les taux de contraction des surfaces des plaies induites chez le rat SD ainsi que le taux d'hydroxyproline au 12^{ème} jour de la cicatrisation.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

Les écorces du tronc d'*Adansonia digitata* ont constitué le matériel végétal et les rats SD ont constitué le matériel animal.

2.2. Méthodes

2.2.1. Récolte du matériel végétal

Les écorces d'*Adansonia digitata* prélevées à Lomé le 13/04/2022 sous les coordonnées GPS 6°11'35.7"N 1°10'04.2"E ont été coupées morceaux, lavées à l'eau du robinet puis séchées pendant une semaine à l'ombre sous climatiser (27 ± 2° C). L'échantillon a ensuite été broyé pour la macération.

2.2.2. Extraction

Cent grammes (100g) d'écorce du tronc d'*A. digitata* ont été macérés dans 1 litre d'un mélange Eau-Héthanol (80 :20, v/v) à la température ambiante (23- 27° C), pendant 72 heures. Le processus d'extraction est facilité par une agitation. Les liquides obtenus ont été filtrés sur du papier filtre Whatman n° 3. Les filtrats obtenus lors des macérations successives ont été concentrés sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (A.R.) réglé à 45 °C.

2.2.3. Caractérisation de l'extrait hydroéthanolique d'*Adansonia digitata* par CCM

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur tous les extraits en utilisant des plaques pré-revêtues de CCM (gel de silice 60F254) de 0,25 mm d'épaisseur en utilisant la technique ascendante à sens unique [12]. L'acétate d'éthyle et l'éthanol ont été mélangés dans un rapport optimisé (50 :50) afin de garantir la polarité appropriée de l'éluant pour une meilleure séparation chromatographique. Le rapport frontal est calculé selon la formule :

$$Rf = \frac{d}{D}$$

Avec d = distance de dépôt au spot et D = distance du dépôt à la ligne frontale

2.2.4. Synthèse du gel à l'état visqueux et à l'état liquide

Le milieu réactionnel constitué de 2,5% du polymère d'Acide Polyacrylique (PAA3000) dans de l'eau distillée et de 2,5% d'extrait 80/20 d'*Adansonia digitata* a été homogénéisé à 50° C sous agitation magnétique à 250 tour/min pendant 1h. Des gouttes de KOH ont été ajoutées au mélange jusqu'à la prise en masse pour obtenir le gel visqueux.

2.2.5. Test de cicatrisation in vivo

Le modèle des plaies par excision a été utilisé. Les blessures ont été laissées à l'air libre à raison d'un animal par cage et observées quotidiennement. Les traitements ont été appliqués de manière topique uniquement les trois 1ers jours sur les plaies préalablement nettoyées avec du sérum. Le test a duré 12 jours. Les lots ont été constitués comme suit :

- Lot I : Groupe témoin, traité par application topique du sérum physiologique
- Lot II : Traité par application topique du gel (Gel⁺/R₁) à base du poly (acide acrylique) contenant 2,5 % de (80:20) de l'écorce du tronc d'*A. digitata*.
- Lot III : Traité par application topique de la solution (Gel⁻/R₁) à base du poly (acide acrylique) contenant 2,5 % de (80 :20) de l'écorce du tronc d'*A. digitata*.
- Lot IV : Traité par application topique d'un cicatrisant de référence, la Bétadine
- Lot V : Traité par application topique du gel cicatrisant de référence, le L-Mesitran

2.2.6. Mesure de la surface des plaies

La surface de la plaie a été évaluée par le logiciel « Image J » [13]. Nous avons ensuite calculé à partir des valeurs de la surface des plaies, le taux de cicatrisation (Tx) par la formule :

$$Tx (\%) = \frac{S_{j0} - S_{jx}}{S_{j0}} \times 100$$

S_{jx} : surface de la plaie au jour x. S_{j0} : surface de la plaie au jour initial.

2.2.7. Dosage de l'hydroxyproline.

C'est un dosage colorimétrique dont le principe est basé sur l'hydrolyse à chaud des échantillons de protéines en milieu acide concentré (HCl 6N) dans le but de libérer les acides aminés dont l'hydroxyproline qui sera ensuite dosé. Le dosage est fait selon le protocole décrit par [14].

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les couleurs majoritairement observées sont l'orange, le bleu et le bleu foncé (**Figure 1**). Ces spots indiquent, en présence ou non des révélateurs, des grands groupes de composés comme les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les flavones méthylés, les terpènes, le polyhydroxyflavone. La catéchine, l'acide gallique et l'acide tanique ont présenté les mêmes couleurs et Rf que certains spots de l'extrait.



Figure 1 : Chromatogrammes de l'extrait hydroalcoolique de la plante *Adansonia digitata* (80 :20)

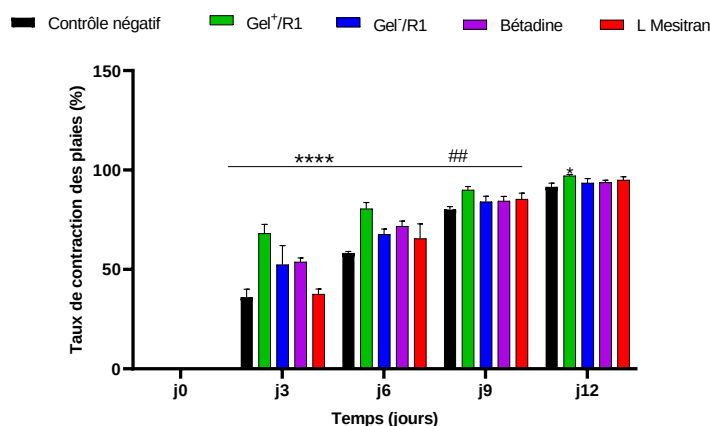
Les symboles R₁=extrait (80 :20) ; A= Quercétine B= Rutines C= Acide gallique D= Acide tanique E= Catéchine F= Sitostérol G= Carvacrol

3.1.2. Synthèse du gel et de la solution de l'extrait à base du poly (acide acrylique)

Le gel synthétisé en présence du KOH est transparent, mou, visqueux et peu stable avec un pH acide (4,68) tandis que celui obtenu sans KOH est liquide et mousseux avec un pH acide (3,08).

3.1.3. Test de cicatrisations in vivo

L'observation macroscopique des plaies et l'analyse de leurs surfaces ont montré une diminution des surfaces des plaies confirmées par le calcul des taux de contraction correspondants. Les meilleurs taux de contractions ont été obtenus à J3, J6 et J9 chez les animaux traités avec Gel⁺/R₁ ($68,08 \pm 4,58$ % au J3, $P < 0,0001$; $88 \pm 3,124$ % au J6, $P < 0,0001$; $89,94 \pm 1,734$ % au J9 $P < 0,0001$; comparés aux animaux du groupe traité avec Gel⁻/R₁ (Figure 2).

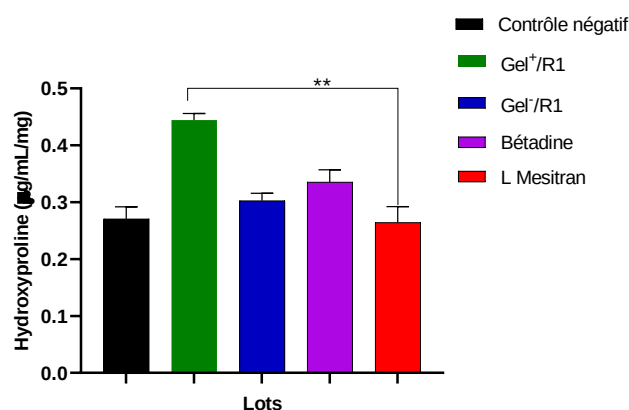


Les valeurs sont exprimées en Moyennes $\pm$ ESM, $n = 8$. Unités : Cm^2 . **** $p < 0,0001$: Gel⁺/R₁ vs Contrôle vs Gel⁻/R₁ vs Bétadine vs L mesitran du J3 au J9. ## $p < 0,0096$: Gel⁺/R₁ vs Gel⁻/R₁ vs Bétadine au J9. * $p < 0,0054$: Gel⁺/R₁ vs Contrôle au J12.

Figure 2 : Taux de contractions des plaies en fonction du temps

3.1.4. Teneur en hydroxyproline des fragments de cicatrices

La mesure de l'hydroxyproline est généralement utilisée comme un indicateur pour déterminer le taux de collagène. Dans notre étude, la quantité de l'hydroxyproline dans les fragments de cicatrices chez les rats traités avec Gel⁺/R₁ a significativement augmenté ($P < 0,0057$) comparée au lot contrôle ; ($P < 0,0220$) comparée au lot Gel⁻/R₁ et ($P < 0,0029$) comparée au lot traité avec le L mesitran (Figure 3).



Les valeurs sont exprimées en Moyennes $\pm$ ESM, $n = 6$. Unités : $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{mg}$ de tissu sec. ** $p < 0,0057$: Gel⁺/R₁ vs Contrôle. * $p < 0,0220$: Gel⁺/R₁ vs Gel⁻/R₁. ** $p < 0,0220$: Gel⁺/R₁ vs L Mesitran.

Figure 3 : Teneur en hydroxyproline dans les cicatrices des différents lots

3.2. Discussion

Diverses parties de plantes ou la plante entière sont utilisées dans la formulation de décoctions, de teintures, de pommades, d'emplâtres, de pâtes, etc. pour les administrations externes [9]. Dans notre étude l'extrait d'écorce de tige d'*Adansonia digitata* est utilisé sous forme d'un biomatériau hydrogel (gel et solution de l'extrait en présence de l'acide polyacrylique) à des fins de cicatrization. L'écorce de cette plante est connue pour ses effets antimicrobiens [15], antioxydants grâce aux phytoconstituants comme les phénols totaux et les flavonoïdes [11].

La **Figure 1** montre la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des terpènes qui ont des pouvoirs cicatrisants. Les résultats de CCM ont montré la présence des molécules comme la catéchine, l'acide gallique et de l'acide tannique. Les résultats de **Suliman** et ses collaborateurs corroborent les nôtres car ils ont identifié plusieurs molécules dont la catéchine et l'acide gallique [16]. Les meilleurs taux de contraction du gel Gel⁺/R₁ (**Figure 2**) s'expliquent par certaines caractéristiques comme une humidité au site de la plaie, une légère adhésion au tissu de la plaie, et une biocompatibilité [2]. Il aurait favorisé la diffusion des groupes de composés cicatrisants [17] comme les flavonoïdes, les tanins, les terpènes, la catéchine, l'acide gallique et l'acide tannique, par conséquent la croissance cellulaire et puis la cicatrisation [5]. Cette croissance cellulaire aurait favorisée la synthèse du collagène d'où l'augmentation de la teneur en hydroxyproline (**Figure 3**).

Conclusion

Le mélange (Gel⁺/R₁) a favorisé une cicatrisation rapide avec une synthèse du collagène plus importante. Ces effets seront du probablement aux propriétés qu'ont les gels visqueux ; gonflants (hydrogels) dans la cicatrisation des plaies cutanées. L'amélioration de la texture d'un gel est un facteur important dans la bioingénierie tissulaire. En perspectives, nous envisageons de caractériser ce gel

Références

- [1]. Albahri, G., Badran, A., Hijazi, A., Daou, A., Baydoun, E., Nasser, M., & Merah, O. (2023). The therapeutic wound healing bioactivities of various medicinal plants. *Life*, 13(2), 317.
- [2]. Xiang, J., Shen, L., & Hong, Y. (2020). Status and future scope of hydrogels in wound healing: Synthesis, materials and evaluation. *European Polymer Journal*, 130, 109609.
- [3]. Chang, C., Zhang, L., Zhou, J., Zhang, L., & Kennedy, J. F. (2010). Structure and properties of hydrogels prepared from cellulose in NaOH/urea aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 82(1), 122-127.
- [4]. Francesko, A., Petkova, P., & Tzanov, T. (2018). Hydrogel dressings for advanced wound management. *Current medicinal chemistry*, 25(41), 5782-5797.
- [5]. Nacu, I., Bercea, M., Niță, L. E., Peptu, C. A., Butnaru, M., & Vereștiuc, L. (2023). 3D bioprinted scaffolds based on functionalized gelatin for soft tissue engineering. *Reactive and Functional Polymers*, 190, 105636
- [6]. Luca, A., Nacu, I., Tanasache, S., Peptu, C. A., Butnaru, M., & Vereștiuc, L. (2023). New methacrylated biopolymer-based hydrogels as localized drug delivery systems in skin cancer therapy. *Gels*, 9(5), 371.
- [7]. Khanlari, S., & Dubé, M. A. (2015). Effect of pH on Poly (acrylic acid) Solution Polymerization. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 52(8), 587-592.
- [8]. Xu, Z., Dong, M., Yin, S., Dong, J., Zhang, M., Tian, R., ... & Chen, J. (2023). Why traditional herbal medicine promotes wound healing: Research from immune response, wound microbiome to controlled delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 195, 114764.
- [9]. Xu, Z., Dong, M., Yin, S., Dong, J., Zhang, M., Tian, R., ... & Chen, J. (2023). Why traditional herbal medicine promotes wound healing: Research from immune response, wound microbiome to controlled delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 195, 114764
- [10]. Haneefa, M. K., Abraham, A., Saraswathi, R., Mohanta, G. P., & Nayar, C. (2012). Formulation and evaluation of herbal gel of Basella alba for wound healing activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(1), 1642.
- [11]. Gaffo, A. R., Kantati, Y. E. T., Koukoura, K. K., Akpalo, A. E., Djiwa, T., Darre, T., ... & Kwashie, E. G. (2022). Hydroalcoholic extract of Adansonia digitata trunk bark, in topical application, possess in vivo wound healing and in vitro anti-inflammatory and antioxidant activities. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 14(2), 8-19.
- [12]. Akpalo, A. E., Saloufou, I. K., Elo, K., & Kpegba, K. (2020). Wound healing biomolecules present in four proposed soft aqueous extractions of Ageratum conyzoides Linn. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(2), 638-651.
- [13]. Amégbor, K., Metowogo, K., Eklu-Gadegbeku, K., Agbonon, A., Aklikokou, K. A., Napo-Koura, G., & Gbeassor, M. (2012). Preliminary evaluation of the wound healing effect of Vitex doniana sweet (Verbenaceae) in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(4), 584-590.
- [14]. Darré, T., Metowogo, K., Lawson-Evi, P., Eklu-Gadegbeku, K., Aklikokou, K. A., Napo-Koura, G., & Gbeassor, M. (2014). Effet topique de l'extrait hydroethanolique de l'acacia nilotica sur la cicatrisation cutanée des brûlures de second degré. *European Scientific Journal*, 10(30).
- [15]. Kumar, C. M. K., Yugandhar, P., Suhrulatha, D., & Savithramma, N. (2015). Synthesis, characterization and antimicrobial studies of stem bark mediated synthesis of silver nanoparticles from Adansonia digitata (L.). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(2), 76.
- [16]. Suliman, M. B., & El-Hddad, S. (2023). Characterization of Chemical Constituents of Adansonia digitata L. using GC-MS and LC-MS/QTOF and their In Vitro Anti-cervical Cancer Effects. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(6).
- [17]. Bouchicha, M., Bounamis, S., & Kebsa, W. E. (2018). Evaluation de l'effet gastroprotecteur et anti-inflammatoire de l'acide gallique et de l'écorce de grenade (Punica granatum) contre l'ulcère induit par le Diclofénac chez le rat albinos wistar (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Élaboration de surfaces nanostructurées parahydrophobe par électropolymérisation sans gabarit de monomères difonctionnel à base de naphthalène

Diawo Diallo,¹ Abdoulaye Dramé,¹ Aboubacary Sène, Alioune Diouf,¹ Frédéric Guittard,² Thierry Darmanin^{2,*}

¹Université Anta Diop de Dakar, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Chimie

²Université Côte d'Azur, N.I.C.E. Lab

Résumé

Inspirées par la forte adhésion à l'eau que l'on trouve dans les pattes de gecko et les pétales de rose, les surfaces nanostructurées tels que des nanotubes sont préparées par électropolymérisation sans gabarit. Un solvant peu soluble dans l'eau (dichlorométhane) est utilisé avec de l'eau pour former une solution micellaire stabilisée par un agent tensioactif. Des monomères entièrement conjugués sont préparés en greffant des molécules à base de thiophène et de carbazole sur le naphthalène pour favoriser le dépôt plutôt que la polymérisation, comme le confirme ici la caractérisation électrochimique. La teneur en eau joue un rôle fondamental dans la formation des nanotubes. Le monomère a une influence considérable sur les structures de surface. Des nanotubes extrêmement longs sont obtenus avec le carbazole, ce qui indique que le dépôt est fortement favorisé dans une direction. Les surfaces comportant des nanotubes présentent des propriétés parahydrophobes avec une plus grande hydrophobie, associée à une forte adhésion à l'eau. Ces surfaces pourraient être utilisées à l'avenir, par exemple dans des systèmes de collecte d'eau dans les zones désertique, les membranes de séparation huile/eau.

Mots-clés : Surfaces nanostructurées, Parahydrophobe, Électropolymérisation, Naphthalène difonctionnel.

Elaboration of parahydrophobic nanostructured surfaces by template-free electropolymerization of naphthalene-based difunctional monomers

Abstract

Inspired by the strong adhesion to water found in gecko legs and rose petals, nanostructured surfaces such as nanotubes are prepared by soft-plate electropolymerization. A sparingly water-soluble solvent (dichloromethane) is used with water to form a surfactant-stabilized micellar solution. Fully conjugated monomers are prepared by grafting thiophene- and carbazole-based molecules onto naphthalene to promote deposition rather than polymerization, as confirmed here by electrochemical characterization. Water content plays a fundamental role in nanotube formation. The monomer has a considerable influence on surface structures. Extremely long nanotubes are obtained with carbazole, indicating that deposition is strongly favored in one direction. Surfaces with nanotubes exhibit parahydrophobic properties with greater hydrophobicity, combined with strong adhesion to water. These surfaces could be used in the future, for example in water collection systems in desert areas, or oil/water separation membranes.

Keywords : Nanostructured surfaces, Parahydrophobic, Electropolymerization, Difunctional naphthalene.

Introduction

Le contrôle des structures de surface, en particulier à l'échelle nanométrique, est fondamental pour un grand nombre d'applications telles que les dispositifs sensibles, les traitements médicaux, les emballages alimentaires[1-3] et les propriétés de mouillages des surfaces[4]. Au cours des millénaires, la nature a développé des systèmes très innovants pour survivre dans des environnements hostiles[5, 6]. C'est particulièrement vrai pour les propriétés de mouillage. Par exemple, les structures de surface des pétales de rose et des pattes de gecko jouent un rôle clé dans l'adhésion de ces surfaces naturelles[7, 8]. Ici, nous avons voulu reproduire ces mêmes propriétés observées dans la nature, qui combinent à la fois une hydrophobie élevée et une forte adhérence à l'eau, ce qui pourrait être utilisé à l'avenir dans des applications telles que les systèmes de collecte de l'eau, membrane de séparation huile/eau ou les dispositifs optoélectroniques[9-11].

Les nanotubes de surface sont d'excellents candidats en raison de leur rapport surface-volume élevé, qui dépend des paramètres géométriques des tubes et du nombre de tubes[12, 13]. Bien que l'électropolymérisation de structures de surface telles que les nanotubes ait été rapportée précédemment, elle utilise principalement des gabarits durs tels que des membranes d'oxyde d'aluminium anodisé (AAO)[14]. Cependant, ce processus comporte plusieurs étapes et un grand nombre de modèles est nécessaire pour étudier l'influence de la taille des tubes. L'électropolymérisation sans gabarit constitue une méthode rapide et facile pour préparer des structures ouvertes très bien définies telles que des nanotubes avec des paramètres réglables[15-18]. Dans ces processus, le modèle dur est remplacé par un modèle mou tel que des bulles de gaz ou des micelles. En solution aqueuse, des bulles d'oxygène (O₂) et/ou d'hydrogène (H₂) peuvent se former à partir de l'eau (H₂O) pendant le processus d'électropolymérisation[15]. Dans les solutions organiques à faible solubilité dans l'eau, des micelles inverses[17] peuvent se former dès que des traces de H₂O sont présentes dans la solution[16-18]. Les monomères qui favorisent fortement les interactions π -stacking, tels que le 3,4-naphthalènedioxythiophène (NaphDOT), ont donné des résultats exceptionnels, tels que des nanotubes densément alignés verticalement, présentant à la fois une

hydrophobie élevée et une forte adhérence à l'eau[18]. En outre, pour former des nanotubes, la croissance du polymère doit se faire préférentiellement dans une direction, ce qui prend du temps[19, 20]. Par conséquent, les monomères formant des chaînes de polymères longues et insolubles sont moins souhaitables.

Ici, nous avons choisi une plateforme naphthalène pour ses fortes interactions π -stacking mais son faible potentiel de polymérisation (principalement des oligomères)[21]. Des monomères originaux ont été préparés en greffant deux groupements substituants à base de thiophène ou de carbazole (schéma 1), qui ont des capacités de polymérisation très différentes. Nous avons étudié l'influence de la teneur en monomère et en eau ainsi que de la méthode de dépôt sur les nanotubes obtenus.

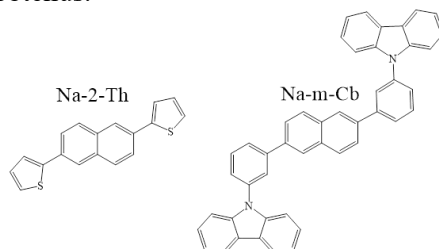


Schéma 1 : Les monomères originaux synthétisés et étudiés dans ce travail.

Matériels et méthodes

Synthèse

Les deux monomères originaux ont été obtenus par deux réactions de Suzuki à partir du 2,6-dibromonaphthalène[22]. Typiquement, 1eq. de 2,6-dibromonaphthalène a été ajouté à 2,5eq. de l'acide boronique correspondant (acheté chez TCI), 0,1eq. de tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) et 4,4g de carbonate de sodium dans 60mL de toluène, 10mL d'éthanol et 20mL d'eau. Le mélange a été porté à reflux pendant 2 jours. Ensuite, le solvant a été évaporé et les produits bruts ont été directement purifiés par chromatographie sur colonne (gel de silice ; éluant : éther de pétrole/chloroforme).

D'autre noyau comme le pyrène a également été testé avec la même réaction mais sans succès. Si la première substitution est assez facile, la seconde est très difficile. Les faibles rendements obtenus peuvent également s'expliquer par une solubilité relativement faible du 2,6-dibromonaphthalène.

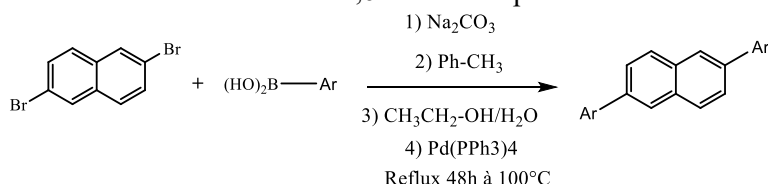


Schéma 2 : itinéraire de synthèse des monomères d'origine.

2,6-Di(thiophen-2-yl)naphthalene (Na-2-Th). Rdt : 12 %; cristaux blanc-jaunâtre. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 8.05 (dd, $J = 11.3, 1.5$ Hz, 2H), 7.84 (t, $J = 9.5$ Hz, 4H), 7.80 – 7.71 (m, 2H), 7.54 – 7.39 (m, 4H), 7.33 (dd, $J = 6.8, 1.7$ Hz, 2H), 7.17 – 7.10 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 144.42, 133.64, 132.81, 131.84, 128.58, 128.36 – 127.91, 127.70, 126.53, 125.94, 125.20 – 124.93, 124.43, 124.22, 123.97, 123.47.

2,6-Bis(3-(9H-carbazol-9-yl)phenyl)naphthalene (Na-m-Cb). Rdt : 20 %; cristaux blanc, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 8.21 – 8.13 (m, 6H), 8.02 – 7.95 (m, 3H), 7.88 – 7.80 (m, 4H), 7.72 (dd, $J = 18.8, 11.3$ Hz, 3H), 7.60 (m, $J = 7.8, 1.9, 1.1$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H), 7.50 – 7.36 (m, 6H), 7.33 (dd, $J = 10.8, 4.0$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 142.84, 142.07, 140.91, 138.42, 137.78, 133.05, 130.44, 129.06, 126.72 – 125.65, 123.44, 120.37, 120.03, 109.77.

Électropolymérisation à plaques souples

Les solvants utilisés pour l'électropolymérisation sans gabarit ou plaque souple étaient soit du dichlorométhane (CH_2Cl_2), soit du dichlorométhane saturé d'eau ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ sat.). $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ sat. a été simplement préparé en mélangeant CH_2Cl_2 et H_2O , et en conservant la phase organique après décantation. 0,005M de monomère et 0,1M de perchlorate de tétrabutylammonium (Bu_4NClO_4), en tant qu'électrolyte et agent tensioactif, ont été ajoutés au solvant. Une plaquette de silicium recouverte d'or a été utilisée comme électrode de travail, un bâtonnet de carbone comme contre-électrode et un calomel saturé comme électrode de référence (SCE). Les potentiels

d'oxydation des monomères ont été déterminés par voltampérométrie cyclique. Ensuite, les dépôts ont été effectués par voltampérométrie cyclique.

Caractérisation de la surface

Les structures de surface ont été observées à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB) JEOL JSM-6700F. Les angles de contact apparents (θ) ont été obtenus à l'aide d'un goniomètre KRÜSS DSA30. Chaque valeur est la moyenne de cinq mesures. Trois liquides de tensions de surface différentes ont été utilisés : l'eau ($\gamma_{LV} = 72,8$ mN/m), le diiodométhane ($\gamma_{LV} = 50,0$ mN/m) et le n-hexadécane ($\gamma_{LV} = 27,6$ mN/m). Pour l'adhésion de l'eau, une gouttelette d'eau a été placée sur le substrat qui a été incliné jusqu'à ce que la gouttelette se déplace. Des surfaces lisses ont été préparées à l'aide d'un processus en deux étapes : tout d'abord, une surface d'épaisseur et de rugosité très faibles a été préparée à un potentiel constant et avec une charge de dépôt très faible (1mC cm^{-2}). Cependant, les surfaces polymères lisses ont également été réduites électrochimiquement en éliminant les anions perchlorate (ClO_4^-), afin d'obtenir les mêmes polymères que ceux obtenus par voltampérométrie cyclique. Pour les surfaces lisses, l'énergie libre de surface (γ_{SV}) et ses parties dispersives (γ_{SV}^D) et polaires (γ_{SV}^P) ont été déterminées à l'aide de l'équation d'Owens-Wendt[23]. Dans notre cas, γ_{SV} , γ_{SV}^D et γ_{SV}^P ont été directement obtenues à l'aide du logiciel "Drop Shape Analysis" de notre goniomètre.

Résultats et discussions

Pour déterminer l'impact de l'eau (H_2O) en solution, lors de l'électropolymérisation sans gabarit, des dépôts électrolytiques ont été effectués dans du CH_2Cl_2 anhydre ou du $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ sat. Pour mieux expliquer le processus proposé, des micelles aqueuses sont formées dans $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ sat. Les micelles sont stabilisées par Bu_4NClO_4 qui agit à la fois comme électrolyte et comme surfactant. Ces monomères étant solubles dans CH_2Cl_2 , ils sont présents dans cette phase continue. Lors de l'insertion de l'électrode de travail en or, les micelles mouillent le substrat et forment un système triphasique : CH_2Cl_2 (liquide)/eau (liquide)/or (solide). Lors de l'électropolymérisation, le monomère n'étant soluble que dans CH_2Cl_2 , le polymère croît à partir du substrat mais seulement dans les parties en contact avec CH_2Cl_2 en raison de l'absence de monomère dans H_2O . Les parties en contact avec H_2O sont également oxydées et/ou réduites et des bulles d' O_2 et/ou de H_2 quittent le substrat. Si l'on veut obtenir des nanotubes, il est nécessaire d'induire la croissance du polymère dans une seule direction.

Les potentiels d'oxydation des monomères (Eox) ont été obtenus par voltampérométrie cyclique et étaient de 1,90 et 1,63V vs SCE pour les monomères de Na-2-Th et Na-m-Cb respectivement. Ensuite, les polymères ont été déposés d'abord par voltampérométrie cyclique de -1V à Eox avec une vitesse de balayage de 20 mV/s et différents nombres de balayages (1, 3 et 5 balayages) (Figure 1). Par voltampérométrie cyclique, on s'attend à des quantités plus importantes de bulles de gaz avec cette méthode car des bulles d' O_2 ($2\text{H}_2\text{O} - 4e^- \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+$) et de H_2 ($2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2$) peuvent être formées à partir de H_2O si une large gamme de potentiel est utilisée. Des films électrodéposés ont été obtenus avec chaque monomère et dans les deux solvants. Il est surprenant de constater que les pics d'oxydation et de réduction des polymères sont très faibles avec le thiophène (Na-2-Th) mais extrêmement intenses avec le carbazole (Na-m-Cb) (Figure 1).

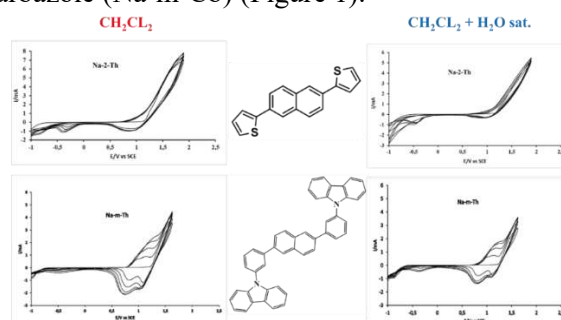


Figure 1 : Voltammogrammes cycliques de chaque monomère (0.005 M) dans CH_2Cl_2 ou $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ sat. avec 0.1M de Bu_4NClO_4 . 5 balayages de 1V à Eox à 20 mV s^{-1} .

Ceci est surprenant car le thiophène est connu pour avoir une capacité de polymérisation élevée par rapport au carbazole[24]. Ces résultats peuvent s'expliquer si le dépôt est extrêmement favorisé par rapport à la polymérisation avec Na-m-Cb. Avec ces molécules, la vitesse de dépôt est augmentée par les interactions intermoléculaires π -stacking.

Pour mieux expliquer ces résultats, des caractérisations électrochimiques supplémentaires ont été réalisées avec ces surfaces polymères (Figure 2). Les pics d'oxydation et de réduction des dépôts électrolytiques ont été

déterminés après lavage abondant des substrats avec CH_2Cl_2 et dans une solution contenant uniquement l'électrolyte (sans monomère). Les courbes de voltampérométrie cyclique des films électrodéposés obtenues après 5 balayages sont rassemblées dans la Figure 2. Pour tous les dépôts électrolytiques, les signaux du monomère sont clairement les plus intenses, indiquant sa présence dominante. Un signal à 1,90 et 1,70V est présent dans les films réalisés avec Na-2-Th et Na-m-Cb, respectivement. Ceci est surprenant, en particulier avec le Na-2-Th, car le thiophène est une excellente molécule polymérisant, mais le fait que le thiophène soit entièrement conjugué avec le naphthalène augmente fortement la planéité du monomère et, par conséquent, les interactions π -stacking et la vitesse de dépôt. D'autres pics à des potentiels plus faibles (Figure 2) sont également présents, en particulier pour le monomère à base de carbazole, indiquant les oligomères courts.

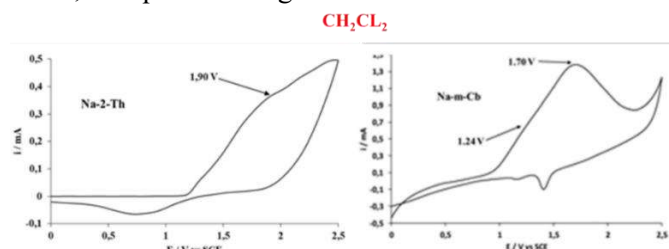


Figure 2 : Le voltammogramme cyclique de chaque surface de polymère électrodéposée dans une solution de CH_2Cl_2 avec 0,1 M de Bu_4NClO_4 . 1 balayage de 0V à 2,5V à 20mV s^{-1} .

Les images MEB pour 3 balayages sont disponibles dans la figure 3. Tout d'abord, dans CH_2Cl_2 , des structures non poreuses telles que des particules sphériques sont principalement observées. Dans $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O sat.}$, le monomère a une grande influence sur les structures de surface, mais des structures tubulaires sont observées pour les deux produits. Pour ces deux monomères, des nanotubes extrêmement longs sont observés, ce qui confirme que la croissance du polymère se fait préférentiellement dans une direction. En outre, avec le Na-m-Cb, presque seuls des nanotubes sont formés, tandis qu'avec le Na-2-Th, des nanotubes et des nanoparticules sphériques sont formés.

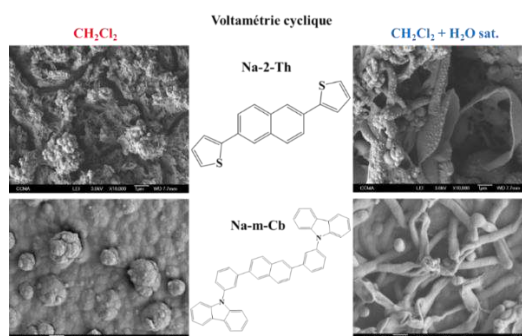


Figure 3 : Images MEB de chaque surface électrodéposée dans une solution saturée de CH_2Cl_2 ou $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ avec 0,1 M de Bu_4NClO_4 . 3 balayages de -1V à Eox à 20mV s^{-1} .

Des études plus approfondies (figure 4) avec Na-m-Cb montrent que des nanotubes extrêmement longs sont obtenus après seulement 1 balayage, tandis que de grandes particules sphériques sont également observées après 5 balayages.

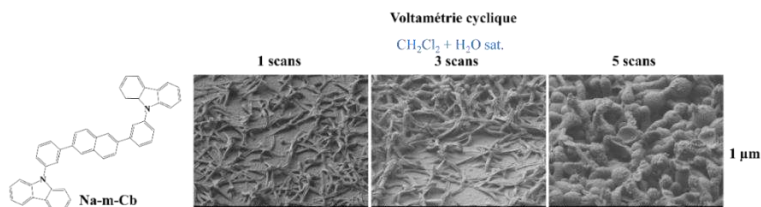


Figure 4 - Images SEM avec un angle d'inclinaison de 45° de surfaces électrodéposées à partir de Na-m-Cb dans une solution sat. de $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ avec 0,1 M de Bu_4NClO_4 . 1, 3 et 5 balayages de -1V à Eox à 20mV s^{-1} .

Les surfaces films polymères ont également été caractérisées en mesurant les angles de contact apparents (θ) avec des liquides sondes de différentes tensions de surface (γ_{LV}) (tableau 1). Tout d'abord, des surfaces lisses ont été préparées à potentiel constant (chrono-amperométrie) et avec une charge de dépôt ultra-faible (1mC cm^{-2}) pour

déterminer les énergies de surfaces des films de polymères en utilisant l'équation d'Owens Wendt, afin de d'étudier l'effet des structures de surface des films polymères sur leurs mouillabilités. Cependant, les surfaces des films polymères lisses ont été réduites électrochimiquement, en éliminant les anions perchlorate (ClO_4^-) pour étudier les mêmes polymères que par voltampérométrie cyclique. Les angles de contact apparents des surfaces lisses sont également appelés angles de Young (θ^Y)[25] et sont indiqués dans le tableau 2. Il est surprenant de constater que les films lisses fabriqués à partir de Na-2-Th ont des angles de Young (θ^Y_w) proches de 90° et voire même supérieur alors que le film de Na-m-Cb est intrinsèquement hydrophobes avec $\theta^Y_w > 90^\circ$. Pour les surfaces rugueuses, on observe la plupart du temps une augmentation de θ_w lorsque $\theta^Y_w > 90^\circ$, et vice versa (équation de Wenzel)[26]. Dans CH_2Cl_2 , des θ_w extrêmement élevés sont obtenus avec chaque monomère, mais en fonction du nombre de balayages. La valeur la plus élevée $\theta_w = 146,4^\circ$ est atteinte avec Na-2-Th à 3 balayages, c'est-à-dire avec des structures constituées de particules sphériques. Dans $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O sat.}$, la valeur la plus élevée $\theta_w = 131,7^\circ$ est atteinte avec Na-m-Cb, c'est-à-dire avec les films contenant des nanotubes extrêmement long. De plus, lorsque des gouttes d'eau touchent ces surfaces, elles y restent complètement collées quels que soient les angles d'inclinaison car l'adhésion de l'eau est extrêmement forte. Ces propriétés de surface sont comparables aux pétales de rose ou au pied de gecko[6-8]. Ainsi, ces angles de contact élevés ($\theta_w = 146,4^\circ$ et $131,7^\circ$) montrent qu'avec ces surface, la quantité d'air piégée à l'intérieur de la surface rugueuse est la plus élevée, même si toutes ces surfaces ont une forte adhérence à l'eau. Toutes les surfaces rugueuses sont également superoléophiles, en particulier avec l'hexadécane (tableau 1).

Tableau 1: Angles de contact apparents pour les films polymères conducteurs rugueux et dédopés préparés par voltampérométrie cyclique.

Monomères	Nombre de scans	Solvent : CH_2Cl_2			Solvent : $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O sat.}$		
		$\theta_w (^\circ)$	$\theta_{\text{Diiod}} (^\circ)$	$\theta_{\text{Hexa}} (^\circ)$	$\theta_w (^\circ)$	$\theta_{\text{Diiod}} (^\circ)$	$\theta_{\text{Hexa}} (^\circ)$
Na-2-Th	1 scan	105,3	<10	<10	92,4	<10	<10
	3 scans	146,4	<10	<10	97,5	<10	<10
	5 scans	134,8	<10	<10	84,1	<10	<10
Na-m-Cb	1 scan	104.2	<10	<10	112.7	<10	<10
	3 scans	103.8	<10	<10	119.2	<10	<10
	5 scans	126.4	40	<10	131.7	<10	<10

Tableau 2. Angles de contact apparents et énergie de surface pour les films polymères conducteurs lisses et dédopés.

Monomères	$\theta^Y_w (^\circ)$	$\theta^Y_{\text{Diiod}} (^\circ)$	$\theta^Y_{\text{Hexa}} (^\circ)$	γ^{SV}	$\gamma^{\text{SV,D}}$	$\gamma^{\text{SV,P}}$
Na-2-Th	67.4	35,3	<10	42.6	30.0	12.6
Na-m-Cb	94.2	44.1	16.4	32.0	30.4	1.6

Conclusions

En conclusion, des surfaces nanostructurées tels que des nanotubes ont été préparées par électropolymérisation sans gabarit en synthétisant et en étudiant le naphthalène difonctionnel avec des molécules à base de thiophène et de carbazole. Les caractérisations électrochimiques ont permis de conclure que les dépôts électrolytiques étaient principalement composés de monomères. La formation de nanotubes dépendait fortement de la structure du monomère et de la teneur en eau. Les surfaces comportant des particules sphériques présentaient à la fois la plus grande hydrophobie et une forte adhérence à l'eau, comparable à la patte de gecko ou aux pétales de rose. Ces surfaces pourraient être utilisées à l'avenir dans différentes applications telles que les systèmes de collecte d'eau ou les plates-formes de détection.

Références

- [1] S. Liu, L. Yan, J. Huang, Q. Zhang, et B. Zhou, « Controlling upconversion in emerging multilayer core-shell nanostructures: from fundamentals to frontier applications », *Chem. Soc. Rev.*, vol. 51, n° 5, p. 1729-1765, 2022, doi: 10.1039/D1CS00753J.
- [2] I. Rabani, Y.-J. Park, J.-W. Lee, M. S. Tahir, A. Kumar, et Y.-S. Seo, « Ultra-thin flexible paper of BNNT-CNF/ZnO ternary nanostructure for enhanced solid-state supercapacitor and piezoelectric response », *J. Mater. Chem. A*, vol. 10, n° 29, p. 15580-15594, 2022, doi: 10.1039/D2TA03134E.
- [3] Q. Tan, C. Du, Y. Sun, G. Yin, et Y. Gao, « Pd-around-CeO_{2-x} hybrid nanostructure catalyst: three-phase-transfer synthesis, electrocatalytic properties and dual promoting mechanism », *J Mater Chem A*, vol. 2, n° 5, p. 1429-1435, 2014, doi: 10.1039/C3TA13843G.

- [4] T. Darmanin et F. Guittard, « Superhydrophobic and superoleophobic properties in nature », *Mater. Today*, vol. 18, n° 5, p. 273-285, 2015.
- [5] W. Barthlott et C. Neinhuis, « Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces », *Planta*, vol. 202, p. 1-8, 1997.
- [6] C. R. Szczepanski, I. M'Jid, T. Darmanin, G. Godeau, et F. Guittard, « A template-free approach to nanotube-decorated polymer surfaces using 3,4-phenylenedioxythiophene (PhEDOT) monomers », *J. Mater. Chem. A*, vol. 4, n° 44, p. 17308-17323, 2016, doi: 10.1039/C6TA07639D.
- [7] L. Qu et L. Dai, « Gecko-Foot-Mimetic Aligned Single-Walled Carbon Nanotube Dry Adhesives with Unique Electrical and Thermal Properties », *Adv. Mater.*, vol. 19, n° 22, p. 3844-3849, nov. 2007, doi: 10.1002/adma.200700023.
- [8] L. Feng *et al.*, « Petal Effect: A Superhydrophobic State with High Adhesive Force », *Langmuir*, vol. 24, n° 8, p. 4114-4119, avr. 2008, doi: 10.1021/la703821h.
- [9] A. Marmur, « Hydro- hygro- oleo- omni-phobic? Terminology of wettability classification », *Soft Matter*, vol. 8, n° 26, p. 6867, 2012, doi: 10.1039/c2sm25443c.
- [10] K. Wan, X. Gou, et Z. Guo, « Bio-inspired Fog Harvesting Materials: Basic Research and Bionic Potential Applications », *J. Bionic Eng.*, vol. 18, n° 3, p. 501-533, mai 2021, doi: 10.1007/s42235-021-0040-0.
- [11] T. Kimura, M. Murase, Y. Yamada, N. Mizoshita, et D. Nakamura, « Self-assembled single-crystal bimodal porous GaN exhibiting a petal effect: application as a sensing platform and substrate for optical devices », *Nanoscale Adv.*, vol. 4, n° 18, p. 3718-3724, 2022, doi: 10.1039/D2NA00164K.
- [12] Z. Cheng, J. Gao, et L. Jiang, « Tip Geometry Controls Adhesive States of Superhydrophobic Surfaces », *Langmuir*, vol. 26, n° 11, p. 8233-8238, juin 2010, doi: 10.1021/la904510n.
- [13] K. K. S. Lau *et al.*, « Superhydrophobic Carbon Nanotube Forests », *Nano Lett.*, vol. 3, n° 12, p. 1701-1705, déc. 2003, doi: 10.1021/nl034704t.
- [14] H.-A. Lin, S.-C. Luo, B. Zhu, C. Chen, Y. Yamashita, et H. Yu, « Molecular or Nanoscale Structures? The Deciding Factor of Surface Properties on Functionalized Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Nanorod Arrays », *Adv. Funct. Mater.*, vol. 23, n° 25, p. 3212-3219, juill. 2013, doi: 10.1002/adfm.201203006.
- [15] C. Debieuvre-Chouvy, A. Fakhry, et F. Pillier, « Electrosynthesis of polypyrrole nano/micro structures using an electrogenerated oriented polypyrrole nanowire array as framework », *Electrochimica Acta*, vol. 268, p. 66-72, 2018.
- [16] S. Sow *et al.*, « Tunable Nanoporous Structures with Rose Petal Effect by Soft-Template Electropolymerization of Benzotrithiophene Monomers », *ChemistrySelect*, vol. 7, n° 11, p. e202200354, mars 2022, doi: 10.1002/slct.202200354.
- [17] C. Fradin, F. Orange, S. Amigoni, C. R. Szczepanski, F. Guittard, et T. Darmanin, « Micellar formation by soft template electropolymerization in organic solvents », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 590, p. 260-267, 2021.
- [18] T. Darmanin et F. Guittard, « A one-step electrodeposition of homogeneous and vertically aligned nanotubes with parahydrophobic properties (high water adhesion) », *J. Mater. Chem. A*, vol. 4, n° 9, p. 3197-3203, 2016.
- [19] Y. Zhao, J. Stejskal, et J. Wang, « Towards directional assembly of hierarchical structures: aniline oligomers as the model precursors », *Nanoscale*, vol. 5, n° 7, p. 2620, 2013, doi: 10.1039/c3nr00145h.
- [20] S.-C. Luo, J. Sekine, B. Zhu, H. Zhao, A. Nakao, et H. Yu, « Polydioxythiophene Nanodots, Nonowires, Nano-Networks, and Tubular Structures: The Effect of Functional Groups and Temperature in Template-Free Electropolymerization », *ACS Nano*, vol. 6, n° 4, p. 3018-3026, avr. 2012, doi: 10.1021/nn300737c.
- [21] Z. Huang, L. Qu, G. Shi, F. Chen, et X. Hong, « Electrochemical polymerization of naphthalene in the electrolyte of boron trifluoride diethyl etherate containing trifluoroacetic acid and polyethylene glycol oligomer », *J. Electroanal. Chem.*, vol. 556, p. 159-165, sept. 2003, doi: 10.1016/S0022-0728(03)00341-3.
- [22] N. Miyaura et A. Suzuki, « Stereoselective synthesis of arylated (E)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst », *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, n° 19, p. 866-867, 1979.
- [23] D. K. Owens et R. C. Wendt, « Estimation of the surface free energy of polymers », *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 13, n° 8, p. 1741-1747, août 1969, doi: 10.1002/app.1969.070130815.
- [24] K. Tanaka, T. Shichiri, S. Wang, et T. Yamabe, « A study of the electropolymerization of thiophene », *Synth. Met.*, vol. 24, n° 3, p. 203-215, mai 1988, doi: 10.1016/0379-6779(88)90258-5.
- [25] T. Young, « III. An essay on the cohesion of fluids », *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, vol. 95, p. 65-87, déc. 1805, doi: 10.1098/rstl.1805.0005.
- [26] R. N. Wenzel, « RESISTANCE OF SOLID SURFACES TO WETTING BY WATER », *Ind. Eng. Chem.*, vol. 28, n° 8, p. 988-994, août 1936, doi: 10.1021/ie50320a024.

Insertion de la microperoxydase-8 dans les nanoparticules de MIL-101(Cr/Fe) : un nouveau biocatalyseur pour l'oxydation du styrène

Xavier Kesse¹, Clémence Sicard², Nathalie Steunou², Remy Ricoux³ and Jean-Pierre Mahy³

1

2 Unité Pédagogique et de Recherche Chimie et Agriculture Durable, UFR Agriculture, Ressources Halieutique et Agro-industrie ; Université de San Pedro, 01 BP 1800 San Pedro 01, Cote d'Ivoire

3 Institut Lavoisier de Versailles, Université Paris Saclay, 45 avenue des Etats-Unis, 78035 Versailles cedex, France

4 Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay, Université Paris-Saclay, 17 avenue des sciences, 91400 Orsay, France

* kesse.xavier@usp.edu.ci

Résumé : La microperoxydase-8 (MP8) est une mini-enzyme à haute sélectivité et activité catalytique. Cependant, sa stabilité relativement faible dans les conditions expérimentales dures et sa difficile recyclabilité affectent ses applications. Ainsi, un nombre croissant de recherches a été consacré à l'immobilisation de la MP8 au sein des supports solides. L'objectif principal de cette étude était de synthétiser un nouveau biocatalyseur obtenu par immobilisation de la MP8 dans un matériau poreux cristallin hybride, le MIL-101(Cr/Fe) pour différentes applications. Le biocatalyseur a été obtenu par la méthode de post-impregnation. Puis, le MIL-101(Cr/Fe) et le MP8@MIL-101 (Cr/Fe) ont été caractérisés par DRX, spectroscopie IR, ATG. Finalement, l'activité catalytique du nouveau biomatériau pour l'oxydation du styrène par H₂O₂ a été évaluée. Les caractérisations structurales ont montré que la mini-enzyme était encapsulée avec succès dans le MOF. Par rapport au MP8, le MP8@MIL-101 (Cr/Fe) a montré un potentiel élevé en tant que catalyseur pour l'oxydation sélective du styrène dans des conditions douces. Cette étude est la première à élaborer un biocatalyseur MP8@MIL-101(Cr/Fe) par insertion de la MP8 dans un MOF à métal mixte. Malgré ses performances catalytiques intéressantes pour l'époxydation du styrène, sa recyclabilité doit être évaluée pour compléter l'étude.

Mots Clés : Microperoxydase-8, MIL-101(Cr/Fe), Styrène

Encapsulation of microperoxidase-8 into MIL-101(Cr/Fe) nanoparticles: a new biocatalyst for the epoxidation of styrene

Abstract: Microperoxidase-8 (MP8) is a mini enzyme with a high selectivity and catalytic activity. However, its relatively low stability under harsh operating conditions and difficult recyclability adversely affects its applications. Thus, a growing number of studies has been dedicated to the immobilization of MP8 in solid supports. The main objective of this study was to synthesize a new biocatalyst through the immobilization of MP8 within a hybrid crystalline porous material, the MIL-101(Cr/Fe) for different applications. The biocatalyst was obtained by a post impregnation method. Then, Both MIL-101(Cr/Fe) and MP8@MIL-101(Cr/Fe) were characterized by XRD, FTIR spectroscopy, TGA and the catalytic activity of the new biomaterial for the oxidation of styrene by H₂O₂ were examined. Structural characterizations showed that the mini enzyme was encapsulated successfully within the MOF. Compared to the MP8, MP8@MIL-101(Cr/Fe) showed high potential as new catalyst for selective oxidation of styrene under mild conditions. This study is the first one to synthesize the MP8@MIL-101(Cr/Fe) based on the encapsulation of MP8 inside a mixed metal MOF. Despite its interesting catalytic performance for epoxidation of styrene, its recyclability needs to be assessed to complete the study.

Keywords: Microperoxidase-8, MIL-101(Cr/Fe), Styrene

1. Introduction

Dans la quête d'une chimie plus verte afin de remplacer les processus souvent toxiques et la production de déchets ou polluants de l'industrie chimique, la nature est souvent utilisée comme source d'inspiration. Les enzymes qui dérivent de sources naturelles sont ainsi apparues comme des outils prometteurs pour des processus éco-compatibles rentables, car elles ont évolué pour devenir des catalyseurs extrêmement efficaces et sélectifs qui fonctionnent à température ambiante, pression atmosphérique et en milieu aqueux. Cependant, trois inconvénients majeurs nuisent à leur application, à savoir leur stabilité relativement faible dans des conditions d'exploitation, leur récupération et leur recyclabilité difficiles [1]. Par conséquent, dans la recherche de solutions pour faire face à ces problèmes, un domaine de recherche en croissance exponentielle a été consacré à l'immobilisation des enzymes dans des supports solides. Supports allant des supports inorganiques et organiques traditionnels (verres sol-gel, biopolymères, polymères synthétiques,) [2–3] à une combinaison de plusieurs matériaux [4–5] ont été ainsi développés pour fournir des catalyseurs hétérogènes recyclables

dans lesquels les enzymes pouvaient être protégées des conditions de fonctionnement difficiles (T, pH, solvant). Récemment, de nouveaux matériaux poreux cristallins hybrides construits à partir de l'assemblage d'unités inorganiques et de ligands organiques, les MOF (Metal Organic Frameworks), sont apparus comme une classe prometteuse de matrices d'immobilisation. Ces structures combinent les avantages des entités organiques et inorganiques et fournissent des interactions spécifiques qui permettent l'immobilisation des enzymes en utilisant plusieurs techniques [6–7]. Pour les applications biocatalytiques, l'encapsulation des enzymes par adsorption à l'intérieur de la porosité des MOF préformés est progressivement apparu comme la technique privilégiée [8]. En effet, la grande surface et la porosité régulière des MOF assurent une immobilisation homogène et bien dispersée des biomolécules alors que le confinement 3D améliore leur protection et leur stabilisation. Les nanoparticules de MOF qui présentent une porosité hiérarchique interconnectée ont montré des propriétés biocatalytiques très prometteuses [9,10]. En effet, dans de tels matériaux, les grands pores sont enclins à encapsuler les enzymes, tandis que les petits pores permettent la diffusion de substrats et d'analytes. Les propriétés du MOF de type MIL-101 ont été particulièrement illustrées dans les travaux rapportés sur l'immobilisation de la Microperoxydase 8 (MP8) dans les nanoparticules de MIL-101(Cr) [11]. Cette mini-enzyme qui résulte de la digestion hydrolytique du cytochrome c du cheval possède à la fois une activité de type peroxydase et cytochrome P450 qui permet l'oxydation sélective de molécules organiques dans l'eau, y compris des composés organosulfurés et des alcènes [12]. Cependant, ces activités catalytiques sont fortement diminuées à des concentrations élevées de H₂O₂, qui causent la destruction oxydative de la partie hémique. Ici, l'immobilisation de la MP8 dans le MOF mixte MIL-101 (Cr/Fe) a été étudiée. Puis l'activité catalytique de la MP8 encapsulé dans le MIL-101 (Cr/Fe) a été évaluée à travers l'époxydation du styrène. Une telle réaction est d'un grand intérêt car les époxydes sont des intermédiaires précieux pour les synthèses de laboratoire ainsi que pour l'industrie chimique (ils peuvent facilement être transformés en une grande variété de composés au moyen de réactions régiosélectives d'ouverture de cycle).

2. Matériel et méthodes

Tous les produits chimiques achetés ont été utilisés sans autre purification : le nitrate de chrome nonahydrate Cr(NO₃)₃.9H₂O (98,5%) provenait d'Alfa Aesar, et la poudre réduite en fer, la solution d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAOH, 25%), l'acide téréphalique (98%), et le styrène étaient tous de Sigma Aldrich.

Enzymes : Le cytochrome c du cœur bovin (95 %), la pepsine et la trypsine étaient tous de Sigma Aldrich.

Synthèse du MOF

Le MIL-101(Cr/Fe) a été préparé selon la méthode précédemment rapportée par Vallés-Garcia *et al* [13]. Typiquement, 0,75 mmol de Cr(NO₃)₃.9 H₂O, 0,25 mmol de Fe⁰ et 1,5 mmol d'acide téréphalique ont été ajoutés dans un réacteur à Téflon, suivis de 10 mL de TMAOH (60 mM). Le mélange obtenu a ensuite été chauffé à 150 °C pendant 48 h. Le solide obtenu a été récupéré par centrifugation (14500 rpm, 20 min) et lavé deux fois avec de l'eau désionisée (35 mL). Pour éliminer les impuretés d'oxyde de fer, la séparation par différence de densité a été effectuée, puis le solide a été lavé deux fois avec de l'éthanol absolu (35 mL). Le solide a ensuite été traité par une solution aqueuse de KF de 35 mL (100 mM) sous agitation pendant 1 h. Enfin, le solide a été lavé deux fois avec de l'éthanol absolu et suspendu dans de l'éthanol absolu. Pour les caractérisations structurales, la suspension a été séchée à 100 °C pendant la nuit.

Préparation et purification de la Microperoxydase-8

La préparation et la purification du MP8 ont été effectuées selon la procédure utilisée par Aron *et al* [14]. 98 mg de cytochrome c et 4 mg de pepsine ont été mélangés dans 5 mL d'eau désionisée. Le pH de la solution a été ajusté à 2,34 une solution aqueuse de HCl à 1 M avant de la placer dans un bain d'eau à 37 °C. Après 1h, 8 mg de pepsine ont été ajoutés dans le milieu, le pH a été ajusté à 2,32 et le mélange a été incubé pendant 4 heures. Afin d'arrêter l'activité peptique de la pepsine, le pH a été élevé à 9,37 par addition de NH₄OH (1M). À ce stade, le principal produit présent dans le milieu étant la microperoxydase-11 (MP11). La MP8 a ensuite été obtenue par digestion de MP11 par addition de 8 mg de trypsine. Après une incubation nocturne à 37 °C, le MP8 a été extrait de la solution résultante par chromatographie sur gel (biogel P6, 4 x 100 cm), lyophilisé et stocké à température ambiante. Notez que le coefficient d'extinction $\epsilon_{396} = 1,57 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ a été utilisé pour le calcul de la concentration

enzymatique.

Synthesis of MP8@MIL-101(Cr/Fe)

Le MP8@MIL-101(Cr/Fe) a été préparé selon une méthode semblable à celle décrite précédemment par Gkaniatsou *et al* [11]. Brièvement, 1 mL d'une solution aqueuse de 1 mg/mL de MP8 a été mélangé avec 1 mL d'une suspension alcoolique de MIL-101 (Cr/Fe) à 5 mg/mL. La solution résultante a été mise sous agitation orbitale à 37 °C pendant 48 h dans un incubateur. Les échantillons ont été lavés deux fois à l'eau, ce qui a donné lieu à un surnageant incolore. 1 mL de chaque surnageant a été collecté et caractérisé par spectroscopie UV-visible pour déterminer la quantité résiduelle de MP8. Le composite a finalement été suspendu dans de l'eau déionisée et stocké à 4 °C avant d'être caractérisé davantage.

Réaction d'époxydation catalysée par la MP8 et le MP8@MIL-101(Cr/Fe)

L'activité catalytique de la MP8 libre et immobilisée a été évaluée à travers l'époxydation du styrène en présence du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ comme oxydant (10 mM). Dans une expérience typique, on a mélangé du MP8 libre ou du MP8@MIL-101 (Cr/Fe) (concentration finale de MP8 = 20 µM) avec du tampon HEPES (pH = 7, 10 mM), du solvant organique à 30 % v/v MeOH et 5 mM de styrène dans un volume total de 1 mL à température ambiante. Après 4 h de réaction, 100 µL d'une benzophénone (10 mM), utilisée comme étalon interne, ont ensuite été ajoutés aux solutions. Le surnageant a ensuite été extrait avec 1 mL d'acétate d'éthyle et la phase organique a été analysée par chromatographie en phase gazeuse : oxyde de styrène (temps de rétention, RT = 3,98 min), benzaldéhyde (RT = 2,98 min.) et phénylacétaldéhyde (RT = 3,75 min.). Toutes les réactions ont été réalisées en triple et des réactions à blanc ont été réalisées en l'absence de catalyseurs.

Caractérisations structurales

Les diffractogrammes ont été obtenus sur un diffractomètre Siemens D5000 en utilisant le rayonnement Cu K α 1,2 ($\lambda=1,5406\text{\AA}$). Les spectres infrarouges ont été collectés avec un ThermoScientific Nicolet 6700 FT-IR. Des analyses thermogravimétriques (TGA) ont été effectuées sur un appareil Mettler Toledo TGA/DSC 1, système STAR®, sous O₂ avec une vitesse de chauffage de 4 °C/min. Des spectres ultraviolets-visibles (UV-vis) ont été recueillis sur un spectrophotomètre PerkinElmer LAMBDA 750 UV/Vis/NIR. Les analyses de chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées avec un SHIMADZU GC-2014A, équipé d'une colonne Zebron ZB Semi Volatiles (30 m 0,25 mm 0,25 mm).

3. Résultats et discussion (Times New Roman 11 normal)

3.1. Caractérisation du MP8@MIL-101(Cr/Fe)

Le MP8@MIL-101(Cr/Fe) a été caractérisé par diffraction de rayons X sur poudre (PDRX), spectroscopie infrarouge de transformation de Fourier (FT-IR) et analyse thermogravimétrique (ATG) et ses caractéristiques ont été comparées à celles du MIL-101(Cr/Fe) (Fig. 1).

Comme l'indiquent les diffractogrammes observés sur la figure 1A, les pics de diffraction du MIL-101(Cr/Fe) sont similaires à ceux déjà reportés dans la littérature [13]. Le modèle DRX du MP8@MIL-101(Cr/Fe) (Fig. 1A) est tout à fait cohérent avec le MOF parental montrant ainsi que la structure cristalline de MIL-101 (Cr/Fe) a été préservée après l'immobilisation de MP8 dans ses pores. La figure 1B montre les spectres FT-IR de la MP8 libre, du MIL-101(Cr/Fe) et du MP8@MIL-101 (Cr/Fe). Le spectre du MIL-101(Cr/Fe) montre principalement des bandes de 580 cm⁻¹ ($\delta_{\text{Fe-O}}$) et de 772 cm⁻¹ ($\delta_{\text{Cr-O}}$), caractéristiques des unités d'oxyde de fer et de chrome, et des bandes caractéristiques des vibrations carboxylates des liants téréphtalate à 1621 cm⁻¹ ($\nu_{\text{(CO)as}}$) et 1400 cm⁻¹ ($\nu_{\text{(CO)}}$). Le spectre MP8 présente principalement les vibrations caractéristiques des fonctions amide I, amide II et amide III respectivement à 1650, 1536 et 1405 cm⁻¹. Le spectre du MP8@MIL-101(Cr/Fe) affiche clairement les bandes à 580, 772 et 1400 cm⁻¹ qui correspondent respectivement aux vibrations $\delta_{\text{Fe-O}}$, $\delta_{\text{Cr-O}}$ et $\nu_{\text{(CO)s}}$ déjà présentes dans le spectre du MIL-101(Cr/Fe), tandis que les bandes de vibrations caractéristiques des fonctions amide I, II et III et du MP8 immobilisé se superposent aux bandes de vibration du carboxylate $\nu_{\text{(CO)as}}$ et $\nu_{\text{(CO)s}}$ du MOF, ce qui entraîne un élargissement des bandes dans la région 1620-1510 cm⁻¹ pour le MP8@MIL-101(Cr/Fe). L'analyse thermogravimétrique du MP8@MIL-101 (Cr/Fe) montre une température de décomposition légèrement plus élevée et une perte de masse d'environ 5 % supérieure à celle de MIL-101(Cr/Fe) (Fig. 1C), ce qui est en accord avec la présence de MP8 dans le composite.

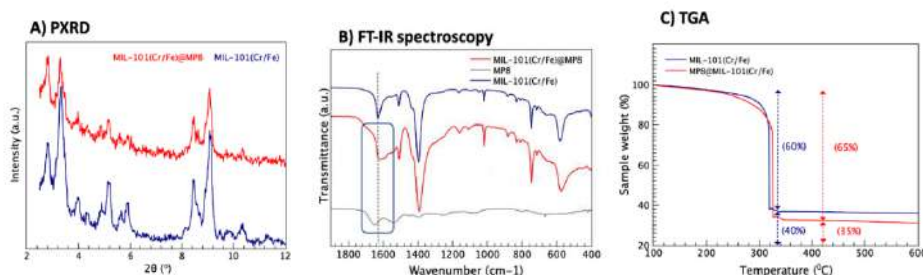


Figure 1. PDRX (A), FT-IR (B) and ATG (C) du MIL-101(Cr/Fe) avant et après immobilisation de la MP8.

3.2. Évaluation de l'activité catalytique du MP8@MIL-101(Cr/Fe) :

L'activité catalytique des molécules MP8 libre et immobilisée a d'abord été évaluée pour l'oxydation du styrène en présence de peroxyde d'hydrogène comme oxydant. Les conditions initiales ont été inspirées de celles décrites par Mashino *et al.* pour l'oxydation du styrène par H_2O_2 catalysé par la microperoxydase 11 [15]. Ainsi, l'oxydation de 5 mM de styrène par 10 mM de H_2O_2 a d'abord été réalisée à température ambiante dans un tampon HEPES de 10 mM à pH 7 contenant 30 % de MeOH (v/v), en présence du catalyseur MP8 (20 μ M), comme décrit dans la section expérimentale. Après 4h de réaction, les produits organiques ont ensuite été extraits avec de l'acétate d'éthyle et une analyse par chromatographie en phase gazeuse de la phase organique a révélé que trois produits étaient formés : l'oxyde de styrène **1**, le phénylacétaldéhyde **2** et le benzaldéhyde **3** (fig. 2). Ainsi, l'oxydation du styrène par H_2O_2 a été réalisée dans les mêmes conditions que celles déjà utilisées avec la MP8 libre, mais en présence de 20 μ M de MP8@MIL-101(Cr/Fe) comme catalyseur. Dans ces conditions, les trois produits précédemment observés ont été formés : l'oxyde de styrène **1**, le phénylacétaldéhyde **2** et le benzaldéhyde **3** (fig. 2). Le MP8@MIL-101(Cr/Fe) a révélé une activité catalytique plus élevée que la MP8 libre et pourrait catalyser l'oxydation de quantités plus élevées de styrène par un facteur respectivement de 1,5, montrant le rôle protecteur du MOF face à la dégradation oxydative du MP8. Il est clair que l'oxyde de styrène **1** était le produit principal (40 μ M) tandis que le phénylacétaldéhyde **2** était le produit mineur (7 μ M) (fig. 2).

Le benzaldéhyde **3** a également été formé comme produit secondaire (33 μ M). Dans l'ensemble, le MP8@MIL-101 (Cr/Fe) semblait favoriser la formation de l'oxyde de styrène **1**, comme le montre le rapport **1/2** de 5,7 et le rapport **1/2+3** de 1, qui étaient plus élevés que ceux observés avec le MP8 comme catalyseur (**1/2** = 1,4, **1/2+3** = 0,64). En outre, le MP8@MIL-101 (Cr/Fe) a conduit à un rendement plus élevé des produits d'oxydation (80 μ M) que la MP8 la seule (56 μ M).

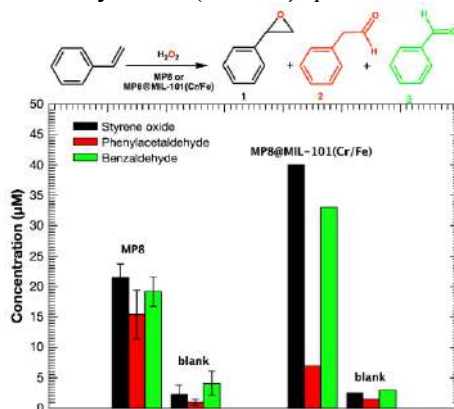


Figure 2. Oxydation de 5 mM de styrène par 10 mM de H_2O_2 à température ambiante dans un tampon HEPES de 10 mM pH 7 contenant 30 % de MeOH (v/v) catalysé par la MP8 ou la MP8@MIL-101 (Cr/Fe) et blanc.

4. Conclusion

Un nouveau biomatériau, MP8@MIL-101 (Cr/Fe), a été synthétisé en incorporant une mini enzyme, la microperoxydase 8 (MP8), dans une matrice protectrice de type MOF, le MIL-101(Cr/Fe) et a été caractérisé par DRX, spectroscopie FTIR et ATG. Ce nouveau biomatériau présentait un fort potentiel de catalyseur pour l'oxydation sélective des alcènes en époxydes dans l'eau à température et pression

normales, à pH 7, et en utilisant comme oxydant vert, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), qui produit l'eau comme sous-produit. Ce type de matériau pourrait ouvrir la voie à la catalyse de réactions en cascade impliquant d'abord l'oxydation d'alcènes en époxydes catalysés par le cofacteur MP8 suivi de la réaction de l'époxyde formé avec par exemple du CO₂ ou des indoles grâce aux propriétés de l'acide de Lewis des ions chrome ou fer du MOF.

5. Bibliographie : numérotées dans le texte avec des [], ici par ordre d'apparition

- [1]. F. van de Velde, F. van Rantwijk, R. A. Sheldon, *Trends Biotechnol.* **2001**, 19, 73–80.
- [2]. M. L. Ferrer, D. Levy, B. Gomez-Lor, M. Iglesias, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2004**, 27, 107–111.
- [3]. S. Zahirinejad, R. Hemmati, A. Homaei, A. Dinari, S. Hosseinkhani, S. Mohammadi, F. Vianello, *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2021**, 204, 111774
- [4]. C. Mousty, V. Prevot, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 3513–3523.
- [5]. L. Dal Magro, K. S. de Moura, B. E. Backes, E. W. de Menezes, E. V. Benvenutti, S. Nicolodi, M. P. Klein, R. Fernandez-Lafuente, R. C. Rodrigues, *Biotechnol. Rep.* **2019**, 24, e00373.
- [6]. E. Gkaniatsou, C. Sicard, R. Ricoux, J.-P. Mahy, N. Steunou, C. Serre, *Mater. Horiz.* **2017**, 4, 55–63.
- [7]. W. Liang, P. Wied, F. Carraro, C. J. Sumby, B. Nidetzky, C. Tsung, P. Falcaro, C. J. Doonan, *Chem. Rev.* **2021**, 121, 1077–1129.
- [8]. P. Li, Q. Chen, T. C. Wang, N. A. Vermeulen, B. L. Mehdi, A. Dohnalkova, N. D. Browning, D. Shen, R. Anderson, D. A. Gómez-Gualdrón, F. M. Cetin, J. Jagiello, A. M. Asiri, J. F. Stoddart, O. K. Farha, *Chem* **2018**, 4, 1022–1034.
- [9]. P. Li, S.-Y. Moon, M. A. Guelta, L. Lin, D. A. Gómez-Gualdrón, R. Q. Snurr, S. P. Harvey, J. T. Hupp, O. K. Farha, *ACS Nano* **2016**, 10, 9174–9182.
- [10]. P. Li, J. A. Modica, A. J. Howarth, J. T. Hupp, O. K. Farha, P. Li, J. A. Modica, A. J. Howarth, E. V. L, P. Z. Moghadam, R. Q. Snurr, M. Mrksich, J. T. Hupp, O. K. Farha, *Chem* **2016**, 1, 154–169.
- [11]. E. Gkaniatsou, C. Sicard, R. Ricoux, L. Benahmed, F. Bourdreux, Q. Zhang, C. Serre, J.-P. Mahy, N. Steunou, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, 57, 16141–16146.
- [12]. R. Ricoux, K.-Y. Hafsa, J.-P. Mahy, *J. Biol. Sci.* **2004**, 5, 44–49.
- [13]. C. Vallés-García, E. Gkaniatsou, A. Santiago-Portillo, M. Giménez-Marqués, M. Álvaro, J.-M. Greneche, N. Steunou, C. Sicard, S. Navalón, C. Serre, H. García, *J. Mater. Chem. A* **2020**, 8, 17002–17011.
- [14]. Aron, D. A. Baldwin, H. M. Marques, M. John, P. A. Adams, **1986**, 243, 227–243.
- [15]. T. Mashino, S. Nakamura, M. Hirobe, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 3163–3166.

Elimination des colorants industriels des eaux par photocatalyse sur des matériaux en argile : Cas de l'indigo carmine

N'GUETTIA Kossonou Roland, SORO Baba Donafologo, TRAORE Karim Sory
Laboratoire des Sciences de l'Environnement, UFR des Sciences et Gestion de l'Environnement,

02 BP 801 Abidjan 02 Université NANGUI ABROGOUA, Abidjan, Côte d'Ivoire

Email : rolandkossonou.sge@univ-na.ci

Résumé

Les colorants synthétiques, largement utilisés dans diverses industries, posent de sérieux problèmes environnementaux [1]. Une grande partie de ces substances toxiques se retrouve dans les effluents [2]. Ces composés sont résistants aux méthodes traditionnelles de traitement des eaux usées [3]. Cette étude vise à montrer l'efficacité des matériaux photocatalytiques dans la dégradation de l'indigo carmine milieu aqueux. La méthodologie a consisté à préparer des matériaux d'argile contenant différentes concentrations de dioxyde de titane (TiO_2), allant de 0 à 50 %. Les tests de photocatalyse ont été réalisés en irradiant une solution d'indigo carmine de 52 μM en contact avec les matériaux à l'aide d'une lampe UV-A pendant 2 heures. Deux types de matériaux ont été utilisés : l'argile pure et le mélange argile- TiO_2 . Les résultats ont montré une dégradation significative du colorant, avec une diminution notable de la concentration de la solution, passant de 51 μM à 11 μM . Le matériau contenant 50 % d'argile et de TiO_2 a présenté un taux d'abattement de 80 %, soulignant son potentiel pour la dégradation de l'indigo carmine. Il serait intéressant d'étendre cette approche à d'autres polluants organiques présents dans les eaux contaminées.

Mots clés : *Argile, TiO_2 , Indigo carmine, Colorants.*

Removal of industrial dyes from water by photocatalysis on clay materials: the case of indigo carmine
Abstract

Synthetic dyes, widely used in various industries, pose serious environmental problems [1]. A significant portion of these toxic substances ends up in effluents [2]. These compounds are resistant to traditional wastewater treatment methods [3]. This study aims to demonstrate the effectiveness of photocatalytic materials in degrading indigo carmine in aqueous media. The methodology involved preparing clay materials containing different concentrations of titanium dioxide (TiO_2), ranging from 0 to 50%. Photocatalysis tests were conducted by irradiating a 52 μM indigo carmine solution in contact with the materials using a UV-A lamp for 2 hours. Two types of materials were used: pure clay and the clay- TiO_2 mixture. The results showed significant degradation of the dye, with a notable decrease in the concentration of the solution, from 51 μM to 11 μM . The material containing 50% clay and TiO_2 exhibited a reduction rate of 80%, highlighting its potential for the degradation of indigo carmine. It would be interesting to extend this approach to other organic pollutants present in contaminated waters.

Keywords: *Clay, TiO_2 , Indigo Carmine, dyes.*

1. Introduction

L'eau est une ressource vitale pour la vie sur Terre, mais les activités industrielles modernes ont entraîné une contamination croissante des sources d'eau par des produits chimiques nocifs, notamment des colorants synthétiques. L'un de ces colorants est l'indigo carmine, largement utilisé dans les textiles, les aliments et les produits pharmaceutiques. L'indigo carmine, aussi appelé indigotine, est un colorant synthétique largement utilisé dans de nombreux secteurs industriels tels que l'industrie textile, l'imprimerie et la teinture [1]. Il est apprécié pour sa teinte bleue profonde et sa stabilité chimique, ce qui en fait un choix populaire pour la coloration de divers produits [2]. Cependant, la libération de l'indigo carmine dans l'environnement peut poser des problèmes environnementaux importants [3]. Étant donné sa nature synthétique, il est difficilement biodégradable, ce qui signifie qu'il persiste longtemps dans l'eau et les sols une fois libéré [4]. Lorsqu'il se retrouve dans les cours d'eau ou les systèmes d'eaux usées, il entraîne une pollution des ressources hydriques [5]. La présence d'indigo carmine dans l'eau peut avoir des effets néfastes sur les écosystèmes aquatiques [6]. Il interfère avec la photosynthèse des plantes aquatiques, perturber l'oxygénation de l'eau et avoir un impact sur la vie marine, y compris les poissons et autres organismes aquatiques [7]. De plus, l'indigo carmine est toxique pour certains organismes vivants, ce qui aggrave encore les problèmes environnementaux associés à sa présence dans les eaux [8]. Il est donc impératif de développer des méthodes efficaces pour éliminer l'indigo carmine des eaux polluées [9]. L'élimination de ces

colorants des eaux usées est un défi majeur pour les systèmes de traitement de l'eau conventionnels, car ils sont stables et résistants à la dégradation. C'est pourquoi il est urgent de développer de nouvelles méthodes de traitement plus efficaces et respectueuses de l'environnement. La photocatalyse sur des matériaux en argile s'est révélée être une approche prometteuse pour l'élimination des colorants industriels. La photocatalyse est un processus dans lequel un catalyseur, activé par la lumière, accélère la réaction chimique de dégradation des polluants. Les matériaux en argile, en raison de leur structure cristalline unique, de leur surface élevée et de leur faible coût, sont des candidats idéaux pour servir de supports pour les photocatalyseurs. L'objectif de cette étude est de montrer l'élimination efficace de l'indigo carmine sur des matériaux composites argile-TiO₂.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériaux photocatalytiques

Les matériaux utilisés ont été des argiles photopréparées à partir d'un mélange de dioxyde de titane. Nous avons utilisé du Papier Alsthom. Ces matériaux ont été sélectionnés en raison de leurs propriétés photocatalytiques connues et de leur disponibilité dans les études antérieures. Chaque matériau présente des caractéristiques spécifiques qui pourraient influencer l'adsorption de l'indigo carmine

2.1.1. Préparation des matériaux d'argile

La poudre d'argile provient du sous-sol de la ville de Daloa. Les matériaux en argile ont été préparés en mélangeant de la poudre d'argile et du TiO₂ P25 DEGUSSA dans différentes proportions (10 % ; 20 % ; 30 % ; 40 % et 50 %). Chaque mélange a été homogénéisé avec 100 ml d'eau distillée. Les matériaux de forme circulaire ont été fabriqués puis calcinés au four à 400 °C pendant 2 heures (**Figure 1**).

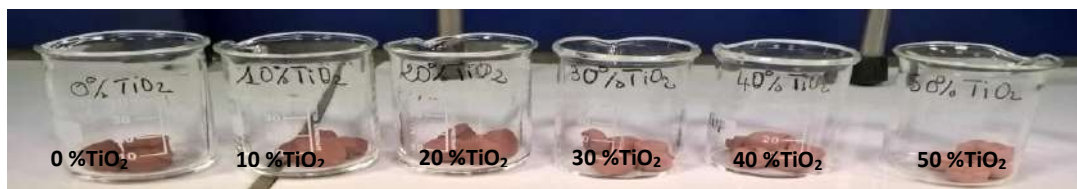


Figure 1 : Matériaux en argile provenant de la ville de Daloa

2.1.2. Description du papier Alsthom

Le papier a été enduit du TiO₂ de type PC 500 (18 g.m² de TiO₂) soit 0,61 g.L⁻¹ de TiO₂. Ce matériau a été conçu par la société Alstom en France. Une portion de ce papier de dimensions Longueur 38 cm x Largeur 8 cm a été découpée suivant les dimensions de la surface de base du réacteur horizontal. Il a été fixé sur plaque en verre (**Figure 2**).



Figure 2 : Papier Alsthom fixé sur une plaque de verre

2.2. Tests d'adsorption

Nous avons réalisé des tests d'adsorption avec les matériaux argile-TiO₂ et le papier Alstom. La solution d'un indigo carmine a été mise en contact avec chaque matériau (argile pure et Argile-TiO₂ et le papier Alstom). Le mélange a été agité à une vitesse constante pour permettre l'adsorption pendant 2 heures.

2.3. Tests photocatalytiques

2.3.1. Tests photocatalytiques avec les billes en argile

Pour les tests photocatalytiques, 5 g de matériaux ont été ajoutés à 50 ml de solution d'indigo carmine (à 50 %) dans des béchers. Les solutions ont été exposées à une irradiation UV-A pendant 2 heures. L'intensité a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible de marque SAFAS. Un échantillon de référence composé d'argile sans TiO₂ a été préparé pour servir de témoin comme un test de photolyse.

2.3.2. Protocole expérimental avec le papier Alstom

Dans le cadre d'une comparaison de l'efficacité de notre matériau, le papier Alstom a été utilisé au cours des activités photo catalytique, Pour cela, 5 g du papier Alstom ont été ajoutés dans un bécher. Ensuite, 50 mL d'une solution d'indigo carmine à 52 mol/L sont ajoutés au bécher contenant le photocatalyseur, l'indigo carmine étant une teinture qui agit comme un polluant modèle. Le bécher contenant le photocatalyseur et la solution de teinture est alors exposé à un rayonnement UV-A pendant 2 heures. Les concentrations résiduelles ont été mesurées avec le spectrophotomètre d'absorption UV visible.

2.4. Techniques analytiques

Le spectrophotomètre UV visible à double faisceau du modèle 190 DES (Double Energy Transfer) de la société SAFAS avec des cuves en quartz de 5 cm de trajet optique a été utilisé pour obtenir les spectres UV visibles du colorant. Le principe est basé sur la loi de Beer-Lambert. En effet, la loi de Beer-Lambert est une relation mathématique qui décrit l'absorption de la lumière par une solution en fonction de la concentration de la substance absorbante et de la longueur de trajet de la lumière à travers la solution. Elle peut être exprimée par l'équation 1 :

$$\text{Absorbance} = \epsilon \cdot l \cdot C \quad (\text{Equation 1})$$

où **A** est l'absorbance, ϵ est le coefficient d'extinction molaire (qui dépend de l'indigo carmine et de la longueur d'onde de la lumière), **l** est la longueur de trajet de la lumière à travers la solution et **C** est la concentration de l'indigo carmine.

2.5. Taux de dégradation d'indigo carmine

Le taux de dégradation de l'indigo carmine est donné par l'équation 2 :

$$\text{Taux de d'adsorption du colorant (\%)} = \frac{(C_0 - C_i)}{C_0} \times 100 \quad (\text{Equation 2})$$

Avec C_0 , concentration initiale de l'indigo carmine (μM), C_i : concentration résiduelle à l'instant t (μM).

3. Résultats et discussion

3.1. Caractéristiques photochimiques

La **figure 3** présente le spectre UV-visible de l'indigo carmine. Le spectre UV-visible de l'indigo carmine présente deux pics principaux, l'un à 304 nm et l'autre à 610 nm, qui sont associés à des transitions électroniques spécifiques dans la molécule. Le pic à 304 nm se situe dans la région UV du spectre électromagnétique et est lié aux transitions électroniques de haute énergie, telles que les transitions $\pi-\pi^*$ dans les composés aromatiques ou conjugués. Ce pic peut être attribué à une transition électronique dans le système conjugué de la molécule d'indigo carmine. Le pic à 610 nm se trouve dans la région visible du spectre électromagnétique. Cette région correspond à la couleur visible de la molécule. Les transitions responsables de ce pic sont généralement des transitions $n-\pi^*$ ou des transitions $\pi-\pi^*$ impliquant une plus faible énergie comparée aux transitions UV. Dans le cas de l'indigo carmine, ce pic est lié à la couleur bleue caractéristique de cette teinture, résultant de la structure conjuguée étendue qui absorbe dans le rouge-orange, donnant une couleur complémentaire. L'analyse du spectre UV-visible de l'indigo carmine permet de déterminer avec précision les longueurs d'onde d'absorption maximale, ce qui est essentiel pour évaluer l'efficacité de la décoloration lors des processus d'adsorption et de photocatalyse [11].

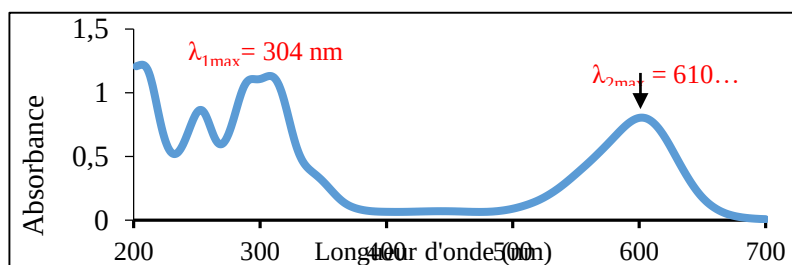


Figure 3 : Spectre UV visible de l'indigo carmine, $C_0 = 51 \mu\text{M}$, pH libre = 7

3.2. Spectres d'absorption de l'indigo carmine au cours de l'adsorption

La **figure 4** présente la cinétique d'absorption de l'indigo carmine sur les matériaux en argile et du papier Alstom. Le spectre UV-visible de l'indigo carmine après adsorption sur des matériaux en argile sans TiO_2 (0% TiO_2) et du papier Alstom ont été presque similaires. Cependant, l'absorbance maximale de ces pics semble être légèrement réduite pour les argiles + TiO_2 et le papier Alstom par rapport à celui de l'argile pure. Cette diminution des absorbances des différents des pics traduirait une interaction avec le matériau en argile. Cette légère diminution de l'absorbance des pics pourrait être attribuée à l'adsorption de l'indigo carmine sur l'argile. En effet, l'absorption de lumière par un composé, dans ce cas l'indigo carmine, est étroitement liée à son interaction avec les matériaux environnants [12]. Lorsqu'un composé est adsorbé ou capturé par des matériaux, cela se traduit généralement par un changement dans les

caractéristiques d'absorption de la lumière. Dans ce contexte, si les spectres d'absorption de l'indigo carmine en présence et en absence de matériaux en argile sont similaires, cela suggère que l'indigo carmine n'a pas été piégé ou retenu par les matériaux en argile [13]. Les propriétés d'adsorption ou d'interaction des matériaux en argile étudiés n'ont donc pas conduit à une modification significative du comportement d'absorption de l'indigo carmine.

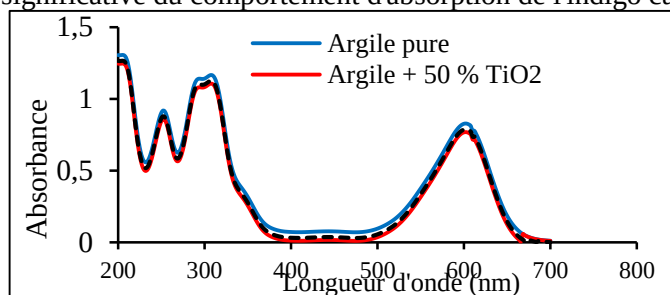


Figure 4 : Spectre d'absorption de l'indigo carmine sur les matériaux en argile sans TiO_2 (0% TiO_2), Argile – TiO_2 (50 %) et du papier Alstom

3.3. Photocatalyse de l'indigo carmine

La figure 5 présente la cinétique de dégradation de l'indigo carmine par photolyse et par photocatalyse avec une argile sans TiO_2 et une argile contenant 10 % de TiO_2 . Les résultats de la photolyse n'ont révélé aucune diminution significative de la concentration en indigo carmine. En revanche, la cinétique de la photocatalyse (Argile-10% TiO_2) met en évidence une dégradation rapide de la molécule colorante. La dégradation rapide observée lors de la photocatalyse met en évidence l'efficacité du système Argile-10% TiO_2 . Cette différence marquée par rapport à la photolyse souligne l'importance du catalyseur dans le processus de dégradation. En effet, lorsqu'il est excité par la lumière, le TiO_2 génère des radicaux hydroxyles ($\text{OH}^\bullet$) qui oxydent et minéralisent l'indigo carmine.

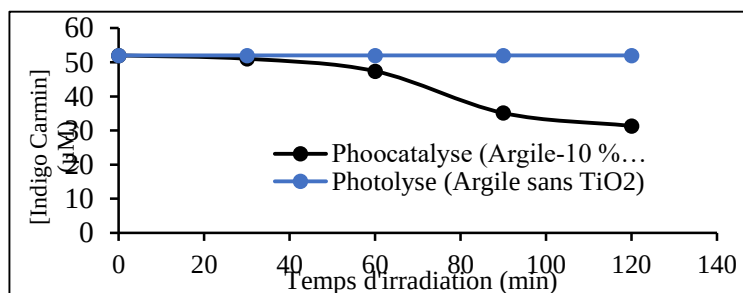


Figure 5 : Cinétique de dégradation de l'indigo carmine $C = 52 \mu\text{M}$, $T = 30^\circ\text{C}$, Argile sans TiO_2 , Argile+ 10 % TiO_2 .

3.3.1. Variation de la dose de TiO_2 dans les matériaux composites en argile

La figure 6 présente les spectres d'absorbance d'échantillons d'argile dopés à différentes concentrations de TiO_2 (0 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 % et 50 %). Deux pics d'absorption caractéristiques de l'indigo carmine sont observés à environ 304 nm et 610 nm. L'intensité de ces pics diminue progressivement avec l'augmentation de la teneur en TiO_2 . Cette diminution serait attribuée à la dégradation photocatalytique de l'indigo carmine induite par le TiO_2 . En effet, sous irradiation lumineuse, le TiO_2 a généré des espèces réactives qui dégradent les molécules organiques, telles que l'indigo carmine. L'augmentation de la concentration en TiO_2 a favorisé la formation de ces espèces réactives, accélérant ainsi le processus de dégradation. Les résultats ont montré que l'argile pure présente la moindre activité photocatalytique, tandis que l'échantillon contenant 50 % de TiO_2 a montré

la dégradation la plus importante de l'indigo carmine. Cette corrélation directe entre la concentration en TiO_2 et le taux de dégradation confirme l'efficacité du TiO_2 en tant que photocatalyseur dans ce système. En effet, l'absorbance mesure la quantité de lumière absorbée par le colorant, et lorsque cette absorbance diminue, cela indique une modification de la structure chimique ou physique de l'indigo carmine [4]; [14]. L'ajout de TiO_2 dans les matériaux d'argile pourrait augmenter l'efficacité de la photocatalyse en fournissant plus de sites actifs pour les réactions photochimiques [15]. Le dioxyde de titane agit comme un photocatalyseur, absorbant la lumière et générant des paires d'électrons et de trous d'électrons qui peuvent réagir avec les espèces présentes dans le système, dont l'indigo carmine [16], [17].

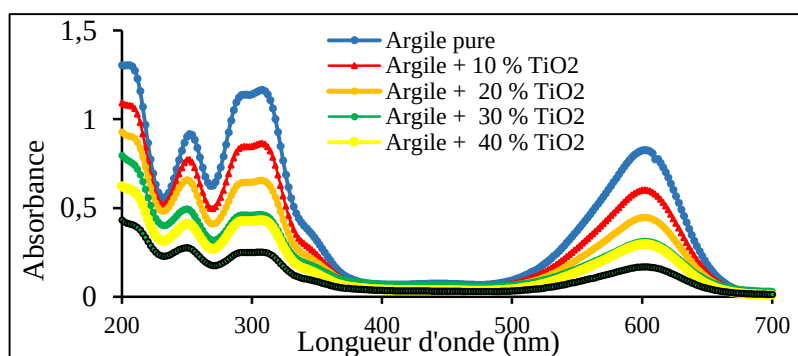


Figure 6 : Spectres d'absorption de l'indigo carmine à différentes doses de TiO_2

3.3.2. Évolution des taux d'abattement au cours de la photocatalyse

La **figure 7** illustre l'évolution de la concentration résiduelle d'indigo carmine en fonction de la teneur en TiO_2 des échantillons d'argile. Les résultats montrent une diminution significative de la concentration en colorant, passant de $52 \mu\text{M}$ à $11 \mu\text{M}$ après irradiation, soit une réduction d'environ 80 %. Les échantillons témoins (blanc et argile pure) présentent une faible dégradation de l'indigo carmine, tandis que la concentration de ce dernier diminue progressivement avec l'augmentation de la teneur en TiO_2 dans l'argile. L'échantillon contenant 50 % de TiO_2 affiche la dégradation la plus importante, avec un taux de décoloration atteignant près de 90 %. Ces résultats confirment l'effet photocatalytique du TiO_2 . En effet, sous irradiation, le TiO_2 génère des espèces réactives qui dégradent les molécules d'indigo carmine. L'augmentation de la teneur en TiO_2 dans les matériaux argileux améliore significativement leur capacité à catalyser cette réaction de dégradation, comme le soulignent également Ramos *al.* [18]. Ainsi, l'optimisation de la composition des matériaux photocatalytiques, en particulier en ajustant la teneur en TiO_2 , apparaît comme un levier pour améliorer l'efficacité de la dégradation de polluants tels que l'indigo carmine [19].

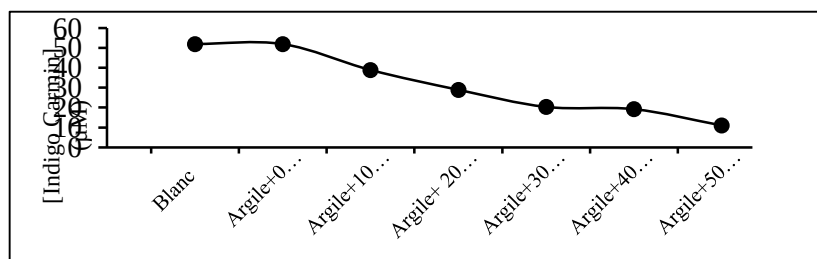


Figure 7 : Évolution de décoloration de l'indigo carmine en fonction du type de matériaux en argile, $C = 52 \mu\text{M}$

3.4. Comparaison des matériaux photocatalytiques

La **figure 8** montre les spectres d'absorption de trois échantillons différents : l'argile pure, l'argile

avec 50 % de TiO_2 et le Papier Alstom Ces résultats ont montré que le taux de décoloration de l'indigo carmine a été de 41,75 % pour le papier Alstom et de 80 % pour les matériaux en argile contenant 50 % de TiO_2 . Cela traduirait que pendant l'expérience, une partie significative de l'indigo carmine a été décolorée dans les deux cas. Cependant, les matériaux en argile contenant 50 % de TiO_2 ont montré une décoloration plus importante, avec un taux de 80 %.

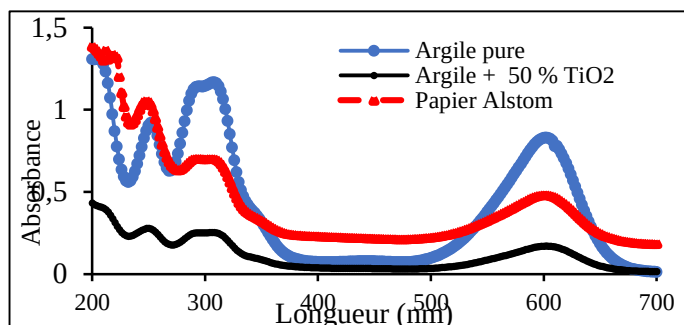


Figure 8 : Spectres d'absorption UV visible de l'indigo carmine de l'argile sans TiO_2 , l'argile-50 % TiO_2 et du papier Alstom

4. Conclusion

Les études ont démontré clairement l'efficacité des matériaux d'argile dopés au TiO_2 comme photocatalyseurs pour la dégradation de l'indigo carmine. L'irradiation UV a induit une dégradation significative du colorant, mettant en évidence le rôle primordial du TiO_2 dans la génération d'espèces réactives capables d'oxyder les molécules organiques. L'optimisation de la composition du matériau composite a permis d'identifier un mélange 50/50 argile/ TiO_2 offrant les meilleures performances en termes de taux d'abattement. Cette étude ouvre de nouvelles perspectives pour le développement de matériaux photocatalytiques à base d'argiles, présentant des avantages en termes de coût, d'abondance et de facilité de mise en œuvre, pour le traitement des eaux usées colorées

5. Bibliographie

- [1]. Qu R, Xu B, Meng L, Wang L, et Wang Z, Water research 2015;68 316-327.
- [2]. Palma-Goyes RE, Silva-Agredo J, González I, et Torres-Palma RA, Electrochimica acta 2014;140 427-433.
- [3]. Nguyen NQ, Jeong Y, Abelman L, Ryu J, et Sohn D, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2024;680 132631.
- [4]. Vautier M, Guillard C, et Herrmann J-M, Journal of Catalysis 2001;201 (1): 46-59.
- [5]. Modwi A, Elamin MR, Abdulkhair BY, Elamin NY, Ali Ben Aissa M, et Ben Said R, Inorganic Chemistry Communications 2023;158 111594.
- [6]. El Gaini L, Lakraimi M, Sebbar E, Meghea A, et Bakasse M, Journal of Hazardous Materials 2009;161 (2-3): 627-632.
- [7]. dos Anjos FS, Vieira EF, et Cestari AR, Journal of Colloid and Interface Science 2002;253 (2): 243-246.
- [8]. Subramani AK, Byrappa K, Ananda S, Lokanatha Rai KM, Ranganathaiah C, et Yoshimura M, Bulletin of materials science 2007;30 37-41.
- [9]. Ramesh TN, Kirana DV, Ashwini A, et Manasa TR, Journal of Saudi Chemical Society 2017;21 (2): 165-171.
- [10]. El-Mansy MAM, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2017;183 284-290.

- [11]. Roberts EL, Burguieres S, et Warner IM, *Applied Spectroscopy* 1998;52 (10): 1305-1313.
- [12]. Gamoudi S et Srasra E, *Journal of Molecular Structure* 2019;1193 522-531.
- [13]. Lafo CT, Essomba JS, Mouthe GAA, Ndi JN, et Bélibi PDB, *International Journal of Environmental Science and Technology* 2022;1-14.
- [14]. Abderrazek K, Uheida A, Seffen M, Muhammed M, Srasra NF, et Srasra E, *Clay Minerals* 2015;50 (2): 185-197.
- [15]. Hadjltaief HB, Bairq ZAS, Shi C, et Benzina M, *Surfaces and Interfaces* 2021;26 101395.
- [16]. Bentouami A, Ouali MS, et De Menorval L-C, *Journal of photochemistry and photobiology A: chemistry* 2010;212 (2-3): 101-106.
- [17]. Chong MN, Jin B, Chow CW, et Saint C, *Water research* 2010;44 (10): 2997-3027.
- [18]. Ramos RO, Albuquerque MV, Lopes WS, Sousa JT, et Leite VD, *Journal of Water Process Engineering* 2020;37 101535.
- [19]. Thi Mai Tho N, The Huy B, Nha Khanh DN, Quoc Thang N, Thi Phuong Dieu N, Dai Duong B, et Thi Kim Phuong N, *ChemistrySelect* 2018;3 (35): 9986-9994.

Adsorption du paracétamol sur charbon actif dérivé des noyaux de mangue

OURO-AGORO Faouzou ^{*,1,2,3}, TCHAKALA Ibrahim ¹, FIATY Koffi ³, CHARCOSSET Catherine ³, DOUGNA Akpéné Amenuvevega²

¹ Laboratoire d'Hydrologie Appliquée et Environnement, LHAE, Université de Lomé, Faculté Des Sciences, 01 BP 1515 Lomé, Togo.

² Laboratoire de Chimie Organique et Science de l'Environnement, LaCOSE, Université de Kara, Faculté Des Sciences et Techniques, BP 404 Kara, Togo.

³ Laboratoire d'Automatique, de Génie des Procédés et de Génie Pharmaceutique, LAGEPP, UMR CNRS 5007, Université Claude Bernard Lyon-1, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, F-69100 Villeurbanne, France.

*Correspondant : ouroagorofaouzou@gmail.com

Résumé :

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'un charbon actif dérivé d'un résidu agroalimentaire local (noyaux de mangue) en vue du traitement des eaux usées. Ce charbon actif a été préparé par un procédé de pyrolyse précédé d'une imprégnation chimique avec comme précurseur H_3PO_4 à 40%. Le taux d'imprégnation est de 1,5g d'acide/g de précurseur. La carbonisation est effectuée à 450°C pendant 90 min.

L'analyse BET du charbon donne une surface spécifique de 1235,06 m²/g et un volume des pores de 0,7108 cm³/g.

La réaction modèle étudiée est l'adsorption du paracétamol en solution aqueuse. La méthode batch a permis d'atteindre un temps de contact optimal de 35 min, d'étudier les influences de la concentration initiale, la température du milieu, la cinétique d'adsorption. L'étude des modèles cinétiques révèle que le modèle du pseudo-second ordre est le plus approprié pour décrire la cinétique d'adsorption du paracétamol sur le charbon actif synthétisé. Les isothermes d'adsorption obtenues sont décrites par les modèles de Langmuir et Freundlich. La variation de l'enthalpie libre d'adsorption déterminée est négative, indiquant ainsi la spontanéité de l'adsorption du paracétamol. Dans les conditions expérimentales utilisées, la capacité maximale d'adsorption du paracétamol par gramme d'adsorbant est de 65,4 mg/g.

Mots clés : charbon actif ; noyaux mangue ; adsorption ; paracétamol

Adsorption of paracetamol on activated carbon derived from mango pits

Abstract

In this work, we were interested in the synthesis of an activated carbon derived from a local agri-food residue (mango pits) for wastewater treatment. This activated carbon was prepared by pyrolysis process preceded by chemical impregnation with 40% H_3PO_4 as a precursor. Impregnation rate is 1.5g of acid/g of precursor. The carbonization is carried out at 450°C for 90 min.

BET analysis of this activated carbon gives a specific surface area of 1235.06 m²/g and a pore volume of 0.7108 cm³/g.

Model reaction studied is the adsorption of paracetamol in an aqueous solution. Batch method permits to achieve an optimal contact time of 35 min, to study the effects of initial concentration, the medium temperature, and the adsorption kinetics. The study of kinetic models reveals that the pseudo-second order model is the most appropriate to describe the kinetics of paracetamol adsorption on the synthesized activated carbon. Adsorption isotherms obtained can be described either by Langmuir model or Freundlich's one. The variation of the free enthalpy of adsorption determined is negative, thus indicating the spontaneity of the paracetamol adsorption phenomenon. Under the experimental conditions used, the maximum adsorption capacity of paracetamol per gram of adsorbent is 65.4 mg/g.

Keywords : activated carbon, mango pits, adsorption, paracetamol

1. Introduction

La valorisation des déchets et résidus agricoles est un enjeu majeur dans le but de réduire leur impact néfaste sur l'environnement et sur la pollution du sol, des eaux et de la nappe phréatique [1]. Le développement de certaines industries telles que pharmaceutiques, chimiques, pétrochimiques et agroalimentaires, conduit à la production de déchets. La consommation de médicaments dans les pays développés et en voie de développement est de plus en plus importante. La libération de ces polluants dans l'environnement affecte l'eau et le sol. Ces médicaments sont souvent présents à l'état de traces. Parmi les médicaments détectés à l'état de traces, on trouve les antidépresseurs, les antibiotiques, les contraceptifs, les antiépileptiques, les anti-inflammatoires, l'aspirine et le paracétamol. De nombreux médicaments à base de paracétamol sont en vente libre et couramment utilisés contre la douleur et la fièvre [2]. La consommation de médicaments est la principale source de rejet dans l'environnement. Après administration, le médicament est absorbé, métabolisé (transformé par l'organisme), excrété, puis rejeté dans les eaux usées [3] d'où l'intérêt de la présente étude qui porte sur la synthèse d'un charbon actif dérivé d'un résidu agroalimentaire local (noyaux de mangue) en vue du traitement des eaux usées. En effet, la mangue (*Mangifera indica* L.) est un fruit à fort potentiel nutritionnel et économique. Sa culture est adaptée à différentes zones agro-écologiques allant des zones sub-humides aux zones semi-arides [4]. Au Togo, elle est produite dans les cinq régions économiques. Les variétés essentielles produites sont *Kent*, *Palmer*, *Eldon* et *Somnole*. Sa production est estimée à 370 000 tonnes en 2019 [5]. La mangue est un produit de consommation directe pour le marché local

et extérieur. Elle est également destinée à la transformation. Il existe une dizaine d'unités de transformations certifiées sur le territoire togolais [6]. Après la transformation, les noyaux de mangue sont déversés dans les décharges constituant ainsi des déchets à valoriser.

2. Matériel et méthodes

2.1- Préparation du charbon actif

Les noyaux de mangue sont abondamment lavés à l'eau distillée puis séchés à température ambiante pendant 72 h. Elles sont ensuite broyées afin de réduire la taille de leurs particules.

Le broyat est introduit pour imprégnation dans une solution d'acide phosphorique avec des concentrations allant de 20 à 100% et un rapport massique variant de 1 à 3 g d'acide par g de noyaux de mangue. Le mélange est ensuite placé dans une étuve à une température de 105 °C pendant 24h pour imprégnation.

Les particules imprégnées ont été carbonisées dans un four (ADAMEL – LHOMARGY FR 50) à des températures (T_c) variant de 350 à 600°C et pendant 90 min. Afin d'éliminer les résidus éventuels de carbonisation, les charbons actifs sont lavés dans des solutions d'acide chlorhydrique 0,1 M puis rincés plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à pH constant. Les charbons ainsi lavés et rincés sont séchés à l'étuve à 105 °C pendant au moins 24 h, puis refroidis dans un dessiccateur et conservés à l'abri de l'air dans des flacons fermés hermétiquement.

Les paramètres optimaux de préparation obtenus sont : température de carbonisation de 450°C, concentration d'acide phosphorique 40% et rapport massique de 1,5. Ces paramètres sont appliqués pour élaborer un charbon actif qui sera ensuite utilisé dans l'adsorption du paracétamol en milieu aqueux.

2.2- Application du charbon actif dans l'élimination du paracétamol

Le paracétamol est utilisé comme polluant modèle pour tester l'efficacité du charbon actif synthétisé à l'adsorber des eaux résiduelles pharmaceutiques.

Les expériences d'adsorption du paracétamol sont réalisées en « méthode batch » dans des erlenmeyers de 200 ml, à température ambiante ($18 \pm 2^\circ\text{C}$) avec une vitesse d'agitation de 200 tours/min. Les influences du temps de contact, de la masse du charbon actif et de la concentration initiale en paracétamol ont été étudiées. Après un temps de contact suffisant pour atteindre l'équilibre, les solutions sont filtrées sur un micro filtre (0,2 μm) et analysées au spectrophotomètre UV afin de déterminer la concentration résiduelle en polluant. La quantité adsorbée Q_{ads} (mg/g) du paracétamol a été calculée par l'équation 1 :

$$Q_{ads} = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad \text{Equation 1}$$

Où C_0 et C_t en mg/L représentent respectivement les concentrations initiales et à l'instant t dans la solution, V le volume de la solution et m la masse de charbon actif. Le taux d'abattement est défini par :

$$\tau = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad \text{Equation 2}$$

3. Résultats et discussion

3.1- Influence du temps de contact

Une masse de 0,09g de charbon actif et 100 ml d'une solution de paracétamol à une concentration de 20 mg/L sont introduites dans un erlenmeyer de 250 ml, sous une agitation magnétique à 250tr/min. A l'intervalle de temps régulier, des prélèvements sont effectués et mesurés au spectrophotomètre.

Les courbes donnant l'évolution de la quantité instantanée adsorbée du paracétamol ainsi que l'évolution de l'abattement sont représentées sur la figure 1. Il y apparaît que la quantité adsorbée augmente rapidement dans les 20 premières minutes due à la diffusion extra particulaire, suivie d'une adsorption lente jusqu'à 50 min, caractérisée par une diffusion intra particulaire au cours de laquelle il y'a transfert de l'adsorbat sur à travers la surface interne de l'adsorbant. Au-delà de 50 min, la quantité adsorbée n'évolue quasiment, indiquant ainsi que l'équilibre est atteint. A l'équilibre la quantité de paracétamol adsorbée est de 23,32 mg/g ce qui correspond à un pourcentage d'abattement de 98,89%. Le temps de 50 min sera choisi comme temps de référence pour l'étude de l'influence de la dose d'adsorbant

3.2- Influence de la dose d'adsorbant

Dans différents erlenmeyers contenant initialement 100 ml d'une solution de paracétamol à une concentration initiale de 20 mg/l, sont introduites des masses d'adsorbant variant de 10 à 90 mg, sous agitation magnétique. Après 50 min d'agitation, les solutions sont filtrées puis dosées.

Sur la figure 2 est représentée le taux d'abattement en fonction de la masse introduite de charbon actif. Nous observons que le pourcentage d'adsorption de paracétamol augmente de 39,96% à 98,89% pour une masse variant de 10 à 90 mg soit une augmentation de la masse d'adsorbat à l'équilibre en fonction de la masse d'adsorbant. Ceci est dû au fait que plus la masse de l'adsorbant augmente plus la surface totale d'adsorption augmente et donc le nombre de sites actifs disponibles également.



Figure 1 : Effet du temps de contact sur le charbon **Figure 2 :** Effet de la masse de l'adsorbant actif ($C_0 = 20\text{mg/L}$, $m = 90\text{mg}$, pH libre, $T = 22^\circ\text{C}$)

3.3- Influence de la concentration initiale

Une même masse de 90 mg de charbon actif a été introduite dans trois erlenmeyers contenant chacun 100 mL d'une solution de paracétamol de concentrations initiales respectives 20, 30 et 50 mg/L et à pH libre. L'ensemble est agité dans les mêmes conditions de température pendant un temps supérieur au temps d'équilibre. Le résultat de cette étude est représenté sur la figure 3 sur laquelle on reporte l'évolution des quantités adsorbées en paracétamol en fonction du temps. Les quantités adsorbées à l'équilibre sont respectivement de : 23,32 ; 31,12 et 49,43 mg/g et augmentent avec la concentration initiale. Cela signifierait que l'adsorption de paracétamol dépend de sa concentration initiale.

3.4- Influence de la température

Une masse de 90 mg de charbon actif a été introduite dans trois erlenmeyers contenant chacun 100 mL d'une solution de 20 mg/L de concentration initiale en paracétamol. Les trois erlenmeyers sont portés à des températures respectives de 25, 35 et 45 °C et à pH libre. L'ensemble est agité pendant un temps supérieur au temps d'équilibre. Les résultats de cette étude sont représentés sur la figure 4. L'analyse des évolutions montre que l'adsorption du paracétamol est favorable à basse température.

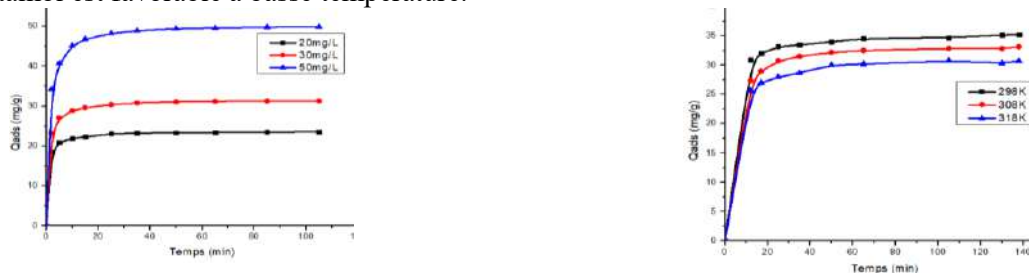


Figure 3 : Effet de la concentration initiale du paracétamol sur l'adsorption

Figure 4 : Effet de la température sur l'adsorption

3.5- Cinétique d'adsorption du paracétamol

Les modèles du pseudo-premier ordre de Lagergren et du pseudo-second ordre sont souvent utilisées dans l'étude des phénomènes d'adsorption pour la représentation des lois de cinétiques d'adsorption. Ces modèles sont décrits par leurs formes linéaires Equation 3 pour le modèle de pseudo-premier ordre et Equation 4 pour le modèle de pseudo-second ordre.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - k_1 t$$

Equation 3

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$$

Equation 4

avec q_e et q_t (mg/g) les quantités de paracétamol adsorbées respectivement à l'équilibre et à un temps t , et k_1 (min^{-1}), k_2 ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) les constantes cinétiques de la réaction d'adsorption.

Pour les deux modèles leur validité sera basée sur la valeur du coefficient de régression R^2 et sur la valeur prédite de q_e à partir de la régression linéaire qui sera comparée à celle obtenue expérimentalement. Les résultats sont résumés sur le tableau 1 pour la cinétique du pseudo-premier ordre et tableau 2 pour celle du pseudo-second ordre. L'analyse du tableau 1 montre que la valeur de R^2 ne convient pas au processus d'adsorption et que le q_e calculé est très différent du q_e expérimental. De ce fait le processus d'adsorption ne montre pas une bonne concordance avec une cinétique du pseudo-premier ordre.

Sur le tableau 2 nous observons que les valeurs de q_e prédite et expérimentale sont comparables et la valeur de R^2 est très élevée. Ainsi l'adsorption du paracétamol montre une bonne adéquation avec une cinétique de pseudo-second ordre.

Tableau 1 : Constantes cinétiques du pseudo-premier ordre pour l'adsorption du paracétamol

C_0 (mg/L)	$q_{e,exp}$ (mg/g)	$q_{e,cal}$ (mg/g)	k_1 (min ⁻¹)	R^2
20	23,32	5,79	0,0028	0,9098

Tableau 2 : Constantes cinétiques du pseudo-second ordre pour l'adsorption du paracétamol

C_0 (mg/L)	$q_{e,exp}$ (mg/g)	$q_{e,cal}$ (mg/g)	k_2 (g.mg ⁻¹ .min ⁻¹)	R^2
20	23,32	23,45	0,0921	0,9995

3.6- Etude des isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorptions jouent un rôle important dans la détermination des capacités maximales et dans l'identification du type d'adsorption devant se produire. Elles expliquent les équilibres entre le paracétamol adsorbé par l'adsorbant et le paracétamol présent en solution. La connaissance de la capacité d'adsorption est nécessaire pour la conception du système permettant d'éliminer le maximum de polluant. Les isothermes de type L (Langmuir) et de type H (Freundlich) d'après la classification de Giles et al.[7] sont souvent utilisées pour étudier l'effet de la concentration de l'adsorbant en solution en fonction de la capacité adsorbante du charbon actif. L'isotherme de Langmuir est utilisée pour décrire une adsorption en monocouche sur la surface de l'adsorbant, sa forme linéaire est exprimée par la relation suivante :

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{q_{max}K_L} \frac{1}{C_e}$$

Equation 5

où C_e (mg/L) est la concentration à l'équilibre en solution, q_e (mg/g) la capacité d'adsorption de l'adsorbant à l'équilibre, q_{max} (mg/g) la constante de Langmuir relative à la capacité d'adsorption de l'adsorbant et K_L (L/mg) la vitesse d'adsorption où la constante de l'équilibre d'adsorption de Langmuir. L'isotherme de Freundlich est utilisée pour décrire une adsorption sur la surface hétérogène de l'adsorbant, sa forme linéaire est exprimée par la relation suivante :

$$\ln(q_e) = \ln(K_F) + \frac{1}{n} \ln(C_e)$$

Equation 6

où C_e (mg/L) est la concentration à l'équilibre en solution, q_e (mg/g) la capacité d'adsorption de l'adsorbant à l'équilibre, K_F et n les constantes de Freundlich. Les résultats des constantes de Langmuir et de Freundlich obtenus à partir des équations (5) et (6) sont résumés sur le tableau 3 ci-dessous. Notre étude est réalisée à la température de 22°C ± 2°C

Tableau 3 : Paramètres d'adsorption des isothermes de Langmuir et Freundlich du paracétamol

Langmuir			Freundlich		
q_{max} (mg/g)	K_L (L/mg)	R^2	n	K_F ((mg/g)(L/mg) ^{1/n})	R^2
65,35	0,3863	0,975	1,75	7,85	0,964

Les valeurs des coefficients de corrélation des deux modèles sont proches. Les deux modèles peuvent être utilisés dans le domaine d'étude pour décrire l'isotherme d'adsorption du paracétamol sur notre charbon actif

Enfin la valeur de l'intensité d'adsorption ($n = 1,75$) du paracétamol calculé satisfait à la condition d'hétérogénéité ($1 < n < 10$).

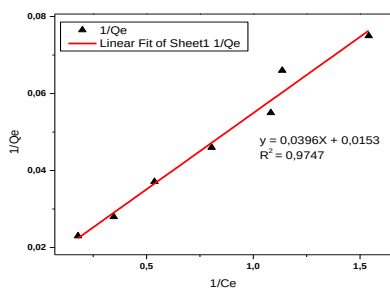


Figure 5 : Transformée linéaire de l'isotherme Langmuir Freundlich

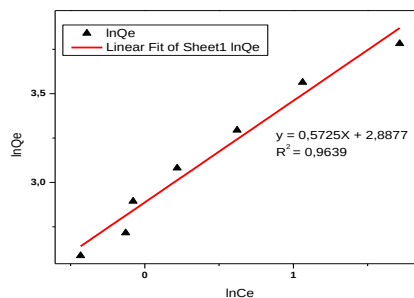


Figure 6 : Transformée linéaire de l'isotherme

4. Conclusion et perspectives

4.1- Conclusion

Cette étude présente un double aspect environnemental, d'une part, une valorisation de sous-produit naturel en l'occurrence les noyaux de mangue (gestion des résidus agro-alimentaires) et d'autre part une dépollution des eaux résiduelles (gestion des déchets liquides).

Il ressort de cette étude que le charbon actif synthétisé à partir des noyaux de mangue permet d'éliminer 98,89% de la concentration initiale (20mg/L) de paracétamol pendant une durée de 50 min (temps d'équilibre de la réaction).

Par ailleurs, l'adsorption du paracétamol sur le charbon actif synthétisé a été favorable. Le modèle cinétique du pseudo-second ordre donne une meilleure description de la cinétique de la réaction d'adsorption du paracétamol sur notre le charbon actif.

L'adsorption de paracétamol obéit à la fois aux isothermes d'adsorption de Freundlich et de Langmuir

4.2 - Perspectives

- Déterminer les caractéristiques physico-chimiques du charbon actif,
- Appliquer le charbon actif synthétisé dans la réduction de la charge organique globale (DCO) d'une eau résiduelle.

5. Remerciements

Les auteurs remercient tout le personnel de Laboratoire d'Automatique, de Génie des Procédés et de Génie Pharmaceutique (LAGEPP), ainsi que tout le personnel du laboratoire Catalyse, Polymérisation, Procédés et Matériaux (CP2M) de l'université de Lyon 1 en France, pour l'intérêt qu'ils ont manifesté au cours de la réalisation de ce travail.

Bibliographie :

- [1] I. TCHAKALA et al, « Traitement d'une eau naturelle polluée par adsorption sur du charbon actif (CAK) préparé à partir de tourteaux de karité », Article, Déchets sciences et Techniques N-72, p.6, 2016.
- [2] Žur J, Wojcieszynska D, Hupert-Kocurek K, Marchlewicz A, Guzik U. Paracetamol – toxicity and microbial utilization. Pseudomonas moorei KB4 as a case study for exploring degradation pathway. Chemosphere. 2018 ;206 :192–202.
- [3] Rabiet M, Togola A, Brissaud F, Seidel J-L, Budzinski H, Elbaz- Poulichet F. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized mediterranean catchment. Environ Sci Technol. 2006 ;40 :5282–8.
- [4] Grant W., Kadondi E., Mbaka M., Ochieng S. 2015. Opportunities for financing the mango value chain: A case study of lower eastern Kenya. Nairobi, Kenya : FSD Kenya, 52 p
- [5] Rapport annuel 2021 – 1^{er} Janvier au 31 décembre 2021, Système Régional de contrôle des Mouches des fruits en Afrique de l'Ouest (SyRIMAO)
- [6] « La filière mangue au Togo a le vent en poupe », Rapport, BREAKING News, Récépissé N°0010/HAAC, 13/01/2021.
- [7] E. Errais, « Réactivité de surface d'argiles naturelles : Etude de l'adsorption de colorants anioniques », Thèse, Université de Strasbourg, p.210, 2011.

Synthèses, caractérisation, diffraction par rayon X du complexe homobinucléaire du Pr (III), de base de schiff et d'ion acétate.

Mbossé Ndiaye-Gueye¹, Amar Diop¹, Papa Aly Gaye², Ibrahima Elhadji Thiam¹, Farba Bouyagui Tamboura³ and Mohamed Gaye^{1,*}

1 Department of Chemistry, University Cheikh Anta DIOP de Dakar, Senegal

2 Department of Chemistry, University Assane SECK de Ziguinchor, Senegal

3 Department of Chemistry, University Alioune DIOP de Bambey, Senegal

** Corresponding author e-mail: mbosse-ndiaye.gueye@ugb.edu.sn*

Résumé :

Cette étude visait à synthétiser des complexes de lanthanide en utilisant une base de Schiff (HL), le 1-(pyridin-2-yl)-2-(pyridin-2-ylméthylène) hydrazine polydenté contenant différents sites donneurs et présentant des propriétés physico-chimiques et biologiques très intéressantes pour générer des structures topologiques uniques avec des ions de lanthanide et des co-ligands. De nouveaux complexes binucléaires notés $[\{Ln(1-(pyridine-2-ylmethylidene-\kappa N)2-(pyridine-2-yl-\kappa N)hydrazine-\kappa N1)(\eta^2-OOCH_3)_2\}]\{\eta^1:\eta^2:\mu^2-OOCH_3\}_2$ $[\{Ln(1-(pyridin2-ylmethylidene-\kappa N)-2-(pyridin-2-yl-\kappa N)hydrazine-\kappa N1))(\eta^2-OOCH_3)_2\}](Ln = Y, Pr, Gd \text{ et } Er)$ ont été synthétisés et caractérisés par IR, analyse élémentaire, masse, RMN de H, conductance moléculaire et moment magnétique. Les études spectroscopiques ont révélé que la base HL agit comme un ligand de coordination N3 tridenté. Les complexes ont été caractérisés par analyse de diffraction et par une unité symétrique avec deux atomes neutres de ligand, deux ions, quatre ions acétate et trois molécules d'eau non coordonnées. La distance entre les atomes de Pr(III) est de 4,2777(6) Å et les angles de pontage Pr-O-Pr et O-Pr-O sont respectivement de 115,8(3)° et 64,2(3)°. La structure est stabilisée par des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires. L'étude a révélé que le ligand HL ainsi que tous les complexes avaient des activités antioxydantes et antibactériennes.

Mots clés : lanthanide; 2-hydrazinopyridine; 2-pyridinecarbaldehyde; X-ray structure.

Synthesis, characterizing, X-ray diffraction of the homobinucler complex of Pr (III), Schiff base and acetate ion

Abstract:

The aim of this study was to synthesize lanthanide complexes using a Schiff base (HL), polydentate 1-(pyridin-2-yl)-2-(pyridin-2-ylmethylene) hydrazine containing different donor sites and exhibiting highly interesting physicochemical and biological properties to generate unique topological structures with lanthanide ions and co-ligands. Novel binuclear complexes noted $[\{Ln(1-(pyridine-2-ylmethylidene-\kappa N)2-(pyridine-2-yl-\kappa N)hydrazine-\kappa N1)(\eta^2-OOCH_3)_2\}]\{\eta^1:\eta^2:\mu^2-OOCH_3\}_2$ $[\{Ln(1-(pyridin2-ylmethylidene-\kappa N)-2-(pyridin-2-yl-\kappa N)hydrazine-\kappa N1))(\eta^2-OOCH_3)_2\}](Ln = Y, Pr, Gd \text{ and } Er)$ were synthesized and characterized by IR, elemental analysis, masse, H NMR, molecular conductance and magnetic moment. Spectroscopic studies revealed that the HL base acts as a tridentate N3 coordination ligand. The complexes were characterized by diffraction analysis and by a symmetrical unit with two neutral ligand atoms, two ions, four acetate ions and three uncoordinated water molecules. The distance between PrIII atoms is 4.2777(6) Å and the Pr-O-Pr and O-Pr-O bridging angles are 115.8(3)° and 64.2(3)° respectively. The structure is stabilized by intra- and intermolecular hydrogen bonds. The study revealed that the HL ligand and all the complexes had antioxidant and antibacterial activities.

Keywords: lanthanide; 2-hydrazinopyridine; 2-pyridinecarbaldehyde; X-ray structure.

I- INTRODUCTION

La chimie de coordination des lanthanides a été largement étudiée par les chimistes au cours des deux dernières décennies [1,3]. Combinés à des co-ligands tels que la partie acétate, ces ligands permettent la préparation de composés de coordination polyvalents en contrôlant méticuleusement le processus [2,4]. En effet, le mode de coordination dépend des conditions de réaction. La complexation de ces types de ligands avec des ions métalliques améliore souvent les propriétés biologiques des complexes par rapport au ligand libre [5,6]. Les composés obtenus à partir du ligand hydrazone ont montré une activité antioxydante, antitumorale, antivirale et anti-inflammatoire. Plusieurs auteurs [7,8] ont utilisé un ligand analogue à la 1-(pyridin-2-yl)-2-(pyridin-2-ylmethylene) hydrazine en présence d'ions acétate pour préparer des composés de coordination. Notre groupe a déjà utilisé ce ligand en présence d'acétate de sodium et de nitrate de lanthanide hydraté pour préparer plusieurs complexes [9, 10]. Dans la présente étude, un mélange du ligand HL et de l'acétate de lanthanide hydraté donne des complexes homo dinucléaires de lanthanide (Y^{3+} , Pr^{3+} , Gd^{3+} , Er^{3+}) dans lesquels deux modes de coordination du groupe acétate sont observés : η^2-OOCH_3 et $\eta^1:\eta^2:\mu^2-OOCH_3$. La structure de $[\{Pr(1-(pyridine-2-ylmethylidene-\kappa N)-2-(pyridine-2-yl-\kappa N)hydrazine-\kappa N1)(\eta^2-OOCH_3)_2\}]\{\eta^1:\eta^2:\mu^2-OOCH_3\}_2$ $[\{Pr(1-(pyridin-2-ylmethylidene-\kappa N)-2-(pyridin-2-yl-\kappa N)hydrazine-\kappa N1)(\eta^2-OOCH_3)_2\}]\{3(H_2O)\}$ a été élucidée par diffraction aux rayons X.

II- MATERIELS ET METHODES

a- Matériaux de départ et instruments :

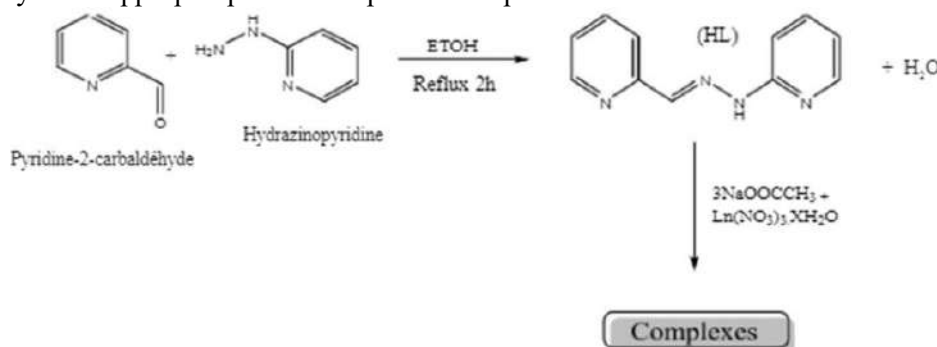
La 2-hydrazinopyridine, la 2-pyridinecarboxaldéhyde et l'acétate de lanthanide ont été achetés à Sigma-Aldrich et utilisés tels quels sans purification.

Tous les solvants utilisés étaient de qualité réactive.

Les analyses élémentaires de C, H et N ont été enregistrées sur un instrument VxRio EL. Les spectres Infrarouges ont été obtenus sur un spectromètre FTIR de Perkin Elmer dans la région 4000-400 cm^{-1} .

b- Synthèses et caractérisation des complexes d'Y (III), Pr (III), Gd (III) et Er (III):

Un mélange de 2-hydrazinopyridine (1 mmol) et de 2-pyridinecarboxaldéhyde (1 mmol) dans de l'éthanol (15 mL) a été agité à reflux pendant 30 minutes. Une solution éthanolique de $\text{Ln}(\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol) ($\text{Ln} = \text{Y}, \text{Er}; \text{Gd}, \text{Pr}$) dans l'éthanol (10 mL) a été ajoutée à la solution. Le mélange a été agité pendant 30 minutes et la solution jaune résultante a été filtrée. Le filtrat a été conservé à 298 K. Une poudre jaune est apparue au bout d'un jour et a été recueillie par filtration. La recristallisation dans une solution de méthanol a permis d'obtenir un cristal de diffraction des rayons X approprié pour le complexe ou le prisme.



III- RESULTATS ET DISCUSSIONS :

III-1 : Etude générale :

La bande forte attendue à environ 1630 cm^{-1} due à $\text{C}=\text{N}$ pour le ligand libre est déplacée vers les basses fréquences et apparaît dans la gamme 1600-1589 cm^{-1} dans les spectres de 1-4. Ceci indique l'implication de l'atome d'azote azométhine dans la coordination à l'ion lanthanide. Les bandes situées dans la gamme de fréquences 3285-3292 cm^{-1} dans les spectres des complexes 1-4 sont attribuées aux vibrations d'étirement N-H. Cette bande, qui est située à 3290 cm^{-1} dans le spectre du ligand libre, n'a pas été affectée par la coordination. Cela prouve que cet atome d'azote n'est pas impliqué dans la coordination. Les bandes IR des groupes acétates dans les spectres des complexes sont comparées à celles de l'acide acétique libre. Le spectre de l'acide acétique libre présente deux bandes principales à 1585 cm^{-1} et 1397 cm^{-1} , qui sont respectivement attribuées aux vibrations d'étirement $\text{vas}(\text{COO})$ et $\text{vs}(\text{COO})$ [2]. Lors de la coordination avec l'ion lanthanide, ces bandes ont été déplacées. Les $\text{vas}(\text{COO})$ se sont déplacés vers des fréquences élevées et se situent dans la gamme 1578-1582 cm^{-1} pour les complexes 1-4. La résonance symétrique se divise en deux composantes. Une bande apparaît à une fréquence plus élevée dans la région (1438-1145 cm^{-1}) tandis que l'autre bande apparaît à une fréquence plus basse (1375-1380 cm^{-1}) par rapport à la valeur $\text{vs}(\text{COO})$ de 1397 cm^{-1} dans l'acide acétique libre.

Ces observations indiquent la présence de deux modes de coordination différents des groupes acétates [11]. La présence de molécules d'eau dans les complexes entiers a été prouvée par des bandes fortes et larges qui apparaissent dans la gamme 3412-3429 cm^{-1} . La bande N-N apparaît à environ 1010 cm^{-1} .

Les valeurs du moment magnétique de 5,22 μB , 13,25 μB et 16,45 μB pour les complexes 2, 3 et 4 respectivement, s'écartent peu des valeurs théoriques rapportées pour les complexes trivalents. Les

conductivités molaires des complexes ont été mesurées dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour les solutions fraîchement préparées et après deux semaines de repos. Aucune variation des valeurs de conductivité n'est observée avec le temps dans le DMSO pour tous les complexes. Cela indique une grande stabilité de ces complexes d'acétate dans le DMSO. Les valeurs de ces conductances sont comprises entre 9 et 25 $\Omega \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ dans le DMSO et sont en accord avec la nature non électrolytique des complexes dans ce solvant [12]. Ces faits sont conformes aux spectres infrarouges, où les composés ont été formulés comme des complexes d'acétates neutres. Les comportements des complexes à l'état solide ne diffèrent pas de ceux des complexes en solution.

Echantillons	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{pyridine})$	$\nu_{\text{as}}(\text{COO})$	$\nu_{\text{s}}(\text{COO})$	$\Delta\epsilon$	VN O_3^-	$\nu(\text{N-N})$	$\delta\text{O-H}$
$[\text{Y}(\text{HL})(\text{OOCH}_3)_2] \cdot (\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$	3425	3290	1600	1582	1560	1448	112	1379	1134	827
$[\text{Pr}_2(\text{HL})_2(\text{OOCH}_3)_6] \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$	3420	3292	1595	1580	1558	1443	115	1380	1143	825
$[\text{Gd}_2(\text{HL})_2(\text{OOCH}_3)_6] \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$	3429	3288	1592	1580	1552	1440	112	1378	1143	823
$[\text{Er}(\text{HL})_2(\text{OOCH}_3)_2] \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$	3412	3285	1589	1578	1550	1435	128	1375	1143	820
Ligand HL			1635							

Tableau 1 : Données IR dérivant des complexes du ligand HL

Complexe	$\mu_{\text{eff}} (\mu\text{B})$	$\mu_{\text{eff}} (\mu\text{B})$ ion Ln^{3+} libre
$[\text{Y}(\text{HL})(\text{OAc})_2] \cdot (\text{NO}_3) \cdot (\text{H}_2\text{O})$	diamagnétique	–
$[\text{Er}(\text{HL})_2(\text{OAc})_2] \cdot (\text{NO}_3)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})$	9,52	9,58
$[\text{Pr}_2(\text{HL})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2(\text{NO}_3)_2$	6,3	3,58
$[\text{Gd}_2(\text{HL})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2(\text{NO}_3)_2$	15,5	7,94

Tableau 2 : Valeurs des moments magnétiques des complexes

Composés	$\chi (\text{cm}^3 \text{mol}^{-1})$	$\chi (\text{cm}^3 \text{mol}^{-1})$	Electrolyte
$[\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{YN}_4\text{O}_6] \cdot (\text{H}_2\text{O}) \cdot (\text{NO}_3)$	□□	□□	□□□
$[\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{ErN}_4\text{O}_6] \cdot (\text{H}_2\text{O}) \cdot (\text{NO}_3)$	□□	□□	□□□
$[\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{Pr}_2\text{N}_8\text{O}_{12}] \cdot 2(\text{NO}_3)$	□□	□□	□□□
$[\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{Gd}_2\text{N}_8\text{O}_{12}] \cdot 2(\text{NO}_3)$	□□	□□	□□□

Tableau 3 : Valeurs conductances des complexes

III.2. Structure moléculaire du complexe du Pr(III) :

Le complexe $[\{\text{Pr}(1\text{-(pyridine-2-ylméthylidène-}\kappa\text{N)}\text{-2-(pyridine-2-yl}\kappa\text{N)}\text{hydrazine-}\kappa\text{N1)} (\eta^2\text{-OOCH}_3)_2\}]$ cristallise dans un système triclinique avec un groupe spatial P-1.

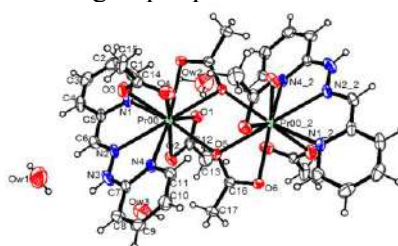


Figure 1 : Tracé ORTEP de la structure du complexe binucléaire de Pr(III)

Le complexe du Pr(III) impliquant deux acétates présente une structure construite à partir de deux entités identiques $\{\text{Pr}(1\text{-(pyridine-2-ylméthylidène-}\kappa\text{N)}\text{-2-(pyridine-2-yl}\kappa\text{N)}\text{hydrazine-}\kappa\text{N1)} (\eta^2\text{-OOCH}_3)_2\}$ pontés par deux anions acétates agissant en mode: $\eta^1:\eta^2:\mu_2\text{-OOCH}_3$ donnant lieu à un complexe homodinuéaire neutre. Chaque ion Pr(III) est coordonné par un ligand HL par l'intermédiaire de deux atomes d'azote pyridile et un atome d'azote imino. Chaque Pr est coordonné par deux groupes acétates chélateurs bidentates agissant en mode $(\eta^2\text{-OOCH}_3)_2$. Les distances Pr-O sont comprises entre 2,507 (7)-2,684 (8) Å et sont typiques d'un atome bidentate chélatant [13]. Les deux centres métalliques sont reliés par une paire d'atomes polaires disposés en $\eta^1:\eta^2:\mu_2\text{-OOCH}_3$. Deux valeurs de liaison typiques sont notées : 2,465Å (Pr00i-O5) et 2,531Å (Pr00-O6), la dernière étant plus fréquente. La plus grande distance est observée dans le mode $\eta^2\text{-OOCH}_3$, tandis que la plus petite est dans

le module $\eta 1:\eta 2:\mu 2\text{-ooCH}_3$. La présente étude met en évidence la longueur de liaison la plus élevée entre Pr et N, attribuée à l'atome d'azote dans l'anneau pyridinique substitué par l'hydrazino. Les liaisons C-O des groupes acétates coordonnés montrent un caractère intermédiaire entre une simple liaison C-O et une double liaison C=O. Les longueurs de liaison observées dans les complexes C=O sont très faibles. Pour les groupes acétates coordonnés, les longueurs de liaison C-O sont plus courtes que la liaison C-O, mais plus longues que celles d'une double liaison. La longueur de la liaison N2-C6 est compatible avec une double liaison. La longueur de liaison Pr---Pr est de 4,2777 Å. Dans l'ensemble, les longueurs de liaison observées dans cette étude se situent dans des fourchettes similaires à celles rapportées pour d'autres complexes dinucléaires de lanthanide utilisant le même ligand hydrazone. La chélation du ligand hydrazino sur le cation PrIII donne naissance à deux anneaux à cinq chaînons (PrNCNN et PrNCCN) avec des angles de morsure de 60,3(3)° (N1-Pr00-N2) et 59,6(3)° (N2-Pr00-N4). Les angles de liaison des ligands, sont légèrement plus grands que l'angle sous-tendu par les atomes d'oxygène des groupes acétates chélateurs bidentates : O3-Pr00-O4 = 48,39(3)° et O5—Pr00—O6=50.2(2)°.

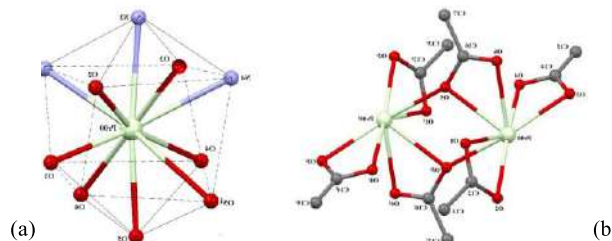


Figure 2. Tracé montrant le mode de pontage du groupe acétate (sphère autour de l'ion PrIII dans le cristal (a) et de l'ion de coordination dans le cristal (b)

III.3. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE :

Depuis leur apparition, les antibiotiques sont restés le moyen privilégié de lutte contre les infections bactériennes. Ce test a été motivé par le fait que les composés pyridiniques ont souvent des cycles aromatiques insaturés, utilisés comme agents bactériens. L'activité antibactérienne des solutions a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé citée [14]. On a mesuré l'activité antibactérienne des solutions en utilisant la diffusion dans un environnement contenant du glycérol. Tout d'abord, une évaluation a été réalisée à l'aide de tubes cylindriques afin de déterminer l'activité antibactérienne contre trois bactéries de référence : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Après avoir ajusté la turbidité de la suspension, on a placé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface avec du glycérol de Mueller Hinton à quatre reprises. On a ensuite écouvillonné la surface autour du glycérol. Les tubes à injection étaient remplis de solutions en DMSO et appliqués sur la surface cylindrique. L'activité antibactérienne a été évaluée à l'aide d'un système, déterminant le CMI. On repiqua différentes bactéries et on les incuba dans un pyetri tube à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées après une demi-heure. Le lendemain, la présence ou non d'une zone inhibitrice a été observé [15]. L'interprétation a été faite selon *Duraffourd et al.* et *Ponce et al.*, [16, 17].

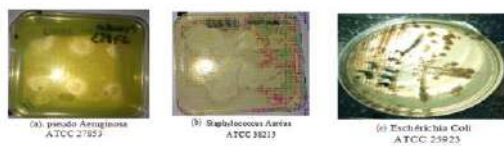


Figure 3 : Les différentes souches de références (*Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b) et *Escherichia coli* (c) en présence d'inoculum.



N.B : Nous avons travaillé avec les précipités pour certains complexes ci-dessous :

Référence.	HL	Pr	Sm	Er	Tb	Nd	Ce
<i>E. coli</i>	0,094	0,047	0,094	0,094	0,187	0,187	0,094
<i>Pseudo</i>	0,094	0,094	0,094	0,187	0,375	0,375	0,375
<i>S.aureus</i>	0,75	0,75	0,75	> 0, 75	> 0,75	> 0,75	> 0, 75

Tableau 4 : Valeurs des CMI des différents extraits en mg/L.

Ces valeurs montrent que les extraits sont actifs contre toutes les souches de référence mais ils le sont plus contre la bactérie *Escherichia coli*. Contre cette même bactérie, la solution du praséodymium est plus active que les autres.

IV. CONCLUSION :

Le but de ce travail a été de synthétiser un ligand organique tridentate à partir duquel, une série de complexes de lanthanides mononucléaires et homodinucéaires. Nous avons utilisé l'ion acétate, comme co – ligand pour la synthèse des complexes. Ceci nous a permis de nous rendre compte de la versatilité des co-ligands que nous avons utilisés qui peuvent avoir différents de modes de coordination. Des monocristaux ont été obtenus pour certains complexes. Nous les avons caractérisés par la diffraction aux rayons X (DRX) pour déterminer leurs structures cristallines. Nous avons effectués des tests d'activités antibactériennes sur quelques-uns des produits. Nous avons vu qu'ils sont tous actifs sur les trois souches *Pseudomonas aeruginosa* (référence: ATTC: 27853), *Escherichia coli* dont la référence est ATTC: 25923 et *Staphylococcus aureus* (référence: 38213) et que le complexe du Pradéodinium présentait une activité plus importante que les autres.

Les CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) représentant la concentrations minimale inhibitrice de 50% de bactéries, sont déterminés pour chaque extrait.

En perspective, nous comptons développer les études magnétiques pour ces complexes qui ont montré un excellent potentiel dans ce domaine. Les tests biologiques seront également poursuivis sur d'autres souches afin de voir s'il est possible de développer une application de ces molécules dans nos domaines d'études.

Références :

- [1]. Anastasiadis, N.C., Mylonas-Margaritis, I., Psycharis, V., Raptopoulou, C.P., Kalofolias, D.A., Milios, C.J., Klouras, N., & Perlepes, S.P. (2015). Dinuclear, tetrakis (acetato) bridged lanthanide (III) complexes from the use of 2-acetylpyridine hydrazone. *Inorganic Chemistry Communications*, 51, 99-102. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2014.11.004>
- [2]. Madanhire, T., Davids, H., Pereira, M.C., Hosten, E.C., & Abrahams, A. (2020). Synthesis, characterisation and anti cancer activity screening of lanthanide (III) acetate complexes with benzohydrazone and nicotinothydrazone ligands. *Polyhedron*, 184, 114560. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2020.114560>
- [3]. Mohanan, K., Kumari, B.S., & Rijulal, G. (2008). Microwave assisted synthesis, spectroscopic, thermal, and antifungal studies of some lanthanide (III) complexes with a heterocyclic bishydrazone. *Journal of Rare Earths*, 26, 16-21. [https://doi.org/10.1016/S1002-0721\(08\)60028-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0721(08)60028-9)
- [4]. Murase, M., Yamauchi, S., Sakamoto, S., Takahashi, S., Matsumoto, N., Tsuchimoto, M. (2013). Enantioselective aggregation and luminescence properties of Europium (III) and Terbium (III) complexes of an acetate and a tripodal ligand containing three imidazole groups. *Polyhedron*, 59, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.04.040>
- [5]. Di, Y., Cui, X., Liu, Y., Zhou, C., Ren, Y., Di, Y., Yang, X. (2019). Crystal structure, optical properties, and antibacterial activity of rare earth complexes with designed 2 carbonyl propionic acid-4-nitro benzoyl hydrazone. *Polyhedron*, 171, 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.07.036>
- [6]. Mohanan, K., Aswathy, R., Nitha, L.P., Mathews, N.E., Kumari, B.S. (2014). Synthesis, spectroscopic characterization, DNA cleavage and antibacterial studies of a novel tridentate Schiff base and some lanthanide(III) complexes. *Journal of Rare Earths*, 32, 379-388. [https://doi.org/10.1016/S1002-0721\(14\)60081-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0721(14)60081-8)
- [7]. Neves, A., Erthal, S.M.D., Vencato, I., Ceccato, A.S., Mascarenhas, Y.P., Nascimento, O.R., Horner, M., & Batista, A.A. (1992). Synthesis, crystal structure, electrochemical, and spectroelectrochemical properties of the new manganese (III) complex [MnIII (BBPEN)][PF₆] [H₂BBPEN = N, N'-bis(2-hydroxybenzyl)-N,N'-bis(2-methylpyridyl)ethylenediamine]. *Inorganic Chemistry*, 31, 4749-4755. <https://doi.org/10.1021/ic00049a008>
- [8]. Gregório, T., Rüdiger, A.L., Nunes, G.G., Soares, J.F., & Hughes, D.L. (2015). Crystal structure of an eight-coordinate Terbium(III) ion chelated by N,N'-bis-(2-hydroxybenzyl)-N,N'-bis-(pyridin-2-ylmethyl) ethylenediamine (bbpen²⁻) and nitrate. *Crystallographica E*, 71, 65-68. <https://doi.org/10.1107/S2056989014026826>
- [9]. Ndiaye-Gueye, M., Dieng, M., Thiam, E.I., Lo, D., Barry, A.H., Gaye, M., & Retailleau, P. (2017). Lanthanide(III) Complexes with Tridentate Schiff Base Ligand, Antioxidant Activity and X-Ray Crystal Structures of the Nd(III) and Sm(III) Complexes. *South African Journal of Chemistry*, 70, 8-15. <http://dx.doi.org/10.17159/0379-4350/2017/v70a2>
- [10]. Ndiaye-Gueye, M., Dieng, M., Thiam, I.E., Sow, M.M., Sylla-Gueye, R., Barry, A.H., Gaye, M., & Retailleau, P. (2017). Synthesis, characterization and antioxidant activity of lanthanide (III) complexes with tridentate Schiff base ligand. X-ray crystal structure of the Ce(III) complex. *Revue Roumaine de Chimie*, 62, 35-41. <http://revroum.lew.ro/wp-content/uploads/2017/1/Art%2005.pdf>

- [11]. Nakamoto, K. (1986). Infrared spectra of inorganic and coordination compounds (4th ed.). New York: John Wiley & Sons Inc.
- [12]. Geary, W.J. (1971). The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coordination Chemistry Reviews*, 7, 81-122. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0)
- [13]. Pan, Z.-Y., Chen, J.-H., Lin, J.-F., Xu, X., & Luo, Y.-F. (2010). Poly[(acetato- κ^2 O,O') aqua (μ -4-1-H-benzimidazole-5,6-dicarboxylato- κ^5 N3:O5, O5':O5,O6:O6) praseodymium(III)]. *Acta Crystallographica E*, 66, m1302. <https://doi.org/10.1107/S1600536810036986>
- [14]. Q. Meng, A. M. Cross, P. S. May, A. G. Sykes, M. T. Berry, *Acta Cryst. E* **67** (2011) m1514.
- [15]. F. Bssaibis, N. Gmira, M. Meziane, *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, **3** (2009) 44.
- [16]. C. Duraffourd, L. D'Hervicourt, J. C. Lapraz, «*Cahiers de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique, Eléments Thérapeutiques Synergiques*». 2^{ème} Edition, Masson (Paris), (1990) 87.
- [17]. A. G. Ponce, R. Fritz, C. del Valle, S. I. Roura, *LWT--Food Sci. Technol.* **36** (2003) 679.

Synthèse par recristallisation dans le DMF et caractérisation structurale par IR puis par DRX d'un nouveau monocristal β -octamolybdate $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$

Serigne Fallou POUYE^{1,2*}, Ibrahima Cisse^{1,2}, Waly DIALLO², Mamadou SISDIBE² et Sylvain BERNÈS³

¹Université Amadou Mahtar MBOU, Ecole Supérieure Polytechnique Diamniadio,
Département des Sciences et Techniques de l'Ingénieur, Dakar, Sénégal

²Laboratoire de Chimie Minérale et Analytique, Département de Chimie,
Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

³Instituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,
Av. San Claudio y 18 Sur, 72570 Puebla, Pue. Mexico.

*serigne.pouye@uam.edu.sn

Résumé :

La synthèse des polyoxométallates (POMs) occupe une place importante dans la chimie des matériaux inorganiques. Durant ces dernières décennies, les POMs suscitent davantage un engouement en chimie de synthèse inorganique pour leurs applications importantes dans plusieurs domaines tels que la médecine, la biologie, l'optique, traitement polycatalytique des polluants émergents ... Pour étendre les applications de cette variété de matériaux, nous nous sommes lancés dans leur synthèse.

Dans nos travaux, nous avons réalisé dans l'eau, la réaction de $(C_4H_9)_2NH$ sur H_2MoO_4 . La solution limpide obtenue est agitée pendant 1h. Après une semaine dans l'étuve à 60°C, de la poudre blanche s'est formée puis dissoute dans le DMF à reflux à 200°C pendant 2h avant d'être filtrée.

En évaporation lente, à température ambiante pendant 6 mois, le filtrat a donné des cristaux incolores caractérisés par IR et par DRX.

Le β -octamolybdate $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$ a une structure discrète avec huit centres métalliques Mo(V) à environnement octaédrique.

Cette étude nous a permis de découvrir l'importance capitale des POMs. Dans nos travaux ultérieurs, nous allons étudier les propriétés physico-chimiques de ce POM par des tests dans les domaines de la médecine, de la biologie, de la catalyse etc.

Mots Clés : monocristal ; octamolybdate ; IR ; rayon X

Abstract :

The synthesis of polyoxometallate (POMs) is an important part in inorganic materials chemistry. In recent decades, POMs have been increasingly popular in inorganic synthetic chemistry for their interesting applications in several fields such as medicine, biology, optics, polycatalytic treatment of emerging pollutants... To extend the applications of this variety of materials, we have embarked on their synthesis.

In our work, we have carried out the reaction of $(C_4H_9)_2NH$ on H_2MoO_4 in water. The resulting clear solution is stirred for 1 hour. After a week in the oven at 60°C, white powder formed and dissolved in reflux DMF at 200°C for 2 hours before being filtered.

In slow evaporation, at room temperature for 6 months, the filtrate produced colourless crystals characterized by IR and XRD. The β -octamolybdate $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$ has a discrete structure with eight metal centers Mo(V) in octahedral environment.

This study allowed us to discover the crucial importance of POMs. In our further work, we will study the physicochemical properties of this POM by tests in the fields of medicine, biology, catalysis etc.

Keywords: single crystal; octamolybdate; IR; x-ray

1. Introduction :

Au début du XIX^e siècle déjà, les travaux de Berzelius avaient révélé l'existence de l'ion dodécamolybdophosphate $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ [1]. Ce polyoxoanion a fait l'objet de bien d'applications prestigieuses en chimie analytique. Ces polyoxoanions sont d'un grand intérêt, de par leur solubilité indépendante de la nature polaire ou non des solvants. Ils sont également résistants à la chaleur et sont capables de transférer des électrons et des protons. Durant ces dernières décennies, les polyoxométallates (POMs) présentent une grande utilité en médecine, en optique, en chimie catalytique et dans l'étude des matériaux [2-8].

Dans nos travaux, nous avons synthétisé un octamolybdate correspondant à l'isomère β . Ce POM a été caractérisé par spectroscopie IR et diffraction des rayons X sur monocristal. Le composé synthétisé cristallise dans le système monoclinique avec le groupe d'espace. La structure est discrète avec huit centres métalliques Mo(V) ayant un environnement octaédrique.

2. Matériel et méthodes :

Pour la synthèse de cet octamolybdate, nous avons utilisé des réactifs d'origine Merck et Aldrich sans aucune purification supplémentaire. Les méthodes utilisées pour la caractérisation structurale sont la spectroscopie IR et la

diffraction des rayons X sur monocristal. La synthèse de β -octamolybdate obtenu consiste à réaliser, en milieux aqueux, une réaction acido-basique de la diisobutylamine sur de l'acide molybdique dans un ratio 2 :1. La solution limpide obtenue est mise en évaporation à température pour donner de la poudre blanche au bout d'une semaine. Cette poudre est dissoute à son tour dans le Diméthylformamide (DMF) par chauffage à reflux à 200°C. Après filtration, le filtrat est mis en évaporation à température pendant 06 mois avant de donner des monocristaux incolores. Les étapes de synthèse sont représentées par le schéma I.

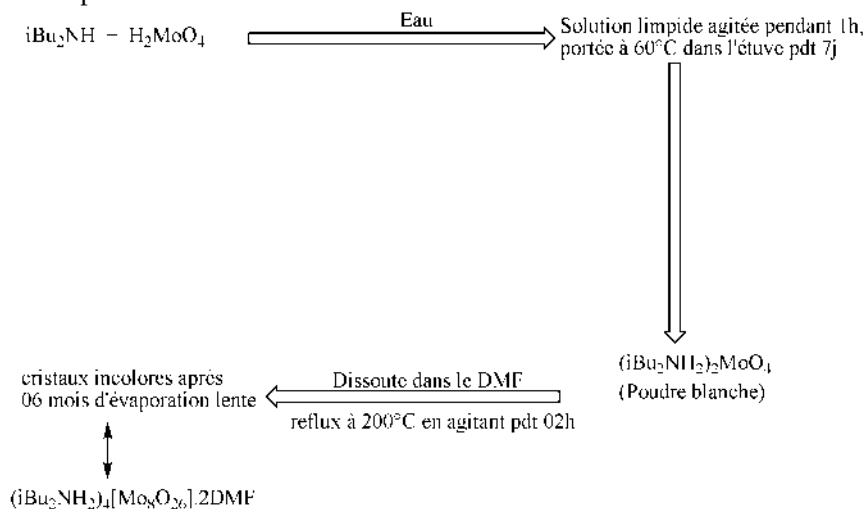


Schéma I : Synthèse de $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26}.2DMF$

3. Résultats et discussion :

3.1. Caractérisation structurale par spectroscopie IR :

3.1.1. Caractérisation structurale par spectroscopie IR de $[(C_4H_9)_2NH_2]_2MoO_4.2H_2O$

Le spectre infrarouge de $[(C_4H_9)_2NH_2]_2MoO_4.2H_2O$ est représenté à la figure I et les principales bandes caractéristiques sont consignées dans le tableau I.

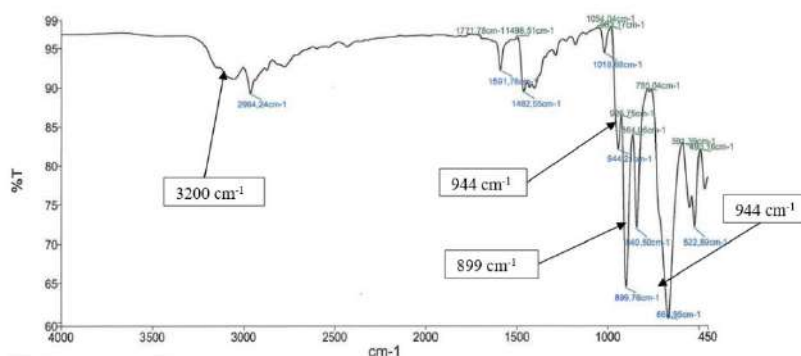


Figure I : spectre IR de $[(C_4H_9)_2NH_2]_2MoO_4.2H_2O$

Tableau I : Bandes caractéristiques en IR de $[(C_4H_9)_2NH_2]_4MoO_4.2H_2O$

F : bande forte ; TF : bande Très Forte ; m : bande moyenne ; f : bande faible

La faiblesse de ν_1 montrent que la symétrie de

Bandes	$\nu_1(Mo-O)$	$\nu_2 \nu_1(Mo-O)$	$\nu_3 \nu_1(Mo-O)$	ν_{OH}	ν_{NH_2}
IR(cm^{-1})	944 f	-----	840 F 899 TF 688 TF	2964 m	3200 f

et l'absence de ν_2 géométrie que la

$[(C_4H_9)_2NH_2]_4MoO_4.2H_2O$ est Td. L'apparition d'une bande à 3200 cm^{-1} correspondant à ν_{NH_2} montre la présence du cation.

3.1.2. Caractérisation structurale par spectroscopie IR de $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$

Le spectre infrarouge de $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$ est représenté à la figure II et les principales bandes caractéristiques sont consignées dans le tableau II.

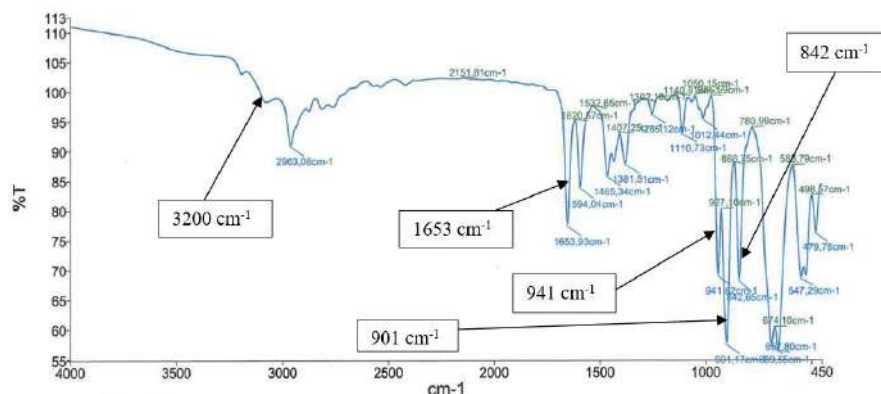


Figure II : spectre infrarouge de $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$

Tableau II : Bandes caractéristiques en IR de $[(C_4H_9)_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$

Bandes	$\nu_1(Mo=O)$	$\nu_3(Mo-O)$	ν_{OH}	ν_{NH}	$\nu_{C=O}$
IR(cm^{-1})	941 F 901 TF	842 F 674 TF	2964 m	3200 f	1653F

La présence ν_1 sous forme d'une forte bande révèle que la symétrie de l'anion n'est pas Td. La bande forte à 1653 cm^{-1} sous forme de bande forte montre la présence de $\nu_{C=O}$.

Pour avoir une idée plus claire de la géométrie du composé, nous avons fait appel à la DRX.

3.2. Caractérisation par diffraction des rayons X :

Les données cristallographiques montrent que le POM est un système cristallin monoclinique de groupe d'espace $P2_1/n$. Les paramètres de maille sont : $a = 11.3549(5)\text{Å}$; $b = 15.7584(5)\text{Å}$; $c = 18.5268(8)\text{Å}$; $a = 90^\circ$; $b = 93.331(4)^\circ$ et $\gamma = 90^\circ$. La multiplicité $Z = 2$ révèle deux unités asymétriques par maille. Dans le tableau III, sont consignées les longueurs des liaisons hydrogène de type $NH\cdots O$.

Tableau III : Les longueurs des liaisons hydrogène

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	$\angle(DHA)$
N(1)-H(1D)...O(1)	0.89	2.25	3.074(5)	154.5
N(1)-H(1E)...O(5)	0.89	2.18	3.053(6)	166
N(2)-H(2E)...O(12)	0.89	1.90	2.790(5)	173.1
N(2)-H(2D)...O(14)#2	0.89	1.96	2.825(6)	163.5

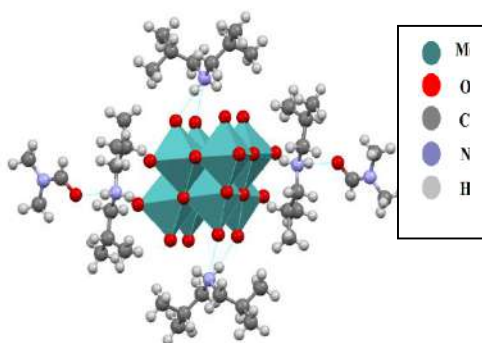


Figure III : Structure discrète de $[iBu_2NH_2]_4Mo_8O_{26} \cdot 2DMF$ liaisons hydrogène de type $NH\cdots O$

Le POM $[\beta-Mo_8O_{26}]^{4-}$ est constitué par huit octaèdres MoO_6 interconnectés via un partage d'arêtes (Figure IV). Les longueurs des liaisons Mo-O, dans ces octaèdres, dépendent du type d'atome d'oxygène impliqué. Ainsi,

elles sont comprises entre 1,686(3) et 1,746(3) Å pour les atomes d'oxygène terminaux (Mo=O), entre 1,913(3) et 1,995(3) Å pour les atomes d'oxygène formant les ponts Mo-O-Mo, entre 2,172(3) et 2,490(3) Å, pour les atomes d'oxygène tricoordinés O-(Mo)₃ et entre 3,2039(5) et 3,2106(5) Å pour les atomes d'oxygène tétracoordinés O-(Mo)₄. Ces longueurs de liaison dans l'anion β -[Mo₈O₂₆]⁴⁻ sont en bon accord avec ceux trouvées dans la littérature [10-11]. Ces données cristallographiques confirment les données infrarouges avec l'absence de symétrie Td.

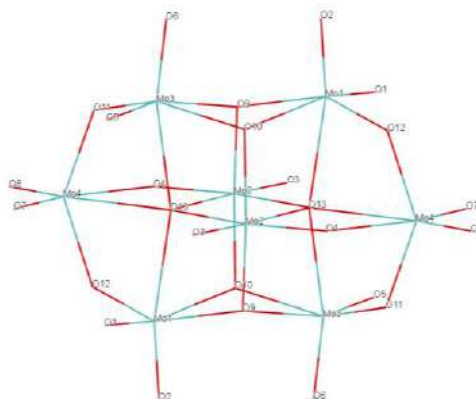


Figure IV: Structure du β -octamolybdate [Mo₈O₂₆]⁴⁻

4. Conclusion :

Ce travail nous a permis de découvrir l'importance capitale que revêtent les POMs avec leurs applications dans différents domaines de la science.

Nous avons également étudié le pouvoir coordinant du polyoxoammon [β -Mo₈O₂₆]⁴⁻. Des techniques de caractérisation IR et DRX nous a permis de déterminer la structure de ce nouveau POM synthétisé. Le rôle du cation et du solvant de recristallisation a été déterminant dans la cohésion du composé via des liaisons hydrogène de type NH---O entre le POM et l'anion d'une part et d'autre entre le POM et le DMF.

Dans nos travaux ultérieurs, nous allons mettre l'accent sur les propriétés physico-chimiques de ce POM synthétisé en faisant des tests d'applications dans les domaines de la médecine, de la biologie, de la catalyse entre autres.

5. Bibliographie :

- [1]. Berzelius, J. J., *Poggendorff Ann. Phys. Chem.*, **1826**, 6, 369.
- [2]. Keggin, J. F., *Nature*, **1933**, 131, 908. Données SciFinder en Juin 2018. Charlot, G., *Les Méthodes de la Chimie Analytique : Analyse Quantitative Minérale*, Masson, Compagnie Ed. (ed.), **1966**.
- [3]. Demaster, E.; Mitchell, R., *Biochem. Arch.*, **1987**, 3 (3), 301.
- [4]. Hasenknopf, B., *Front. Biosci.*, **2005**, 10 (1-3), 275.
- [5]. Pope, M. T.; Müller, A. E., *Polyoxometalates : From Platonic Solids to Antiretroviral Activity*, Kluwer Academic Publishers, **1994**.
- [6]. M.; Gouzerh, P.; Cochet, C., *Chemistry & biology*, **2008**, 15 (7), 683.
- [7]. Y. Guo et al., « Microporous Polyoxometalates POMs/SiO₂ : Synthesis and Photocatalytic Degradation of Aqueous Organochlorine Pesticides », *Chem. Mater.*, vol. 12, no 11, p. 3501-3508, **2000**.
- [8]. She, S.; Bian, S.; Hao, J.; Zhang, J.; Zhang, J.; Wei, Y. Aliphatic Organoimido Derivatives of Polyoxometalates Containing a Bioactive Ligand. *Chem. - Eur. J.* **2014**, 20, 16987-16994.
- [9]. Ai, H.; Wang, Y.; Li, B.; Wu, L., *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2014, **2014** (17), 2766.
- [10]. R. Ksiksi, M. Graia, A. Driss, J. Soc. Chim. Tunisie, **2007**, 9, 71-84.
- [11]. M. Hajji, Thèse de Doctorat en chimie, Faculté des Sciences de Tunis, **2008**.

Electrodéposition de l'étain, du sélénium et du séléniure d'étain en milieu chlorure de choline-glycérol (1 :2)

Lassina SORO¹*, Fousséni SOMA², Moussa BOUGOUMA³

1 Université Norbert ZONGO (UNZ), Avenue Maurice Yaméogo (Rue de l'indépendance), BP 376 Koudougou, Burkina Faso

2 Université libre de Bruxelles (ULB), Chemistry of Surfaces, Interfaces and Nanomaterials,

Faculté des Sciences, Boulevard du Triomphe, 2, CP 255, B-1050 Bruxelles, Belgique

3 SURF–Research Group Electrochemical and Surface Engineering, Vrije Universiteit Brussel, Pleinlaan 2, 1050 Brussels, Belgium

** lsoro74@gmail.com*

Résumé :

L'électrochimie de Sn(II), Sn(IV) et Se(IV) dans le solvant eutectique profond chlorure de choline-glycérol a été étudiée sur du carbone vitreux à 110 °C par diverses méthodes électrochimiques, notamment la voltampérométrie cyclique, la chronopotentiométrie et la chronoampérométrie. Le couple Sn(IV)/Sn(II) présente une cinétique électrochimique très lente, de sorte que la réduction de Sn(IV) se déroule essentiellement directement en Sn(0) par un processus 4 e⁻, même si le potentiel du couple Sn(IV)/Sn(II) est plus positif que le couple Sn(II)/Sn(0). En raison de cette séquence de potentiels, la réaction de comproportionation Sn(IV) + Sn(0) → 2Sn(II) a lieu lorsque l'étain élémentaire est déposé à partir de la solution de Sn(IV). L'électrodéposition de l'étain se déroule par un processus de nucléation instantané avec Sn(II) alors qu'un mécanisme de nucléation progressif est observé avec Sn(IV). En présence à la fois de Sn(IV) et de Se(IV) en solution, les caractéristiques voltampérométriques associées à la formation d'un composé Sn-Se sont clairement identifiées ainsi que la plage de potentiel appropriée dans laquelle le composé peut être déposé sans co-dépôt d'étain élémentaire est déterminé, comme le confirment les images SEM et les analyses EDX.

Mots Clés : électrodéposition ; Sn-Se ; comproportionation ;

Abstract :

The electrochemistry of Sn(II), Sn(IV), and Se(IV) in the choline chloride-glycerol deep eutectic solvent was investigated on glassy carbon at 110 °C by various electrochemical methods including cyclic voltammetry, chronopotentiometry, and chronoamperometry. The Sn(IV)/Sn(II) couple displays very slow electrochemical kinetics, so that the reduction of Sn(IV) essentially proceeds directly to Sn(0) through a 4 e⁻ process, even if the potential of the Sn(IV)/Sn(II) couple is more positive than the Sn(II)/Sn(0) couple. Because of this sequence of potentials, the comproportionation reaction Sn(IV) + Sn(0) → 2Sn(II) takes place when elemental tin is deposited from the Sn(IV) solution. The electrodeposition of tin proceeds through an instantaneous nucleation process with Sn(II) whereas a progressive nucleation mechanism is observed with Sn(IV). In the presence of both Sn(IV) and Se(IV) in solution, voltammetric features associated with the formation of a Sn-Se compound are clearly identified and the suitable potential range where the compound can be deposited without co-deposition of elemental tin is determined, as confirmed by SEM images and EDX analyses.

Keywords : électrodéposition ; Sn-Se ; comproportionation ;

Introduction

Le monoséléniure d'étain SnSe et le diséléniure d'étain SnSe₂ sont des composés semi-conducteurs possédant des propriétés intéressantes pour les applications de cellules solaires et peuvent servir de précurseurs dans la synthèse de films minces de séléniure de cuivre, de zinc et d'étain (CZTSe). Le SnSe présente des propriétés thermoélectriques très prometteuses et a également été identifié comme un matériau d'anode intéressant pour les batteries Li-ion [1]. Bien que les films minces de séléniures d'étain soient le plus souvent préparés par des méthodes de dépôt en phase vapeur, l'électrodéposition est un moyen efficace de synthétiser des films dans des conditions bien contrôlées. L'électrodéposition de séléniures d'étain à partir de solutions aqueuses est un défi. Une réaction redox spontanée entre Sn(II) et Se(IV) provoque l'instabilité de la solution [2, 3]. Pour éviter cette réaction, le dépôt séquentiel a été proposé par certains [2], tandis que d'autres groupes ont eu recours à des agents complexants tels que l'EDTA [4, 5] ou l'oxalate [6]. Les potentialités des solvants eutectiques profonds (DES) comme supports d'électrodéposition sont désormais bien documentées [7-9]. En raison de leur fenêtre de potentiel relativement large, de leur faible volatilité, de leur bonne conductivité et de leurs capacités de solubilisation élevées des précurseurs métalliques, ils suscitent un intérêt toujours croissant de la part de la communauté de l'électrodéposition. Dans le cadre de la présente étude, la possibilité de travailler à des températures élevées sans évaporation significative est un avantage clé car elle permet de diminuer la viscosité du milieu, d'accélérer la cinétique des processus de dépôt et de donner accès à des produits stables uniquement à ces températures. C'est par

exemple le cas du sélénium élémentaire, qui est amorphe à température ambiante mais cristallise sous forme trigonale conductrice à des températures supérieures à environ 20°C. 70 °C. Dans des rapports précédents, il a été montré que l'électrodéposition contrôlée de séléniures métalliques peut être réalisée dans des milieux DES contenant à la fois un sélénium et des précurseurs métalliques [10, 11]. L'électrodéposition du sélénium [12, 13] et de l'étain [14-21] a déjà été étudiée dans divers DES, mais le dépôt d'un composé binaire Sn-Se n'a pas été rapporté dans de tels solvants. Dans la présente étude, l'eutectique profond chlorure de choline-glycérol (ChCl-Gly), considéré comme un système de solvant durable [22], a été choisi.

1. Matériel et méthodes

Le solvant eutectique profond (SEP) a été obtenu en mélangeant du chlorure de choline [(HOC₂H₄N(CH₃)₃Cl : (ChCl) (Aldrich ; +98 %)] et du glycérol bidistillé [(HOCH₂CH(OH)CH₂OH) : (Gly) (VWR ; 99,5%)] dans un rapport molaire 1:2 à 110°C, sous agitation magnétique pendant 2 heures jusqu'à obtenir un liquide homogène transparent. Le glycérol a été utilisé tel que reçu, le ChCl a été purifié par recristallisation dans l'éthanol absolu, filtré et séché sous vide. Le SeO₂ (Merck), SnCl₂.2H₂O (Aldrich) et SnCl₄.5H₂O (APPOLO SCIENTIFIC) étaient de qualité analytique et utilisés tels que reçus. Ils ont été pesés et ajoutés directement au début de la préparation du SEP. À 110°C, Le ChCl-Gly préparé est incolore et le mélange de ChCl-Gly avec SeO₂, SnCl₂.2H₂O, SnCl₄.5H₂O et SeO₂ et SnCl₄.5H₂O sont également incolores. Les expériences électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'un système à trois électrodes connectées à un potentiostat Autolab PGSTAT302 (Metrohm). Le logiciel Nova 2.1.5 a été utilisé pour l'acquisition et le traitement des données. L'électrode de travail était un disque de carbone vitreux (GC) (BASi, surface géométrique = 0,0707 cm²) et la contre-électrode était une grille de platine de grande surface. Comme électrode de quasi-référence, un argent a été utilisé, inséré dans un tube de verre fritté contenant du ChCl-Gly. Avant chaque série d'expériences, l'électrode de travail a été polie avec une suspension de particules d'alumine-eau de 1,0 µm sur un chiffon de polissage lisse (Struers), puis soniquée deux fois pendant 10 minutes et rincée à l'eau Milli-Q pour éliminer toute trace d'alumine, et enfin séché sous azote. La contre-électrode de platine a été nettoyée par flambage jusqu'à une lueur rouge.

2. Résultats et discussion

2.1. Effect and choice of the temperature

La figure 1 présente l'influence de la température sur les voltampérogrammes de SeO₂, SnCl₂.2H₂O et SnCl₄.5H₂O dissous à une concentration de 10 mmolal dans le mélange ChCl-Gly. Les voltampérogrammes de Sn (IV), Sn (II) et Se (IV) montrent des caractéristiques voltampérométriques dont les intensités augmentent avec la température, ce qui est cohérent avec la cinétique plus rapide attendue et l'augmentation de la conductivité avec la température. Pour Sn(II), le pic cathodique TC1 est significativement décalé dans le sens positif lors de l'augmentation de la température, alors que le déplacement de TC1 est modéré pour Sn(IV). Ceci indique une cinétique plus lente dans le premier cas et, par conséquent, une boucle de nucléation prononcée est perceptible sur les voltampérogrammes de Sn (II). Les positions des pics anodiques TA1 ne sont pas affectées de manière significative par la température, tandis que celle du pic TA2 se déplace légèrement dans le sens négatif. Pour Se(IV), les pics cathodiques SC1 et SC2 et le pic anodique SA2 se déplacent dans le sens positif lorsque la température augmente, contrairement au pic SA1 qui se déplace légèrement dans le sens négatif. Dans l'ensemble, les voltampérogrammes de Se(IV) deviennent plus définis à des températures ≥ 80°C. On sait que le sélénium adopte des propriétés cristallographiques différentes selon la température. On le trouve sous forme cristallographique trigonale à haute température (≥ 80°C) et sous forme amorphe à basse température [1],[2]. L'électrochimie du sélénium dans le ChCl-éthylène glycol [12] et le ChCl-urée DES [13] a été documentée, à partir de laquelle les pics SC1 peuvent être attribués à la réduction de Se (IV) en Se (0), tandis que le pic SC2 implique la réduction du sélénium à l'état Se(-II). Le pic SA1 est lié au stripping anodique du sélénium. Le petit pic SA2 est provisoirement attribué au couple Se(-II)/Se(0). Une température de 110°C a été choisie pour la suite des travaux

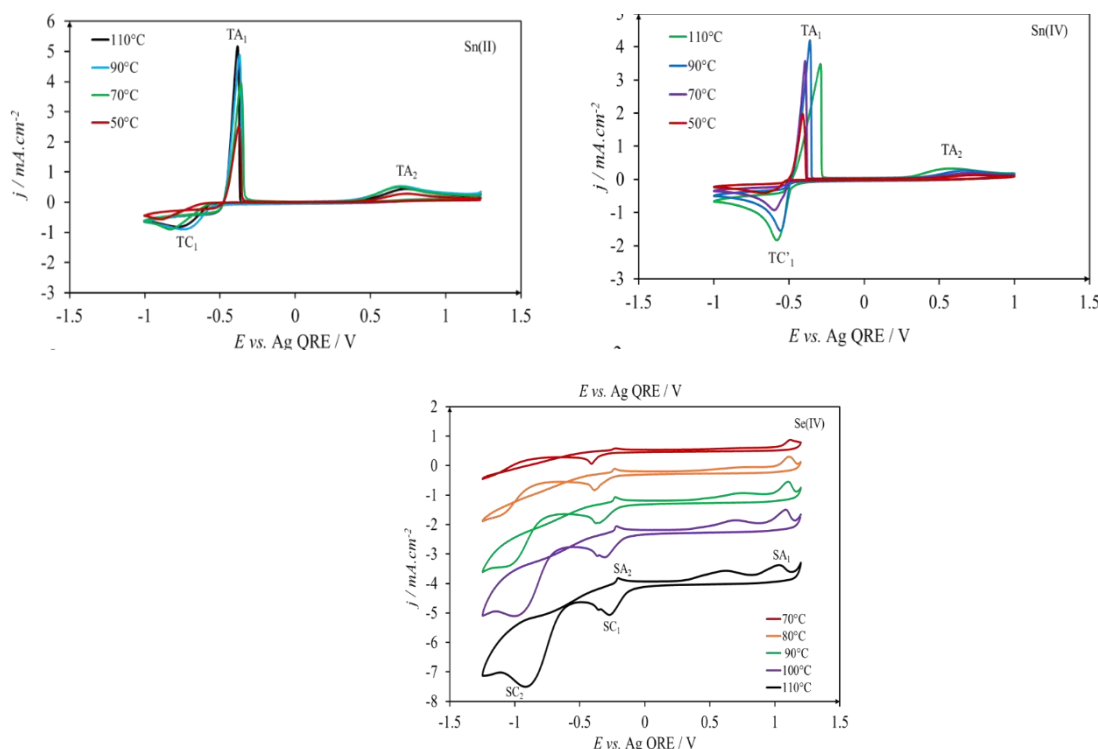


Figure 1. Voltampérogrammes cycliques d'une électrode GC dans 10 mmolal $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (en haut), 10 mmolal $\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (au milieu) et 10 mmolal de SeO_2 (en bas) dans ChCl-Gly à différentes températures indiquées dans les légendes. Taux de balayage = 30 mV s^{-1} .

2.2. Influence de la vitesse de balayage

La figure 2 montre l'influence du taux de balayage sur le comportement électrochimique de 10 mmolal de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Figure 2A) et 10 mmolal de $\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Figure 2B) dans ChCl-Gly au carbone vitreux à 110°C . Les voltampérogrammes obtenus montrent des formes similaires, avec une réponse cathodique (TC_1 ou TC'_1), deux réponses anodiques (TA_1 et TA_2) et la formation d'une boucle caractéristique d'un phénomène de nucléation et de croissance. La position des pics cathodiques TC_1 pour Sn(II) et TC'_1 (pour Sn(IV)) se déplace vers des potentiels plus négatifs lorsque la vitesse de balayage augmente. L'effet est plus prononcé pour Sn(II) , ce qui suggère une cinétique de réduction plus lente, ce qui concorde avec l'influence de la température décrite ci-dessus. La réduction de Sn(II) associée aux pics TC_1 est ainsi irréversible, en lien avec les résultats obtenus par d'autres auteurs dans les milieux DES tels que chlorure de choline-acide malonique et chlorure de choline-éthylène glycol [9],[10].,[11].

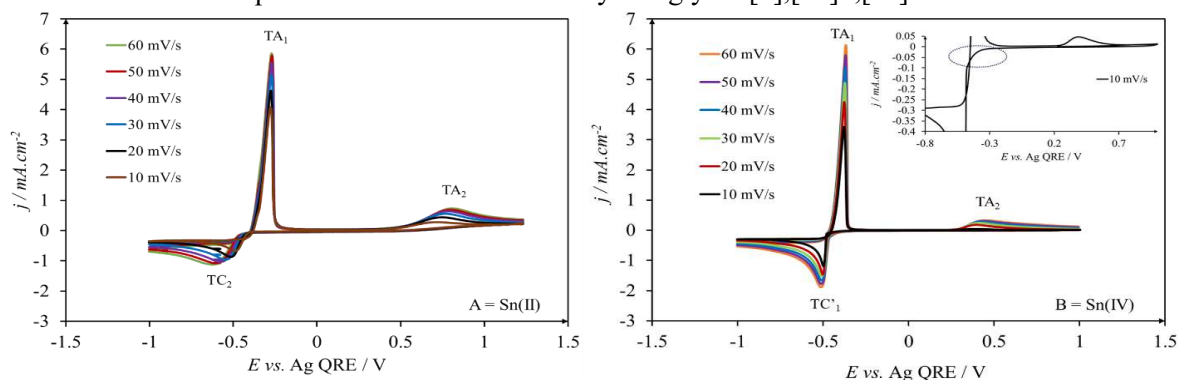
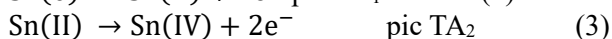
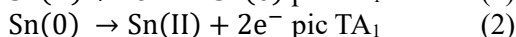
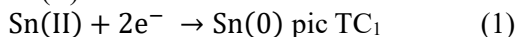


Figure 2. Voltampérogrammes cycliques d'une électrode GC dans 10 mmolal Sn(II) (A) et 10 mmolal Sn(IV) (B) dans ChCl-Gly à 110°C , enregistrés à différentes vitesses de balayage indiquées dans les légendes

Le pic anodique TA_2 est observé dans les solutions Sn(II) et Sn(IV) . Cependant, comme le montre l'encadré de la figure 2B, TA_2 n'est pas présent pour Sn(IV) dans le tout premier cycle voltampérométrique, lorsque le balayage de potentiel démarre à $+0,2 \text{ V}$ et est initié dans le sens positif. Ce n'est qu'après un cycle complet

au potentiel négatif que le pic TA2 apparaît. Elle est donc interprétée comme l'oxydation de Sn(II) en Sn(IV), en accord avec des observations similaires faites pour les solutions de Sn(II) dans le mélange ChCl-EG [15, 17, 18]. L'encadré révèle également une petite réponse cathodique autour de -0,45 V, juste avant l'apparition du pic TC'1, attribuée à la réduction de Sn(IV) en Sn(II).

Compte tenu de ces différentes observations, les affectations de crêtes suivantes sont proposées. Pour Sn(II) :



La réduction directe $4e^-$ de Sn (IV) en Sn (0) est cohérente avec la densité de courant de crête plus élevée du pic TC'1 par rapport à celle de TC1, dans des conditions par ailleurs identiques. Elle est en outre étayée par l'analyse de charge obtenue par intégration des pics TC1, TC'1 et TA1. D'après les équations (1), (2) et (4), le rapport de charge entre TC1 et TA1 pour Sn(II) devrait être égal à 1, tandis que celui de TC'1 à TA1 pour Sn(IV) devrait être égal à 0,5. . Les rapports expérimentaux se sont révélés inférieurs à ces valeurs théoriques (environ 0,6 à 0,7 pour Sn(II) et environ 0,4 pour Sn(IV)), ce qui indique un rendement de dépôt inférieur à l'unité, mais le fait que le rapport est significativement plus petit car Sn (IV) prend en charge la voie directe $4e^-$.

L'électrochimie du Sn(II) et du Sn(IV) dans le DES ChCl-Gly est ainsi caractérisée par une cinétique lente associée au système Sn(IV)/Sn(II) en solution (très grande séparation pic à pic entre les ondes anodiques et cathodiques), un dépôt non réversible et contrôlé par nucléation de Sn(0) (présence d'une boucle de nucléation) et une dissolution oxydative assez rapide de Sn(0) en Sn(II), comme en témoigne la relative insensibilité de la position du pic TA2 à la fois à la vitesse de balayage et à la température.

L'électrochimie de l'étain dans ChCl-Gly présente de fortes similitudes avec celle de l'étain dans les fondus d'halométallates basiques à température ambiante. En effet, Xu et Hussey [23] dans le milieu chlorure d'aluminium basique-chlorure de 1-méthyl-3-éthylimidazolium et Huang et Sun [24] dans le milieu chlorure de zinc basique-chlorure de 1-méthyl-3-éthylimidazolium ont rapporté des caractéristiques voltampérométriques similaires à la nôtre (présence des pics TC1/ TC'1, TA1 et TA2). En particulier, le petit épaulement observé ici à -0,45 V dans Sn(IV) était plus clairement mis en évidence dans leur cas, était attribué de manière convaincante à la réduction de Sn(IV) en Sn(II), et était observé dans les fusions basiques, mais pas dans les acides

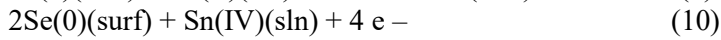
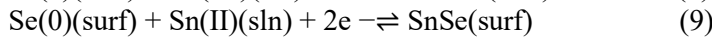
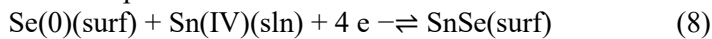
2.3. Formation électrochimique de Sn-Se

La figure 3 présente le voltampérogramme cyclique enregistré dans une solution ChCl-Gly contenant à la fois Se(IV) et Sn(IV). Le voltampérogramme de Se(IV) et Sn(IV) seuls, à des températures et concentrations similaires sont également présentées à des fins de comparaison. Un important excès de Sn par rapport à Se a été utilisé, car les tests préliminaires n'ont montré aucune preuve de la formation d'un composé dans des conditions équimolaires. C'est seulement en présence d'un large excès de Sn que de nouvelles fonctionnalités sont apparues dans les voltampérogrammes cycliques. Le voltampérogramme correspondant au mélange Sn(IV)-Se(IV) est plutôt complexe, présentant trois pics cathodiques principaux et cinq pics anodiques principaux réponses. Certains rappellent les pics observés avec les composants individuels, tels que C3 et A5 ce sont les équivalents des pics TC'1 et TA2 ci-dessus ou A1 lequel est équivalent à SA1 ci-dessus, mais d'autres vagues sont plus difficiles à attribuer.

Pour mieux comprendre l'interdépendance des différents pics du mélange binaire, l'influence de la plage de potentiel explorée sur l'apparition des différents pics anodiques est explorée sur la figure 4.

Elle affiche les voltampérogrammes cycliques enregistrés avec différentes limites de potentiel négatif. Lorsque la limite est fixée à + 0,2 V (courbe a), il n'y a pas de dépôt. Quand l'excursion potentielle devient plus négative (courbe b), le pic anodique A1 vers + 1,15 V apparaît et augmente en intensité, établissant le lien entre le pic C1 et le pic A1. Le pic anodique A3 apparaît lorsque la limite négative atteint - 0,5 V (courbe c), suggérant qu'il est connecté au pic cathodique C2. En balayant vers des potentiels plus négatifs, les ondes cathodiques (C3) et anodiques (A5) de l'étain pur sont clairement discernées, ainsi que les réponses anodiques A2 et A4 qui deviennent plus importants lors du balayage vers les potentiels les plus négatifs (courbe d). Inspirée d'études antérieures sur la formation électrochimique de composés métal-sélénium dans le SEP [10, 11], la signature voltampérométrique pour la formation du composé Sn-Se est attribuée au pic A3, correspond à la redissolution anodique du composé formé cathodiquement lors du

potentiel précédent. L'énergie libre de Gibbs de la formation du composé étain-sélénium est négatif, le potentiel d'équilibre est nettement plus positif que celui de l'électrodéposition d'étain pur. Considérant les réactions possibles suivantes :



les potentiels standards associés seraient :

$$E_{\text{Se/SnSe}}^0 = E_{\text{Sn(IV)/Sn}}^0 - \frac{\Delta_f G_{\text{SnSe}}^0}{4F} \text{ for reaction (8), } E_{\text{Se/SnSe}}^0 = E_{\text{Sn(II)/Sn}}^0 - \frac{\Delta_f G_{\text{SnSe}}^0}{2F} \text{ for reaction (9) et}$$

$E_{\text{Se/SnSe}_2}^0 = E_{\text{Sn(IV)/Sn}}^0 - \frac{\Delta_f G_{\text{SnSe}_2}^0}{4F}$ pour la réaction (10). L'estimation de ces valeurs de E^0 est difficile, d'une part parce que le caractère irréversible du couple Sn(IV)/Sn(II) ne permet pas de calculer avec précision les $E_{\text{Sn(IV)/Sn}}^0$ à partir des données voltampérométriques. , et d'autre part parce que les énergies libres de Gibbs de formation de SnSe et SnSe₂ à 110 °C sont soit indisponibles, soit contradictoires entre sources. A 25 °C, les valeurs de $\Delta_f G_{\text{SnSe}}^0 = -93.6 \text{ kJ mol}^{-1}$ et $\Delta_f G_{\text{SnSe}_2}^0 = -119.7 \text{ kJ mol}^{-1}$ ont été rapportés dans une étude commune [28]. Considérant la figure 3, $E_{\text{Sn(II)/Sn}}^0 \approx -0.5 \text{ V}$

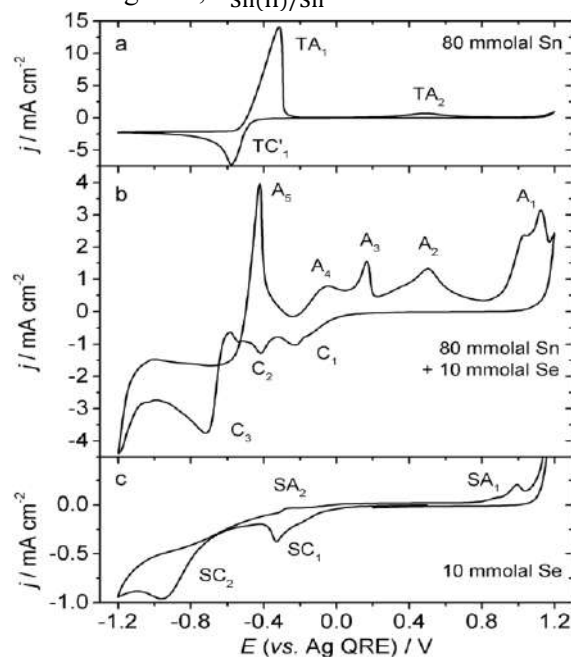


Figure 3 : voltampérogrammes cycliques d'une électrode GC en 80 mmolal Sn(IV) (a), dans le mélange 10 mmolal Se(IV) + 80 mmolal Sn(IV) (b) et dans 10 mmolal Se(IV) (c) dans ChCl-Gly à 110 °C. Analyse taux = 15 mV s⁻¹

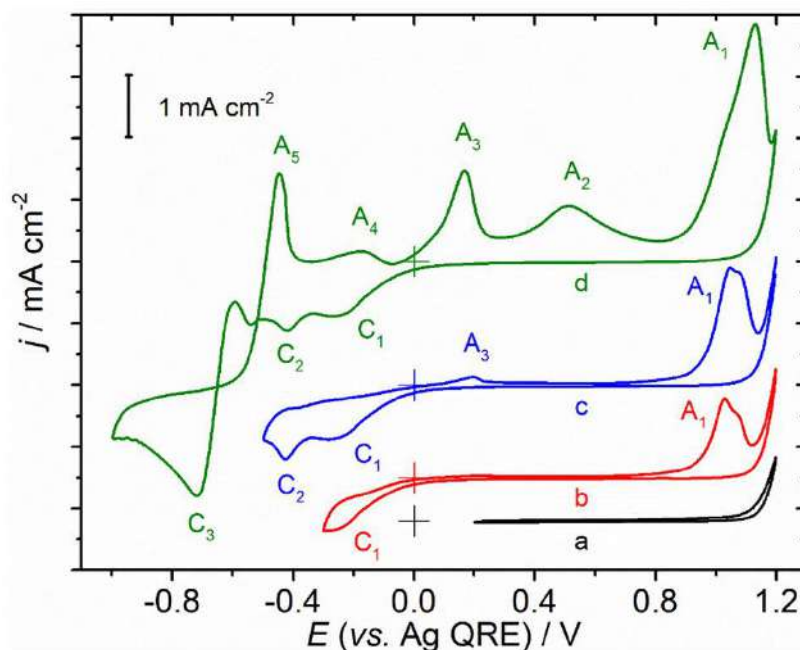


Figure 4 : voltampérogrammes cycliques d'une électrode GC dans le mélange 10 mmolal Se(IV) + 80 mmolal Sn(IV) dans ChCl-Gly à 110 °C, enregistrés avec une limite de potentiel négatif différente

3. Conclusion

Le solvant eutectique profond chlorure de choline-glycérol est un milieu approprié pour mener des études d'électrodéposition à des températures qui ne seraient pas accessibles pour des solvants aqueux ou organiques conventionnels. L'électrochimie de l'étain s'avère globalement similaire à celle documentée dans d'autres DES, mais ce travail fournit des résultats inédits sur l'électrochimie du Sn (IV). Spécifiquement, l'électrodéposition de Sn semble être cinétiquement plus rapide à partir de Sn(IV) qu'à partir de précurseurs de Sn(II), et le mécanisme de nucléation est différent dans chaque cas, un processus instantané étant mis en évidence pour Sn(II) contre un processus progressif pour Sn(IV). Le couple Sn(IV)/Sn(II) présente une cinétique très lente, rappelant ce qui a été rapporté dans les fondus d'halométallates basiques. En raison de l'Avec une cinétique lente, la réduction de Sn (IV) se produit principalement en une seule étape à travers la décharge $4e^-$ vers Sn (0). Malgré une cinétique électrochimique aussi lente, l'apparition d'une réaction de proportionnalité, suffisamment rapide pour être mise en évidence, est clairement démontrée. Grâce à l'énergie libre de Gibbs favorable de formation des sélénures d'étain, il est possible de former électrochimiquement un composé étain-sélénium à des potentiels beaucoup plus positifs que le dépôt d'étain élémentaire, évitant ainsi le co-dépôt de ce dernier avec le composé. Malheureusement, l'incertitude sur la valeur du potentiel Sn(IV)/Sn(II) et donc sur celui du Sn(IV)/Sn(II) empêche l'identification du composés à partir des caractéristiques voltampérométriques. Néanmoins, la présence d'un seul pic de décapage anodique bien défini indique la formation d'un composé unique sous un contrôle bien contrôlé conditions.

4. Bibliographie :

- [1] W. Shi, M. Gao, J. Wei, J. Gao, C. Fan, E. Ashalley, H. Li, Z. Wang, *Advanced Science*, 5 (2018) 1700602.
- [2] A. Lukinskas, V. Jasulaitienė, P. Lukinskas, I. Savickaja, P. Kalinauskas, *Electrochim. Acta*, 51 (2006) 6171-6178.
- [3] R. Engelken, A. Berry, T. Van Doren, J. Boone, A. Shahnazary, *J. Electrochem. Soc.*, 133 (1986) 581.
- [4] M. Bicer, İ. Şişman, *Appl. Surf. Sci.*, 257 (2011) 2944-2949.
- [5] Z. Zainal, S. Nagalingam, A. Kassim, M.Z. Hussein, W.M.M. Yunus, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 81 (2004) 261-268.
- [6] M. De Vos, A. Danine, L. Adam, S. Diliberto, O. Caballero-Calero, M. Martín-González, L. Péter, A. Csík, V. Kálmán, L. Philippe, *J. Electrochem. Soc.*, 167 (2020) 162502.
- [7] E.L. Smith, A.P. Abbott, K.S. Ryder, *Chem. Rev.*, 114 (2014) 11060-11082.
- [8] R. Bernasconi, G. Panzeri, A. Accogli, F. Liberale, L. Nobili, L. Magagnin, *Intech. Prog. Dev. Lon. Liq.* (2017) 235-261.
- [9] A.P. Abbott, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 36 (2022) 100649.
- [10] M. Bougouma, T. Doneux, J.B. Legma, C. Buess-Herman, *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 38 (2014) 1.
- [11] A. Sorgho, M. Bougouma, F.K. Aldibaja, B. Nisol, F. Reniers, C. Buess-Herman, T. Doneux, *Electrochim. Acta*, 424 (2022) 140676.

- [12] A. Cojocaru, M. Sima, Rev. Chim.(Bucharest), 63 (2012) 217-223.
- [13] M. Bougouma, A. Van Elewyck, M. Steichen, C. Buess-Herman, T. Doneux, J. Solid State Electrochem., 17 (2013) 527-536.
- [14] A.P. Abbott, G. Capper, K.J. McKenzie, K.S. Ryder, J. Electroanal. Chem., 599 (2007) 288-294.
- [15] L. Anicai, A. Petica, S. Costovici, P. Prioteasa, T. Visan, Electrochim. Acta, 114 (2013) 868-877.
- [16] S. Salomé, N.M. Pereira, E.S. Ferreira, C.M. Pereira, A.F. Silva, J. Electroanal. Chem., 703 (2013) 80-87.
- [17] L. Vieira, J. Burt, P.W. Richardson, D. Schloffer, D. Fuchs, A. Moser, P.N. Bartlett, G. Reid, B. Gollas, ChemistryOpen, 6 (2017) 393-401.
- [18] O.M. Sani, S.L.N. Stein, M. Bougouma, Arabian Journal of Chemical and Environmental Research, 9 (2022) 270-278.
- [19] L.A. Azpeitia, C.A. Gervasi, A.E. Bolzán, J. Electroanal. Chem., (2023) 117637.
- [20] S. Costovici, A. Pantazi, D. Balan, A. Cojocaru, T. Visan, M. Enachescu, L. Anicai, Metals, 13 (2023) 203.
- [21] A.T. Brandão, L. Anicai, O.A. Lazar, S. Rosoiu, A. Pantazi, R. Costa, M. Enachescu, C.M. Pereira, A.F. Silva, Coatings, 9 (2019) 798.
- [22] A.P. Abbott, R.C. Harris, K.S. Ryder, C. D'Agostino, L.F. Gladden, M.D. Mantle, Green Chemistry, 13 (2011) 82-90.
- [23] X.H. Xu, C.L. Hussey, J. Electrochem. Soc., 140 (1993) 618.
- [24] J.-F. Huang, I.-W. Sun, J. Electrochem. Soc., 150 (2003) E299.
- [25] S. Vanderspoilden, J. Christophe, T. Doneux, C. Buess-Herman, Electrochim. Acta, 162 (2015) 156-162.
- [26] B. Scharifker, G. Hills, Electrochim. Acta, 28 (1983) 879-889.
- [27] A. Milchev, J. Solid State Electrochem., 24 (2020) 2143-2144.
- [28] E.N. Ismayilova, D.M. Babanly, V.P. Zlomanov, S.Z. Imamaliyeva, New Materials, Compounds and Applications, 4 (2020) 132-140.

Influence de la granulométrie des granules de pépins de corossol sur les propriétés mécanique et hydrique de Briques de Terre Comprimée

Alfred Niamien Kouamé^{1*}, Moussa Ouédraogo², Wedjers Max Robin Manouan³, Lébé Prisca M.-S¹ Kouakou, Namory Méité¹, Bi Irié Hervé Gouré Doubi⁴, Esmel Privat Zokou¹, Léon Koffi Konan¹

¹Laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière (LCRM), Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Département de Chimie, Université Nazi BONI, Bobo-Dioulasso 01 BP 1091, Burkina Faso

³UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire

⁴Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

[*kouame.alfred2@ufhb.edu.ci](mailto:kouame.alfred2@ufhb.edu.ci)

Résumé

La production du ciment est responsable de 5 à 10% des émissions mondiales de CO₂, ce qui a un impact sur le changement climatique. L'utilisation des matières végétales dans les Briques de Terre Comprimée (BTC) est devenue une pratique courante afin de diminuer les émissions de CO₂. Ce travail vise à étudier l'impact de la taille des granules de pépins de corossol sur les propriétés mécanique et hydrique des BTC. Pour ce faire, une argile notée Aga provenant de Gagnoa constituée essentiellement de quartz (77,13%) et de minéraux argileux (21,28%) et les pépins de corossol de granulométrie fine ($d \leq 0,5$ mm) et moyenne ($0,5 < d < 1$ mm) ont été utilisés. Les résultats des essais mécaniques ont montré une chute de la résistance en compression de 37% et 44% respectivement pour les formulations avec les granules fins et les granules moyens comparée à la résistance de la formulation avec l'argile brute. La formulation avec les granules fins A₉₄GF₆ présente donc la meilleure résistance en compression (3,58 MPa). Au niveau de l'absorption d'eau par capillarité, la formulation avec les granules fins présente une absorption plus importante avec un coefficient d'absorption de 0,2824 kg.m⁻²s^{-1/2} contre 0,1143 kg.m⁻²s^{-1/2} pour la formulation avec les granules moyens.

Mots clés : Eco-matériau, granules de pépins de corossol, propriétés mécaniques et hydrique

Influence of the particle size of soursop seed granules on the mechanical and water properties of Compressed Earth Bricks

Abstract

Cement production is responsible for 5 to 10% of global CO₂ emissions, which has an impact on climate change. The use of plant materials in Compressed Earth Bricks (CEB) has become a common practice in order to reduce CO₂ emissions. This work aims to study the impact of the size of soursop seed granules on the mechanical and water properties of CEB. To do this, a clay noted Aga from Gagnoa consisting essentially of quartz (77.13%) and clay minerals (21.28%) and soursop seeds of fine particle size ($d \leq 0.5$ mm) and average ($0.5 < d < 1$ mm) were used. The results of the mechanical tests show a drop in compressive strength of 37% and 44% respectively for the formulations with fine granules and medium granules compared to the resistance of the formulation with raw clay. The formulation with A₉₄GF₆ fine granules therefore has the best compressive strength (3.58 MPa). In terms of water absorption by capillarity, the formulation with fine granules has greater absorption with an absorption coefficient of 0.2824 kg.m⁻²s^{-1/2} compared to 0.1143 kg.m⁻²s^{-1/2} for formulation with medium granules.

Keywords: Eco-material, soursop seed granules, mechanical and water properties

Introduction

Le secteur de la construction est en partie responsable du changement climatique à travers l'utilisation du ciment comme matériau principal dans la construction. En effet, la part de la production du ciment dans les émissions mondiales de CO₂ se situe entre 5 et 10% [1,2]. En plus de son impact sur le réchauffement climatique, le coût du ciment reste élevé dans les pays en voie de développement ce qui fait de l'accès à un logement décent un véritable défi. Face à cette situation, le développement de nouveaux matériaux de construction présentant des propriétés mécaniques acceptables, à faible impact environnemental et accessible à tous apparaît primordial. A la faveur de ce contexte, l'argile, matériau naturel utilisé depuis l'antiquité et délaissé au profit des matériaux de type cimentaire, connaît un regain d'intérêt en raison de sa disponibilité, de son abondance et de son caractère écologique. Au fil du temps, de nombreux produits en terre ont donc été développés et utilisés dans la construction, il s'agit entre autres de l'adobe, du pisé, la bauge et plus récemment des briques de terre comprimée. En dépit de tous les avantages susmentionnés, de nombreux défis subsistent pour une meilleure vulgarisation de ce matériau. En général, les produits en terre présentent des propriétés mécaniques médiocres et une faible tenue à l'eau contrairement aux matériaux en ciment. Pour pallier ces insuffisances, des études ont été menées sur la stabilisation avec les liants minéraux (ciment, chaux) et les résultats montrent une amélioration des résistances mécanique et de la tenue à l'eau du matériau. Cependant, leur utilisation en quantité pour la stabilisation remet en

cause le caractère écologique du matériau [1]. Ainsi, ces liants minéraux sont de plus en plus remplacés partiellement ou totalement par de la matière végétale dans l'optique d'élaborer des matériaux biosourcés [3-5]. Certains travaux scientifiques menés dans ce sens ont donné des résultats assez satisfaisants dans la mesure ou une amélioration des résistances mécaniques et des propriétés hydrique et thermique est constatée lorsque la matière végétale est adjuvée dans les matériaux en terre [4,6]. Au vu de ces résultats, il apparaît que les rebuts végétaux de petite taille telle que les granulats végétaux pourraient améliorer les résistances mécaniques des matériaux en terre s'ils sont adjuvés de ces dernières.

C'est en cela que la présente étude s'intéresse à la valorisation d'une argile ivoirienne et de pépins de corossol dans l'éco-construction. Il s'agit plus précisément d'étudier l'influence de la granulométrie des pépins sur les propriétés mécanique et hydrique de briques de terre comprimée.

Matières premières et méthodes

Matières premières

La matière première argileuse notée Aga provient de la ville de Gagnoa, située au centre-ouest de la Côte d'Ivoire. Les coordonnées du site de prélèvement se situent autour de 6°07'37,6" N, 5°56'15,0"O. Avant utilisation dans l'élaboration des briques, l'argile Aga a été séchée puis broyée et passée dans un tamis de diamètre inférieur à un millimètre.

Les pépins de corossol utilisés comme additif végétal dans la fabrication des Briques de Terre Comprimée (BTC), ont été obtenus après séchage, broyage et tamisage des grains de corossol. Les pépins de différentes granulométries ont été utilisés dans la réalisation de ce travail. Il s'agit des pépins de petite taille (GF) ($d \leq 0,5$ mm) et les pépins de taille moyenne (GM) ($0,5 < d < 1$ mm). Les pépins de différentes granulométries sont présentés sur la **figure 1**.

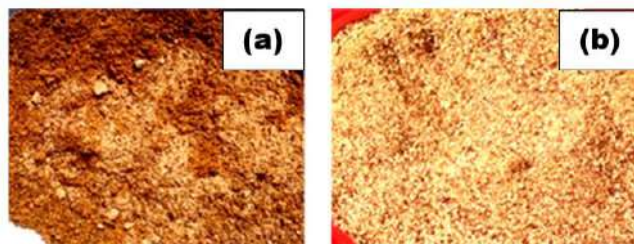


Figure 1 : Granules de pépins de corossol ((a) Granules fins (GF), (b) Granules moyens (GM))

Méthodes

La granulométrie des argiles a été déterminée par tamisage ($\Phi > 80\mu\text{m}$) et sédimentométrie ($\Phi \leq 80\mu\text{m}$) selon le protocole ASTM D 422. Pour la classification granulométrique des pépins de corossol, une série de cinq tamis de diamètre variant entre 2mm et 0,25mm a été utilisée.

La plasticité de l'argile a été déterminée par la mesure des limites d'Atterberg selon la norme NF P 94-051. La limite de liquidité (W_L) a été déterminée en utilisant la coupelle de Cassagrande et la limite de plasticité (W_P) selon la méthode du rouleau. L'indice de plasticité est déduit de l'**équation 1** :

$$I_p = W_L - W_P \quad (1)$$

La composition chimique de l'échantillon brut a été obtenue par spectrométrie d'émission plasma (ICP-AES) après une mise en solution par voie chimique à l'aide d'une micro-onde.

Les phases cristallines présentes dans l'échantillon ont été identifiées par diffraction des rayons X (DRX) à l'aide du diffractomètre multifonctions Bruker modèle D8 Advance. Les résultats combinés de la DRX à ceux de l'analyse chimique ont permis d'évaluer la composition minéralogique semi-quantitative.

La composition biochimique des pépins de corossol a été déterminée par la méthode Van Soest.

La résistance mécanique à la compression des Briques de Terre Comprimée a été mesurée sur des demi-éprouvettes de BTC de dimension $4 \times 4 \times 8 \text{ cm}^3$ selon la norme EN 196-1.

La tenue à l'eau des BTC élaborées a été évaluée par le test d'absorption d'eau par capillarité. Les essais ont été réalisés selon le protocole AFPC-AFREM.

Elaboration des Briques de Terre comprimée (BTC)

Différentes formulations de BTC ont été réalisées en se référant aux données de la littérature [7-9] relativement à l'utilisation des matières végétales dans les BTC, la quantité de pépins de corossol ou de ciment a été fixée à 6%. Pour l'élaboration des BTC, l'argile a été séchée, broyée et tamisée avec un diamètre inférieur à 1mm. Par la

suite, l'argile et les pépins de granules de corossol ou le ciment ont été mélangés à sec puis malaxés pendant deux minutes à l'aide d'un malaxeur automatique. Après, le mélange a été humidifié avec 12,2% en masse d'eau et malaxé à nouveau pendant 2 minutes. A la suite de ce malaxage, le mélange est introduit dans les moules prismatiques 4*4*16 cm³ puis est compressé à 10 MPa à l'aide d'une presse automatique. Enfin, le démoulage est effectué 24 heures après et les BTC ainsi élaborés sont conservés à une température de 25°C à sec. Les différentes formulations réalisées sont présentées dans le **Tableau I**.

Tableau I : Composition des mélanges (% massique)

Formulations	Argile (%)	Granules Fins (%)	Granules Moyens (%)	Ciment (%)
A ₁₀₀	100	-	-	-
A ₉₄ C ₆	94	-	-	6
A ₉₄ GF ₆	94	6	-	-
A ₉₄ GM ₆	94	-	6	-

GF : Granules Fins (d≤0,5 mm) ; GM : Granules Moyens (0,5<d<1 mm)

Résultats et discussion

Propriétés physico-chimique et géotechnique des matières premières

Les compositions chimique et minéralogique de l'argile Aga sont présentées dans le **tableau 2**. L'oxyde majeur dans l'échantillon est la silice SiO₂ (86,92%) suivi de l'alumine Al₂O₃ (8,32%). A ces oxydes majeurs, est associé des oxydes de teneurs relativement faibles (<3%) à savoir Fe₂O₃, K₂O, TiO₂ et Na₂O. Le rapport massique SiO₂/Al₂O₃ de 10,45 est très élevé ce qui suggère un excès de silice libre dans cet échantillon et celui de Al₂O₃/Fe₂O₃ de 2,96 inférieur à 5 montre que cette argile peut être utilisée dans la fabrication de matériaux de construction (briques, tuiles...) [10].

Tableau II : Compositions chimique et minéralogique de l'argile

Composition chimique (% masse)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	Na ₂ O	TiO ₂	SiO ₂ /Al ₂ O ₃	Al ₂ O ₃ /Fe ₂ O ₃
	86,92	8,32	2,81	1,01	0,19	0,74	10,45	2,96
Composition minéralogique	Quartz	Kaolinite		Illite		Goethite		Rutile
	77,13	12,73		8,55		3,13		0,74

La **figure 2** présente les résultats de l'analyse par diffraction des rayons X de l'échantillon d'argile. L'indexation des différents pics sur le diffractogramme à l'aide du logiciel EVA a mis en évidence la présence de deux phases minéralogiques argileuses à savoir la kaolinite (Si₂Al₂O₅(OH)₄) et l'illite (KAl₂(Si₃Al)O₁₀(OH)₂). A ces phases argileuses sont associées des minéraux secondaires qui sont le quartz SiO₂, le rutile (TiO₂) et une phase ferrique la goethite (FeOOH).

Les résultats de l'analyse chimique et ceux de la DRX ont permis d'estimer la composition minéralogique semi-quantitative consignée dans le **Tableau II**. L'échantillon contient une quantité importante de quartz (77,13%) qui joue un rôle de dégraissant dans l'élaboration de matériaux céramiques. Aussi, il contient une quantité notable de minéraux argileux à savoir la kaolinite et l'illite (21,28%) qui assurent une cohésion naturelle de l'argile.

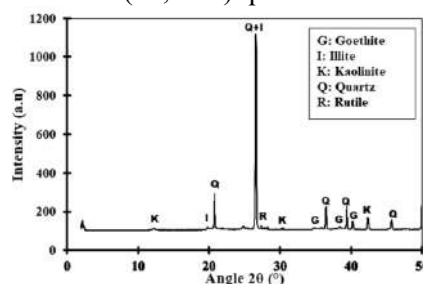


Figure 2 : Diffractogramme des rayons X de l'argile Aga

Les caractéristiques géotechniques de l'argile Aga sont présentées dans le **Tableau III**.

Tableau III : Caractéristiques géotechnique et physique de l'argile Aga

Distribution granulométrique		
Sable (%)	Limon (%)	Argile (%)
23,7	57,94	21,36
Limites d'Atterberg		
Limite de liquidité W_L (%)	Limite de plasticité W_P (%)	Indice de plasticité I_P (%)
27	14	13

L'argile Aga a une granulométrie étalée, constituée de particules de limon (0,002-0,063 mm), de sable (0,063-2 mm) et d'argile (<0,002 mm). Par sa constitution, l'échantillon présente une bonne cohésion à l'état naturel du fait de sa teneur en argile (21,36%) comprise entre 5 et 30% (AFNOR, 2001). L'indice de plasticité I_P (13%) montre qu'Aga est un sol moyennement plastique ($10\% < I_P < 20\%$), ce qui est en accord avec les résultats de l'analyse granulométrique concernant la teneur d'argile (21,36%). Par ailleurs, les limites de liquidité (27%) et de plasticité (14%) de l'échantillon se situent respectivement dans les zones limite (25-50%) et préférentielle (12-22%) pour les Briques de Terre comprimée.

L'ensemble des résultats de caractérisations physico-chimique et géotechnique montre que l'argile Aga par sa bonne cohésion à l'état naturel, peut être utilisée dans l'élaboration de Briques de Terre Comprimée.

Pour les granules de pépins de corossol, la composition biochimique a été déterminée par la méthode Van Soest. Les résultats présentés dans le **Tableau IV**, montrent que les pépins ont une faible teneur en cellulose (7,7%) comparée à la cellulose contenue dans les tourteaux de karité (28%), le kenaf (71%) et le sisal (70%) [6, 11-12] qui ont été valorisés dans les éco-matériaux de construction. Cette faible teneur en cellulose pourrait impacter la résistance et la conductivité thermique des briques élaborées.

Tableau IV : Composition biochimique des pépins de corossol

Composition biochimique	Cellulose (%)	Hémicellulose (%)	Lignine (%)
	7,7	19	2,4

Propriétés mécanique et hydrique des BTC

Les Briques de Terre Comprimée élaborées à partir de l'échantillon d'argile Aga et des pépins de corossol ont subi différents tests mécanique et hydrique qui sont des propriétés essentielles pour l'utilisation d'un matériau dans la construction. La résistance mécanique en compression des différentes formulations est représentée sur la **Figure 3**. Les BTC élaborées avec l'argile brute A_{100} présentent une bonne résistance à la compression. Cette valeur de la résistance (5,69 MPa) est supérieure à celle exigée par la norme Africaine relative aux matériaux de construction supérieure à 2 MPa pour les murs non porteurs [13]. Cette bonne résistance en compression peut s'expliquer par la bonne cohésion de la matière première argileuse à l'état brut.

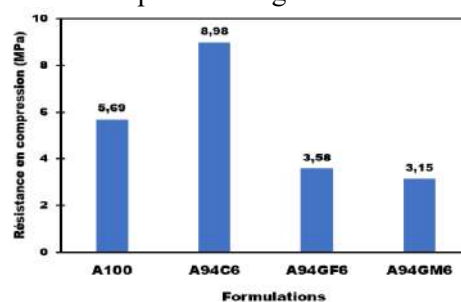


Figure 3 : Résistance mécanique en compression

Avec l'ajout de 6% de ciment dans la matrice argileuse (A_{94C6}), une augmentation de la résistance en compression de l'ordre de 58% est observée et pourrait s'expliquer par la production d'hydrates cimentaires (CSH) qui lient les particules isolées du sol. Par la suite, lorsque les granules de pépins sont ajoutés à la matrice argileuse à raison de 6%, une diminution de la résistance en compression de l'ordre de 37% et 44% respectivement avec les granules fins et les granules moyens par rapport à la formulation A_{100} est observée. La diminution moins importante de la résistance avec les granules fins pourrait s'expliquer par une meilleure adhérence des granules fins dans la matrice argileuse. Les valeurs obtenues restent cependant conformes à celles exigées par la norme Africaine [13]. Cette chute de la résistance mécanique avec l'ajout de matières végétales ou de fibres dans une matrice argileuse a été

largement rapportée dans la littérature et résulte principalement de l'augmentation de la porosité du matériau composite [8, 14].

Les résultats de l'absorption d'eau par capillarité sur la **figure 4** présentent l'évolution de l'eau absorbée par surface tandis que la **figure 5** montre l'évolution du coefficient d'absorption par capillarité qui est le coefficient directeur des droites obtenues. Dans l'ensemble, une augmentation de l'absorption d'eau en fonction du temps est observée avec toutes les formulations. La formulation A₉₄GF₆ absorbe beaucoup plus comparé aux autres formulations avec un coefficient d'absorption de 0,2824 kg.m⁻²s^{-1/2}. La formulation A₉₄GM₆ présente un coefficient d'absorption moins important (0,1143 kg.m⁻²s^{-1/2}) que A₉₄GF₆ malgré la composition identique. Par ailleurs, les coefficients plus importants pour les formulations avec les granules comparés à celui de la formulation A₁₀₀ de 0,1018 kg.m⁻²s^{-1/2} pourrait être attribuée à la capacité d'absorption d'eau par la matière végétale. En effet, du fait de leur caractère hydrophile lié à la présence en grande quantité de groupes hydroxyles OH contenus dans la cellulose, la matière végétale est en générale très absorbante [15].

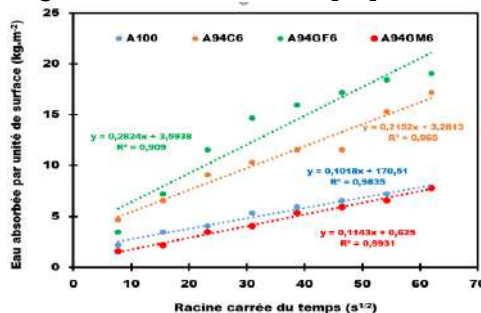


Figure 4 : Evolution de l'absorption d'eau par capillarité des BTC

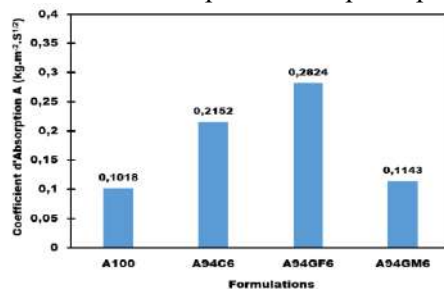


Figure 5 : Coefficients d'absorption d'eau par capillarité des BTC

Aussi, pour les BTC adjugés à la même teneur de granules de pépins de corossol, nous remarquons que ceux ayant des granules fins (A₉₄GF₆) absorbent en grande quantité que ceux à granules moyens (A₉₄GM₆). Cela est dû à la taille des granules. En effet, plus les granules sont fins, plus la surface de contact est élevée donc une augmentation de la teneur en absorption d'eau par capillarité.

Conclusion

Ce travail avait pour principal objectif l'étude de l'influence de la granulométrie des pépins de corossol sur les propriétés mécanique et hydrique de Briques de Terre Comprimée. Pour ce faire, une argile notée Aga et les pépins de corossol de granulométries fine et moyenne ont été caractérisés et utilisés pour élaborer des BTC. Les résultats ont montré que l'argile Aga est constituée majoritairement de quartz (77,13%) et de minéraux argileux kaolinite et illite (21,28%). Sur le plan géotechnique, il s'agit d'une argile moyennement plastique ($I_p=13\%$) à malaxage satisfaisant constituée de limon (57,94%) de sable (23,7%) et de minéraux argileux (21,36%). Quant aux pépins de granules de corossol, ils sont constitués d'hémicellulose (19%), de cellulose (7,7%) et de lignine (2,4%). Les BTC avec 6% de granules de pépins fins et moyens ainsi que des BTC constituées de 100% d'argile et 6% de ciment ont été élaborées et soumises à des caractérisations mécanique et hydrique. Les résultats ont montré une diminution de la résistance en compression de 37% avec les granules fins contre 44% avec les granules moyens comparativement à la résistance avec l'argile brute. Les résistances obtenues pour les formulations malgré la diminution soient 3,58 MPa avec les granules fins et 3,15 MPa pour les granules moyens restent conformes à la norme Africaine. Pour l'absorption d'eau par capillarité, le coefficient d'absorption est plus important avec les granules fins (0,2824 kg.m⁻²s^{-1/2}) qu'avec les granules moyens (0,1143 kg.m⁻²s^{-1/2}). L'ensemble des résultats montre que les granules de pépins peuvent être valorisés dans les Briques de Terre comprimée cependant il est recommandé de les utiliser avec une granulométrie fine ($d \leq 0,5$ mm).

Références bibliographiques

- [1] Emad, B., Gholamreza, Z., Ezzatollah, S., & Alireza, B. (2013). Global Strategies and Potentials to Curb CO₂ Emissions in Cement Industry. *Journal of Cleaner Production*, 51, 142-161.
- [2] Barcelo, L., Kline J., Walenta, G., & Gartner, E. (2014). Cement and carbone missions. *Materials and Structures*, 47, 1055-1065.
- [3] Dao, K. (2018). Stabilisation des adobes par le ciment et les fibres de Kenaf. Thèse de doctorat, Université Ouaga I Pr Joseph Ki-ZERBO.
- [4] Kouamé, A. N., Konan, L. K., Doubi Gouré, B. I. H. G., Tognonvi, M. T., & Oyetola, S. (2020). Mechanical and microstructural properties of compressed earth bricks (CEB) incorporating shea butter wastes and stabilized with cement. *Journal of Materials Physics and Chemistry*, 8, 1-8.
- [5] Bamogo, H., Ouedraogo, M., Sanou, I., Aubert, J.-E., & Millogo, Y. (2022). Physical, Hydric, Thermal and Mechanical Properties of Earth Renders Amended with Dolomitic Lime. *Materials*, 15(11), 4014. MDPI AG.
- [6] Ouedraogo, M., Dao, K., Millogo, Y., Seynou, M., Aubert, J. E., & Gomina, M. (2017). Influence des fibres de kenaf (*Hibiscus altissima*) sur les propriétés physiques et mécaniques des adobes. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 43, 48-63.
- [7] Kouamé, A.N. (2021). Stabilisation, par le ciment, de blocs de terre argileuse incorporant des tourteaux de karité. Thèse de doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny.
- [8] Laborel-Préneron, A., Aubert, J. E., Magniont, C., Tribout, C., & Bertron, A. (2016). Plant aggregates and fibers in earth construction materials: A review. *Construction and building materials*, 111, 719-734.
- [9] Saiah, R., Perrin, B., & Rigal, L. (2010). Improvement of thermal properties of fired clays by introduction of vegetable matter. *Journal of building physics*, 34(2), 124-142.
- [10] Garcia-Valles, M., Alfonso, P., Martínez, S., & Roca, N. (2020). Mineralogical and thermal characterization of kaolinitic clays from Terra Alta (Catalonia, Spain). *Minerals*, 10(2), 142.
- [11] Kouamé, A. N., Konan, L. K., & Goure Doubi, B. I. H. (2021). Microstructure and Mineralogy of Compressed Earth Bricks Incorporating Shea Butter Wastes Stabilized with Cement. *Advances in Materials*, 10, 67-74.
- [12] Toledo Filho, R. D., de Andrade Silva, F., Fairbairn, E. M. R., & de Almeida Melo Filho, J. (2009). Durability of compression molded sisal fiber reinforced mortar laminates. *Construction and building materials*, 23(6), 2409-2420.
- [13] ARS 674. 1998. Organisation Régionale Africaine de Normalisation, Ed. Blocs de terre comprimée : norme. Technologie no 11, CDI et CRATERre-EAG, Belgique.
- [14] Benmansour, N., Agoudjil, B., Gherabli, A., Kareche, A., & Boudenne, A. (2014). Thermal and mechanical performance of natural mortar reinforced with date palm fibers for use as insulating materials in building. *Energy and Buildings*, 81, 98-104.
- [15] Weng, C. H., Lin, D. F., & Chiang, P. C. (2003). Utilization of sludge as brick materials. *Advances in environmental research*, 7(3), 679-685.

Synthèses, activité antioxydante et structures cristallines du 1-Nicotinoyl-4 Phénylthiosémicarbazide et de son dérivé N-Phenyl-5-(Pyridin-3-yl)-1,3,4-Oxadiazol-2-amine

Ndama Faye¹, Aissatou Alioune Gaye¹, Alioune Fall¹, Cheikh Ndoeye¹, Mayoro Diop¹, Gregory Excoffier², Mohamed Gaye¹

*1 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal.
2 Spectropole, Aix Marseille Université, Marseille, France
* ndamamau@gmail.com*

Résumé :

Les dérivés de l'isothiocyanate et de l'hydrazide de phényle ont été utilisés avec succès dans la préparation de nombreux composés utilisés dans différents domaines [1-4].

La présente étude décrit la synthèse et l'étude structural du composé $C_{13}H_{12}N_4O_S$ (I) à partir de l'hydrazide nicotinique et de l'isothiocyanate. Le composé $C_{13}H_{10}N_4O$ (II) est obtenu par réaction de (I) avec le sel de Mn (II). Le composé I cristallise dans le groupe spatial triclinique $P\bar{1}$ avec les paramètres de la maille : $a = 9,5667$ (2) Å ; $b = 11,5464$ (2) Å ; $c = 12,6658$ (2) Å ; $\alpha = 78,320$ (1)° ; $\beta = 83,319$ (1)° ; $\gamma = 88,079$ (2)° ; $V = 1360,73$ (4) Å³ ; $Z = 4$; $R1 = 0,040$ et $wR2 = 0,112$ et le composé II cristallise dans le groupe spatial monoclinique $P2_1/n$ avec les paramètres de la maille : $a = 5,4055$ (2) Å ; $b = 19,686$ (1) Å ; $c = 10,5015$ (4) Å ; $\beta = 92,402$ (2)° ; $V = 1116,51$ (8) Å³, $Z = 4$, $R1 = 0,070$ et $wR2 = 0,212$. L'unité asymétrique de I contient deux molécules. Le composé hétérocyclique (II) dérivé du 1,3,4-oxadiazol n'est pas planaire.

Mots Clés : isothiocyanate de phényle, thiosémicarbazide, oxadiazole, antioxydant

Syntheses, Antioxidant Activity and Crystal Structures of 1-Nicotinoyl-4Phenylthiosemicarbazide and Its Derivative N-Phenyl-5-(Pyridin-3-yl)-1,3,4-Oxadiazol-2-amine

Abstract

Phenyl isothiocyanate and hydrazide derivatives have been successfully used in the preparation of many compounds used in different fields [1-4]. The present study describes the synthesis and structural study of the compound $C_{13}H_{12}N_4O_S$ (I) from nicotinic hydrazide and isothiocyanate. The compound $C_{13}H_{10}N_4O$ (II) is obtained by reaction of (I) with the salt of Mn (II). Compound I crystallises in the triclinic space group $P\bar{1}$ with the lattice parameters: $a = 9.5667$ (2) Å; $b = 11.5464$ (2) Å; $c = 12.6658$ (2) Å; $\alpha = 78.320$ (1)°; $\beta = 83.319$ (1)°; $\gamma = 88.079$ (2)°; $V = 1360.73$ (4) Å³; $Z = 4$; $R1 = 0.040$ and $wR2 = 0.112$ and compound II crystallises in the monoclinic space group $P2_1/n$ with the lattice parameters: $a = 5.4055$ (2) Å; $b = 19.686$ (1) Å; $c = 10.5015$ (4) Å; $\beta = 92.402$ (2)°; $V = 1116.51$ (8) Å³, $Z = 4$, $R1 = 0.070$ and $wR2 = 0.212$. The asymmetric unit of I contains two molecules. The heterocyclic compound (II) derived from 1,3,4-oxadiazol is not planar.

Keywords : Phenyl Isothiocyanate, Thiosemicarbazide, Oxadiazole, Antioxidant

1. Introduction

Les dérivés de l'isothiocyanate et de l'hydrazide de phényle ont été utilisés avec succès dans la préparation de nombreux composés qui sont utilisés dans différents domaines [1]. Les dérivés du phényle-isothiocyanate se sont avérés posséder des propriétés antibactériennes, antifongiques, antituberculeuses, etc, antibactériennes, antifongiques, antituberculeuses, antithyroïdiennes et anticancéreuses [2]. Ces composés possèdent des hétéroatomes qui peuvent lier des cations métalliques, ce qui donne lieu à des composés de coordination. Les dérivés métalliques peuvent servir de catalyseurs dans de nombreuses réactions organiques [3]. Les dérivés de l'hydrazide présentent des propriétés biologiques telles que l'activité antibactérienne, antitumorale, antifongique et spasmolytique [4]. En outre, complexes dérivés de ligands contenant une partie hydrazide peuvent augmenter leur activité. Les complexes sont également considérés comme anticancéreux, catalyseurs, anti-Alzheimer, antimicrobiens et antifongiques [5]. L'isocyanate de phényle et l'hydrazide hydrazide sont largement utilisés pour synthétiser des dérivés de thiosémicarbazide. Sur la base des dérivés thiosémicarbazide l'oxadiazole peut être synthétisé en présence d'un cation métallique tel que Fe(II). Leurs dérivés sont des composés prometteurs avec un large spectre d'activité biologique dans les domaines agrochimique et pharmaceutique. Les oxadiazoles ont montré qu'ils possédaient une activité biologique telle qu'herbicide, insecticide, hypoglycémie, hypotension [6]. Dans cet article, nous rapportons la synthèse et la caractérisation d'un thiosémicarbazide dérivé de l'hydrazide nicotinique et de l'isothiocyanate de phényle. Dans notre tentative de synthétiser le complexe de fer à partir du dérivé ci-dessus, nous avons isolé le dérivé 1,3,4-oxadiazole. Les deux molécules sont caractérisées par étude spectroscopique et technique de diffraction des rayons X.

2. Matériels et méthodes

La nicotinique hydrazide, l'isothiocyanate de phényle, le chlorure de fer tétrahydraté et d'acétate de manganèse tétrahydraté ont été achetés chez Sigma-Aldrich et utilisés tels quels sans aucune purification. Tous

les solvants utilisés étaient de qualité réactif. Les techniques de caractérisation utilisées sont l'infrarouge, la RMN ^1H , RMN ^{13}C , et la diffraction des rayons X.

2.1. Synthèse du 1-nicotinoyl-4-phénylthiosémicarbazide H_3L

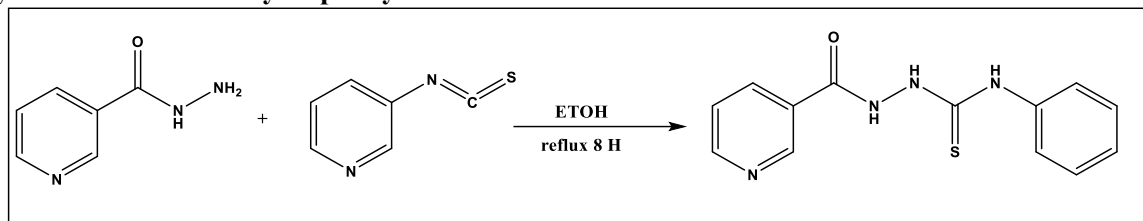


Schéma 1 : schéma réactionnel du ligand H_3L

Mode opératoire :

Pour la synthèse du 1-nicotinoyl-4-phénylthiosémicarbazide H_3L , un mélange d'hydrazide nicotinique (0,01 mol) et d'isothiocyanate de phényle (0,01 mol) dans de l'éthanol absolu a été porté à reflux pendant 12 heures. La matière solide obtenue après refroidissement a été filtrée, lavée avec de l'éthanol.

Rendement : 87%

- ✓ Anal. élémentaire. $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{OS}$, Trouvé (Calcd.) (%): C, 57.34 (57.32); H, 4.44 (4.41); N, 20.57 (20.53); S, 11.77 (11.72).
- ✓ IR $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3212, 3110 (N-H), 1681 (C=O), 1444 (N—N), 1256 (C=S), 753 cm^{-1} , 688 cm^{-1} .
- ✓ RMN ^1H (dmso- d_6 , δ en ppm) : 10.80 (S, 1H, NH), 9.82 (S, 1H, NH), 9.77 (S, 1H, NH), 8.75-7.30 (m, 9H, Ar-H).
- ✓ RMN ^{13}C (dmso- d_6 , δ en ppm) : 120-150, 164.85, 181.11.
- ✓

2.2. Synthèse du composé cyclique oxadiazole

Pour la synthèse du composé cyclique, un mélange agité de H_3L (272,3 mg, 1 mmol) et de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (198,8 mg, 1 mmol) dans de l'éthanol a été porté à reflux pendant 2 h. Après refroidissement, la solution a été filtrée et le précipité a été cristallisé à partir d'une solution de méthanol.

Rendement : 58%

Anal. élémentaire. $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$, Trouvé (Calcd.) (%) : C, 65.54 (65.52); H, 4.23 (4.21); N, 23.52 (23.51). IR (n, cm^{-1}):

IR (cm^{-1}) 1568, 1560, 1497, 1444, 1159, 830, 790, 754, 685, 678, 515.

3. Résultats et discussion

3.1. Etude RMN ^1H et ^{13}C du 1-nicotinoyl-4-phénylthiosémicarbazide H_3L

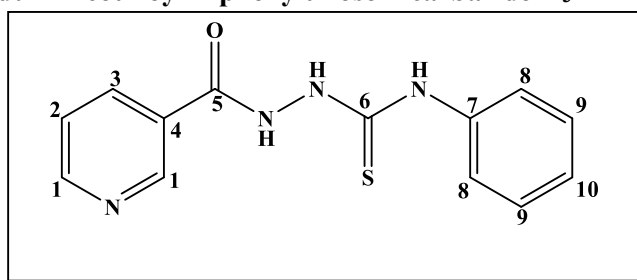


Schéma 2 : structure du ligand H_3L

Le spectre RMN ^1H montre du ligand révèle des signaux caractéristiques à 10,80 ppm, 9,82 ppm et 9,77 ppm attribués aux trois groupements N-H présentes dans la molécule. Les signaux dus aux protons aromatiques se situent entre 7,30 et 8,75 ppm. Le spectre RMN ^{13}C NMR présente deux signaux à 181,11 ppm et à 164,85 ppm, caractéristiques de C=S et C=O, respectivement. Des signaux supplémentaires attribués aux atomes de carbone aromatiques se situent entre 150 et 140 ppm.

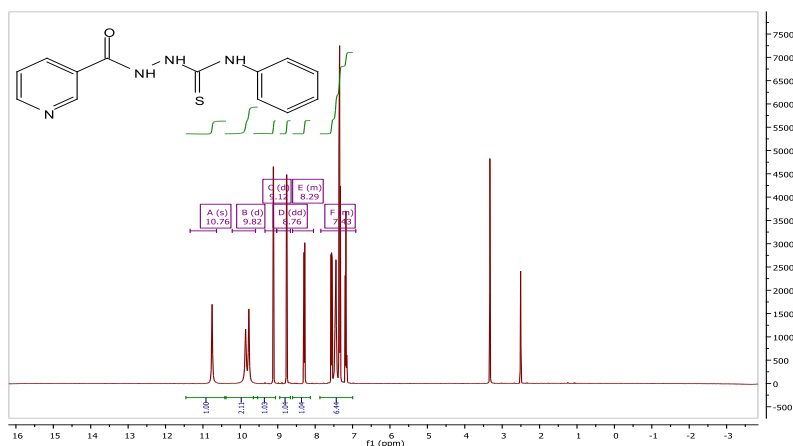


Figure 10 : RMN du proton ^1H du ligand $\text{H}_3\text{L}_\text{C}$

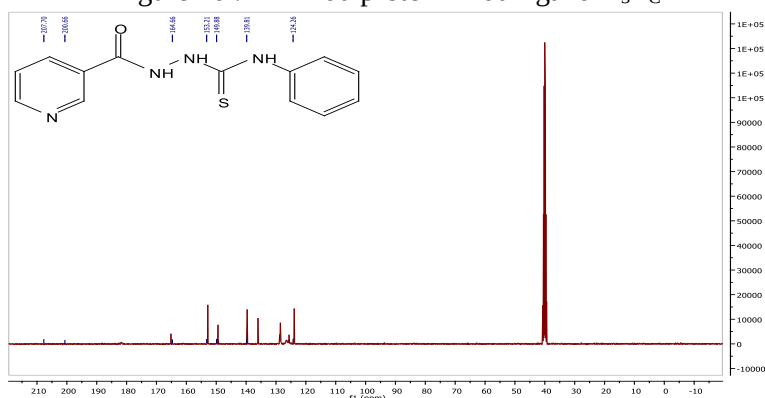


Figure 11 : le spectre ^{13}C du ligand H_3L

3.2. Etude activité antioxydante du ligand H_3L

La méthode de piégeage du radical DPPH est utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des composés organiques ou inorganiques [7]. L'activité antioxydante du composé H_3L a fait l'objet d'une étude approfondie. La figure 25 montre l'activité de piégeage du radical libre DPPH (%) pour le Trolox et le composé H_3L . Le DPPH est un radical libre stable qui devient une molécule stable lorsqu'elle accepte un électron ou un radical hydrogène. Dans cette étude, le composé H_3L piège le radical DPPH par sa capacité à donner de l'hydrogène. Les résultats montrent que l'activité de piégeage augmente avec l'augmentation de la concentration dans la gamme testée (100-500 mmol/L). Le composé H_3L a une activité de piégeage entre $17,46 \pm 0,21$ et $79,28 \pm 0,66\%$ dans la gamme de concentration étudiée en raison des trois groupes NH qui peuvent réagir avec le radical DPPH par le biais de l'hydrogène H. L'étude comparative nous montre que lorsqu'on augmente la concentration (100 à 500 mM), l'activité de piégeage du composé H_3L augmente plus rapidement que celle du Trolox ($9,86 \pm 0,67$ et $49,66 \pm 0,28\%$).

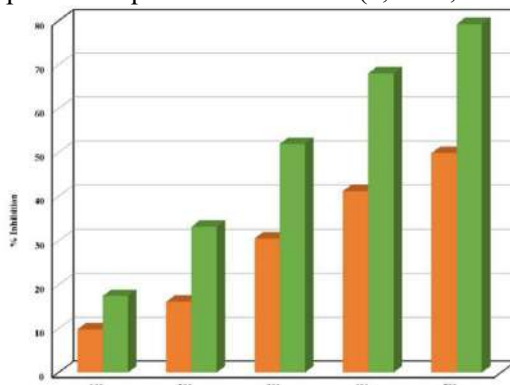


Figure 12 : Activité antioxydante du ligand $\text{H}_3\text{L}_\text{C}$ et de Trolox.

3.3. Etude cristallographique du ligand H_3L et de son dérivé cyclique oxadiazole

La structure cristalline révèle que l'unité asymétrique est formée par deux molécules du ligand (1-nicotinoyl-4-phénylthiosémicarbazide). L'étude par diffraction aux rayons X du ligand **H₃L_C** montre qu'il cristallise dans le système triclinique avec un groupe d'espace P-1. Les paramètres de la maille élémentaire sont répertoriés dans le tableau13. Les études montrent que les valeurs efficaces (rms) des groupements Thiosemicarbazide [N1-C7(S1)-N2-N3 et N1A-C7A(S1A)- N2A-N3A] sont respectivement de 0,0186 Å et de 0,0998 Å. Ces valeurs indiquent que ces liaisons sont presque planaires. Pour l'une des molécules de l'unité asymétrique (figure26), le groupement thiosémicarbazide forme des angles dièdres de 82,684(10)° et 85,919 (10)° avec respectivement les cycles phényle et pyridine, tandis que les cycles phényle pyridine forment un angle diédral de 49,994 (11)°. Pour la deuxième molécule, les cycles phényle et pyridine forment respectivement des angles dièdres de 49,511(10)° et 83,196(10)° avec le groupe thiosémicarbazide, tandis que l'anneau phényle et le cycle pyridine forment un angle diédral de 58,994(12)°. Les distances C=O et C=S sont légèrement différentes dans les deux molécules (C1=O1 [1,209 (2) Å], C7=S1 [1,7091 (14) Å] et (C1A=O1A [1,2194 (18) Å], C7A=S1A [1,6837 (14) Å]) tableau14. Les valeurs de ces longueurs de liaisons sont caractéristiques de la double liaison. Ceci montre que le ligand n'a pas subi d'énolisation ou de thioénolisation comme cela a été observé pour des similaires [8]. Les molécules du composé sont exclusivement sous leur forme céto/thiocéto. Cette forme est confirmée par les longueurs de liaisons : C1-N3 [1,360 (2) Å], C7-N2 [1,3399 (19) Å], C7-N1 [1,3223 (19) Å], C1A-N3A [1,3494 (18) Å], C7A-N2A [1,3654 (18) Å] et C7A-N1A [1,3286 (18) Å] (tableau 14) qui indiquent des liaisons simples. Les autres distances et angles restent identiques dans les deux molécules de l'unité asymétrique. Les atomes O1 et N2 sont en position cis par rapport à la liaison C1-N3 [O1-C1-N3-N2 = -12,1(3)°] tandis que les atomes S1 et N3 sont en conformation trans par rapport à la liaison C7-N2 [S1-C7-N2-N3] = 177,0(1)°. La deuxième molécule présente des positions similaires avec des angles de torsion de 3,6(2)° [O1A-C1A-N3A-N2A] et 161,4(1)° [S1A-C7A-N2A-N3A] respectifs. Les deux molécules sont liées par une liaison hydrogène intramoléculaire de type N-H...O entre le groupe amino d'une molécule qui joue le rôle de donneur et un atome d'oxygène carbonyle de l'autre molécule qui joue le rôle d'accepteur (N1-H1N...O1A), ce qui donne un dimère.

En plus des liaisons intermoléculaires forts de type N-H...N, N-H...S et N-H...O, la structure comporte des liaisons intermoléculaires faibles de type C-H...O et C-H...S. La structure est composée de plusieurs chaînes qui se superposent. Les chaînes intermoléculaires sont responsables de la cohésion et de la stabilité du polymère. La combinaison des liaisons hydrogène crée une structure en réseau tridimensionnel.

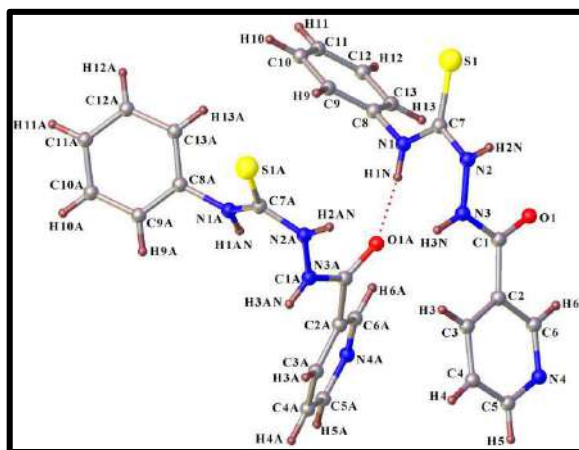


Figure 13 : Structure cristalline du 1-nicotinoyl-4-phénylthiosémicarbazide (**H₃L**).

Etude cristallographique du composé oxadiazole

Le composé [C₁₃H₁₀N₄O] cristallise dans le groupe spatial monoclinique P2₁/n. L'unité asymétrique est constitué par une molécule de N-phényl-5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-amine. Le cycle central le 1,3,4-oxadiazole C1/N1/N2/C7/O1 est presque planaire avec de courtes distances C1=N2 [1,278 (3)Å] et C7=N3 [1,302 (3) Å] indiquant un caractère de double liaison. Les distances C1-O1 [1,379 (2) Å] et C7-O1 [1,361 (2) Å] sont compatibles avec une liaison simple. Ces valeurs sont en accord avec celles rapportées pour un composé avec une partie de 1,3,4-oxadiazol [9]. La structure moléculaire n'est pas planaire. En effet, les cycles phényle et pyridine forment des angles dièdres de 17,725(14)° et 4,550(15)°, respectivement avec l'anneau central à cinq atomes 1,3,4-oxadiazole. L'angle dièdre entre les anneaux phényle et pyridine est de 22,260(12)°. La molécule d'oxadiazole est stabilisée par les liaisons hydrogène intramoléculaires C9-H9...N3 formant le cycle **S(6)** habituel à six chaînons. Il n'y a qu'une seule liaison hydrogène intermoléculaire de type N-H...N entre le groupe amine

en tant que donneur et l'atome d'azote du cycle pyridine comme accepteur, (N4-H4...N1i, i = -x+2, -y+1, -z+1) pour former des chaînes qui s'étendent parallèlement à l'axe c.

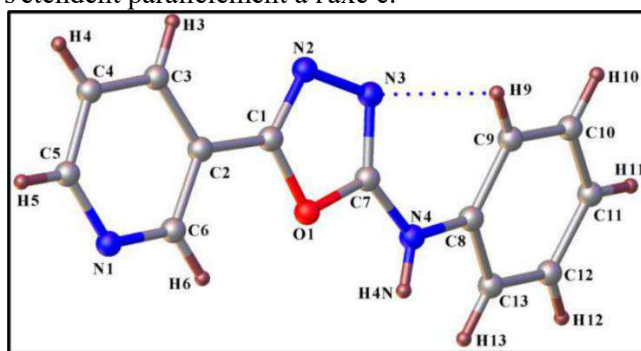


Figure 14 : Structure cristalline de la N-phényl-5-(pyridine-3-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-amine

4. Conclusion

Composé, 1-nicotinoyl-4-phénylthiosémicarbazide (I), synthétisé à partir de la réaction entre l'hydrazide nicotinique et l'isothiocyanate, on obtient le composé II, N-phényl-5-(pyridine-3-yl) 1,3,4-oxadiazol-2-amine, lorsqu'il réagit avec le Fe(II). Les structures des composés I et II sont confirmées par l'analyse élémentaire et des techniques spectroscopiques (FT-IR, 1H et 13C NMR). Les structures moléculaires des composés I et II sont déterminées par diffraction des rayons X. Dans la gamme de concentration (100-500 mM) le composé I présente un meilleur pouvoir antioxydant que le TROLOX, qui est utilisé comme référence.

5. Bibliographie :

- [1] Jastrzębska, A., Piasta, A., Krzemiński, M. & Szłyk, E. Application of 3,5-bis-(trifluoromethyl)phenyl isothiocyanate for the determination of selected biogenic amines by tandem mass spectrometry and ¹⁹F NMR. Food Chemistry, 2018, 239, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.100>
- [2] Lin, C.-M., Preston, J. F., III & Wei, C.-I. Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. Journal of Food Protection, 2000, 63 (6), 727–734. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.6.727>
- [3] Narvariya, R., Das, S., Jain, A. & Panda, T. K. Synthesis, structural characterization and catalytic application of zinc and cadmium sulfur complexes with imidazol-2-ylidene-N'-phenylthiourea ligand scaffold. Polyhedron, 2022, 225, 116055. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.116055>
- [4] Popiołek, Ł., Tuszyńska, K. & Biernasiuk, A. Searching for novel antimicrobial agents among hydrazide-hydrazones of 4-iodosalicylic acid. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 153, 113302. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113302>
- [5] Mallikarjuna, B. P., Sastry, B. S., Suresh Kumar, G. V., Rajendraprasad, Y., Chandrashekar, S. M. & Sathisha, K. Synthesis of new 4-isopropylthiazole hydrazide analogs and some derived clubbed triazole, oxadiazole ring systems – a novel class of potential antibacterial, antifungal and antitubercular agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 44 (11), 4739–4746. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.06.008>
- [6] Sheldrick, G. M. SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. Acta Crystallographica Section A, 2015, 71 (1), 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>
- [7] Foti, M. C., Daquino, C. & Geraci, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH • radical in alcoholic solutions. J. Org. Chem., 2004, 69 (7), 2309–2314. <https://doi.org/10.1021/jo035758q>
- [8] Samb, I., Gaye, N., Sylla-Gueye, R., Thiam, E. I., Gaye, M. & Retailleau, P. Crystal structure of N, N'-[(ethane-1,2-diyl)bis(azanediylcarbonothioyl)]bis-(benzamide). Acta Crystallographica Section E, 2019, 75 (5), 642–645. <https://doi.org/10.1107/S205698901900495X>
- [9] Lakshmithendral, K., Archana, K., Saravanan, K., Kabilan, S. & Selvanayagam, S. Crystal structures of 3-methoxy-4-[[5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]methoxy]benzonitrile and N-(4-[[5-(4-chlorophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]methoxy]phenyl)acetamide. Acta Crystallographica Section E, 2018, 74 (12),

Effet de la mullite sur la performance des filtres céramiques dans l'élimination de l'arsenic d'une eau de forage

K. Barry^{1,2,3} *, Sorry Nassio², M. Seynou², G.L. Lecomte-Nana¹, M. Sawadogo², L. Zerbo², P. Blanchart¹

¹ Institut de Recherche sur les Céramiques IRCER, Université de Limoges, 12 Rue Atlantis 87068 Limoges, France

² Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux LC2M, Université Joseph KI-ZERBO, 7021 Ouagadougou, Burkina Faso

³ Université de Ouahigouya/UFR-Sciences et Technologies/ Département de Physique-Chimie, 346 Ouahigouya, Burkina Faso

* barry7kassoum@gmail.com

Résumé :

Ces dernières décennies, les céramiques silicatées poreuses ont suscités un grand intérêt scientifique dans le traitement de l'eau à travers des systèmes économiques et à très faible impact environnemental. La présence de la mullite au sein des matériaux pourrait améliorer les propriétés de rétention des filtres céramiques vis-à-vis de l'arsenic. L'objectif de cette étude est d'élaborer à températures modérées des filtres céramiques mullitiques et non mullitiques dotés d'une efficacité d'élimination de l'arsenic de l'eau. Pour ce faire, une argile (KOR) riche en oxydes fondants et de la poudre de coques d'arachide (PCA) ont été employés. Les matériaux ont été élaborés par pressage du mélange de l'argile avec 25% de PCA, puis cuits à 900 °C (MKOR9) ou à 1100 °C (MKOR11). Les résultats ont montré que les matériaux MKOR11 sont constitués de 27% de mullite, à la différence des MKOR9. L'application à une eau de forage de concentration 39 µg.L⁻¹ (supérieure à la norme OMS 10 µg.L⁻¹), indique un taux d'abattement de 24% (MKOR9) contre 95% pour MKOR11. Les filtres céramiques MKOR11 sont dotés d'une performance très impressionnante, et pourraient être utilisés à l'échelle industrielle au profit de la population.

Mots clés : Filtre ; céramique ; mullite ; filtration.

Mullite effect on the ceramic filters effectiveness in the removal of arsenic from borehole water

Abstract:

In recent decades, porous silicate ceramics have generated great scientific interest in water treatment through economical systems with very low environmental impact. The presence of mullite within the materials could improve the retention properties of ceramic filters with respect to arsenic. The objective of this study is to develop mullitic and non-mullitic ceramic filters with a high efficiency in arsenic removal from borehole water. To achieve that, a clay (KOR) rich in fluxing oxides and peanut shell powder (PCA) were used. The materials were manufactured by pressing the mixture of clay with 25% PCA, then sintered at 900°C (MKOR9) or 1100°C (MKOR11). The results showed that MKOR11 materials are composed of 27% mullite, unlike MKOR9. Application to borehole water with a concentration of 39 µg.L⁻¹ (higher than the WHO standard 10 µg.L⁻¹), indicated a removal rate of 24% (MKOR9) compared to 95% for MKOR11. MKOR11 ceramic filters have very impressive efficiency, and could be used on an industrial scale for the benefit of the population.

Keywords: Filter ; ceramics ; mullite ; filtration.

1. Introduction

Les céramiques poreuses sont largement étudiées à cause de leurs excellentes propriétés technologiques notamment les propriétés mécaniques, la stabilité thermique, la bonne résistance chimique, et leur longue durée de vie [1,2,3]. Les caractéristiques technologiques de la structure poreuse (distribution de la taille et interconnectivité des pores, perméabilité, la morphologie microstructurale...) et la cristallinité des phases dépendent du procédé de mise en forme et de l'application à laquelle les matériaux sont destinés [4,5,6]. Outre les propriétés mécaniques conférées, la présence de la mullite au sein du matériau pourrait améliorer les propriétés de rétention des filtres céramiques vis-à-vis de l'arsenic, et ce par constat sur des filtres céramiques de Bangladesh [7,8], mais qui reste à élucider. La mullitisation lors du frittage se fait généralement à des températures élevées [9,10], ce qui demande suffisamment d'énergie. Hors le contexte actuel demande à ce que la recherche soit orientée vers l'économie énergétique en particulier dans les pays subsahariens. La baisse de la température de frittage demande la présence d'oxydes fondants dans la composition chimique de la matière première [11,12]. Les filtres céramiques silicatés à porosité élevée, interconnectée et contrôlée peuvent être mise en forme par coulage congélation [5,13] ou par incorporation d'un agent porogène [2,14,15]. Aujourd'hui les chercheurs s'orientent beaucoup plus vers l'utilisation des déchets organiques notamment les résidus agricoles afin de respecter les mesures de protection environnementale [15,16,17]. Dans le cas de notre étude, les coques d'arachide ont été utilisées comme agent porogène. L'objectif général de cette étude est d'élaborer des filtres céramiques mullitiques et non mullitiques (dont la matrice serait essentiellement constituée de phase amorphe) dotés d'une importante efficacité d'élimination de l'arsenic de l'eau de forage. Ces matériaux ont été frittés à des températures maximum de 1100 °C afin de consommer moins d'énergie électrique et de réduire le coût de ces filtres céramiques sur le marché local. Par conséquent, une matière première argileuse contenant une teneur appréciable en oxydes

fondants a été utilisée pour cette étude. Aussi, de la poudre de coques d'arachide a été utilisée comme agent porogène. Les filtres céramiques formulés ont été appliqués à l'élimination de l'arsenic d'une eau de forage du Burkina Faso dont la concentration était de $39 \mu\text{g.L}^{-1}$, supérieure à la norme OMS [18]. La région du nord du Burkina Faso est, depuis plusieurs années, confrontée au problème de pollution lié à l'arsenic dans les eaux souterraines, et ce phénomène a connu un accroissement avec l'augmentation des activités minières. C'est pour nous alors, un défi de participer à la recherche de solution durable et soutenable respectant les mesures environnementales, en élaborant des matériaux locaux.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matières premières et formulation

La matière première argileuse KOR broyée à $200 \mu\text{m}$ a été mélangée avec de la poudre de coques d'arachide (PCA), à l'aide d'un plateau rotatif à une vitesse de 32 rpm pendant 15 minutes. Un premier mélange sec (Argile + PCA) est d'abord réalisé. Le mélange sec est ensuite humidifié à 20% massique l'aide d'une pissette d'eau distillée en quantité contrôlée pendant que le plateau est en rotation. Les mélanges granulés sont par la suite conservés dans des sacs plastiques pendant au moins 24 h pour le murissement.

La mise en forme par pressage uniaxial des matériaux poreux a été réalisée dans une matrice cylindrique de diamètre 25 mm. Une masse de granules de 8 g est introduite dans la matrice cylindrique et compactées à 50 MPa. La charge appliquée est suffisamment importante pour obtenir une bonne résistance mécanique du matériau en cru. Les matériaux en cru sont gardés à température de la salle ($\sim 20^\circ\text{C}$) pendant 48 heures puis à 40°C dans une chambre contrôlée pendant 72 heures, et enfin étuvés à 100°C pendant 24 heures. Les matériaux secs sont ensuite cuits à une température de 900 ou 1100°C . Le cycle thermique de cuisson est le suivant : (i) un premier palier à 400°C pendant 1 h avec une rampe de température de 1°C.mn^{-1} dans le but de faciliter la décomposition du PCA ; (ii) un deuxième palier à 900 ou 1100°C pendant 1 heure avec une rampe de 3°C.mn^{-1} . La **figure 1** décrit le cycle thermique de frittage. Les matériaux finaux obtenus sont référencés MKOR9 (matériaux cuits à 900°C) et MKOR11 (matériaux cuits à 1100°C)

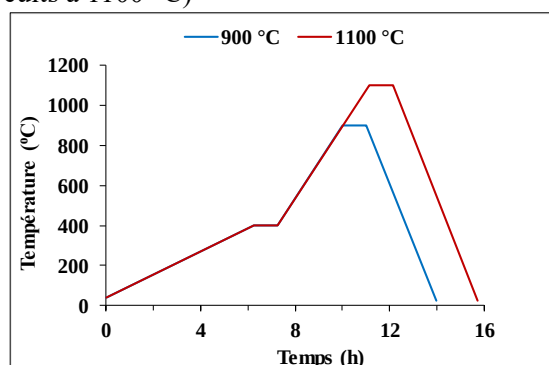


Figure 1. Cycles thermiques utilisés pour la cuisson des matériaux céramiques

2.2. Méthodes expérimentales

L'arsenic a été dosé par la spectrométrie d'absorption atomique (SAA). Un échantillon liquide est introduit par aspiration sous forme d'aérosol dans une flamme. Lors de la traversée de la flamme, les atomes à l'état fondamental vont absorber le rayonnement spécifique émis par une source lumineuse. La mesure de cette absorption (rapport des intensités incidentes et transmises) est proportionnelle à la quantité d'atomes de l'élément à doser et permet donc de déterminer la concentration de l'élément dans la solution par rapport à une gamme de calibrage. L'intensité de la lumière absorbée est liée à la concentration de l'absorbât par la loi de Beer-Lambert (équation 1) :

$$A = \log(I_0/I) = \epsilon.l.c \quad (1)$$

Avec :

A, l'absorbance ; I (cm^{-1}), l'intensité de la radiation transmise ; I_0 (cm^{-1}), l'intensité de la radiation incidente ; ϵ ($\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), le coefficient d'extinction molaire ; l (cm), l'épaisseur de la substance absorbante ; c (mol.L^{-1}), la concentration de l'élément à doser. L'appareil utilisé pour doser l'arsenic est de type PERKIN ELMER AAS pinnacle 900T

3. Resultats et discussion

3.1. Analyse minéralogique

La figure 2 présente les diffractogrammes des matériaux frittés aux températures de 900 °C et 1100 °C. Ces résultats montrent que les matériaux cuits à 1100 °C sont essentiellement formés de mullite de cristobalite et de quartz résiduel, alors que ceux obtenus à 900 °C sont principalement constitués de phase amorphe.

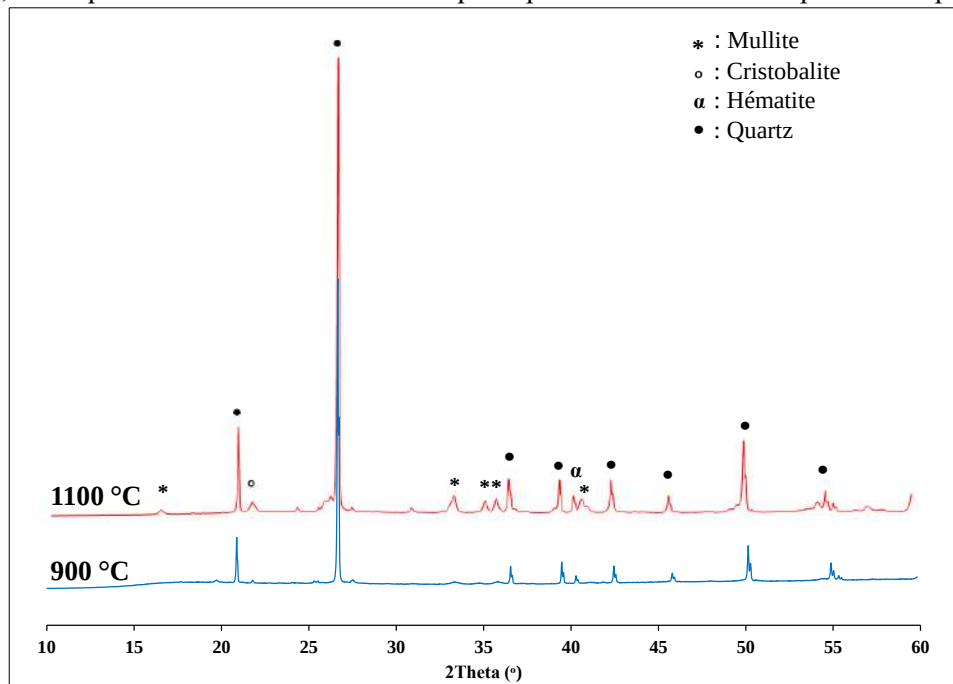


Figure 2. Diffractogrammes des matériaux céramiques cuits à 900 °C et 1100 °C

3.2. Taux d'abattement et concentration limite

La figure 3 présente l'évolution du taux d'abattement (figure 3.a) ainsi que l'évolution de la concentration du filtrat (figure 4.b) en fonction du temps. Le filtre MKOR11 présente un taux d'abattement de 95% qui reste linéaire le long des 25 minutes de test de filtration. Cependant MKOR9 présente un taux d'abattement relativement faible qui diminue au fil du temps. Avec un taux d'abattement de 24%, la concentration reste au-dessus de la concentration limite recommandée par la norme OMS (figure 4.b) [19].

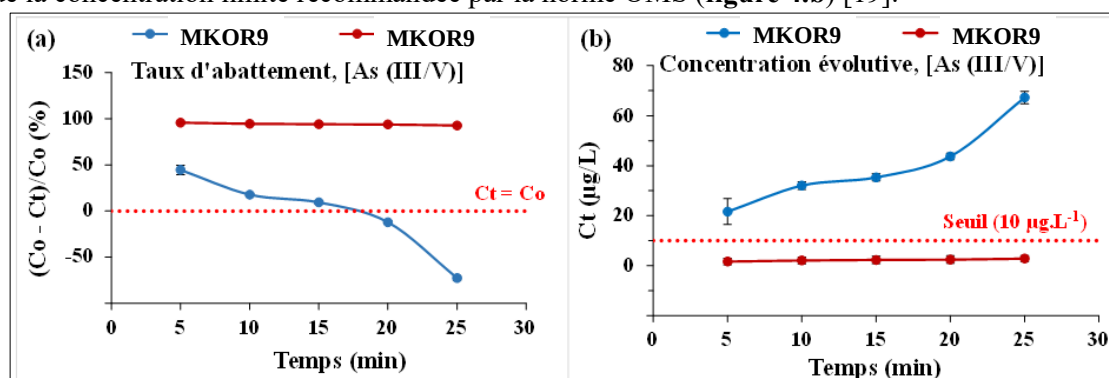


Figure 4. (a)Taux d'abattement et (b) concentration du filtrat en arsenic en fonction du temps.

4. Conclusion

L'objectif de cette étude est d'élaborer deux types de filtres céramiques, mullitiques et non-mullitique afin de mettre en évidence les propriétés mullitiques dans l'élimination de l'arsenic de l'eau de forage. Les résultats d'analyse DRX ont montré que les matériaux MKOR11 sont essentiellement constitués d'une phase mullitique contrairement aux matériaux MKOR9 dont la matrice est essentiellement amorphe. Les résultats du taux d'abattement et la concentration du filtrat montrent que les filtres MKOR11 peuvent éliminer l'arsenic avec une efficacité très appréciable. Ces matériaux sont donc une alternative pour venir en aide aux populations vivant dans les zones où les eaux sont arséniées.

5. Bibliographie

- [1] M. Mouiya *et al.*, « Fabrication and characterization of a ceramic membrane from clay and banana peel powder : Application to industrial wastewater treatment », *Materials Chemistry and Physics*, vol. 227, p. 291-301, 2019, doi: 10.1016/j.matchemphys.2019.02.011.
- [2] N. Chaukura *et al.*, « A new generation low-cost biochar-clay composite 'biscuit' ceramic filter for point-of-use water treatment », *Applied Clay Science*, vol. 185, n° 10540, p. 1-10, 2020.
- [3] K. Barry, G. L. Lecomte-Nana, M. Seynou, M. Fauchet, et P. Blanchart, « Comparative Properties of Porous Phyllosilicate-Based Ceramics Shaped by Freeze-Tape Casting », *Ceramics*, vol. 5, n° 1, p. 75-96, 2022, doi: 10.3390/ceramics5010007.
- [4] D. Hautcoeur, M. Gonon, C. Baudin, V. Lardot, A. Leriche, et F. Cambier, « Alumina Porous Ceramics Obtained by Freeze Casting: Structure and Mechanical Behaviour under Compression », *Ceramics*, vol. 1, p. 83-97, 2018, doi: 10.3390/1010008.
- [5] K. Barry, G. L. Lecomte-Nana, M. Seynou, M. Fauchet, P. Blanchart, et C. Peyratout, « Properties of phyllosilicate-based porous ceramics shaped by conventional tape casting and freeze tape casting », *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*, vol. 19, n° 6, p. 3084-3098, 2022, doi: 10.1111/ijac.14126.
- [6] S. I. Akosile, F. O. Ajibade, K. H. Lasisi, T. F. Ajibade, J. R. Adewumi, et A. M. Oguntuase, « Performance evaluation of locally produced ceramic filters for household water treatment in Nigeria. 2020, 7, e00218 », *Sci. Afr.*, vol. 7, n° e00218, p. 1-13, 2020, doi: 10.1016/j.sciaf.2019.e00218.
- [7] Md. Shafiquzzaman, M. Hasan, H. Haider, Q. H. Bari, Y. El-Ghoul, et J. Nakajima, « Arsenic removal by household-based ceramic filters: Evaluating mode of operations and influence of groundwater compositions », *Journal of Water Process Engineering*, vol. 46, n° 102598, p. 1-12, 2022, doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102598.
- [8] M. Shafaquzzaman, M. S. Azam, J. Nakajima, et Q. H. Bari, « Investigation of arsenic removal performance by a simple iron removal ceramic filter in rural households of Bangladesh », *Desalination*, vol. 265, n° 1-3, p. 60-66, 2010, doi: 10.1016/j.desal.2010.07.031.
- [9] F. Chargui, M. Hamidouche, H. Belhouchet, Y. Jorande, R. Doufnoune, et G. Fantozzi, « Mullite fabrication from natural kaolin and aluminium slag », *Cerámica Y Vidrio*, vol. 57, p. 169-177, 2018, doi: 10.1016/j.bsecv.2018.01.001.
- [10] D. Zemánek *et al.*, « Development and Properties of New Mullite Based Refractory », *Materials*, vol. 14, n° 779, p. 1-15, 2021, doi: 10.3390/ma14040779.
- [11] A. Aras, « The difference between alkaline and alkaline earth effects on high-temperature phase change of clay-based ceramic », *Appl. Clay Sci.*, vol. 164, p. 2-12, 2018, doi: 10.1016/j.clay.2018.04.029.
- [12] J. A. Morales-Morales, « Synthesis of Hematite α -Fe₂O₃ Nano Powders by the controlled precipitation method », *Ciencia en Desarrollo*, vol. 8, n° 1, 2017, doi: 10.19053/01217488.v8.n1.2017.4494.
- [13] S. G. M. Carvalho, E. N. S. Muccillo, F. C. Fonseca, M. Müller, F. Schulze Küppers, et S. Baumann, « Tape-casting and freeze-drying gadolinia-doped ceria composite membranes for carbon dioxide permeation », *J. Membr. Sci.*, vol. 648, n° 120355, p. 1-10, 2022.
- [14] U. E. Ekpunobi, S. U. Agbo, et V. I. E. Ajiwe, « Evaluation of the mixtures of clay, diatomite, and sawdust for production of ceramic pot filters for water treatment interventions using locally sourced materials », *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 7, n° 102791, p. 1-9, 2019, doi: 10.1016/j.jece.2018.11.036.
- [15] T. T. Dele-Afolabi, M. A. Hanim Azmah MA, O. J. Ojo-Kupoluyi, R. Calin, et M. Y. M. Zuhri, « Tailored pore structures and mechanical properties of porous alumina ceramics prepared with corn cob pore-forming agent », *Int J Appl Ceram Technol.*, vol. 18, n° 1, p. 244-252, 2021.
- [16] O. Bobet, M. Seynou, L. Zerbo, H. Bamogo, I. Sanou, et M. Sawadogo, « Mechanical, hydric and thermal properties of earth brick amended with peanut shells », *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, vol. 049, p. 54-64, 2020.
- [17] O. Bobet *et al.*, « Characterization of Peanut Shells for Their Valorization in Earth Brick », *J. Minerals and Materials Characterization and Engineering*, vol. 8, p. 301-315, 2020, doi: 10.4236/jmmce.2020.84018.
- [18] Y. Hailua, E. Tilahuna, A. Brhanea, H. Reskya, et O. Sahu, « Ion exchanges process for calcium, magnesium and total hardness from ground water with natural zeolite », *Groundwater for Sustainable Development*, vol. 8, p. 457-467, 2019, doi: 10.1016/j.gsd.2019.01.009.
- [19] Y. Hailua, E. Tilahuna, A. Brhanea, H. Reskya, O. Sahu, « Ion exchanges process for calcium, magnesium and total hardness from ground water with natural zeolite », *Groundwater for Sustainable Development*, vol. 8, p. 457-467, 2019.

Développement de capteurs électrochimiques à base d'électrodes de graphène induit par laser (LIGE) pour l'analyse de la dopamine et de l'acide urique dans les fluides biologiques

Bibata Ouedraogo^{1*} · Sabrina Baachaoui² · Amidou Tall^{1,3} · Issa Tapsoba ; Nouredine Raouafi

¹ Université Joseph KI-ZERBO, UFR-SEA, Laboratoire de Chimie Analytique, Environnementale et Biorganique (LCAEBiO), 03 BP 7021, Ouagadougou 03, Burkina Faso

² Université de Tunis El Manar, Faculté des Sciences de Tunis, Laboratoire de Chimie Analytique et Electrochimie (LR99ES15), Sensors and Biosensors Group, 2092 Tunis, El Manar, Tunisia

³ Laboratoire de Sciences et Technologies (LaST), Université Thomas SANKARA, 12 BP 417, Ouagadougou, Burkina Faso

Bibata OUEDRAOGO : biba.ouedr92@gmail.com

Résumé

Le dosage de la dopamine (DA) et l'acide urique (AU) dans les fluides biologiques est une nécessité pour la surveillance de plusieurs maladies humaines, car elles sont responsables à une certaine concentration des maladies neurologiques et osseuses, respectivement. La conception de capteurs sensibles pour leur détection est un domaine de recherche en plein essor. Nous rapportons la conception d'électrode de graphène induit par laser (LIGES) à partir de l'irradiation laser d'un substrat de polyimide et de leur modification par des nanoparticules d'or. Les études électrochimiques ont montré que la présence des AuNPs à la surface des électrodes améliorait les performances électrochimiques du capteur vis-à-vis des analytes cibles. L'analyse de la DA et de l'AU à l'aide du capteur AuNPs/LIGE a montré des gammes linéaires variant de 2 à 20 μM et de 5 à 50 μM , avec des limites de détection de 0,37 μM et 0,71 μM , respectivement. Aussi, le capteur AuNPs/LIGE a été appliqué à l'analyse des deux analytes dans le sérum humain avec des taux de recouvrement moyen de 98 % pour DA et entre 103% pour l'AU. Le capteur présente des potentialités pour la mise en place d'un outil d'analyse de la DA et l'AU dans les fluides biologiques.

Mots clés : LIGE ; AuNPs ; dopamine ; acide urique.

Abstract

The measurement of dopamine (DA) and uric acid (UA) in biological fluids is a necessity for the monitoring of several human diseases, as they are responsible at a certain concentration for neurological and bone diseases, respectively. The design of sensitive and cost-effective sensors for their detection is a growing area of research. We report the design of laser-induced graphene electrodes (LIGES) based on laser irradiation of a polyimide substrate and their modification with gold nanoparticles. Electrochemical studies showed that the presence of AuNPs on the electrode surface improved the electrochemical performance of the sensor with respect to the target analytes. Analysis of DA and AU using the AuNPs/LIGE sensor showed linear ranges varying from 2 to 20 μM and from 5 to 50 μM , with detection limits of 0.37 μM and 0.71 μM , respectively. Also, the AuNPs/LIGE sensor has been applied to the analysis of both analytes in human serum with average recoveries of 98% for DA and between 103% for UA. The sensor has potential as a tool for analysing DA and UA in biological fluids.

Keywords : LIGE ; AuNPs ; dopamine ; uric acid

1. Introduction générale

L'acide urique (AU) et la dopamine (DA) sont des molécules impliquées dans de nombreux processus physiologiques et présentes à faibles doses dans les fluides biologiques humains [1,2]. En effet, la DA est une molécule biologique qui agit comme un neurotransmetteur et une hormone dans la chimie du cerveau et le fonctionnement du corps humain [3,4]. Quant à l'AU, il est un sous-produit de la désamination enzymatique des purines issues de la dégradation de certaines protéines [5].

La concentration physiologique normale en DA est comprise entre 10 à 480 pM, et prend en compte les autres catécholamines telles que l'épinéphrine et la norépinéphrine [6]. En dehors de cette gamme, des troubles neuropsychiatriques telles que la maladie de Parkinson, la schizophrénie, l'Alzheimer etc. peuvent survenir [4,7]. Des concentrations en AU supérieures à 360 μM dans l'urine et le sang peuvent occasionner des lésions rénales ou encore provoquer la goutte [4,8,9].

Par conséquent, le contrôle des niveaux de concentrations de l'AU et de la DA dans les milieux biologiques et les échantillons médicamenteux devient une nécessité et doit être entrepris.

A cet effet, des méthodes d'analyses telles que la chromatographie liquide haute performance (CLHP), la spectrophotométrie UV-Visible, la spectrométrie de masse (SM), la spectrophotométrie de fluorescence, etc. ont été rapportées [10-14]. Bien que ces méthodes soient sensibles et sélectives, leur coût prohibitif, les longs temps d'analyse et leur mise en œuvre délicate ne facilitent pas leur utilisation pour des analyses rapides et de routine, surtout dans les pays en développement où les ressources sont limitées.

Ainsi, il devient nécessaire de développer des méthodes alternatives combinant, rapidité, accessibilité et facilité de mise en œuvre avec une sensibilité et sélectivité raisonnables. Ainsi, plusieurs auteurs ont rapporté le développement de capteurs et biocapteurs électrochimiques pour l'analyse de nombreuses molécules dans les domaines environnemental et médical [1,16,17]. Plusieurs types d'électrodes rentrent dans la conception de ces capteurs à savoir des électrodes en graphite, en or, en platine, en graphène etc. [3,4]. Depuis 2014, des électrodes de graphène induit par laser (*laser-induced graphene electrode*) (LIGEs) ont fait leur entrée dans le domaine de développement de capteurs électrochimiques [20,21]. Le graphène est un matériau bidimensionnel (2D) procédant d'excellentes propriétés physico-chimiques et biologiques. Grâce à sa structure poreuse, le graphène est un matériau doté d'une bonne conductivité électrique, une bonne biocompatibilité et d'une grande surface active [25,26].

Les électrodes de graphène induit par laser (LIGEs), sont des électrodes flexibles constituées de graphène produit par irradiation d'un substrat polymère à l'aide d'un laser à dioxyde de carbone (CO₂) ou à l'Ultra-Violet (UV) peu coûteux [18,19,22,23]. Plusieurs types de polymères peuvent être utilisés comme substrat pour la production du graphène. Parmi ces polymères, le polyimide (PI), le polyéther-imide (PEI), le polyéther-éther-cétone (PEEK), la cellulose, etc. [18,19,24] sont couramment utilisés.

Ainsi, plusieurs travaux ont fait état de l'utilisation des LIGEs comme électrodes pour la mise au point de capteurs électrochimiques [23,24,25]. Ces travaux ont montré que les LIGEs sont sensibles et performantes et peuvent être utilisées dans le développement de capteurs électrochimiques pour l'analyse des composés.

Ces nombreux avantages ont motivé notre choix dans ce travail dont l'objectif est de mettre au point des plateformes électrochimiques pour la détermination de la dopamine et de l'acide urique dans les fluides biologiques à partir des LIGEs. Pour ce faire, nous avons conçu et caractérisé les LIGEs à partir de l'irradiation laser CO₂ du polyimide (PI). Modifier la surface des électrodes par les nanoparticules d'or (AuNPs) et appliquer à l'analyse de la dopamine et de l'acide urique dans les fluides biologiques.

2. Matériels et méthodes

2.1. Réactifs et matériels

Les réactifs utilisés pour réaliser ce travail proviennent de différents fournisseurs avec des puretés analytiques acceptables. Ils ont donc été utilisés comme tels sans purification préalable. La dopamine hydrochloride (C₈H₁₁NO₂), l'acide urique (C₅H₄N₄O₃ ≥ 99%), l'acide ascorbique (C₆H₈O₆ 99%), tétrachloroaurique (III) (HAuCl₄·3H₂O 99.9%), et le sérum humain ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Allemagne). De même, L'immunoglobuline G du sérum humain (IgG ≥ 95%), l'albumine du sérum humain (ASH ≥ 98 %) et la α-lactalbumine (α-LA ≥ 95 %) et le nafion 5W% ont été également acquis à Sigma-Aldrich (Allemagne).

Pour la conception des LIGEs, un ruban de polyimide (PI) d'épaisseur 6 mm et du polyéthylène téréphtalate (PET) ont été achetés dans le commerce et utilisés comme substrat d'irradiation et support de soutien, respectivement.

Une machine de découpe laser 40W-CO₂ (Shenzhen, Chine) pilotée par le logiciel LaserDRW de la marque VEVOR (Chine) a été utilisée pour irradier le film polyimide pour produire du graphène.

Un potentiostat Palmsens3 (BV Houten, Pays-Bas) connecté à un ordinateur piloté par un logiciel PSTrace 5.8 respectivement ont été utilisés pour toutes les mesures électrochimiques.

Un système Jobin-Yvon T64000 (excitation à $\lambda = 633$ nm) équipé d'un détecteur CCD refroidi à l'azote a été utilisé pour l'acquisition des spectres Raman.

Un microscope électronique à balayage MEB de type Quanta 650 équipé d'un analyseur élémentaire EDAX a été utilisé pour l'analyse microstructurale de la surface des LIGEs.

2.2. Préparation des électrodes LIGE et AuNPs/LIGE

Les LIGE ont été imprimées sur la surface d'un film de polyimide à l'aide d'une machine de découpe laser CO₂ avec une puissance laser de 3,6 W et une vitesse laser de 5 cm.s⁻¹ [21, 22]. La surface active des LIGE (électrode de travail, contre-électrode et référence) a été séparée du point de connexion par un polymère isolant durci aux UV. La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) et la voltammétrie cyclique (VC) ont été utilisées pour la caractérisation électrochimique. L'électrode LIGE a été modifiée par des AuNPs déposées sur la surface de l'électrode de travail en utilisant la VC en balayant le potentiel, pendant 15 cycles, de +0,4 à -1,0 V avec une vitesse de balayage de 50 mV.s⁻¹ dans une solution de 0,25 mM de HAuCl₄ préparée dans 0,1 M KNO₃.

3. Résultats et discussion

3.1. Modification et caractérisation des électrodes

Pour préparer les électrodes, nous avons utilisé une puissance et une vitesse laser relativement faibles (puissance = 3,6 W et vitesse = 5 cm.s⁻¹) pour obtenir un graphène de bonne qualité.

L'analyse en CV a été utilisée pour déposer les nanoparticules d'or à la surface du LIGE en faisant plusieurs balayages de potentiel allant de +0,4 à -1,0 mV. Au cours du premier cycle, un pic de réduction est apparu au potentiel cathodique (environ -0,5 V) correspondant à la réduction des cations Au(III) en atomes Au(0). Au cours des cycles suivants, le pic s'est déplacé vers le potentiel anodiques

(Figure 1A). En effet, le premier cycle correspond au processus de nucléation des nanoparticules d'or.

La SIE et VC ont été utilisées pour confirmer le dépôt de nanoparticules d'or sur la surface de la LIGE.

À cette fin, les courbes VC et SIE ont été mesurées avec la même sonde redox sur les électrodes nue et modifiée. En effet, la Figure 1A, montre une augmentation de la densité de courant anodique et cathodique avec l'électrode modifiée (AuNPs/LIGE) comparativement l'électrode nue (LIGE), ce qui indique une surface plus conductrice de la AuNPs/LIGE par rapport à la LIGE.

En outre, les représentations de Nyquist correspondantes, représenté dans la Figure 1B, présentent deux demi-cercles dont les diamètres correspondent à la résistance au transfert de charge à l'interface LIGE/ électrolyte (98 kΩ) et l'interface AuNPs/LIGE/ électrolyte (0,32 kΩ). En comparant ces deux valeurs, on constate que la résistance de transfert de charges à l'interface AuNPs/LIGE/électrolyte est nettement inférieure à celle de l'interface LIGE/électrolyte. Cette diminution pourrait être due à la présence des AuNPs qui améliorent la conductivité de la surface du AuNPs/LIGE.

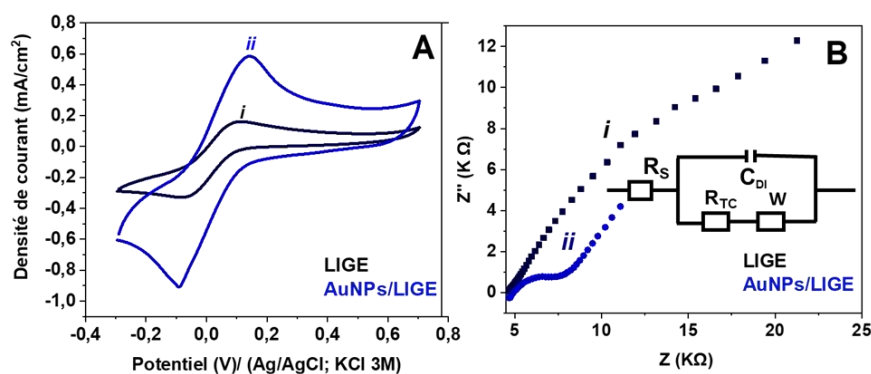


Figure 1: (A) voltammétrie cyclique de KCl à 0,1 M contenant 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (i) sur LIGE et sur AuNPs/LIGE (ii) ; (B) représentations de Nyquist enregistrées dans une solution de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ à 5 mM dans 0,1 M de KCl sur (i) LIGE, (ii) AuNPs/LIGE. R_s : résistance de l'électrolyte, R_{ct} : résistance de transfert, W : résistance de Warburg, C_{dl} : condensateur de capacité ; électrode de référence : Ag/AgCl/(KCl 3M) ; fréquence : 10^4 Hz à 0,1 Hz

3.2. Comportement électrochimique de la DA et l'UA

Le comportement électrochimique du DA et de l'UA a été évalué par voltammétrie cyclique et voltammétrie différentielle impulsionnelles sur LIGE et AuNPs/LIGE dans une solution tampon l'acétate 0,1 M à pH = 5 contenant un mélange de 300 μM d'UA et 300 μM de DA. Dans la Figure 2A, le voltammogramme montre deux pics distincts bien résolus avec de faibles intensités sur la LIGE nue, le premier correspond à la réaction redox de DA ($E_p = 300$ mV) et le second est lié à la réaction redox d'UA ($E_p = 450$ mV) par rapport à l'électrode de référence Ag/AgCl (3 M KCl). En revanche, ces mêmes pics avec des densités de courant plus élevées ont été observés sur l'électrode modifiée AuNPs/LIGE sans changement notable du potentiel. Cette augmentation de la densité de courant sur la AuNPs/LIGE pourrait être due à une surface plus conductrice de AuNPs/LIGE par rapport à celle de la LIGE. En VDI (Figure 2B), nous observons les mêmes résultats avec une augmentation remarquable de la densité de courant sur le AuNPs/LIGE. Ceci est également dû à une augmentation de la conductivité de la surface AuNPs/LIGE qui facilite le transfert électronique mais aussi à une plus grande sensibilité vis-à-vis de l'oxydation de la DA et l'UA. On peut également noter que le capteur est plus sensible pour le DA que pour l'UA. Les données démontrent que l'électrode de graphène modifiée par de l'or peut être utilisée comme capteur électrochimique pour la détection simultanée de la DA et de l'UA [16].

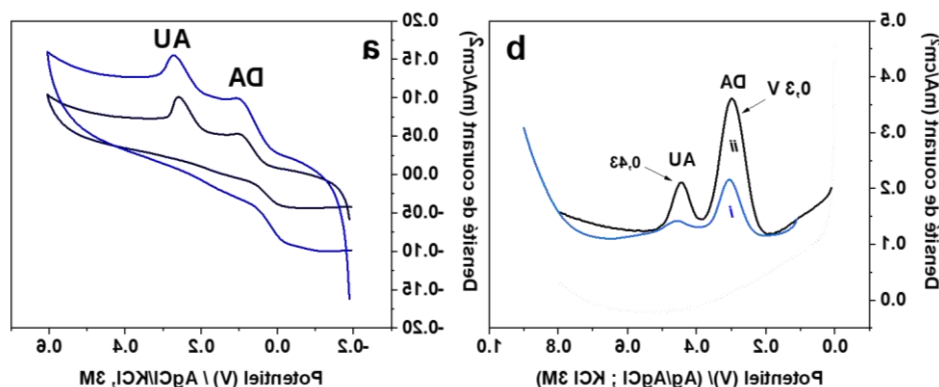


Figure 2 : Courbes VDI et CV d'un mélange de 600 µM de DA et 600 µM d'AU dans un tampon acétate à 0,1 M, (pH = 5) (i) sur LIGE et (ii) sur AuNPs/LIGE. Electrode de référence : Ag/AgCl/(KCl 3M) ; vitesse de balayage : 50 mV/s ; temps d'impulsion : 25 ms

3.3. Effet du pH et de la vitesse de balayage

Les conditions expérimentales pour la détection de la DA et l'UA ont été optimisées afin d'améliorer la sensibilité du capteur. Pour ce faire, l'influence de la vitesse de balayage et du pH du milieu sur les pics d'oxydoréduction du DA et de l'UA a été étudiée. Il en ressort que les courants d'oxydation sont assez disproportionnés en fonction du pH du milieu et sont exaltés en milieu acide (pH = 4 à 6), au-delà les densités de courants diminuent (Figure 3A). Ceci pourrait être dû au fait que les DA et AU sont stables et plus solubles en milieu acide [27,28]. Le courant de pointe le plus élevé a été observé à pH = 4, cette valeur de pH a été conservée comme valeur de pH optimale pour les mesures ultérieures.

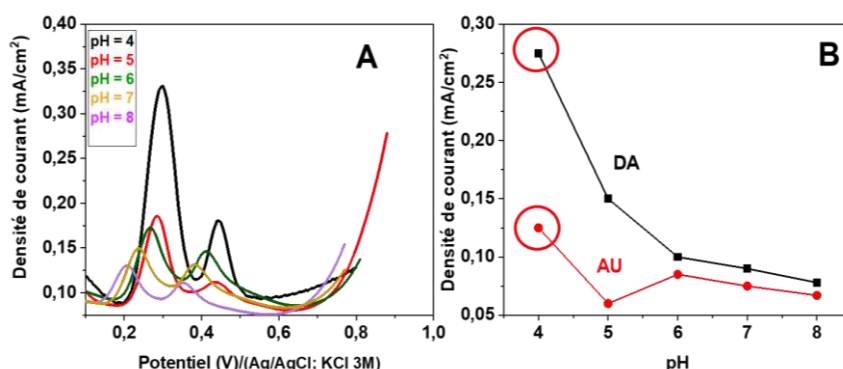


Figure 3 : (A) effet du pH de l'électrolyte support sur la réponse électrochimique de 600 µM de DA et d'AU ; (B) tracé de la densité de courant d'oxydation de l'AU et de la DA en fonction du pH. Electrode de référence : Ag/AgCl/(KCl 3M) ; vitesse de balayage : 50 mV/s ; temps d'impulsion : 25 ms

3.4. Courbe de calibration

Après optimisation du pH, la détection simultanée du DA et de l'UA à l'aide de la AuNPs/LIGE a été réalisée chacun en présence de l'autre dans un mélange conservant la concentration d'un composé fixe (20 µM pour chaque espèce). La figure 4A montre une augmentation du courant d'oxydation du DA avec l'augmentation de la concentration sans interférence du pic d'oxydation de l'UA alors que le pic d'oxydation de l'UA avec une concentration fixe reste presque constant. De même, la figure 4B montre une augmentation linéaire de la densité de courant d'oxydation de l'UA au fur et à mesure que la concentration augmente, tout en gardant la concentration de DA fixe. Les plages de linéarité de la densité courant en fonction de la concentration sont de 2 à 20 µM pour le DA et de 5 µM pour l'UA. Les équations des droites sont :

$$J_p = 7,5510^{-3} \times [DA] + 3,1810^{-2} ; J_p = 1,64 \cdot 10^{-3} \times [AU] + 2,71 \cdot 10^{-3} \text{ respectivement (figure 4C et 4D).}$$

Les Limites de détection trouvées à partir de ces équations sont de 0,37 µM et 0,71 µM respectivement pour la DA et pour l'AU.

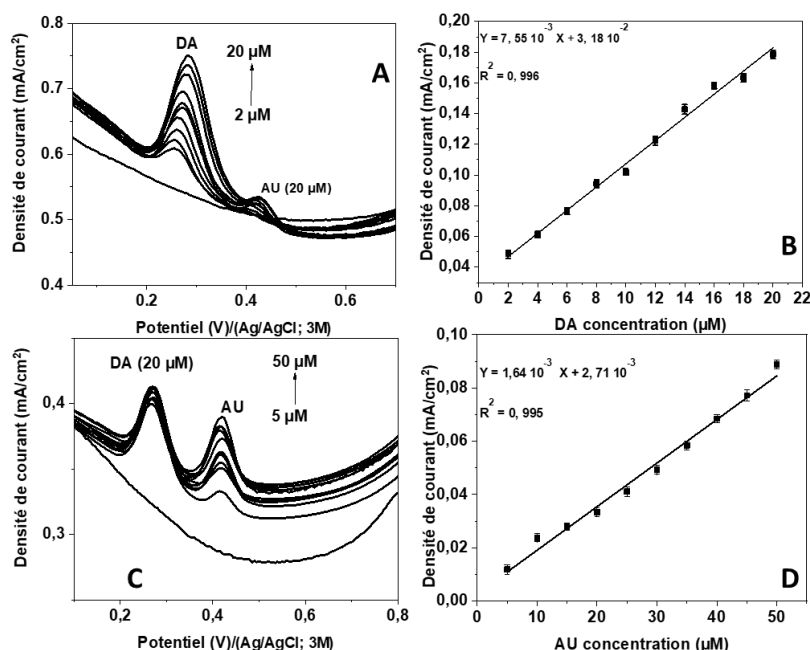


Figure4 : Courbes VDI de la variation de concentration allant de 2 à 20 μM de DA en présence de 20 μM d'AU (A) 5 à 50 μM d'AU en présence de 20 μM de DA (C) dans un tampon acétate à 0,1 M, pH = 4, sur la AuNPs/LIGE. Electrode de référence : Ag/AgCl/(KCl 3M) ; vitesse de balayage : 50 mV/s ; temps d'impulsion : 25 ms. Densité de courant en fonction de la concentration de DA (C) et (D) pour AU

3.5. Analyse dans un sérum humain

Afin de pouvoir appliquer cette méthode aux fluides biologiques, DA et AU ont été déterminés dans un échantillon réel constitué de sérum sanguin humain légèrement dilué dans un pH = 4. Pour tester l'applicabilité de la méthode, nous avons utilisé la méthode d'addition standard. Les échantillons ont été dopés avec des concentrations connues de DA, AU et leur mélange. Les mesures ont été effectuées par VDI. Les données montrent que les pourcentages de récupération varient de $94 \pm 2,1$ à $102 \pm 0,5$ % et de $94 \pm 0,3$ à $112 \pm 1,4$ %.

Références bibliographiques

- [1] Z. Fredj, B. Singh, M. Bahri, P. Qin, et M. Sawan, *Chemosensors*, vol. 11, n° 7, p. 388, juill. 2023.
- [2] P. E. Erden et E. Kılıç, *Talanta*, vol. 107, p. 312-323, mars 2013,
- [3] X. Zhang, Y.-C. Zhang, et L.-X. Ma, *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 227, p. 488-496, mai 2016.
- [4] B. Yang, H. Wang, J. Du, Y. Fu, P. Yang, et Y. Du, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 456, p. 146-152, août 2014.
- [5] R. El Ridi et H. Tallima, *J. Adv. Res.*, vol. 8, n° 5, p. 487-493, sept. 2017.
- [6] M. Pimpilova, K. Kamarska, et N. Dimcheva, *Biosensors*, vol. 12, n° 9, p. 719, sept. 2022.
- [7] S. K. Arumugasamy, S. Govindaraju, et K. Yun, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 508, p. 145294, avr. 2020.
- [8] M. W. Abbas, *Microchem. J.*, vol. 146, p. 517-524, mai 2019.
- [9] Birama diarra, effets de l'administration répétée du décocte des racines de entada africana guill & perr (mimosaceae) sur certains paramètres biologiques chez les rats., Thèse. Bamako, Mali, 2011.
- [10] Y. Lan et al., *Anal. Chem.*, vol. 91, n° 3, p. 2135-2139, févr. 2019.
- [11] D. Qi et al., *Anal. Sci.*, vol. 32, n° 4, p. 419-424, avr. 2016.
- [12] X. Wang, J. Lu, X. Tang, et P. Qiu, *Chem. Afr.*, vol. 3, n° 3, p. 749-758, sept. 2020.
- [13] X. Qin, C.-L. Yuan, R. Shi, S.-Z. Wang, et Y.-L. Wang., *Chin. J. Anal. Chem.*, vol. 49, n° 1, p. 60-67, janv. 2021.
- [14] D. Elfadil, A. Lamaoui, F. D. Pelle, et A. Amine, p. 1-40, 2021.
- [15] Y. F. R. Bako, J.-P. T. Silga, S. Mbokou Foukmeniok, M. Pontié, et I. Tapsoba., *J. Appl. Electrochem.*, déc. 2023.
- [16] A. Shadlaghani, M. Farzaneh, D. Kinser, et R. C. Reid., *Sensors*, vol. 19, n° 3, p. 447, janv. 2019.
- [17] R. Rawal, S. Chawla, N. Chauhan, T. Dahiya, et C. S. Pundir, *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 50, n° 1, p. 112-118, janv. 2012.
- [18] J. Lin et al., *Nat. Commun.*, vol. 5, n° 1, p. 5714, déc. 2014.
- [19] F. Wang et al., *Mater. Technol.*, vol. 33, n° 5, p. 340-356, avr. 2018.
- [20] N. Kurra, Q. Jiang, P. Nayak, et H. N. Alshareef., *Nano Today*, vol. 24, p. 81-102, févr. 2019.

- [21] A. D. Silva, W. J. Paschoalino, J. P. V. Damasceno, et L. T. Kubota., *ChemElectroChem*, vol. 7, n° 22, p. 4508-4525, nov. 2020.
- [22] N. F. Santos *et al.*, *Adv. Mater. Technol.*, vol. 6, n° 6, p. 2100007, juin 2021.
- [23] E. Aparicio-Martínez, A. Ibarra, I. A. Estrada-Moreno, V. Osuna, et R. B. Dominguez., *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 301, p. 127101, déc. 2019.
- [24] Y. Chyan, R. Ye, Y. Li, S. P. Singh, C. J. Arnusch, et J. M. Tour. , *ACS Nano*, vol. 12, n° 3, p. 2176-2183, mars 2018.
- [25] X. Hui, X. Xuan, J. Kim, et J. Y. Park., *Electrochimica Acta*, vol. 328, p. 135066, déc. 2019,
- [26] A. Ghanam, A. A. Lahcen, T. Beduk, H. N. Alshareef, A. Amine, et K. N. Salama. , *Biosens. Bioelectron.*, vol. 168, p. 112509, nov. 2020.
- [27] N. Umek, B. Geršak, N. Vintar, M. Šoštarič, et J. Mavri. , *Front. Mol. Neurosci.*, vol. 11, p. 467, déc. 2018.
- [28] Y. Shen et M. Y. Ye. , *J. Liq. Chromatogr.*, vol. 17, n° 7, p. 1557-1565, avr. 1994.

Évaluation de la résistance chimique et thermique d'une porcelaine

Youssef Sawadogo¹, Joël Samba¹, Soungalo Ouattara¹, Moustapha Sawadogo¹, Mohamed Seynou¹, Philippe Blanchart²,
Lamine Zerbo¹

¹Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LC2M), Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso
²IRCER, UMR-CNRS 7315, Centre Européen de La Céramique, 12, Rue Atlantis, 87068, Limoges, Cedex, France
Auteur correspondant ; email : s.youssef@gmail.com

Résumé :

Ce travail a pour objectif d'évaluer la résistance aux agressions chimiques et aux chocs thermiques de porcelaines formulées à partir de matières premières locales du Burkina Faso. Une argile kaolinique, une pegmatite et du sable ont été utilisés pour la formulation des porcelaines. Les éprouvettes ont été formulées par coulage dans des moules poreux et frittés à une température de 1240 °C avec une vitesse de montée de 10 °C/min. Ces porcelaines ont été immergées dans des solutions tests et maintenues couvertes à 20 °C pendant 12 jours. Six concentrations de solutions d'essai ont été préparées pour réaliser ces tests : chlorure d'ammonium (100 g/L) ; acide chlorhydrique (3% et 18% en volume) ; acide lactique (5 % en volume) ; acide citrique (100 g/L) et alcalin KOH (30 g/L et 100 g/L). Le test a montré que ces porcelaines résistent aux attaques chimiques avec des variations de masse insignifiantes allant de -0,030 à 0,053 % en poids. Les résultats du test au choc thermique montrent que les porcelaines formulées résistent aux variations brutales de température. L'ensemble des résultats obtenus qualifient les porcelaines pour un usage industriel et réel.

Mots clés : attaque chimique ; choc thermique ; porcelaine

Evaluation of the chemical and thermal resistance of porcelain

Abstract

This work aims to evaluate the resistance to chemical attack and thermal shock of a porcelain formulated from local raw materials from Burkina Faso. A kaolinitic clay, a pegmatite and sand were used for the formulation of porcelain tiles. Some samples were shaped by casting into porous molds and sintered at temperature of 1240 °C. The average heating rate is 10 °C/min up to the final given temperature. These porcelains were immersed in test solutions and kept closed at 20 °C for 12 days. Six concentrations of test solutions were prepared to perform these tests: ammonium chloride (100 g/L); hydrochloric acid (3% and 18% by volume); lactic acid (5% by volume); citric acid (100 g/L) and alkali KOH (30 g/L and 100 g/L). The test showed that these porcelains are resistant to chemical attacks with insignificant mass variations ranging from -0.030 to 0.053 wt%. The results of the thermal shock test show that porcelains are resistant to the brutal variation of temperature. The results obtained qualify the porcelains for industrial and real use.

Key words: chemical attack; thermal shock; porcelain

I- Introduction

Une céramique est un solide inorganique non métallique, préparé par l'action de la chaleur et suivi d'un refroidissement [1]. Les matériaux en porcelaine ont une structure en partie cristalline. La température de cuisson et la composition de l'atmosphère du four sont décisives pour la qualité du produit final [2]. Les propriétés caractéristiques de la porcelaine sont sa grande résistance mécanique, sa résistance à l'usure et sa durabilité. Chimiquement inerte, elle est non toxique, résistante à la chaleur et à l'incendie, et a généralement des propriétés isolantes et une porosité spécifique. De nos jours, les matériaux en porcelaine peuvent offrir une grande variété de formes, de motifs et de textures. La porcelaine enregistre des valeurs d'absorption d'eau inférieure à 0,5 % [3], de résistance de la flexion supérieure à 35 MPa [4]. La durabilité chimique est une principale exigence des propriétés de la céramique pour une utilisation intra-orale, car les prothèses dentaires doivent résister à la dégradation en présence d'une large gamme de solutions de pH variable [5]. Un test quantitatif est effectué pour prédire le comportement à long terme des matériaux, en particulier pour obtenir des informations sur le taux d'enlèvement des matériaux. Dans nos travaux précédents, les porcelaines présentant des résistances mécaniques et physiques conformes aux valeurs normatives requises pour un environnement réel d'utilisation ont été élaborées. Les porcelaines sont des céramiques vitrifiées utilisées comme la vaisselle, articles sanitaires, matériaux décoratifs, isolateurs électriques, et prothèses dentaires [6-9]. De nos jours, la porcelaine fait l'objet de plusieurs études. Au cours des études récentes, les chercheurs se sont intéressés aux additifs et à la taille des particules de matières premières pour modifier les propriétés technologiques et abaisser la température de frittage de la porcelaine [10]. Ces porcelaines sont très souvent utilisées dans des environnements agressifs et des environnements où la température varie soudainement. Par exemple, les porcelaines d'utilisation réelle sont en contact avec toutes sortes de boissons acides, nourriture et fruits [11]. Dans les systèmes de lavage de vêtements, le nettoyage thermique est souvent remplacé par un nettoyage chimique pour des raisons de coût. La composition chimique du détergent influence également la corrosion de la porcelaine. Dans le cas des porcelaines qui sont des céramiques polyphasées, les potentiels chimiques des différentes phases ne sont pas identiques. Ces différences

de potentiel chimique entraîneront une attaque préférentielle d'une phase sur une autre. Une diminution ou une augmentation soudaine et rapide de la température provoque des contraintes mécaniques entre la coque et le noyau d'un matériau en céramique. Le matériau chauffe ou refroidit plus rapidement à l'extérieur que de l'intérieur [12]. Ce travail vise à évaluer l'impact des produits chimiques et des chocs thermiques sur les porcelaines formulées à partir de matières premières minérales du Burkina Faso afin de valider leur utilisation réelle.

II- Matériels et méthodes

Les échantillons utilisés dans ce travail sont de l'argile kaolinitique, de la pegmatite et du sable. Ces échantillons sont référencés respectivement NONG, PEG et SAB et proviennent de deux régions du Burkina Faso. Les matières premières étaient d'abord finement broyées et tamisées à une taille de particules $\phi < 100 \mu\text{m}$. Nous avons fait un mélange de 55% en masse de NONG, 25% en masse de PEG et 20% en masse de SAB. Nous avons ajouté de l'eau dans un rapport de 55% en masse. Le carbonate de sodium (0,5% en poids) a été ajouté pour promouvoir les forces répulsives créant un réseau électrostatique qui empêche l'agglomération des particules et facilite sa mobilité dans des mélanges aqueux. Les mélanges ont été homogénéisés dans un bocal à rouleau placé sur un mélangeur rotatif à une vitesse de 75 tours par minute pendant 10 minutes. Le mélange liquide a ensuite été versé dans des moules en plâtre poreux, pour formuler des éprouvettes ($10 \times 40 \times 120 \text{ mm}$). Le démoulage a été effectué à 15 minutes d'absorption d'eau par plâtre (Figure 1-A). Après le démoulage, les échantillons étaient préliminaires séchés dans l'air pendant 24 h, puis dans une étuve au laboratoire à 80°C . Le frittage dans un four électrique était à une vitesse de chauffage de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ jusqu'à la température de 1240°C (Figure 1-B et 1-C). À la température de cuisson maximale, un rayon de 1 h est appliqué avant de refroidir à une vitesse de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.



Figure 1: A- Démoulage; B- Four électrique; C-porcelaines après frittage

Le retrait est une réduction des dimensions du matériau après séchage ou sous l'action de la chaleur. Les dimensions du matériau sont mesurées avant et après frittage (traitement thermique). La différence entre ces dimensions du matériau donne le retrait linéaire [13]. Le retrait (FS) a été évalué par la variation relative de la longueur des éprouvettes à l'aide d'un pied à coulisse [14]. L'absorption de l'eau, la porosité apparente et la densité de porcelaine ont été déterminées selon la norme ISO 10545-3 [3]. C'est la détermination de la résistance à la rupture utilisant la norme EN ISO 10545-4, une méthode applicable à toutes les éprouvettes de céramique [4]. Les compositions minéralogiques ont été obtenues par diffraction à rayons X à l'aide de diffractomètre de type BRÜKER D8 fonctionnant à 40 kV - 40 mA et à l'aide du rayonnement $\text{CuK}\alpha$ monochromatique. Les diffractogrammes obtenus ont été analysés à l'aide d'un logiciel QualX, utilisant une base de données POWCOD. Les tests d'attaque chimique sont effectués selon l'ISO 10545-13 [15]. Le choc thermique a été déterminé selon la norme EN ISO 10545-9 [16].

III- Résultats

III-1- Résistance aux attaques chimiques

Les images photo des échantillons avant et après le test d'attaque chimique sont données à la figure 6. À travers ces images, aucune modification visible n'a été observée sur les surfaces des échantillons. Nous pouvons dire que les spécimens n'ont pas subi une grande modification après 12 jours d'immersion dans des solutions chimiques concentrées et faiblement concentrées. Un test quantitatif a été effectué pour obtenir des informations sur le taux d'élimination des matériaux. Le tableau 3 donne les différentes variations de masse des spécimens après leur immersion dans les différentes solutions. Une variation de masse insignifiante a été observée en raison de la présence (en petites quantités) de l'oxyde de fer (Fe_2O_3) dans la matière première. Nous notons que les échantillons sont insensibles aux solutions d'acide chlorhydrique concentrées.

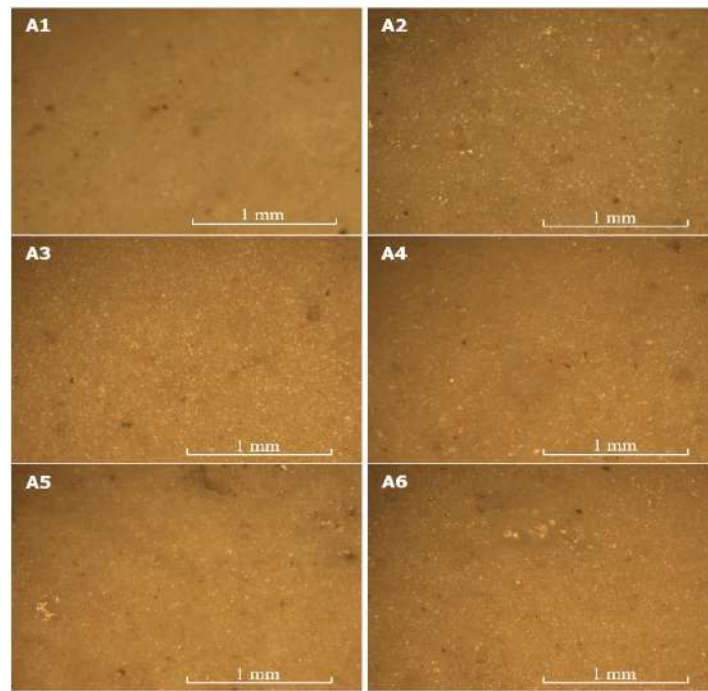


Figure 6: Images du microscope optique des échantillons avant et après l'attaque chimique:

A1: Porcelaine (échantillons non immergés); A2: échantillons immergés dans NH_4Cl (100 g/L);

A3: échantillons immergés dans HCl (3%); A4: échantillons immergés dans HCl (18 vol%);

A5: échantillons immergés dans KOH (30 g/L); A6: Échantillons plongés dans KOH (100 g/L).

A travers ces images, aucun changement visible n'a été observé sur les surfaces des spécimens. Nous pouvons dire que les spécimens n'ont pas subi une grande modification après 12 jours d'immersion dans des solutions chimiques. Cette inertie chimique des matériaux est également due à la grande quantité de phase vitreuse dans les spécimens frittés.

Tableau 3: Variations de masse des spécimens après leur immersion dans les différentes solutions

Solutions Chimiques	NH_4Cl (100 g/L)	HCl (3 %)	HCl (18 %)	KOH (30 g/L)	KOH (100 g/L)	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ (5 %)	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{H}_2\text{O}$ (100 g/L)
Variations en masse (%)	0,027	0,025	- 0,030	0,000	0,042	0,021	0,058
Porcelaines	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8

III-2- Comportement aux chocs thermiques

La résistance aux chocs thermiques des matériaux est un autre facteur crucial déterminant leur durabilité. La figure 7 (A7) présente des surfaces de spécimens frittés à 1240°C et après avoir subi les 10 cycles de choc thermique. Les images de spécimens observées sous le microscope optique ne montrent aucun signe de fissuration sur les surfaces qui ont subi des chocs thermiques. La résistance aux chocs thermiques d'un matériau est liée à sa composition minéralogique qui dépend en partie de la composition chimique de la matière première utilisée pour son développement. La mullite et une partie de la phase amorphe proviennent de la transformation des minéraux phyllosilicates. La phase vitreuse résulte également de la réaction à haute température entre la silice libre et les phases alcalines en particulier l'oxyde de potassium, l'oxyde de sodium et l'oxyde de calcium présent dans la matière première. La microstructure (Figure 5) confirme la grande présence de la phase vitreuse dans la porcelaine cuite. La forte teneur en mullite et une phase vitreuse lui donnait une meilleure résistance mécanique (53,54 MPa) et limite la propagation de défauts, et donc une bonne résistance au choc thermique. Ces résultats sont en bon accord avec les évaluations théoriques de la résistance thermique.

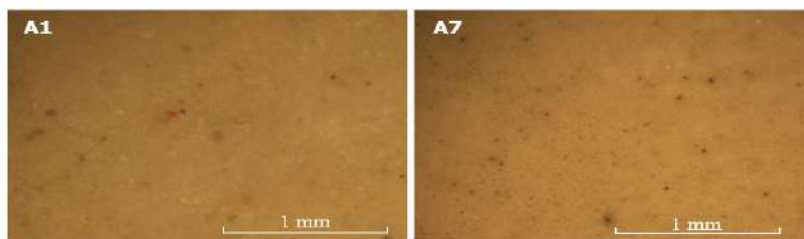
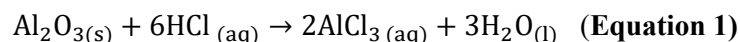


Figure 7 : Optical microscope images of the specimens at the end of 10 cycles of thermal shock test : **A1** : Porcelain and **A7**: Samples at the end of 10 cycles

IV- Discussion

Les facteurs tels que la composition chimique, la microstructure, la porosité et la texture de surface de la céramique, contrôlent la résistance du produit aux attaques chimiques et aux chocs thermiques. Gil et al. En 2006 [17] a identifié les différents types de porosité existant dans des éprouvettes de porcelaine, pour les associer aux composants de la pâte et analyser l'effet de chaque type de porosité sur les propriétés physiques des pièces frittées. La porosité ouverte est responsable de la résistance aux tâches. La porosité d'inter particules est responsable de la réduction de la résistance mécanique des éprouvettes frittées. Les images de la figure 6 observées sous un microscope optique montrent une absence de dommages importants sur les surfaces de nos spécimens. Cela nous permet de dire que tous les spécimens ont presque zéro réactivité avec des produits chimiques. Cette inertie chimique peut être liée à la présence d'une phase vitreuse dans les spécimens de porcelaine et à leur faible porosité. La présence de la phase vitreuse limite les interactions et la propagation des ions résultant des solutions. L'infiltration due à une action capillaire peut entraîner une faible augmentation de la masse des échantillons dans certaines solutions [18]. Cela pourrait également être expliqué par la formation de complexes. La légère diminution de la masse observée avec la solution d'acide chlorhydrique (18% en volume) pourrait être expliquée par une réaction entre l'alumine et l'acide chlorhydrique, ce qui entraîne ainsi la formation de chlorure d'aluminium aqueux (équation 1):



Les résultats ont montré une constance remarquable dans la manière dont la porcelaine réagit à une large gamme d'environnements. L'observation visuelle ainsi que l'examen sous un microscope optique a révélé que la majorité des échantillons formaient des dépôts spécifiques très fins sur la surface. Les résultats sont en accord avec ceux de Vitali et al., en 1984 sur la stabilité de la céramique [19]. Les résultats de cette étude indiquent que la durabilité chimique des porcelaines est excellente. Selon ISO 10545-13, les porcelaines formulées ont été classées en classe A. Selon M. Kolli et al., Le comportement thermomécanique des matériaux est principalement régi par la phase vitreuse [17]. La résistance aux chocs thermiques d'un matériau est liée à sa composition minéralogique qui dépend en partie de la composition chimique de la matière première utilisée pour son élaboration [20]. Le comportement thermique des porcelaines dépend donc de la quantité de mullite et de la phase vitreuse.

V- Conclusion

Ce travail consistait à étudier le comportement de la porcelaine face aux produits chimiques et aux chocs thermiques. Ces porcelaines ont été formulées à partir de matières premières locales. Elles ont été frittées à 1240 °C. Des résultats obtenus, les conclusions remarquables suivantes émergent: - Les porcelaines élaborées ont une bonne résistance au choc thermique. Ils peuvent passer d'un four ou d'un micro-ondes au congélateur sans risque de craqueler ou d'éclatement. - Les porcelaines ont également montré une bonne résistance aux produits chimiques. Ces porcelaines peuvent être utilisées comme ustensiles de cuisine, articles sanitaires, isolateurs électriques ou organes biomédicaux. Cependant, une étude de la déformation pyroplastique et des propriétés diélectriques est nécessaire pour les rendre spécifiques dans leurs utilisations.

VI- References

- [1] Sergey V. Dorozhkin: Calcium Orthophosphate-Based Bioceramics. Materials (Basel) (2013), 6(9): 3840-3942. <https://doi.org/10.3390/ma6093840> PMID: PMC5452669 PMID: 28788309
- [2] Cristiano Fragassa ; Limits in application of international standards to innovative ceramic solutions. International Journal for Quality Research (2015) 9(2) 279–298. ISSN 1800-6450
- [3] International Organization for Standardization Norme ISO 10545–3, Ceramic floor and wall tiles – Test method, Part 3: Determination of water absorption, apparent porosity, apparent relative and bulk density. (2018).
- [4] International Organization for Standardization EN ISO 10545–4, Ceramic tiles - Part 4: Determination of modulus of rupture and breaking strength. (2019).

- [5] K.J. Anusavice : Degradability of Dental Ceramics. *Advances in Dental Research* 6:82-89, September, (1992). <http://dx.doi.org/10.1177/08959374920060012201>
- [6] Dunia K, and Al-Nasrawy M. ; Preparation and Characterization of BeO–Supported Feldspar Porcelain ; *Iraqi Journal of Science*. 57(1B): 404–413. (2016).
- [7] Abedelhamid Harabi, Souad Kasrani, Lazhar Foughali, Ismahan Serradj, Mohamed Tayeb Benhassine and Saida Kitouni, Effect of TiO₂ additions on densification and mechanical properties of new multifunction resistant porcelains using economic raw materials, *Ceramics International*, 43(7) :5547–5556. (2017). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.01.081>
- [8] H. Aripin, I. Usrah, N. Busaeri, R. Priyadi, Y. Hermawan, I. N. Sudiana , I. M. Joni and S. Sabchevsk ; Structural characterization of mixed local material for a ceramic porcelain insulator ; *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 674 : 012031. (2019). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/674/1/012031>
- [09] Simpy Sanyal, Taeyong Kim, Junsin Yi, Ja-Bin Koo, Ju-Am Son and In-Hyuk Choi ; Failure Trends of High-Voltage Porcelain Insulators Depending on the Constituents of the Porcelain, *Applied Sciences* 10(2) : 694. (2020). <https://doi.org/10.3390/app10020694>
- [10] Yuichi Kobayashi, Hideo Maekawa, Wataru Okuno, Takato Mizuno, Tsukasa Sugimura and Akihiro Negawa: Effect of quartz grain size on elastic and thermal expansion properties of porcelain. *Journal of the Ceramic Society of Japan* 131 [8] 451-457 (2023). <https://doi.org/10.2109/jcersj2.23050>
- [11] Shu-Min Hsu, Fan Ren, Zhiting Chen, Mijin Kim, Chaker Fares, Arthur E Clark, Dan Neal and Josephine F Esquivel-Upshaw. Novel Coating to Minimize Corrosion of Glass-Ceramics for Dental Applications. *Materials* (2020), 13, 1215. <https://doi.org/10.3390/ma13051215>
- [12] Edwin Ruales-Carrera, Marcelo Dal Bo, Wenceslau Fernandes das Neves, Marcio Celso Fredel, Claudia Angela Maziero Volpato, Dachamir Hotza. Chemical tempering of feldspathic porcelain for dentistry applications: A review. *Open Ceramics* 9 (2022) 100201. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2021.100201>
- [13] Sawadogo, Y., Sawadogo, M., Ouédraogo, M., Seynou, M., Lecomte-Nana, G., Blanchart, P., Gomina, M. and Zerbo, L. Optimization of Contents of Three Raw Clay Materials in Formulation of a Porcelain. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 10, 41–58. (2022). <https://doi.org/10.4236/msce.2022.101003>
- [14] Youssouf Sawadogo, Lamine Zerbo, Moustapha Sawadogo, Mohamed Seynou, Moussa Gomina, Philippe Blanchart ; Characterization and use of raw materials from Burkina Faso in porcelain formulations. *Results in Materials*. 6-100085. (2020). <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2020.100085>.
- [15] International Organization for Standardization EN ISO 10545–13. Ceramic tiles, determination of chemical resistance. (2015).
- [16] International Organization for Standardization EN ISO 10545–9. Ceramic tiles : Determination of resistance to thermal shock. (2013).
- [17] Gil, C.; Peiró, M.C.; Gómez, J.J.; Chiva, L.; Cerisuelo, E.; Carda, J.B. Estudio de la porosidad en soportes del gres porcelánico. *Ceram. Inf.* 336, 53–56. (2006).
- [18] Nayem Hossain, A.K.M Parvez Iqbal and Md. Mahmudul Hasan. Corrosion behavior of silicon-based ceramics in alkaline and green solution. *Proceedings of the International Conference on Mechanical Engineering and Renewable Energy* (2019). ICMERE2019-PI-097
- [19] Vitali V., Franklin U. M., Hancock R. G. V. La stabilité des céramiques par rapport à l'environnement. In: *Revue d'Archéométrie*, n°8, (1984). pp. 41-44; doi : <https://doi.org/10.3406/arsci.1984.1210>
- [20] Moustapha Sawadogo, Issiaka Sanou, Yéri Dah, Boubacar Traoré, Youssouf Sawadogo, Drissa Samaké, Cheick Dembelé, Lamine Zerbo, Mohamed Seynou. Résistance aux chocs thermiques et aux attaques chimiques de briques réfractaires à base d'argile kaolinitique et de sable. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* (2021), 050: 50 – 56.

Mise en place de méthodes simplifiées de détection des contaminants dans les produits halieutiques : cas du vert malachite, vert leucomalachite, chloramphénicol et chlorhydrate de 4-(diméthylamino)phénol

POMI Bi Boussou Narcisse^{1,2}, ESSY Kouadio Fodjo², AKA Alla Martin², IRIE Bi Irie Williams², KOFFI Kra Sylvestre^{1,2}

¹Ecole Doctorale (ED-STAD), Université Félix Houphouët Boigny 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

^{2,4}Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), UFR-SSMT Université Félix Houphouët Boigny 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

Résumé

Le vert malachite (VM), vert leucomalachite (VLM), chloramphénicol (CAP) et chlorhydrate de 4-(diméthylamino)phénol (p-DAP) sont des contaminants toxiques pour l'organisme humain et persistant dans l'environnement [1]. Le développement de méthodes de détection rapides et ultrasensibles de ces contaminants est d'une grande importance. Une électrode en or modifiée avec des composites nanoparticules d'argent points quantiques de carbone (AgCQDs) synthétisé à partir des pelures d'ananas, a été conçue pour la détermination de ces contaminants. L'activité électrochimique de cette électrode AgCQDs/Au testée dans une solution aqueuse de Na₂SO₄ 10⁻⁶ M a montré une excellente réponse dans la détection et quantification de ces contaminants. Avec une plage linéaire de 3 à 100 ng/mL, la limite de détection et de quantification calculées ont donné respectivement pour le VM 4,01 ng/mL et 13,36 ng/mL, VLM 5,55 ng/mL et 18,49 ng/mL, CAP 5,10 ng/mL et 20,35 ng/mL et p-DAP 0,1 ng/mL et 0,33 ng/mL, indiquant que cette électrodes AgCQDs/Au est ultrasensible pour la détection de ces contaminants [2]. De plus, sa précision, son exactitude et son application dans des échantillons réels suggèrent que l'électrode AgCQDs/Au peut être utilisée pour la surveillance et la détermination de ces contaminants dans les denrées alimentaires [3].

Mots-clés : Contaminants alimentaires, méthode de détection, capteur électrochimique, échantillons réels.

Setting up simplified methods for detecting contaminants in fish products: the case of malachite green, leucomalachite green, chloramphenicol and 4-(dimethylamino)phenol hydrochloride

Abstract

Malachite green (MG), leucomalachite green (LMG), chloramphenicol (CAP) and 4-(dimethylamino)phenol hydrochloride (p-DAP) are contaminants that are toxic to humans and persist in the environment [1]. The development of rapid, ultra-sensitive detection methods for these contaminants is of great importance. A gold electrode modified with silver nanoparticle carbon quantum dot composites (AgCQDs) synthesised from pineapple peels has been designed for the determination of these contaminants. The electrochemical activity of this AgCQDs/Au electrode tested in a 10⁻⁶ M Na₂SO₄ aqueous solution showed an excellent response in the detection and quantification of these contaminants. With a linear range of 3 to 100 ng/mL, the calculated detection and quantification limits gave respectively for MG 4.01 ng/mL and 13.36 ng/mL, LMG 5.55 ng/mL and 18.49 ng/mL, CAP 5.10 ng/mL and 20.35 ng/mL and p-DAP 0.1 ng/mL and 0.33 ng/mL, indicating that this AgCQDs/Au electrode is ultrasensitive for the detection of these contaminants [2]. Furthermore, its precision, accuracy and application in real samples suggest that the AgCQDs/Au electrode can be used for the monitoring and determination of these contaminants in foodstuffs [3].

Keywords: Food contaminants, detection method, electrochemical sensor, real samples.

I. Introduction

Le Vert malachite (VM), le chloramphénicol (CAP) et le chlorhydrate de 4-(diméthylamino)phénol (p-DAP) sont largement utilisés dans les industries de l'aquaculture en raison leur efficacité contre les infections fongiques et parasitaires chez les poissons (Peihong et al., 2021 ; Yadav et al., 2014). Cependant des études ont montré que le VM, le vert leucomalachite (VLM) forme réduite du VM, le CAP et le p-DAP ont des effets tératogènes, cancérogènes et mutagènes sur l'organisme humain (Jasinska et al., 2015), mais peut également provoquer l'augmentation de la fréquence cardiaque, la tétraplégie, la jaunisse, des vomissements, la nécrose des tissus, l'anémie aplasique, la leucémie et le syndrome du bébé gris (BagheriHashkavayi et al., 2015; Sacara et al., 2017) et sont persistant dans l'environnement et indécomposables. Par conséquent, l'utilisation du VM, du CAP et du p-DAP a été interdite ou strictement restreinte dans le domaine de l'aquaculture dans de nombreux pays (Cha et al., 2001). C'est pourquoi, le développement de méthodes de détection rapides et ultrasensibles de ces contaminants est d'une grande importance et d'une grande portée pour la durabilité écologique et la sécurité alimentaire (Banuelos et al., 2016).

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour la détection du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP, notamment la chromatographie (Wang et al. 2015), les méthodes basées sur la spectroscopie (Jia et al. 2018), le test immuno-enzymatique (ELISA) (Li et al. 2016) et les méthodes électrochimiques (Martín-Yerga et al. 2018). Ces techniques ne sont pas adaptées à l'analyse rapide sur le terrain en raison des instruments coûteux et de la lenteur

de l'analyse, les limites dans la faible capacité d'anti-interférence dans les matrices biologiques complexes et l'exigence d'anticorps liés à l'enzyme (Peihong et al., 2021).

La méthode électrochimique est une alternative attrayante pour la détection en raison de ses avantages en termes de sensibilité, de simplicité et de faible coût. Différents matériaux pour la modification de la surface des électrodes ont été largement utilisés pour améliorer la sensibilité et la spécificité chimique des capteurs électrochimiques (Sacara et al. 2017). Cependant, la transduction du signal est un défi majeur en raison de la grande proportion de ligands. En outre, les méthodes de synthèse de ces matériaux sont coûteuses, fastidieuses et potentiellement toxiques pour l'environnement. Pour pallier à ce problème, une synthèse verte respectueuse de l'environnement, moins coûteuse, de nanomatériaux d'argent coiffés des points de carbone (AgCDs) a été proposée pour la modification de la surface d'électrode. Ces AgCDs ont une grande porosité et constitue un nid d'électrons du fait des fonctions qui sont à la surface des points de carbone.

Afin d'atteindre notre objectif, ce travail est organisé autour de trois axes essentiels qui se présentent comme suit : Le premier concerne la description des techniques expérimentales adoptées dans cette étude, notamment la préparation des solutions, l'appareillage utilisé et les protocoles expérimentaux ; Dans le deuxième axe nous présentons les résultats avec la discussion de ces résultats ; Suivront la Conclusion pour clore ce travail.

II. Matériel et méthodes

II.1. Réactifs

Nitrate d'argent (AgNO_3 , 99%), vert malachite (VM, 98%), vert leucomalachite (VLM, 98%), chloramphenicol (CAP, 98%), chlorhydrate de 4-(diméthylamino)phénol (p-DAP, 98%) sulfate de sodium (Na_2SO_4 , 99%), achetés à Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), eau ultra-pure obtenue à partir d'un système d'eau déionisée (DI) (Sichuan Zhuoyue Water Treatment Equipment Co., Ltd, Chengdu, Chine). Poisson (maquereau, thon, cape, machoiron), crabe, crevette et écrevisse ont été achetés à Adjame (marché Gouro) et cocody (marché cocovico).

II.2. Appareils et instrumentations

Les appareils utilisés sont : Une centrifugeuse, un système de spectromètre UV-Visible, un système de purification et un potentiostat électrochimique MiniONE (plug and play style), fourni par l'Université East China University of Science and Technology (MiniONE Instruments, Shanghai, Chine). Un système conventionnel à trois électrodes or modifiée (AgCDs/Au) comme électrode de travail ($\phi = 1 \text{ mm}$), fil de carbone contre-électrode et l'électrode au calomel saturée (SCE) comme électrode de référence.

II.3. Fabrication de l'électrode Au/AgCQDs

Synthèse des CQDs : Pour la synthèse des CDs, 100 g de pelures d'ananas sont broyées dans 150 mL d'eau désionisée puis filtré. Vingt-cinq millilitre de ce filtrat sont versés dans un réacteur hydrothermal de 50 mL et chauffés au four à 200°C pendant 3 h. Après un refroidissement naturel, le mélange est centrifugé à 5000 tr/min pendant 15 min puis le surnageant est recueilli et conservé à 4°C pour une utilisation ultérieure.

Synthèse de AgCQDs : Un mélange de 7 mL de CQDs précédemment préparé, 3 mL de AgNO_3 (0,1 M) à pH 10 ajusté avec NaOH (0,1 M) est chauffé sur un agitateur magnétique à 90°C à 450 tr/min pendant 50 min. Après un refroidissement naturel, afin d'éliminer les ions argents qui n'ont pas été réduit, le mélange est centrifugé à 5000 tr/min pendant 15 min et le dépôt a été lavé successivement à l'eau désionisée et l'éthanol à 5000 tr/min pendant 15 min. Enfin le dépôt est dissout dans de l'eau désionisée et centrifugé à 5000 tr/min pendant 15 min et le surnageant qui constitue les AgCQDs est récupéré et conservé à 4°C .

Prétraitement de l'électrode Au : Avant l'utilisation de l'électrode Au la surface du disque a été polie avec de l'alumine (0,05 mm de diamètre), suivi d'un nettoyage par ultrasons dans l'eau DI et l'éthanol pendant deux minutes pour chaque étape. Cette électrode a été nettoyée électrochimiquement dans une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4 , 1 M) en polarisant l'électrode pendant 60 s à -0,6 V et +1,5 V pour former des bulles de H_2 et de O_2 , respectivement, à la surface de l'électrode. Ensuite, des voltammogrammes cycliques (CV) ont été enregistrés entre -0,6 V et +1,5 V à 100 mV/s jusqu'à l'obtention de cycles reproductibles.

Processus de fabrication de l'électrode Au/AgCQDs : Après nettoyage, l'électrode a été immergée dans une solution de AgCQDs pendant un certain temps (le temps a été optimisé) et séchée à température ambiante (28°C) pendant environ 30 minutes. Ce processus a été répété plusieurs fois (le nombre de couches a été optimisé). L'électrode AgCQDs/Au obtenue a finalement été utilisée dans une solution aqueuse de Na_2SO_4 utilisé comme électrolyte pour la détection du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP dans la gamme de potentiel -0,1 V à +0,9 V à une vitesse de balayage de 50 mV/s par voltampérométrie cyclique (CV) et la voltampérométrie différentielle à impulsions (DPV).

II.4. Détection électrochimique du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP

La réponse de l'électrode d'or nue et modifiée à l'égard du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP a été étudiée à l'aide des techniques CV et DPV. Dans une procédure typique pour la détection de ces contaminants, 50 ml d'une concentration appropriée de solution de Na_2SO_4 ont été transférés dans une cellule électrochimique dans laquelle une concentration appropriée de la solution standard de ces contaminants est ajoutée. Ensuite, après homogénéisation, le CV a été enregistré de -0,1 à +0,9 V en utilisant une vitesse de balayage de 50 mV/s. Pour l'étalonnage, différentes concentrations variant de 3 ng/mL à 1500 ng/mL de ces contaminants ont été préparées et utilisées dans la technique DPV réalisées entre -0,1 V et +0,9 V à une vitesse de balayage de 50 mV/s, un temps d'impulsion de 0,02 s, un temps d'échantillonnage de 0,05 s, un temps d'attente de 2 s, un potentiel d'escalier de 20 mV et une amplitude d'impulsion de 100 mV.

II.5. Application à un échantillon réel

La quantification du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP dans un échantillon alimentaire a été réalisée en utilisant la technique DPV en mélangeant 0,5 mL d'extrait d'échantillon dans 50 mL de solution aqueuse de Na_2SO_4 10^{-6} M dans la cellule électrochimique. Pour l'extraction, 10 g de l'échantillon sont placés dans un tube à centrifuger de 50 mL auxquels sont ajoutés 30 mL d'un mélange hexane/eau (1:2, v/v). Le mélange est homogénéisé pendant 10 minutes à l'aide d'un vortex, puis filtré et le filtrat a été transféré dans une ampoule à décanter. La couche aqueuse inférieure a été récupérée. La teneur en VM, VLM, CAP et p-DAP a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage.

III. Résultats et discussion

III.1. Caractérisation électrochimique de l'électrode Au modifiée

Le comportement électrochimique de l'électrode en absence et en présence du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP a été étudié à l'aide de la technique CV dans 10^{-6} M Na_2SO_4 à une vitesse de balayage de 50 mV/s (figure 2A, B, C et D). Une forme classique de CV est obtenue sans aucun pic avec les électrodes Au nue et Au modifiée en absence des contaminants (figure 2A, a, b). En présence des contaminants aucun pic n'est obtenu avec l'électrode Au nue (figure 2B, a). Cependant, l'enrobage de l'électrode Au avec des AgCDs, donne une réponse CV avec un pic d'oxydation et un pic de réduction (figure 2B, b) en présence de des contaminants. L'apparition du pic de courant redox valide le transfert d'électrons à l'électrode fabriquée et certifie la formation d'un film mince de AgCDs adsorbé à la surface de l'électrode (Pushpanjali et al., 2019) suggérant une amélioration des propriétés électrochimiques. Cette apparition des pics du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP montrent non seulement que la présence du film de AgCDs augmente la surface spécifique et la conductivité de l'électrode Au, mais aussi qu'il y a bien une adsorption de ces contaminants sur l'électrode AgCDs/Au (Bibi et al., 2019). En effet, les CDs possèdent plusieurs sites (fonctions amine et carboxylique) qui peuvent interagir avec ces contaminants pour attirer ce dernier le plus près possible des centres catalytiques actifs.

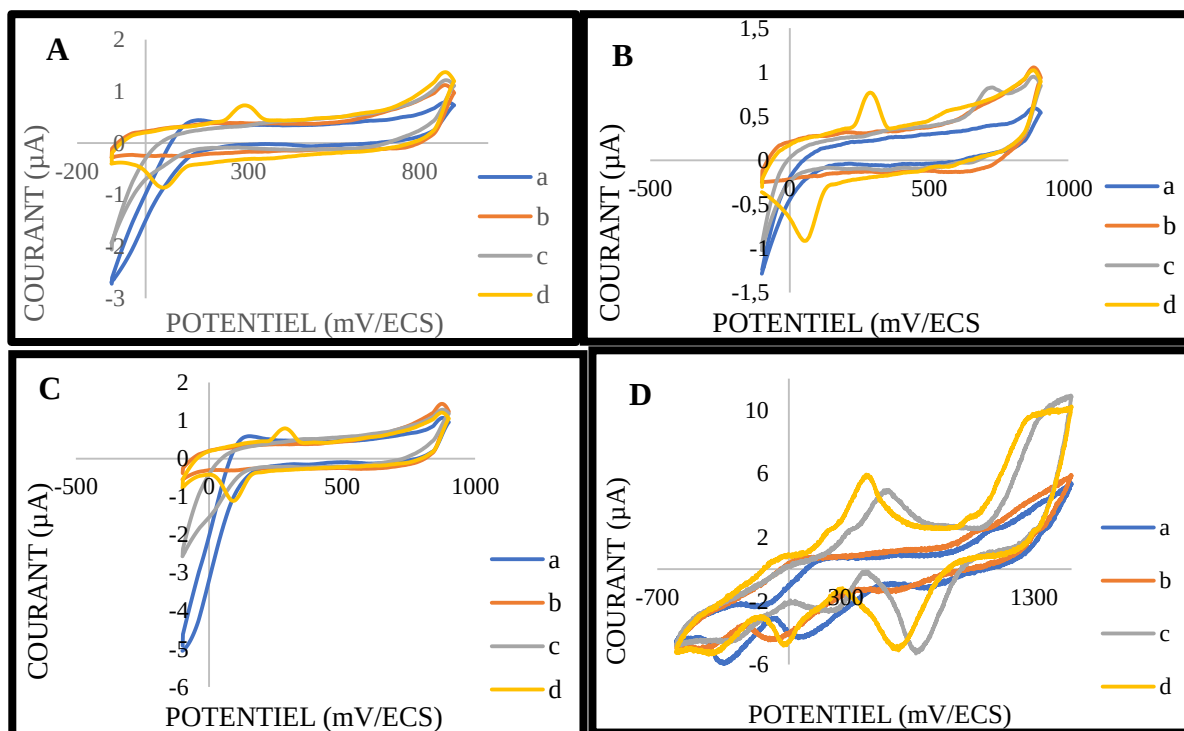
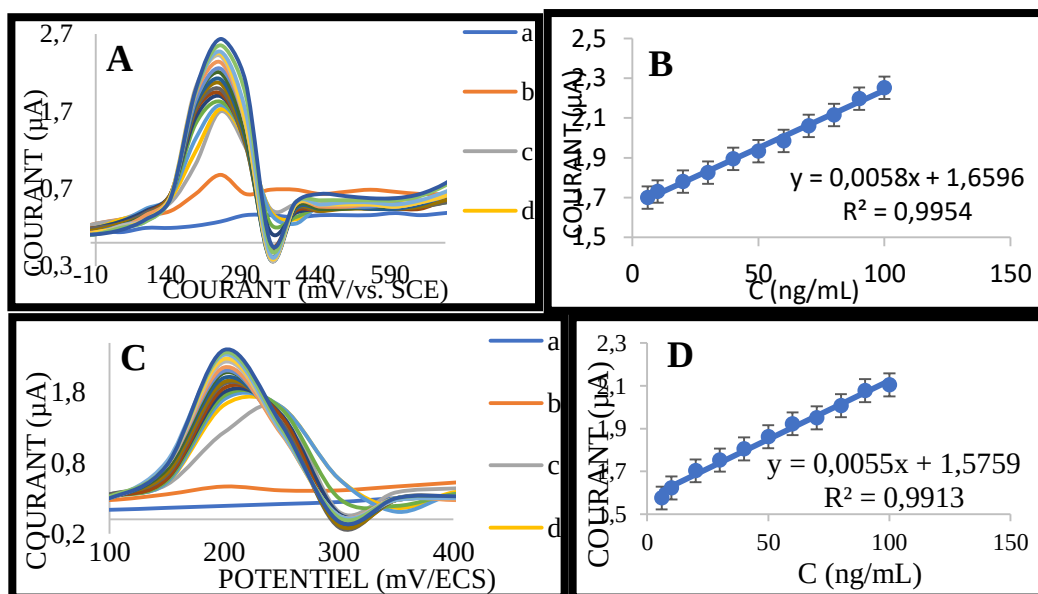


Figure.1. Voltamogramme cyclique A) VM, B) VLM, C) CAP et p-DAP

III.2. Détermination de la sensibilité du VM, VLM, CAP et p-DAP et des AgCQDs/Au

La sensibilité de l'électrode AgCQDs/Au a été évaluée en étudiant la réponse DPV de l'oxydation du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP sur l'électrode AgCQDs/Au (Fig.2). Comme le montrent les Fig.2.B, D, F et H) une bonne linéarité allant de 6 ng/mL à 100 ng/mL est obtenue entre l'intensité du pic d'oxydation et la concentration des contaminants. La limite de détection et de quantification donnent respectivement pour le VM 4,01 ng/mL et 13,36 ng/mL, le VLM 5,55 ng/mL et 18,49 ng/mL, le CAP 5,10 ng/mL et 20,35 ng/mL et le p-DAP 0,1 ng/mL et 0,33 ng/mL 4,01 ng/mL et 13,37 ng/mL,. Cette faible concentration de la limite de détection indique la grande sensibilité de l'électrode modifiée pour la détection de ces contaminants et suggère que cette électrode peut être utilisée là où le suivi du VM est nécessaire car ces valeurs sont inférieures à la limite recommandée dans les denrées alimentaires (Peihong et *al.*, 2021).



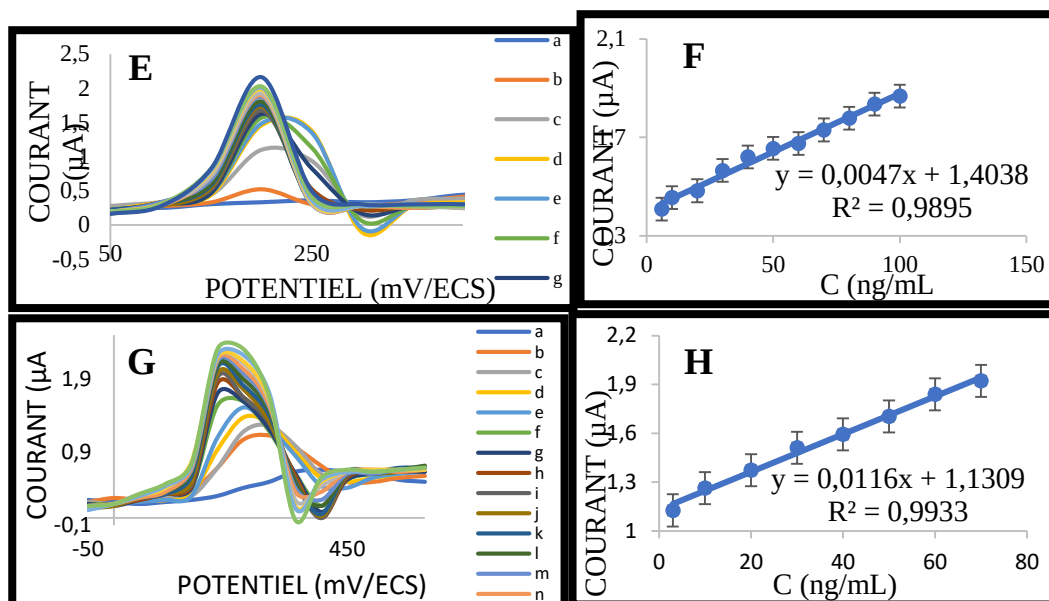


Figure 2. A, C, E et G) DPV et B, D, F et H) courbes de calibrations respectivement du vert malachite, du vert leucomalachite, du chloramphénicol et du chlorhydrate de 4-(diméthylamino)phenol.

III.3. Application du capteur électrochimique fabriqué à des échantillons réels

Le capteur électrochimique développé a été évalué sur des échantillons réels de maquereaux, de cape, de crabe, de crevettes et d'écrevisses. Les concentrations de MG obtenues varient de 12,05 à 52,71 ng/kg pour le maquereau, de 36,14 à 49,2 ng/kg pour le cap, de 177,7 à 739,45 ng/kg pour le crabe, de 33,13 à 137,05 ng/kg pour la crevette et de 177,7 à 585,8 ng/kg pour l'écrevisse. Ces concentrations pour le VLM sont 10,35 à 53,21 ng/kg pour le maquereau, de 31,68 à 41,9 ng/kg pour le cap, de 109,7 à 463,22 ng/kg pour le crabe, de 20,37 à 115,42 ng/kg pour la crevette et de 102,35 à 426,5 ng/kg pour l'écrevisse. Ces valeurs sont inférieures à la concentration acceptable dans les denrées alimentaires, qui est de 1 μg/kg (Peihong et *al.*, 2021). Ces résultats suggèrent que le marché local respecte la réglementation sur les denrées alimentaires en ce qui concerne le vert de malachite. Toutefois, le vert de malachite étant connu pour son effet d'accumulation, il serait intéressant de sensibiliser les pêcheurs à l'interdiction de son utilisation.

IV. Conclusion

L'électrode AgCDs/Au a été utilisée pour détecter le VM, le VLM, le CAP et le p-DAP libres. Les résultats montrent que l'électrode AgCDs/Au a une bonne activité pour l'oxydation de ces contaminants en milieu Na₂SO₄. Cette activité électrocatalytique suggère un effet synergique des CD, des AgNPs et de l'Au pour l'oxydation du VM, VLM, CAP et p-DAP sur l'électrode AgCDs/Au. En outre, cette électrode AgCDs/Au s'est avérée stable et a pu être réutilisée plusieurs fois avec des résultats satisfaisants. La limite de détection peut être aussi basse que 4,01 ng/mL le VM ; 5,55 ng/mL pour le VLM ; 5,10 ng/mL pour le CAP et 0,1 ng/mL pour le p-DAP, ce qui est comparable à la limite de détection des techniques traditionnelles. Ces limites de détection sont inférieures aux limites recommandées dans les denrées alimentaires, ce qui indique que cette technique peut être utilisée lorsque la surveillance du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP est d'une importance capitale. En outre, la méthode s'est avérée fiable, avec de bonnes récupérations et une bonne précision. Tous ces résultats indiquent que la méthode AgCDs/Au est idéale pour la détection électrochimique du VM, du VLM, du CAP et du p-DAP, avec plusieurs avantages : faible coût, mesure sur site, procédures et installations simples.

Référence

- Jasińska, A., Paraszkiwicz, K., Sip, A., Długoński, J., 2015. Malachite green decolorization by the filamentous fungus *Myrothecium roridum*-Mechanistic study and process optimization. *Bioresour. Technol. Rep.* 194, 43-48.
- Cha, C., Doerge, D.R., Cerniglia, C.E., 2001. Biotransformation of malachite green by the fungus *Cunninghamella elegans*. *Appl. Environ. Microb.* 67, 4358-4360.
- Chen GY, Miao S (2010) HPLC determination and MS confirmation of malachite green, gentian violet, and their leuco metabolite residues in channel catfish muscle. *J Agric Food Chem* 58:7109–7114

- Bañuelos, J.A., García-Rodríguez, O., El-Ghenymy, A., Rodríguez-Valadez, F.J., Godínez, L.A., Brillas, E., 2016. Advanced oxidation treatment of malachite green dye using a low cost carbon-felt air-diffusion cathode. *J. Environ. Chem. Eng.* 4, 2066–2075.
- Peihong D, Jinxia F, Yanping W, Jingyun X, Junhua L, Quanguo H (2021) Fast and ultrasensitive trace malachite green detection in aquaculture and fisheries by using hexadecylpyridinium bromide modified electrochemical sensor. *Journal of food composition and analysis* 102, 104003.
- Sacara AM, Cristea C, Muresan LM (2017) Electrochemical detection of malachite green using glassy carbon electrodes modified with CeO₂ nanoparticles and Nafion. *J Electroanal Chem* 792:23–30
- Yadav, S.K., Agrawal, B., Chandra, P., Goyal, R.N., 2014. In vitro chloramphenicol detection in a *Haemophilus influenza* model using an aptamer-polymer based electrochemical biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 55, 337–342.
- BagheriHashkavayi, A., BakhshRaoof, J., Ojani, R., HamidiAsl, E., 2015. Label-free electrochemical aptasensor for determination of chloramphenicol based on gold nanocubes-modified screen-printed gold electrode. *Electroanalysis* 27 (6), 1449–1456.
- Jia J, Yan S, Lai XX, Xu YZ, Liu T, Xiang YH (2018) Colorimetric aptasensor for detection of malachite green in fish sample based on RNA and gold nanoparticles. *Food Anal Methods* 11:1668–1676
- Li L, Lin ZZ, Peng AH, Zhong HP, Chen XM, Huang ZY (2016) Biomimetic ELISA detection of malachite green based on magnetic molecularly imprinted polymers. *J Chromatogr B* 1035:25–30
- Martín-Yerga D, Pérez-Junquera A, Hernández-Santos D, Fanjul-Bolado P (2018) In situ activation of thick-film disposable copper electrodes for sensitive detection of malachite green using electrochemical surface-enhanced Raman scattering (EC-SERS). *Electroanalysis* 30:1095–1099
- Wang YL, Liao KR, Huang XJ, Yuan DX (2015) Simultaneous determination of malachite green, crystal violet and their leuco-metabolites in aquaculture water samples using monolithic fiber-based solid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatograph. *Anal Methods* 7:8138–8145
- Bibi, S., Zaman, M.I., Niaz, A., Rahim, A., Nawaz, M., Bilal Arian, M., 2019. Voltammetric determination of nitrite by using a multiwalled carbon nanotube paste electrode modified with chitosan-functionalized silver nanoparticles. *Microchim. Acta* 186 (9), 595.
- Pushpanjali, P.A., Manjunatha, J.G., Shreenivas, M.T., 2019. The electrochemical resolution of ciprofloxacin, riboflavin and estriol using anionic surfactant and polymer-modified carbon paste electrode. *ChemistrySelect* 4 (46), 13427–13433.

Caractéristiques microstructurales, physiques et mécaniques des adobes adjuvés de la bagasse de canne à sucre

Moussa Ouedraogo^{1*}, Halidou Bamogo¹, Issiaka Sanou¹, Vanessa Mazars², Jean-Emmanuel Aubert², Younoussa Millogo¹

¹Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Département de Chimie, Université Nazi BONI, Bobo-Dioulasso 01 BP 1091, Burkina Faso

²Université de Toulouse; UPS, INSA; LMDC (Laboratoire Matériaux et Durabilité des Constructions), 135 avenue de Rangueil, F-31 077 Toulouse cedex 4, France

* ouedmoss@yahoo.fr

Résumé :

Cette étude a porté sur la réutilisation de la bagasse de canne à sucre dans les adobes afin d'améliorer leurs propriétés physicomécaniques. La caractérisation minéralogique et géotechnique du sol utilisé montre qu'il est composé de quartz, de kaolinite et de goéthite et qu'il est adapté à la fabrication d'adobes. La bagasse de canne à sucre a une surface rugueuse et contient principalement de la cellulose, des hémicelluloses, de la lignine et des traces de saccharose. Des études microstructurales sur des adobes renforcés avec de la bagasse de canne à sucre ont montré que leur microstructure est homogène pour des additions de ces fibres jusqu'à 4 % en poids. Il a été constaté que l'ajout de bagasse de canne à sucre à la matrice argileuse améliore fortement les propriétés mécaniques et réduit la cinétique d'absorption d'eau et la conductivité thermique des adobes. La présence de fibres de bagasse entraîne la formation de liaisons hydrogène entre les molécules de canne à sucre et les minéraux argileux, ce qui pourrait expliquer l'amélioration des propriétés physicomécaniques. Une étude sur l'érosion hydrique est envisagée afin d'améliorer la résistance de ces adobes face aux intempéries pluviométriques.

Mots Clés : Bagasse de canne à sucre ; Microstructure ; Liaisons hydrogène.

Abstract :

This study focused on the reuse of sugarcane bagasse in adobe bricks to enhance their physico-mechanical properties. The mineralogical and geotechnical characterization of the soil used revealed that it is composed of quartz, kaolinite, and goethite, making it suitable for adobe brick production. Sugarcane bagasse has a rough surface and mainly consists of cellulose, hemicelluloses, lignin, and traces of sucrose. Microstructural studies on adobe bricks reinforced with sugarcane bagasse demonstrated that their microstructure remains homogeneous with additions of these fibers up to 4% by weight. It was observed that incorporating sugarcane bagasse into the clay matrix significantly improves mechanical properties and reduces water absorption kinetics and thermal conductivity of the adobe bricks. The presence of bagasse fibers leads to hydrogen bond formation between sugarcane molecules and clay minerals, which could explain the enhancement of physico-mechanical properties. A study on hydraulic erosion is envisaged to further enhance the resistance of these adobe bricks to rainfall-induced weathering.

Keywords : Sugar cane bagasse; Microstructure; Hydrogen bonds.

5. Introduction

Depuis plusieurs décennies, l'empreinte environnementale du secteur de la construction augmente de manière significative, tant en termes de réchauffement climatique que de ressources naturelles disponibles. Il est donc devenu nécessaire de changer les habitudes de construction, notamment en utilisant des matériaux à faible impact environnemental et renouvelables, comme la terre, ou des matériaux issus de l'économie circulaire, comme les déchets. Parmi les déchets facilement réutilisables dans le domaine de la construction figurent les résidus agricoles, qui permettent d'améliorer les performances des matériaux terreux tout en recyclant une ressource végétale qui stocke du CO₂ tout au long de la vie du matériau.

La bagasse de canne à sucre est un résidu issu du broyage de la canne à sucre une fois le jus extrait. Elle est très souvent utilisée pour produire de l'électricité dans les centrales thermiques. Cette exploitation libère une grande quantité de dioxyde de carbone dans le milieu naturel, ce qui rend son utilisation polluante. Afin de donner une importance écologique et économique à la bagasse de canne à sucre, des travaux scientifiques ont été entrepris pour la transformer en un produit à valeur ajoutée et ont suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs. Sun et al. (2004) [1] ont montré que la bagasse de canne à sucre, qui contient des fibres végétales et une forte teneur en cellulose (~45 %), est un bon isolant thermique qu'il pourrait être intéressant de réutiliser dans les matériaux de construction.

L'objectif principal de cette étude est de valoriser la bagasse de canne à sucre dans le secteur des matériaux de construction en l'incorporant à la terre afin de produire des adobes ayant de bonnes propriétés mécaniques et une bonne résistance à l'eau. Une attention particulière a été portée à la conductivité thermique de ces adobes afin d'offrir un bon confort thermique aux habitations. Pour ce faire, des adobes ont été fabriqués avec un matériau argileux provenant d'un village (Louaga) proche de Ouagadougou au Burkina Faso. Les propriétés

microstructurales, physiques et mécaniques des adobes stabilisés par la bagasse de canne à sucre ont été étudiées afin d'apprécier leur aptitude à servir de matériaux de construction dans les climats secs.

6. Matériel et méthodes

2.1. Matières premières

Le matériau argileux brut utilisé pour cette étude provient de Louaga, un village situé à environ 24 km au nord de Ouagadougou.

La bagasse de canne à sucre provient de la SN-SOSUCO, une industrie située à Bérégradougou (latitude 10°46' Nord et longitude 4°43' Ouest), qui fabrique du sucre. Cette bagasse de canne à sucre est considérée comme un déchet pour cette industrie.

2.2. Elaboration des adobes

La terre argileuse de Louaga utilisée pour la fabrication des adobes a été concassée pour obtenir des particules de taille < 5 mm. Les adobes ont été fabriqués à partir d'un mélange de terre et de bagasse de canne à sucre à 1, 2, 3, 4 ou 5 % en masse. La terre a été mélangée pendant vingt minutes avec une quantité appropriée d'eau afin d'obtenir un mélange homogène, selon la procédure utilisée par Ouedraogo et al. (2019) [2]. Le mélange a été mis dans des moules prismatiques de $4 \times 4 \times 16$ cm³ en deux couches et un compactage manuel de 30 chocs a été appliqué pour chaque couche. Les échantillons ont ensuite été séchés pendant 24 heures à l'ombre ($30 \pm 5^\circ\text{C}$) et exposés à l'air libre avant d'être démoulés. Les adobes fabriqués ont été à nouveau séchés à l'ombre pendant 21 jours avant d'effectuer les tests de caractérisation [3,4,5].

2.3. Procédures expérimentales

Les caractéristiques géotechniques mesurées sur le matériau argileux brut sont les limites d'Atterberg (AFNOR NF P 94-051 [6]) et la valeur du bleu de méthylène (AFNOR NF P 94-068 [7]) et la distribution granulométrique. La distribution granulométrique de l'échantillon étudié a été analysée à l'aide de deux techniques complémentaires. La distribution de la fraction la plus grossière (≥ 80 μm) a été analysée par tamisage humide, tandis que la fraction la plus fine (< 80 μm) a été analysée au moyen d'une méthode de sédimentation utilisant la loi de Stoke [8, 9].

L'analyse chimique de la terre argileuse a été réalisée par spectrométrie d'émission optique à plasma inductif (ICP-OES).

Pour évaluer sa composition minéralogique, la diffraction des rayons X (DRX), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), l'analyse gravimétrique thermique (TGA) et la spectrométrie infrarouge (IR) ont été utilisées sur l'échantillon de sol. Les expériences DRX ont été réalisées à l'aide d'un diffractomètre à rayons X Brüker D8 Advance équipé d'un monochromateur $K\alpha$ à anticathode de cuivre ($\lambda = 1,54$ Å). La DSC-TGA a été effectuée sur un échantillon broyé à une taille < 80 μm et chauffé à 1000°C à un taux constant de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ en utilisant un appareil Netzsch SATA 449 F3 Jupiter. La spectrométrie infrarouge a été réalisée sur un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier et réflectance totale atténuée (ATR-FTIR Frontier, $4000 - 550\text{cm}^{-1}$, cristal de diamant - Perkin Elmer).

La microstructure de la bagasse de canne à sucre a été étudiée par microscopie électronique à balayage (MEB) (microscope JEOL JSM6380-LV) après évaporation du carbone à la surface de l'échantillon. Les observations ont été effectuées en mode d'imagerie électronique secondaire (SEI). La même technique a été utilisée pour évaluer la microstructure des adobes simples et de ceux renforcés par de la bagasse de canne à sucre.

7. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation géotechnique, chimique et minéralogique du sol de Louaga

La distribution granulométrique d'un échantillon de sol de Louaga montre qu'il est riche en grains fins (< 80 μm) 75% avec la fraction argileuse (< 2 μm) représentant 42%. Les limites d'Atterberg sont de 45, 23 et 22% pour la limite de liquidité (W_L), la limite de plasticité (W_P) et l'indice de plasticité (IP) respectivement. La valeur du bleu de méthylène est de 2,8g/100g. Cette valeur étant comprise entre 2,5 et 6g/100g, l'échantillon peut être considéré comme un sable fin argileux [10]. Selon Dao et al. (2018) [11] et compte tenu des valeurs de la limite d'Atterberg, l'échantillon de Louaga semble convenir à la fabrication d'adobes. La composition chimique du sol argileux de Louaga est donnée dans le **tableau 1**.

Tableau 1. Composition chimique du sol utilisé dans cette étude (L.O.I. : Loss on Ignition)

Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	P ₂ O ₅	L.O.I.
%	67,76	17,56	4,63	0,07	0,20	0,14	0,05	0,56	1,00	-	8,64

L'argile de Louaga est riche en oxydes de silice et d'alumine avec une petite quantité d'oxyde de fer.

Le diagramme DRX du sol est présenté dans la **Figure 1**. Ce diagramme montre la présence de quartz (SiO₂), de kaolinite (Al₂(Si₂O₅)(OH)₄) et de goethite (α-FeO(OH)), et confirme la composition chimique.

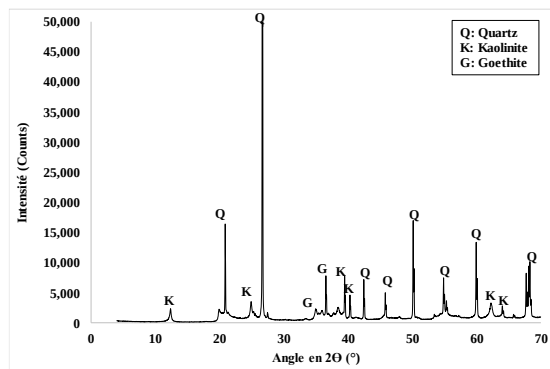


Figure 1. Diagramme DRX du sol de Louaga

3.2. Caractérisation biochimique et microstructurale de la bagasse de canne à sucre

Selon Godin et al. (2010) [12], la bagasse de canne à sucre est composée de cellulose (40,1±6,7) %, d'hémicelluloses (26,3±6,3) % et de lignine (17,9±6,8) %. La teneur en cellulose de ce résidu est beaucoup plus faible que celle de la plupart des fibres naturelles, telles que le kenaf, le lin, le chanvre, le jute, la ramie, le sisal, le bananier, le coton et la balle de riz, mais sa teneur en lignine est beaucoup plus élevée [4].

La MEB de la bagasse de canne à sucre (**Figure 2**) montre qu'elle présente une hétérogénéité morphologique faite de filaments de cire. Ces filaments de cire sont liés entre eux. Ils sont disposés longitudinalement avec plus ou moins de parallélisme et présentent également des espaces entre eux, qui peuvent retenir de fines particules d'argile, augmentant ainsi l'adhérence et donc la résistance mécanique des adobes mélangés.

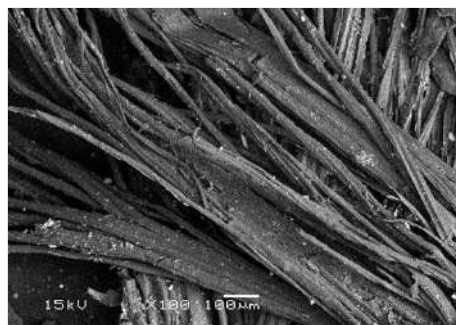


Figure 2. MEB de la bagasse de canne à sucre

3.3. Microstructure des adobes renforcés par de la bagasse de canne à sucre

Les MEB des surfaces fracturées des adobes sont présentées dans les **Figures 3 (a-d)**. La micrographie des adobes sans bagasse de canne à sucre (**Figure 3-a**) montre une microstructure hétérogène avec des fissures et de grands pores. Les adobes renforcés avec 1 à 4 % de bagasse de canne à sucre présentent une microstructure homogène lorsque la teneur en bagasse de canne à sucre augmente (**Figures 3b-c**). Des pores de petite taille ont été observés, mais pas de fissures. On peut en conclure que l'incorporation de bagasse de canne à sucre dans une matrice argileuse limite la propagation des fissures dans les adobes. Ceci est dû à la bonne adhésion de la bagasse de canne à sucre à la matrice argileuse en raison de la surface rugueuse de ses fibres. Lorsque la teneur en bagasse de canne à sucre atteint 5 % (**Figure 3-d**), la microstructure des adobes devient hétérogène, avec des fissures et de grands pores. Dans certaines zones des adobes, la bagasse de canne à sucre est distribuée sous forme de paquets.

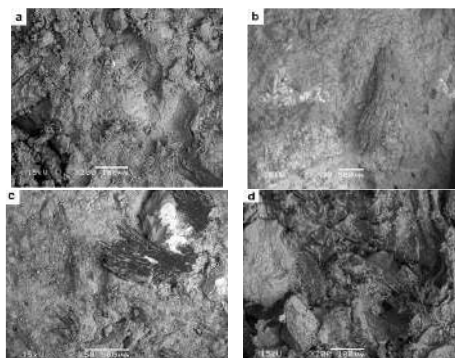


Figure 3. Micrographies MEB d'adobes renforcés avec de la bagasse de canne à sucre (a. 0 % ; b. 1 % ; c. 4 % ; d. 5 %)

3.4. Caractéristiques physiques et mécaniques des adobes

3.4.1. Caractéristiques physiques des adobes

La conductivité thermique (λ) des adobes (**Figure 4**) amendés par de la bagasse de canne à sucre diminue avec la quantité de bagasse dans la matrice argileuse. Cette diminution s'explique par deux effets combinés : l'augmentation de la porosité et la présence de fibres végétales dans la matrice argileuse. En effet, la bagasse de canne à sucre, riche en fibres végétales, contient une grande quantité de cellulose. Cette molécule contribue à diminuer la conductivité thermique [2, 3, 10]. Il existe une corrélation entre la porosité et la conductivité thermique, cette dernière diminuant lorsque la porosité augmente en raison de la présence de cavités d'air [2, 3]. La faible conductivité thermique des adobes amendés par la bagasse de canne à sucre est importante pour les climats tropicaux secs. Ce résultat permet de réaliser d'importantes économies d'énergie liées à la climatisation et à la ventilation qui constituent un problème majeur pour les pays en voie de développement et particulièrement pour les pays tropicaux secs comme le Burkina Faso.

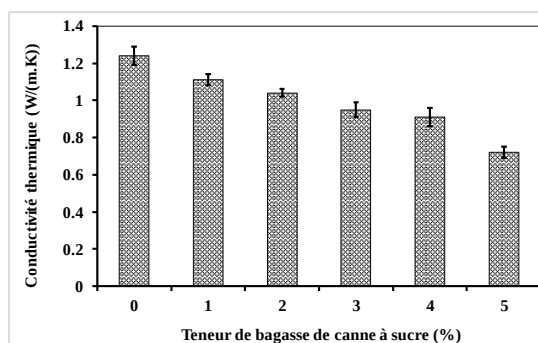


Figure 4. Conductivité thermique des adobes renforcés avec de la bagasse de canne à sucre

Le comportement hydrique de ces composites biosourcés est un aspect important pour leur acceptabilité dans la construction de bâtiments. Le coefficient d'absorption d'eau par capillarité dans les adobes diminue jusqu'à ce que les ajouts de bagasse de canne à sucre atteignent 2 %. Cette diminution est due à la microstructure homogène des adobes renforcés par la bagasse de canne à sucre avec peu de pores. Au-delà de 2 % de bagasse de canne à sucre, le coefficient d'absorption augmente en raison du tassement de la bagasse de canne à sucre dans la matrice argileuse. A cette teneur en bagasse de canne à sucre, l'effet hydrophile des hémicelluloses contenues dans la bagasse peut être observé et l'absorption capillaire de l'eau dans le composite d'adobe augmente donc. Des images d'adobes immergés dans l'eau pendant 96 heures sont présentées dans la **Figure 5**.

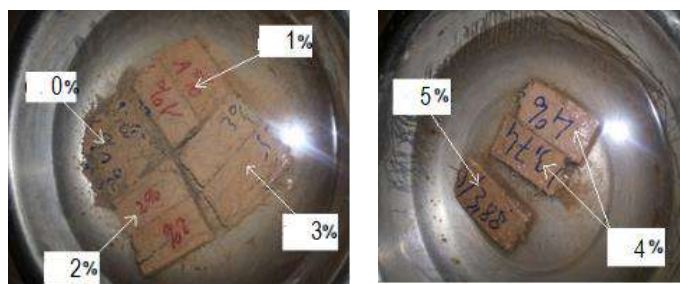


Figure 5. Adobes après 96 heures d'immersion

Les adobes sans bagasse de canne à sucre n'ont pas résisté à l'eau et ont été complètement détruits après moins de 2 heures. Les adobes stabilisés ont résisté à l'immersion dans l'eau et cette résistance a augmenté avec l'ajout de bagasse de canne à sucre. Cela est principalement dû à la bonne cohésion entre la matrice argileuse et la bagasse de canne à sucre. Ce résultat est dû à la formation d'un grand nombre de liaisons hydrogène entre les doublets libres d'oxygène et d'hydrogène du minéral argileux (kaolinite) et de la bagasse de canne à sucre (cellulose, lignine, hémicelluloses) [2, 3, 14].

3.4.2. Résistance à la compression et à la flexion des adobes

La résistance à la compression et à la flexion des adobes renforcés avec de la bagasse de canne à sucre est présentée dans la **Figure 6**.

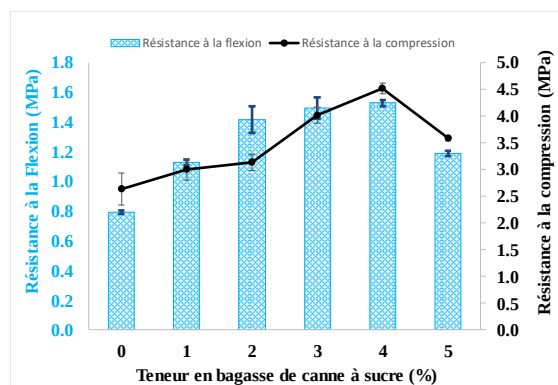


Figure 6. Résistance à la compression et à la flexion des adobes renforcés avec de la bagasse de canne à sucre

Les résistances à la compression et à la flexion des adobes augmentent avec des ajouts de bagasse de canne à sucre jusqu'à 4 %. Ces résultats peuvent s'expliquer par la bonne adhésion de la bagasse de canne à sucre à la matrice argileuse, due à la formation de nombreuses liaisons hydrogène entre la kaolinite (atomes d'hydrogène des groupes hydroxydes) et les molécules organiques de la bagasse de canne à sucre : cellulose, hémicelluloses et lignine (qui possède de nombreux atomes d'oxygène avec des doublets électroniques libres) [2, 3, 14]. Aussi, le saccharose résiduels solubilisé agit comme une colle avec la matrice argileuse. De plus, la présence de ces fibres inhibe la propagation des fissures dans les adobes et améliore donc les résistances à la compression et à la flexion. Ces résultats correspondent bien aux micrographies MEB des adobes. Pour des quantités de bagasse de canne à sucre supérieures à 4 %, selon les micrographies MEB (figure 8-d), la bagasse de canne à sucre est répartie en paquets. Cette répartition des fibres dans la matrice argileuse crée davantage de pores de grande taille et contribue donc à la diminution des résistances à la compression et à la flexion.

L'évolution de la résistance à la flexion en fonction de la teneur en bagasse de canne à sucre est la même que pour la résistance à la compression. L'amélioration de ces caractéristiques mécaniques est principalement due à la grande résistance à la traction de la bagasse de canne à sucre, fournie par les molécules de cellulose cristalline qu'elle contient. L'augmentation de la résistance à la flexion est également due à la présence d'une quantité acceptable de lignine dans la bagasse de canne à sucre, qui confère de la rigidité aux fibres. De plus, cette caractéristique est améliorée par la bonne adhésion de la bagasse de canne à sucre avec la matrice argileuse. La diminution de la résistance à la flexion pour des teneurs élevées en fibres est due à une mauvaise répartition des fibres sous forme de paquets dans certaines zones des adobes. Cela induit une microstructure hétérogène avec une porosité accrue.

Les amplitudes des résistances à la compression et à la flexion des adobes sont globalement doublées entre les adobes sans bagasse de canne à sucre et ceux contenant 4 % de fibres, ce qui semble être la teneur optimale. L'augmentation des propriétés mécaniques des adobes renforcés par la bagasse de canne à sucre pourrait être due

à la propriété de liaison du saccharose, qui contribue à lier les particules isolées. La formation de liaisons hydrogène entre les particules d'argile (représentées par la kaolinite) et le sucre résiduel de la bagasse de canne à sucre (représenté par le polysaccharide) est illustrée dans la **Figure 7**.

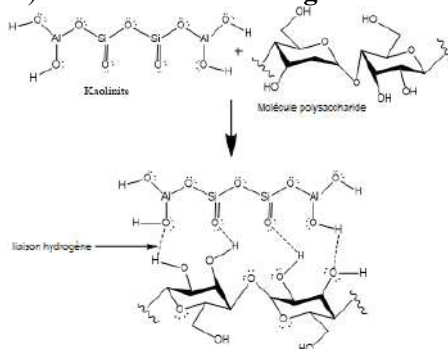


Figure 7. Formation de liaisons hydrogène

8. Conclusion

Les caractérisations chimiques et minéralogiques du sol de Louaga ont montré qu'il contient du quartz (47 %), de la kaolinite (44 %) et de la goethite (5 %), ce qui correspond à la composition minéralogique classique d'une latérite. Les tests physiques et géotechniques effectués sur ce sol ont permis de conclure que ses caractéristiques sont adaptées à la fabrication d'adobes.

L'étude biochimique de la bagasse de canne à sucre a montré que la bagasse est riche en cellulose, hémicelluloses et lignine avec des traces de saccharose. Des études morphologiques par microscopie électronique à balayage ont montré que la surface des fibres de bagasse est rugueuse, ce qui est un avantage qui permet à ces fibres d'améliorer leur adhésion avec les particules de sol dans les adobes.

L'ajout de bagasse aux adobes améliore considérablement les propriétés physiques et mécaniques des adobes. Jusqu'à 4 %, les résistances à la flexion et à la compression augmentent proportionnellement à la quantité de bagasse ajoutée. Cette amélioration des propriétés mécaniques pourrait s'expliquer par la non-propagation des fissures dans le matériau en raison de la bonne adhésion entre les fibres et la matrice argileuse. Cette bonne adhésion de la bagasse de canne à sucre à la matrice argileuse s'explique par au moins trois mécanismes : la rugosité de la surface des fibres de bagasse, la présence de saccharose solubilisé qui lie les particules isolées du matériau argileux brut, et la formation d'un nombre important de liaisons hydrogène entre les minéraux argileux et certaines molécules de la bagasse de canne à sucre, telles que la cellulose et les hémicelluloses.

Enfin, deux types de propriétés physiques ont été testés sur les adobes incorporant de la bagasse : la conductivité thermique, elle diminue avec l'ajout de bagasse de canne à sucre, en raison du caractère isolant de la molécule de cellulose contenue dans la fibre. Par ailleurs, l'ajout de bagasse aux adobes a considérablement augmenté la résistance à l'eau de ces matériaux surtout les adobes renforcés avec 4 et 5 % de bagasse ont résisté à 96 heures d'immersion dans l'eau. Comme pour l'amélioration de la résistance mécanique, ce résultat s'explique par la présence de saccharose à la surface des fibres, qui agit comme une colle dans les adobes. Cette présence de saccharose est une forte originalité de la bagasse, ce qui explique que, du point de vue mécanique et de la résistance à l'eau, les résultats obtenus avec ces fibres sont meilleurs que ceux obtenus avec d'autres types de fibres, comme le kenaf ou la paille de fonio.

5. Bibliographie :

- [1] J.X. Sun, X.F. Sun, H. Zhao, R.C. Sun, 2004. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. *Polymer Degradation and Stability* 84: 331-339.
- [2] M. Ouedraogo, K. Dao, Y. Millogo, J.E. Aubert, A. Messan, M. Seynou, L. Zerbo, M. Gomina, 2019. Physical, thermal and mechanical properties of adobes stabilized with fonio (*Digitaria exilis*) straw. *Journal of Building Engineering* 23: 250-258.
- [3] M. Ouedraogo, K. Dao, Y. Millogo, M. Seynou, J.E. Aubert, M. Gomina, 2017. Influence des fibres de kenaf (*Hibiscus altissima*) sur les Propriétés physiques et mécaniques des adobes. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* 043: 48-63.
- [4] Y. Millogo, J.E. Aubert, E. Hamard, J.C. Morel, 2015. How properties of kenaf fibers from Burkina Faso contribute to the reinforcement of earth blocks, *Materials* 8: 2332-2345.
- [5] M. Ouedraogo, H. Bamogo, I. Sanou, K. Dao, K.A.J. Ouedraogo, J.E. Aubert, Y. Millogo, 2022. Microstructure, Physical and Mechanical Properties of Adobes Stabilized with Rice Husks, *International Journal of Architectural Heritage*, DOI: 10.1080/15583058.2022.2034072.

- [6] AFNOR, NF P 94-051, 1993. Sols: Reconnaissance et essais. Détermination des limites d'Atterberg.
- [7] AFNOR, NF P 94-068, 1998. Sols: Reconnaissance et essais. Mesure de la capacité d'adsorption de bleu de méthylène.
- [8] AFNOR, NF P 94-056, 1996. Sols: reconnaissance et essais. Analyse granulométrique des sols : Méthode par tamisage.
- [9] AFNOR, NF P 94-057, 1992. Sol: Reconnaissance et essais. Analyse granulométrique des sols : Méthode par sédimentation.
- [10] Y. Millogo, 2012. Stabilisation des Matériaux Locaux par des Liants Minéraux, Application au Génie Civil. Editions Universitaires Européennes : 59.
- [11] K. Dao, M. Ouedraogo, Y. Millogo, J.E. Aubert, M. Gomina, 2018. Thermal, hydric and mechanical behaviours of adobes stabilized with cement. *Construction and Building Materials* 158: 84-96.
- [12] B. Godin, F. Ghysel, R. Agneessens, T. Schmit, S. Gofflot, S. Lamaudière, G. Sinnaeve, J.P. Goffart, P.A. Gerin, D. Stilmant, 2010. Détermination de la cellulose, des hemicelluloses, de la lignine et des cendres dans diverses cultures lignocellulosiques dédiées à la production de bioéthanol de deuxième génération. *Biotechnology Agronomy and Society Environment* 14: 549-560.
- [13] Y. Millogo, J.C. Morel, J.E. Aubert, K. Ghavami, 2014. Experimental analysis of Pressed Adobe Blocks reinforced with Hibiscus cannabinus fibers. *Construction and Building Materials* 52: 71-78.
- [14] C. Sumit, P.K. Sarada, R. Aparna, A. Basudam, S.B. Majumder, 2013. Effect of jute as fiber reinforcement controlling the hydration characteristics of cement matrix, *Ind. Eng. Chem. Res.* 52 :1252-1260

La vitamine C comme inhibiteur de corrosion de l'aluminium en milieu acide : étude potentiodynamique

DIKI N'Guessan Yao Silvère^{1*}, COULIBALY Nagnonta Hippolyte², OUEDRAOGO Augustin³, TROKOUREY Albert¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire

³Département des sciences et techniques, Ecole Normale Supérieure d'Abidjan, 08 BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire

*Courriel de l'auteur correspondant : dickiensil2@gmail.com

Résumé

La corrosion des métaux est une préoccupation majeure tant pour le secteur industriel que pour l'avenir du monde à cause de la pollution de l'environnement qui en résulte. Parmi les solutions proposées, l'utilisation d'inhibiteurs de corrosion devient de plus en plus pertinente. L'objectif de notre étude est de tester la vitamine C, une molécule non-toxique comme inhibiteur de la corrosion de l'aluminium en milieu acide chlorhydrique 1M. Les études ont été menées par le biais de la méthode de polarisation potentiodynamique en utilisant les droites de Tafel pour déterminer les pourcentages de protection à diverses concentrations de vitamine C. L'inhibiteur étudié a montré une excellente efficacité inhibitrice allant jusqu'à 90% à 298 K pour sa concentration optimale (2 mM). Les pentes de Tafel anodiques et cathodiques révèlent que l'inhibiteur étudié est de type mixte. Des études de caractérisation de surface sont envisagées afin d'apprécier les phénomènes de surface se déroulant sur l'électrode d'aluminium.

Mots clés : aluminium, corrosion, potentiodynamique, Tafel.

Vitamin C as aluminum corrosion inhibitor in an acidic medium: potentiodynamic study

Abstract

Metals corrosion is a major concern both for the industrial sector and for the future of the world because of the resulting environmental pollution. Among the proposed solutions, the use of corrosion inhibitors is getting more and more relevant. The aim of our study is to test vitamin C, a non-toxic molecule as an inhibitor of aluminum corrosion in a 1M hydrochloric acid medium. The studies were carried out through the potentiodynamic polarization method using Tafel lines to determine the percentages of protection at various concentrations of vitamin C. The studied inhibitor showed an excellent inhibition efficiency up to 90% at 298 K for its optimal concentration (2 mM). The anodic and cathodic Tafel slopes reveal that the studied inhibitor is a mixed-type one. Surface characterization studies are planned to assess the surface phenomena occurring on the aluminum electrode.

Keywords: aluminum, corrosion, potentiodynamic, Tafel.

Introduction

Les métaux sont une classe de matériaux très utilisés dans divers domaines dont le bâtiment (charpentes métalliques, menuiserie métallique, plomberie, tuyauterie, robinetterie et électricité) [1, 2], les ouvrages de transport (voie ferrée, pipeline, gazoduc...), les moyens de locomotion (véhicules, bicyclettes, navires avions,...), les machines industrielles, l'industrie militaire. De ce fait, leur importance s'est considérablement accrue.

Cependant, par nécessité thermodynamique, ils retournent irréversiblement à l'état de minerais c'est à dire à leur état naturel (état le plus stable conféré par une énergie plus basse) par des processus de dégradation appelés corrosion.

Vu les pertes et désagréments causés par la corrosion des métaux, il urge de songer à leur protection provisoire voire permanente. Aussi, les technologies développées de nos jours visent-elles à court et moyen termes la résistance des matériaux métalliques aux agents corrosifs. Les méthodes usuelles de lutte contre la corrosion, basées sur les composés minéraux, ne se sont pas montrées assez efficaces et sont d'ailleurs soumises de nos jours à des restrictions d'ordre environnemental. Par conséquent, il y a un besoin pressant de trouver des moyens de lutte efficaces et compatibles avec les normes environnementales [3]. L'utilisation des inhibiteurs de corrosion est l'une des meilleures techniques qui assure la protection des métaux lorsqu'ils sont en contact avec des milieux très agressifs tels que le milieu acide chlorhydrique [4]. Ce sont des composés qui, ajoutés en faible proportion dans le milieu réactionnel, permettent une baisse notable de la vitesse de corrosion des métaux. Ces dernières années, les restrictions d'ordre environnemental limitent l'usage d'un grand nombre d'inhibiteurs parmi lesquels les inhibiteurs inorganiques [5]. Ainsi, plusieurs travaux de recherche au sein de notre laboratoire [4, 6-8] se focalisent sur l'usage des molécules organiques éco-compatibles qui garantissent une efficacité élevée à bas coût. Ces types d'inhibiteurs ont l'avantage indéniable de ne pas contenir des métaux lourds, ni des composés toxiques

et d'être biodégradables [9]. Ainsi, il sera question dans notre étude d'utiliser comme inhibiteur de corrosion une vitamine (la vitamine C encore appelée acide ascorbique, ou acide oxo-3-gulofuranolactone) (**schéma 1**). Cette molécule possède une grande taille, une grande surface moléculaire avec six atome d'oxygène (hétéroatome) ainsi que des liaisons π , éléments favorables à une bonne adsorption sur la surface de l'aluminium par formation d'une couche protectrice qui isole le métal du milieu corrosif [10].

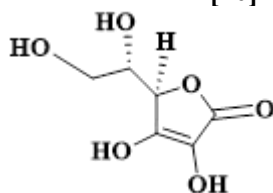


Schéma : structure de la vitamine C

Matériel et méthode

Matériel

Aluminium : les échantillons d'aluminium utilisés dans cette étude se présentaient sous la forme de tiges cylindriques de 10 mm de longueur et de 2,5 mm de diamètre, de type AA 1060 et de pureté 99,6%.

Solution corrosive : acide chlorhydrique 1M préparée par dilution avec de l'eau distillée d'une solution commerciale d'acide chlorhydrique (de pureté supérieure à 37%, de densité 1,2 ; de masse molaire $M=36,46$ g/mol) achetée chez Sigma-Aldrich Chemicals ;

Inhibiteur : la molécule de vitamine C, de formule $C_6H_8O_6$, de couleur blanche légèrement jaune a été acquise auprès de Sigma-Aldrich Chemicals.

Méthode

Electrochimie (polarisation potentiodynamique) : elle consiste à mesurer les densités de courant de corrosion sur une plage de potentiel allant de -1500 à 500 mV/ECS à la vitesse de balayage de 1mV/s en l'absence puis en présence des différentes concentrations en inhibiteur pour déterminer les efficacités inhibitrices puis la nature éventuellement mixte, anodique ou cathodique de l'inhibiteur étudié, de par l'extrapolation des pentes de Tafel. Les mesures ont été faites avec un Autolab PGSTAT 20 couplé à un ordinateur Dell équipé du logiciel GPES version 4.4 pour l'acquisition des données.

Résultats et discussion

La **figure 1** montre les courbes de polarisation potentiodynamique pour l'aluminium dans l'acide chlorhydrique molaire en l'absence ou en présence de différentes concentrations en vitamine C.

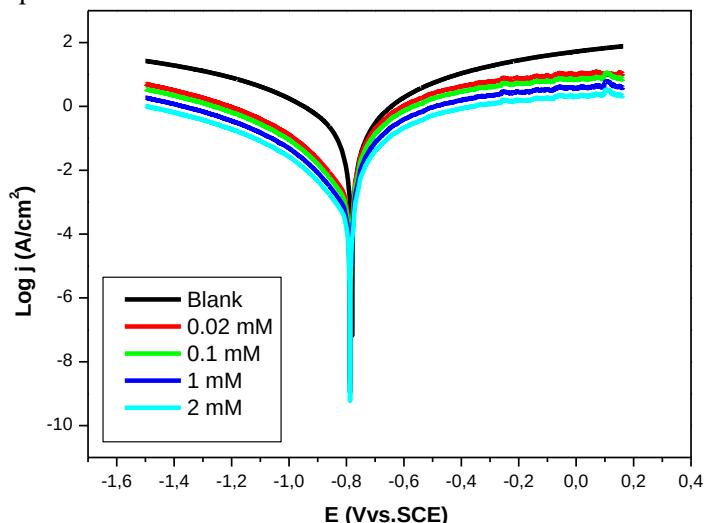


Figure 1 : Courbes de polarisation potentiodynamique pour l'aluminium dans l'acide chlorhydrique molaire en l'absence ou en présence de différentes concentrations en vitamine C.

On peut observer à partir de la **figure 1** qu'en présence d'inhibiteurs, les courbes anodique et cathodique se déplacent vers une densité de courant plus faible. De même quand l'inhibiteur est ajouté, les valeurs de (j_{corr}) diminuent (**Tableau 1**), ce qui révèle que les molécules inhibitrices sont adsorbées sur la surface métallique.

Tableau 1 : Paramètres de polarisation potentiodynamique pour la corrosion de Al dans des solutions de HCl 1M sans ou avec différentes concentrations de vitamine C à 298 K.

C_{inh}/mM	$E_{corr}/mV_{vs.SCE}$	$j_{corr}/\mu A\ cm^{-2}$	$b_a/mV\ dec^{-1}$	$-b_c/mV\ dec^{-1}$	EI (%)
0 (Blank)	-783,53	201,06	154,85	115,32	-
0,02	-822,34	65,41	143,19	124,26	67,47
0,1	-815,16	52,44	142,52	125,60	73,92
1	-810,73	39,08	146,04	122,23	80,56
2	-804,48	24,11	147,66	109,93	88,01

Comme présenté dans le **tableau 1**, les pentes de Tafel cathodique et anodique sont presque constantes et indépendantes de la concentration en inhibiteur, ce qui signifie que l'action inhibitrice du composé testé se produit par simple blocage de la surface disponible. D'autre part, l'inhibiteur diminue la surface disponible pour la dissolution anodique et l'évolution de l'hydrogène sans affecter le mécanisme de réaction [11]. D'autre part, les valeurs de densité de courant de corrosion (j_{corr}) diminuent de 201,06 $\mu A/cm^2$ à 24,11 $\mu A/cm^2$ avec l'addition de diverses concentrations en vitamine C. Lorsque la densité de courant (j_{corr}) diminue, l'efficacité d'inhibitrice (EI) passe de 67,47% à 88,01%, ce qui montre la grande efficacité de la vitamine C à ralentir la corrosion de l'aluminium en milieu acide chlorhydrique 1M. Outre cela, les valeurs de (E_{corr}) ne se déplacent pas au-delà de ± 85 mV en présence d'inhibiteur, suggérant que la vitamine C agit comme un inhibiteur de type mixte [12, 13].

Conclusion

De ce travail, nous pouvons retenir que la vitamine C est un très bon inhibiteur de corrosion pour l'aluminium en milieu acide chlorhydrique 1M au regard des pourcentages de protection obtenus. De plus, l'extrapolation des pentes de Tafel révèle qu'elle est un inhibiteur de type mixte.

Références

- [1] H. Z. Lopez-Calvo, P. Montes-García, V. G. Jiménez-Quero, H. G. Barranco, T. W. Bremner, and M. D. A. Thomas. Influence of crack width, cover depth and concrete quality on corrosion of steel in HPC containing corrosion inhibiting admixtures and fly ash. *Cem. Concr. Compos.* **2018**, 88, 200-210.
- [2] N. Y. S. Diki, N. H. Coulibaly, O. Kambiré, and A. Trokourey. Experimental and Theoretical Investigations on Copper Corrosion Inhibition by Cefixime Drug in 1M HNO₃ Solution. *J. Mater. Sci. Chem. Eng.* **2021**, 9, 11-28.
- [3] N. Kip and J. A. v. Veen. The dual role of microbes in corrosion. *The ISME Journal.* **2015**, 9, 542-551.
- [4] N. Y. S. Diki, N. H. Coulibaly, K. F. Kassi, and A. Trokourey. Mild steel corrosion inhibition by 7-(ethylthiobenzimidazolyl) theophylline. *J. Electrochem. Sci. Eng.* **2021**, 11, 97-106.
- [5] M. Wiczerzak, B. Kudlak, G. Yotova, S. Tsakovski, V. Simeonov, and J. Namieśnik. Impact of inorganic ions and pH variations on toxicity and endocrine potential of selected environmentally relevant pharmaceuticals. *Environ. Pollut.* **2018**, 237, 549-558.
- [6] N. Y. S. Diki, G. G. D. Diomandé, S. J. Akpa, A. Ouédraogo, L. A. G. Pohan, P. M. Niamien, et al. Aluminum Corrosion Inhibition by 7-(Ethylthiobenzimidazolyl) Theophylline in 1M Hydrochloric Acid: Experimental and DFT Studies. *Int. J. Appl. Pharm. Sci. Res.* **2018**, 3, 41-53.
- [7] A. A. KOFFI. Inhibition de la corrosion de l'acier et de l'aluminium en milieu acide fort : études théorique et thermodynamique comparatives du comportement du 2-thiobenzylbenzimidazole, de vitamines et d'extraits de plante. *Thèse de doctorat en Chimie Physique, Université Félix HOUPOUET-BOIGNY, Côte d'Ivoire.* **2017**, 252 p.
- [8] A. A. Koffi, S. Muralidharan, and A. Trokourey. Musssaenda erythrophylla Leaves as Effective Green Corrosion Inhibitor of Carbon Steel. *Chem. Sci. Rev. Lett.* **2015**, 4, 1188-1198.
- [9] D. B. Left, M. Zertoubi, A. Irhzo, and M. Azzi. Review: oils and extracts plants as corrosion inhibitors for different metals and alloys in hydrochloric acid medium. *J. Mater. Environ. Sci.* **2013**, 4, 855-866.
- [10] N. Y. S. DIKI, K. V. BOHOUSOU, M. G.-R. KONE, A. OUEDRAOGO, and A. TROKOUREY. Cefadroxil Drug as Corrosion Inhibitor for Aluminum in 1 M HCl Medium: Experimental and Theoretical Studies. *IOSR J. Appl. Chem.* **2018**, 11, 24-36.
- [11] M. S. A. Aal, S. Radwan, and A. E. Saied. Phenothiazines as Corrosion Inhibitors for Zinc in NH₄Cl Solution. *Br. Corros. J.* **1983**, 18, 102-106.
- [12] M. N. El-Haddad and K. M. Elattar. Role of novel oxazocine derivative as corrosion inhibitor for 304 stainless steel in acidic chloride pickling solutions. *Res. Chem. Intermed.* **2012**, 39, 3135-3149.
- [13] K. R. Ansari and M. A. Quraishi. Effect of three component (aniline-formaldehyde and piperazine) polymer on mild steel corrosion in hydrochloric acid medium. *J. Assoc. Arab Univ. Basic Appl. Sci.* **2015**, 18, 12-18.

Caractérisation et comparaison des propriétés physico-mécaniques des matrices de matériaux de construction modifiées par les déchets plastiques de PET

Dodo KAYENTAO¹, Moussa TAMBOURA¹, Antoine Padou DIARRA¹, Mah Fatoumata TRAORE¹, Adama COULIBALY², Aboubacar Sidiki TOURE¹, Mohamed L.O DIAWARA¹, Kélétiogui DAOU³

¹Faculté des Sciences et Techniques- Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (Mali).

²Centre National de Recherche et d'Expérimentation en Bâtiments et Travaux Publics (CNREX-BTP) (Mali).

³Ecole nationale d'ingénieurs Abderhamane Baba TOURE (ENI-ABT) (Mali)

dodo.kayentao@gmail.com

Résumé

Les déchets plastiques constituent un enjeu majeur pour l'environnement, incitant à explorer des solutions écologiques et économiques, notamment leur intégration dans les matériaux de construction. Cette étude se concentre sur la caractérisation et la comparaison des propriétés physico-mécaniques de différentes matrices : béton, briques de latérite stabilisée au ciment (BLSC) et briques en mortier sableux latéritique (BMSL) modifiées par l'ajout de polyéthylène téréphtalate (PET). Divers mélanges ont été élaborés par substitution de 3 à 15 % en volume. Les bétons ont été formulés suivant la méthode de Dreux Gorisse et les briques ont été fabriquées selon le procédé standard autobloquant de l'hydraforme de marque M7MI. La résistance à la compression, la densité et la porosité ont été rigoureusement évaluées. Les BLSC et les BMSL contenant entre 3 et 5 % de PET ont démontré une résistance sèche supérieure à la norme minimale de 4 MPa au 28^{ème} jour. Les valeurs de résistance à la compression du béton se situent entre 17 et 30 MPa. Cette recherche permettra d'approfondir la compréhension de l'impact de l'intégration des déchets plastiques sur les propriétés des matériaux de constructions, tout en permettant de déterminer quelle matrice s'avère la plus adaptée aux ajouts des déchets plastiques.

Mots clés : Déchet plastique de PET, Béton modifié, Brique modifié en latérite stabilisée.

Abstract

Plastic waste presents a significant environmental challenge, necessitating the exploration of both ecologically sound and economically viable solutions, notably through their incorporation into construction materials. This study is dedicated to the thorough characterization and comparative analysis of the physico-mechanical properties of various matrices: concrete, cement-stabilized laterite bricks (CSLB), and sandy lateritic mortar bricks (SLMB), enhanced by the inclusion of PET (polyethylene terephthalate). Several blends were meticulously devised, ranging from 3 to 15% PET substitution by volume. The concretes were meticulously formulated following the Dreux Gorisse method, while the bricks were meticulously fabricated utilizing the standardized interlocking process of the M7MI Hydraform brand. Rigorous assessments were conducted, encompassing compression strength, density, and porosity. CSLB and SLMB formulations, incorporating 3 to 5% PET, demonstrated superior dry strength, surpassing the prescribed minimum standard of 4 MPa by the 28th day. Meanwhile, compression strength values for concrete fell within the range of 17 to 30 MPa. This inquiry promises to deepen comprehension regarding the ramifications of plastic waste integration upon construction materials attributes, concurrently facilitating the identification of the most suitable matrix for the incorporation of plastic waste adjuncts.

Keywords: PET plastic waste, Modified concrete, Modified cement-stabilized laterite brick.

1. Introduction

L'industrie de la construction peut être perçue comme l'un des principaux avantages dans la consommation de différents types de déchets plastiques pour réduire les conséquences environnementales de l'accumulation de ces déchets dans les décharges[1].

Divers chercheurs ont mené des études approfondies sur l'utilisation de déchets plastiques comme remplaçant des granulats naturels dans les matériaux de constructions mettant en évidence leur impact sur les propriétés des échantillons obtenus [2, 3, 4]. D'autres études ont prouvé que dans le béton, les granulats représentent 65 à 80 % du volume du matériau et jouent un rôle important dans les propriétés telles que la maniabilité, la résistance, la stabilité dimensionnelle et la durabilité [5].

D'autres recherches ont souligné que la teneur en ciment, en tant que stabilisant dans les blocs de terre stabilisée comprimée, était d'environ 5 à 10% ou de 6 à 12% en masse soit 90 à 95% ou 88 à 94% du matériau utilisé[6].

Ceci étant, L'épuisement des matériaux traditionnels, qui sont des ressources non renouvelables, est inévitable dans un avenir proche en raison de leur extraction continue pour répondre aux demandes du marché de la construction. Par conséquent, il est impératif d'adopter des matériaux renouvelables et durables afin de satisfaire les besoins croissants de l'industrie de la construction. Parmi ces matériaux durables, les déchets plastiques se distinguent comme une alternative viable aux granulats naturels dans la production de béton et d'autres matériaux de constructions respectueux de l'environnement[2]. Un grand nombre de ces déchets plastiques de tous types sont générés chaque année, le polyéthylène téréphtalate (PET) et le polyéthylène (PE) étant les types de déchets

les plus répandus dans le monde. L'utilisation et l'application des déchets plastiques peuvent être étendues dans le secteur de la construction en raison de leur statut de plus grand consommateur de matières premières et de leur rôle prometteur dans diverses économies. Des études antérieures ont utilisé les déchets plastiques comme matériau de construction sous forme d'isolant [7], de filler[8], de mélanges asphaltiques[9, 10] et de granulats[3, 11]. Cependant, de nombreuses études ont été menées sur les déchets plastiques utilisés comme charges et fibres. Les travaux de Kangavar *et al.*, sur l'utilisation potentielle des déchets de polyéthylène téréphtalate (PET) comme granulats fins à des niveaux de remplacement de 0 %, 10 %, 30 % et 50 % sur les propriétés du béton. Ils ont constaté que le niveau de remplacement optimal était de 10 %, ce qui permet d'obtenir la meilleure amélioration de la résistance et de la ductilité du béton, tandis que la densité diminue progressivement à mesure que la quantité de PET augmente [12].

D'autres types de matériaux ont été modifiés par les déchets plastiques. Dans cette optique, Limami *et al.* ont travaillé sur l'étude de l'adéquation des briques d'argile crue avec le HDPE et le PET, déchets d'additifs comme matériau de construction. Leurs résultats ont montré que le coefficient d'absorption et les propriétés de résistance à la compression sont également améliorés de près de 17% et 28%, respectivement, lors de l'utilisation des plus petits additifs à grains polymères de taille $\delta < 1$ mm par rapport aux plus grands de taille ($3 \text{ mm} < \delta < 6 \text{ mm}$) [13]. Akinyele *et al.*, ont étudié l'utilisation des déchets PET dans les briques de terre stabilisée au ciment. Ces résultats ont prouvé que les échantillons de briques peuvent être mélangés avec 5 % de granulés de PET[14].

L'objectif de cette étude vise à caractériser et comparer les propriétés physico-mécaniques de différentes matrices : béton, briques de latérite stabilisée au ciment (BLSC) et briques en mortier sableux latéritique (BMSL) modifiées PET et voir quelle matrice s'avère la plus adaptée aux ajouts des déchets plastiques.

2. Matériel et méthodes

Un ciment portland de type CEM II B-M 32.5 R a été utilisé dans cette étude. Les propriétés chimiques et physiques sont présentées dans le **Tableau I**. Un gravillon concassé de dimension 5/15 de Mountougoula a été utilisé en qualité d'agrégats grossiers. Le sable de fleuve Niger de Kalaban-Coro a été utilisé comme agrégats fins naturels.

Les déchets plastiques de PET utilisés en qualité substituant partiel du granulat grossier ont été collectés dans la décharge de Badalabougou, ensuite triés et lavés puis découpés en copeaux (**Figure 1**).



Figure 1: Type de PET utilisé

La latérite de Fombabougou de coordonnées GPS : 29P, X=0620017, Y=1404072 a été utilisée dans les différents travaux. La granularité de la latérite de Fombabougou est inscrite dans le fuseau du diagramme de texture des sols selon la norme NF XP P13-901 et correspond à la classe A2 (matériau acceptable mais ayant trop de fines). Les compositions chimiques et minéralogiques sont présentées dans le **Tableau I**.

Tableau I : Compositions chimiques et minéralogiques de la latérite et du ciment.

Constituants	Teneur	
	Latérite (%)	Ciment (%)
Fe ₂ O ₃	42,79	4,88
Al ₂ O ₃	8,32	5,76
SiO ₂	13,27	26
CaO	2,32	44
MgO	2,2	1,63
SO ₃	0,47	2,3
K ₂ O	0,26	3,27
Cl	0,0162	0,03
S	0,19	-
Cu	0,0041	-

Zn 0,0037 -

Les proportions des mélanges de bétons et des briques de latérite stabilisée au ciment et des briques en mortier sableux latéritique sont de 3 à 15% de PET sont consignés dans les Tableaux II, III, IV.

Les échantillons de béton ont été formulés selon la méthode de formulation de Dreux Gorisse et coulés dans les moules 16x32 cm et leur teneur en air a été réduite à l'aide de la table vibrante. Les briques ont été produites par le bloc standard autobloquant de l'hydraforme de 24 cm de longueur, de 22 cm de largeur et 11cm d'épaisseur.

Tableau II : Proportions des constituants des bétons modifiés au granulat PET.

Echantillon	Ciment (kg/m ³)	L'eau (kg/m ³)	Sable (kg/m ³)	Agrégat grossier (kg/m ³)	PET (kg/m ³)
Reference	350	174	732,6	1041,3	-
3%PET	350	174	732,6	1010,06	4 ,68
7%PET	350	174	732,6	968,409	10 ,92
10% PET	350	174	732,6	937,17	15,6
15%PET	350	174	732,6	885,105	23,4

Tableau III: Proportion des mélanges des Briques de latérite stabilisée avec de PET

% de remplacement	Sable (g)	PET (g)	Latérite (g)	Ciment (g)	Eau (ml)	Nombre brique	de
0% PET	-	-	26279	2920	6015	3	
3%PET	-	300	25492	2920	6015	3	
5%PET	-	504	24965	2920	6015	3	
7%PET	-	700	24465	2920	6015	3	
10%PET	-	1007	23652	2920	6015	3	
15%PET	-	1500	22337	2920	6015	3	

Tableau IV : Proportion des mélanges des Brique en mortier sableux latéritique avec PET variable

% de remplacement	Sable (g)	PET (g)	Latérite (g)	Ciment (g)	Eau (ml)	Nombre brique	de
0%PET	19845	-	8505	4800	4233	3	
3%PET	19250	195	8505	4800	4233	3	
5%PET	18853	325	8505	4800	4233	3	
7%PET	18456	455	8505	4800	4233	3	
10%PET	17860	650	8505	4800	4233	3	
15%PET	16868	975	8505	4800	4233	3	

Les échantillons obtenus ont été caractérisés selon les méthodes d'essai standard de l'AFNOR illustrés dans le **Tableau V**.

Tableau V : Méthodes expérimentales utilisés pour la caractérisation des échantillons

Propriétés cherchés	Méthode
Densité sèche	NF EN 12350-6
Résistance à la compression	NF EN 12390-3
Coefficient de sensibilité à l'eau	<u>XP P13-901</u>

3. Résultats et discussions

3.1. Propriétés mécaniques

Les variations des résistances à la compression des échantillons étudiés en fonction du pourcentage de remplacement en PET à 28 sont illustrées par les **Figures 2, 3, 4**.

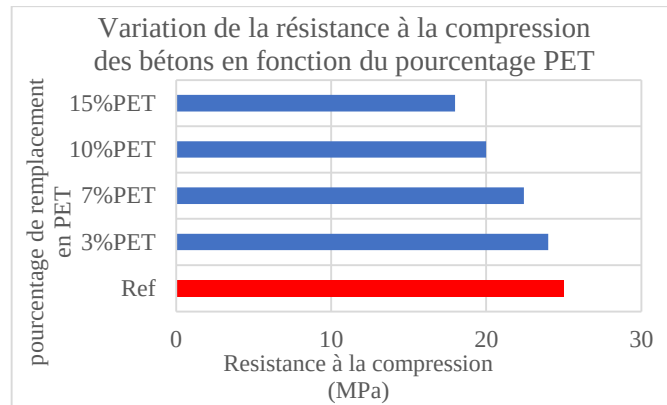


Figure 2 : Variation de la résistance à la compression des bétons en fonction du pourcentage de remplacement de PET

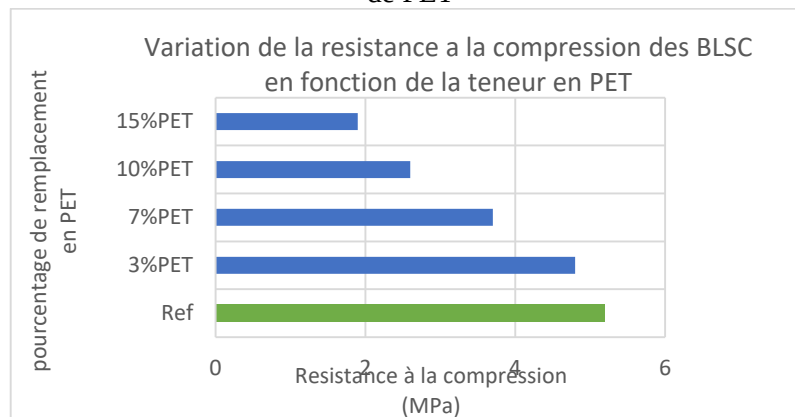


Figure 3 : Variation de la résistance à la compression des BLSC en fonction de la teneur en PET

Les résultats obtenus montrent que, quel que soit la teneur de PET, la résistance à la compression diminue, ce qui est en accord avec les études précédentes [1,2,5,15,16].

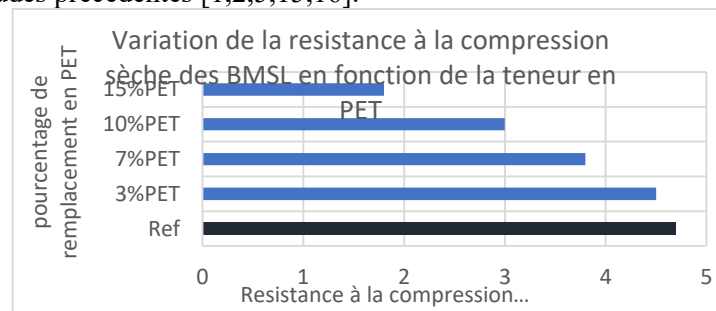


Figure 4 : Variation de la résistance à la compression des BLSC en fonction de la teneur en PET

Cette diminution de la résistance à la compression est due à la très faible adhésion des déchets plastiques à la pâte de ciment (figure 5), ce qui a provoqué des apparitions de cavités sur la surface des échantillons et une augmentation de la porosité. Comparativement au béton de référence, les échantillons de bétons avec les copeaux de PET présentent respectivement une diminution de la résistance à la compression de 4 à 25%. Malgré cette diminution, les résultats présentent une résistance à la compression admissible, selon la norme ASTM C39, qui stipule que pour un béton ordinaire, la valeur minimale de la résistance à la compression se situe aux environs de 17 à 20 MPa. Un comportement similaire a été observé par certains auteurs [8,9] lorsqu'ils ont incorporé des déchets de PET au béton.



Figure 5: Echantillon de béton confectionné avec 10 % de PET

Les échantillons de BLSC (**figure 6**) présentent une diminution de 8 à 63% de la résistance à la compression sèche et celles de BMSL une diminution 6 à 66 % par rapport à la référence.

La résistance à la compression sèche des BLSC à 10% de ciment et les BMSL à 30% de latérite de 3 à 5% de PET présentent une meilleure résistance sèche qui est supérieure à la résistance sèche minimale de 4MPa au 28^{ème} jour définit par la norme AFNOR XP P 13-901.



Figure 6 : Echantillon de brique stabilisée à 10% de ciment modifiée au PET

3.2. Propriétés physiques

La variation des masses volumiques des BLSC à 10% de ciment, des BMSL à 30% de latérite en volume du sable et des bétons modifiés aux déchets PET indiquée dans le tableau 6 présente une diminution de la masse volumique en fonction du pourcentage de remplacement du polymère PET. Elle est due à la masse volumique légère des polymères PET utilisés par rapport aux différents matériaux utilisés.

Tableau VI : Variation des masses volumiques des échantillons étudiés

Pourcentage de remplacement	Masse volumique (g/cm ³)
briques de latérite stabilisée	
3% PET	1,67
7% PET	1,50
10% PET	1,38
15% PET	1,20
Brique en mortier sableux latéritique	
3% PET	1,82
7% PET	1,71
10% PET	1,59
15% PET	1,32
Béton modifié	
3% PET	2,490
7% PET	2,482
10% PET	2,479
15% PET	2,463

La variation du coefficient de sensibilité à l'eau des briques de latérite stabilisée à 10% de ciment et des briques en mortier sableux latéritiques à 30% de latérite en fonction de la teneur en PET à 28 jours d'âge sont indiquées dans le **Tableau VII**.

Tableau VII : Variation du coefficient de sensibilité à l'eau en fonction du pourcentage de remplacement

% de remplacement de PET	Résistance à la compression sèche (MPa)	Résistance à la compression humide (MPa)	Coefficient de sensibilité à l'eau(%)
briques de latérite stabilisée avec PET variables			
3%	4,8	2,8	58,33
7%	3,4	1,8	52,94
Briques en mortier sableux latéritique avec PET variable			
3%	5	2,7	60
7%	3,8	2,0	52,63

La valeur du coefficient de sensibilité à l'eau varie entre 52 à 60% pour 3 à 7% de PET. Une baisse de la résistance à la compression sèche a été observée suite à l'immersion des briques par rapport aux résistances sèches à 28 jours. Cette baisse s'explique à cause de l'augmentation de la porosité, ce qui a engendré la facilité d'infiltration des molécules d'eau dans les matériaux. Suite à cette immersion, les BLSC à 10% de ciment avec 3 à 7% de PET et les BMSL à 30% de latérite tombent dans la limite d'absorption d'eau recommandée c'est-à-dire dans la limite minimale de 9% et maximale de 20% indiqué par la norme AFNOR .XP P 13-901. Cette augmentation de l'absorption d'eau suit la même tendance que ceux obtenus par Ong Huei Ruey et *al*, [17].

4. Conclusion

Les résultats obtenus permettent de conclure que l'incorporation de 3 à 7% de déchets plastiques dans les matériaux étudiés présente des bonnes propriétés physico-mécaniques. Ceci étant, ces résultats montrent que le béton est le matériau le mieux adapté pour l'utilisation des déchets plastiques générés, suivie des briques de terre stabilisée à 10% de ciment. Les briques en mortier sableux latéritique à 30% de latérite modifiées présentent des coefficients de sensibilité à l'eau relativement élevés, ce qui les défavorise.

5. Références Bibliographiques

- [1] H. M. Hamada *et al.*, « Enhancing sustainability in concrete construction: A comprehensive review of plastic waste as an aggregate material », *Sustainable Materials and Technologies*, vol. 40, p. e00877, juill. 2024, doi: 10.1016/j.susmat.2024.e00877.
- [2] M. M. Al-Tayeb, Y. I. A. Aisheh, S. M. A. Qaidi, et B. A. Tayeh, « Experimental and simulation study on the impact resistance of concrete to replace high amounts of fine aggregate with plastic waste », *Case Studies in Construction Materials*, vol. 17, p. e01324, déc. 2022, doi: 10.1016/j.cscm.2022.e01324.
- [3] J. H. Bridson, E. C. Gaugler, D. A. Smith, G. L. Northcott, et S. Gaw, « Leaching and extraction of additives from plastic pollution to inform environmental risk: A multidisciplinary review of analytical approaches », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 414, p. 125571, juill. 2021, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125571.
- [4] N. H. Zulkernain, P. Gani, N. Chuck Chuan, et T. Uvarajan, « Utilisation of plastic waste as aggregate in construction materials: A review », *Construction and Building Materials*, vol. 296, p. 123669, août 2021, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2021.123669.
- [5] N. Saikia et J. de Brito, « Mechanical properties and abrasion behaviour of concrete containing shredded PET bottle waste as a partial substitution of natural aggregate », *Construction and Building Materials*, vol. 52, p. 236-244, févr. 2014, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2013.11.049.
- [6] A. Abderrachid, I. Messaoudene, M. Bencheikh, Z. Basma, et S. Messaadi, « Evaluation de l'influence du pourcentage de sable et du ciment sur la résistance à la compression du BTC », nov. 2019.
- [7] Md. J. Islam, Md. Shahjalal, et N. M. A. Haque, « Mechanical and durability properties of concrete with recycled polypropylene waste plastic as a partial replacement of coarse aggregate », *Journal of Building Engineering*, vol. 54, p. 104597, août 2022, doi: 10.1016/j.job.2022.104597.
- [8] D. J. Pati et S. P. Dash, « Strategy for promoting utilization of non-biodegradable wastes in affordable housing in India », *Materials Today: Proceedings*, vol. 60, p. 26-32, janv. 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2021.11.026.
- [9] A. I. Almohana, M. Y. Abdulwahid, I. Galobardes, J. Mushtaq, et S. F. Almojil, « Producing sustainable concrete with plastic waste: A review », *Environmental Challenges*, vol. 9, p. 100626, déc. 2022, doi: 10.1016/j.envc.2022.100626.
- [10] A. Shiuly, T. Hazra, D. Sau, et D. Maji, « Performance and optimisation study of waste plastic aggregate based sustainable concrete – A machine learning approach », *Cleaner Waste Systems*, vol. 2, p. 100014, juill. 2022, doi: 10.1016/j.clwas.2022.100014.

- [11] K. Tempa *et al.*, « An experimental study and sustainability assessment of plastic waste as a binding material for producing economical cement-less paver blocks », *Engineering Science and Technology, an International Journal*, vol. 26, p. 101008, févr. 2022, doi: 10.1016/j.jestch.2021.05.012.
- [12] M. E. Kangavar, W. Lokuge, A. Manalo, W. Karunasena, et M. Frigione, « Investigation on the properties of concrete with recycled polyethylene terephthalate (PET) granules as fine aggregate replacement », *Case Studies in Construction Materials*, vol. 16, p. e00934, juin 2022, doi: 10.1016/j.cscm.2022.e00934.
- [13] H. Limami, I. Manssouri, K. Cherkaoui, et A. Khaldoun, « Study of the suitability of unfired clay bricks with polymeric HDPE & PET wastes additives as a construction material », *Journal of Building Engineering*, vol. 27, p. 100956, janv. 2020, doi: 10.1016/j.jobbe.2019.100956.
- [14] J. O. Akinyele, U. T. Igba, et B. G. Adigun, « Effect of waste PET on the structural properties of burnt bricks », *Scientific African*, vol. 7, p. e00301, mars 2020, doi: 10.1016/j.sciaf.2020.e00301.
- [15] Dr. N. Saikia et J. Brito, « Use of industrial waste and municipality solid waste as aggregate, filler or fiber in cement mortar and concrete », in *Municipal Solid Waste*, 2012, p. 65-116.
- [16] C. Egenti, J. M. Khatib, et D. Oloke, « Conceptualisation and pilot study of shelled compressed earth block for sustainable housing in Nigeria », *International Journal of Sustainable Built Environment*, vol. 3, n° 1, p. 72-86, juin 2014, doi: 10.1016/j.ijbsbe.2014.05.002.
- [17] Ong Huei Ruey *et al.*, « Investigation on the Mechanical and Water Absorption Properties of Eco-Friendly Bricks Produced from Waste Polypropylene (PP) Bumper », *Chemical Engineering Transactions*, vol. 106, p. 1339-1344, déc. 2023, doi: 10.3303/CET23106224.

Synthèse, caractérisation structurale et activités biologiques de bases de Schiff dérivées de 1,6-diaminohexane, de l'*ortho*-diaminocyclohexane et du *mé*ta-diaminobenzène

Kangah Niameke Jean-B¹, Tuo Nanou Tieba¹, Kodjo Charles Guillaume^{*1,2} et Ziao Nahosse¹

¹ Laboratoire de Thermodynamique et Physicochimie du milieu, Université Nangui Abrogoua, UFR-SFA, 02 B.P. 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

²* Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, Université Nangui Abrogoua, UFR-SFA, 02 B.P. 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

*kangahjb@gmail.com

Résumé

Contexte : Les bases de Schiff [1] caractérisées par la fonction azométhine, constituent une classe importante de composés organiques. La présence du groupe imine dans ces composés est essentielle à leurs activités biologiques [2]. Par conséquent, les bases de Schiff se présentent comme une alternative prometteuse pour le développement et la mise à disposition de nouvelles molécules biologiquement très actives [3].

Objectif : Synthèse et activités biologiques de trois bases de Schiff.

Méthode : Ces composés ont été obtenus par réactions de condensation du 1,6-diaminohexane (**composé 1**), de l'*ortho*-diaminocyclohexane (**composé 2**) et du *mé*ta-diaminobenzène (**composé 3**) avec des benzaldéhydes substitués par un groupe *nitro*. Le screening antileishmanicide a été effectué *in vitro* sur une souche, l'activité anticandidosique *in vitro* a été déterminée sur une espèce.

Résultats : trois bases de Schiff ont été synthétisées. L'étude biologique de ces bases de Schiff a montré que ces molécules possèdent des activités antifongiques, mais surtout d'importantes activités antileishmanicide suivant l'ordre ci-après: **composé 1 > composé 2 > composé 3**.

Conclusion et perspectives : les meilleures activités biologiques observées pour le **composé 1**, pourraient être tributaires de la combinaison de l'*ortho*-substitution et de la structure linéaire de la chaîne centrale du composé. Nos futures synthèses tiendront compte de cet important résultat.

Mots Clés : Base de Schiff; Spectrométries, Activité antileishmanicide, activité antifongique.

Synthesis, structural characterization and biological activities of Schiff bases derived from 1,6-diaminohexane, ortho-diaminocyclohexane and meta-diaminobenzene

Abstract

Context: Schiff bases [1], characterized by the azomethine function, constitute an important class of organic compounds. The presence of imine group in these compounds is essential for their biological activities [2]. Consequently, Schiff bases present themselves as a promising alternative for the development and provision of new biologically very active molecules [3].

Goals: Synthesis and biological activities of three Schiff bases

Method: These compounds were obtained by condensation reactions of 1,6-diaminohexane (compound 1), ortho-diaminocyclohexane (compound 2) and meta-diaminobenzene (compound 3) with nitro-substituted benzaldehydes. The antileishmanicidal screening was carried out *in vitro* on a strain, the anticandidosic activity was determined on a species.

Results: three Schiff bases were synthesized. The biological study of these Schiff bases has shown that these molecules have antifungal activities, but above all significant antileishmanicidal activities in the following order: compound 1 > compound 2 > compound 3.

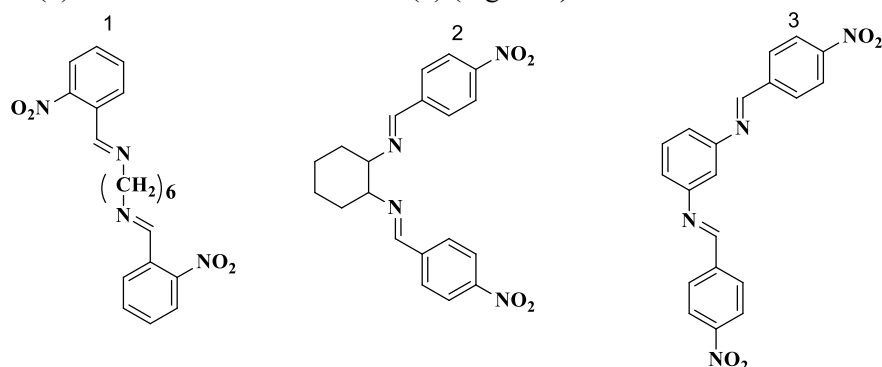
Conclusion and prospect: the best biological activities observed for compound 1 could be dependent on the combination of ortho-substitution and the linear structure of the central chain of the compound. We will soon design and synthesize new series taking into account this important result.

Key Words: Schiff base; spectrometry, Antileishmanicidal activity, antifungal activity.

1. Introduction

Les produits de condensation d'amines primaires avec des composés carbonyles constituent les bases de Schiff [1-2]. le groupe azométhine de formule générale $R_1HC = N-R_2$, où R_1 et R_2 sont des groupes alkyle, aryle, cycloalkyle ou hétérocycliques, est la caractéristique structurelle commune de ces composés. Une grande variété de ces bases peut être préparée à cause des procédures considérablement flexibles. Des groupes d'imine ou d'azométhine sont présents dans divers composés naturels et dérivés non naturels. Le groupe imine présent dans de tels composés s'est avéré essentiel à leurs activités biologiques [3-5]. Ainsi donc, les bases de Schiff, qui sont très faciles à synthétiser, constituent une source inépuisable de pharmacophores prometteurs pour la conception et le développement de nouvelles molécules biologiquement importantes. Les bases de Schiff présentent une large gamme d'activités biologiques telles que: antibactériennes, antifongiques, antipaludiques, antiprolifératives, anti-inflammatoires, antiviraux, et antioxydantes [6-10]. Comme plusieurs auteurs [11-15], nos recherches systématiques sur les bases de Schiff nous a permis de synthétiser de nombreuses diimines. Dans ce travail, nous

nous intéresserons à trois types de Bases de Schiff dérivées de 1,6-diaminohexane (1), l'*ortho*-diaminocyclohexane (2) et du *mé*ta-diaminobenzène (3) (Figure 1).



Compound 1: **N, N'-bis (2-nitrophenylmethylene) hexane-1,6-diamine**

Compound 2: **N, N'-bis (p-nitrophenylmethylene) cyclohexane-1,2-diamine**

Compound 3: **N, N'-bis (4-nitrophenylmethylene) benzene-1,3-diamine**

Figure 1 : Les structures moléculaires condensées des bases de Schiff synthétisées

Dans ce travail, l'activité anticandidosique *in vitro* a été déterminée sur une espèce de candida à savoir *Aspergillus fumigatus*. L'activité antileishmanicide de ces molécules a également été testée sur *Leishmania donovani*

2. Matériel et méthodes

Le cyclohexane-1-2-diamine, le 2-nitrobenzaldéhyde, le 4-nitrobenzaldéhyde proviennent de Sigma-Aldrich et ont été utilisés sans autre purification. Tous les solvants organiques proviennent de Merck et séchés sur tamis moléculaires avant leurs utilisations. Les points de fusion ont été déterminés en tube capillaire à l'aide d'un appareil MPD Mitamura Riken Kogyo (Japon) à point de fusion électrothermique et ne sont pas corrigés. Les spectres IR ont été obtenus sur un spectrophotomètre Brucker-Vector FTIR dans la gamme 4000-400 cm^{-1} , avec des échantillons étudiés sous forme de film mince à partir de la solution de CDCl_3 . Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker-Avance-300, fonctionnant à 300 MHz. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un Spectromètre TOF LCT Premier (WATERS) couplé à une chaîne HPLC Alliance 2695.

* Synthèse et caractérisation de la N, N'-bis (2-nitrophenylmethylene) hexane-1,6-diamine: compound 1

2-nitrobenzaldéhyde (0,4 mmol) et l'hexane-1,6-diamine (0,2 mmol) ont été dissous dans de l'éther (30 ml). A température ambiante, le mélange a été agité pendant six jours pour donner un précipité marron clair. Le précipité obtenu est filtré et recristallisé dans du méthanol (Rf: 0,82 dans l'hexane / acétone / acétate diéthylique (20; 50; 30), rendement: 98,19%, point de fusion 65,6 ° C).

* Synthèse et caractérisation de la N,N'-bis(4-phénylméthylène) cyclohexane-1,2-diamine

Le 4-nitrobenzaldéhyde (0,8 mmol) et le cyclohexane-1,2-diamine (0,4 mmol) ont été dissous dans du diéthylique (30 ml). A température ambiante, le mélange a été agité pendant trois jours pour donner un précipité jaune pâle. Le précipité obtenu a été filtré, lavé et recristallisé dans de l'éthanol (Rf: 0,75 dans l'hexane / acétone (50:50), rendement: 83%, pf 111°C).

* Synthèse et caractérisation de la N,N'-bis: N, N'-bis (4-nitrophenylmethylene) benzene-1,3-diamine

4-nitrobenzaldéhyde (0,8 mmol) et du benzène-1,3-diamine (0,4 mmol) ont été dissous dans de l'éther (30 ml). A température ambiante, le mélange a été agité pendant trois jours pour donner un précipité rouge bordeaux. Le précipité obtenu a été filtré et recristallisé dans de l'éthanol (Rf: 0,74 dans du benzène / acétone (50; 50), rendement: 80,25%, point de fusion 185,6 ° C).

Activité biologique

* Dosages antileishmanicides et antifongiques

-Ce test (antileishmanicide) a été réalisé en utilisant la souche LV9 (MHOM/ET/1967/L82) de *leishmania donovani* (Pr S. L. Croft, London School of Tropical Medicine and Hygiene, Londres, Angleterre). Les leishmanies au stade promastigote sont maintenues en culture dans des flacons de 25 Ml contenant 5 Ml de milieu complet. Le milieu nutritif est composé de : RPMI (10*) : 10 mL ; sérum de veau fœtal décomplémenté : 10 mL ; tampon Hépès : 2,5 mL ; glutamine 2 mM : 1 mL ; gentamicine 40 mg /mL : 0,125mL ; eau stérile désionnée ; qsp 100 mL ; pH : ajusté à 7,4 (NaOH 1M).

Les échantillons à évaluer sont d'abord mis en solution dans le DMSO, puis dans du RPMI afin d'abaisser la concentration finale en solvant à moins de 2% (v/v) lors des tests, un tel pourcentage n'affectant pas la viabilité des parasites. Les tests sont réalisés dans des plaques de 96 puits à fond plat. Les parasites sont pris en phase de

croissance exponentielle (environ 72 heures après la mise en culture). Pour les cultures cellulaires sur 72 ou 96 h, comme celle des promastigotes, la CE₅₀ est toujours souhaitable. Dans chaque puits, 195 µl de milieu de culture contenant 2. 10⁵ leishmanies au stade promastigote sont déposées. Les plaques sont ensuite placées à l'étuve à 27°C pendant 1 heure. Après cette incubation, les substances sont ajoutées à raison de 5µl par puits pendant 4 heures. Trois puits sont employés pour chaque concentration, et les tests sont réalisés trois fois.

L'évaluation de l'activité antileishmanicide, exprimée sous forme de CE₅₀, est réalisée par deux méthodes :

-Lecture directe au microscope optique et par comparaison avec les témoins négatifs. Ce test qualitatif permet d'évaluer la vitalité des leishmanies dans chaque puits en se basant sur trois critères : le nombre de parasites présents dans chaque puits par rapport aux témoins, la mobilité des parasites et la forme des cellules.

-Dosages colorimétrique quantitatif par le MTT (Méthode de numérotation des cellules vivantes). Il permet de déterminer *in vitro* la viabilité cellulaire et la CE₅₀ (concentration inhibant 50% de la culture de promastigotes). Le principe de ce dosage repose sur la réduction d'un sel de tétrazolum en cristaux de formazan. Le MTT est un colorant jaune soluble en milieu aqueux qui, au contact des cellules vivantes, est réduit par les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale (déshydrogénases), en cristaux de MTT-formazan pourpres insolubles dans l'eau.

- Les souches de référence pour ce test ont été *Aspergillus fumigatus* IP 2279.94 de l'Institut Pasteur de Paris (France). La concentration efficace qui inhibe 90% de la culture des *Aspergillus* a été mesurée par la méthode de dilution en bouillon. Les conidies ont été récoltées à partir d'une culture d'*A. fumigatus* âgées de 7 jours sur gélose de malt à 35°C. Les conidies ont été purifiées par centrifugation à 1500 tours par minute et puis par un lavage avec du tampon PBS contenant 0.01% de Tween 20. La concentration finale dans chaque tube a été ajustée à 10³ – 5*10³ UFC/ ml pour la souche. Les tests ont été effectués dans MOPS tamponné milieu RPMI 1640 avec de la L-glutamine, mais sans NaHCO₃, contenant de l'EtOH à une concentration finale de 0.2% (v /v). Après agitation, les tubes ont été incubés à 35°C pour 48 h et ensuite évalués pour la présence ou l'absence de croissance des champignons. L'Amphotérine B est utilisée comme témoin positif.

3. Résultats et discussion

3.1 Spectre de masse (MS) et IR

Les spectres de masse et infrarouge des composés synthétisés sont donnés dans le tableau I

Tableau I: Données des spectres de masse et infrarouges

Composé	Masse molaire	Spectre masse [M+H] ⁺	Spectre infrarouge (Cm ⁻¹) (ν _{C=N})
1	382	383,1726	1633
2	380	381,1595	1642
3	374	375.1095	1660

*Etude du spectre de masse

Les spectres de masse (HR-ESI-MS) des composés montrent des pics correspondant aux ions moléculaires à m/z 383,1726 [M + H]⁺; 381,1595 [M + H]⁺; 374,1095 [M + H]⁺, correspondant à C₂₀H₂₂N₄O₄, C₂₀H₂₀N₄O₄ et C₂₀H₁₄N₄O₄, respectivement pour les composés 1, 2 et 3.

*Etude du spectre infrarouge

Les spectres IR montrent des bandes caractéristiques à 1633 cm⁻¹ pour le composé 1, 1642 cm⁻¹ pour le composé 2, 1660 cm⁻¹ pour le composé 3. Ces bandes correspondent à la vibration d'allongement des deux azométhines Vibrateurs C = N présents dans chaque structure de molécule.

3.2 Spectroscopie RMN ¹H

Les données spectrales de RMN ¹H réalisées dans la solution de CDCl₃ des composés synthétisés sont données dans le tableau II.

Tableau II: Données ^{a-c} de RMN ¹H de composés de formule générale R₁N = CHR₂

Composés	Formule moléculaire	N=CH	C ₆ H ₄₍₅₎	-CH ₂ -	-CH-

		(s)	(m)	(m)	(m)
1	C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₄	8,56 ;(2H)	7,75-8,10;(8H)	1,38-3,61;(12H)	-
2	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₄	8,46 ;(2H)	8,15-7,85;(8H)	2,05-1,50;(8H)	3,69-3,52;(2H)
3	C ₂₀ H ₁₄ N ₄ O ₄	8,90 ;(2H)	7,30-8,38;(11H)	-	-

a Multiplicité est donnée comme s = singulet, m = multi-signaux

b Déplacements chimiques en ppm; c Intégration: nombre de protons entre parenthèses

La résonance des protons a été déterminée sur la base de leurs modèles d'intégration et de multiplicité [16]. Les spectres de RMN ¹H présentent des signaux à 8,56; 8,46; 8,90 ppm pour les composés **1**, **2**, et **3** respectivement, attribués aux protons de la fonction azomethine CH = N. Les signaux multiples dans la plage de 7,75-8,38 ppm sont attribués aux protons aromatiques. Les protons du cyclohexane présentent des signaux multiples dans la plage de 1,50 à 3,69 ppm.

3.4 Activités Antifongiques

Tous les composés présentent une activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* comme le montre le tableau III, ainsi que l'amphotéricine B. Le composé **1** présente la meilleure activité antifongique avec une EC₉₀ de 125 mg/L. Les composés **2** et **3** sont les moins actifs avec une EC₉₀>250mg/L.

TABLE III: Mesure de la valeur de la concentration minimale d'inhibition (CMI) pour l'activité antifongique

	Valeur des CMI (mg/L)
Souche testée	<i>Aspergillus fumigatus</i>
	CMI CE₉₀(mg /L)
Composés	
1	125
2	>250
3	>250
Témoin	
<i>Ampho B</i>	0.500

Ampho B: Amphotherine B

3.5 Activités antileishmanicides

Les activités leishmanicides, in vitro, des différents composés ont été évaluées à l'aide des souches LV9 de *L. donovani*. Les valeurs d'activité, en EC₅₀ (concentration efficace provoquant 50% d'inhibition), sont exprimées en mg/L, et sont consignées dans le tableau IV.

Les résultats indiquent que ces composés présentent une activité significative contre *L. donovani*. on note que le composé **1** ayant son groupe nitro en position ortho sur le noyau benzénique avec la structure centrale de la chaîne hexane linéaire, est le plus actif avec une EC₅₀ (mg/L) de 16,40.

Le composé **2**, ayant comme structure intermédiaire un noyau hexanique et son groupe nitro en position para sur le noyau benzénique, apparaît moins actif avec une EC₅₀ de 55 mg/L. Le composé **3**, ayant un cycle benzénique comme structure intermédiaire et son groupe nitro en position para sur ses cycles benzéniques externes, est le moins actif avec une EC₅₀ > 125 mg/L.

TABLE IV: Mesure de la valeur de la concentration minimale d'inhibition (CMI) pour l'activité antileishmanicide

	Valeur des CMI (mg/L)
Souche testée	<i>L. donovani</i>
	CMI (µg /mL)
Composés	

1	16.40
2	55
3	>125
Témoin	
Pent	2.6

Valeurs moyenne des trois répétitions; **Pent**: Pentamidine

4. Conclusion

Nos composés 1, 2, 3 ont été synthétisés et caractérisés par des techniques analytiques et spectrales.

Le composé 1 qui contient un groupe nitro en position ortho sur le noyau benzénique avec pour structure centrale la chaîne linéaire hexane, est le plus actif sur les souches LV9 de *L. donovani* et sur *Aspergillus fumigatus*. Par contre les composés 2 et 3 ayant leur groupe nitro en position para sur leurs différents cycles benzéniques, avec des structures centrales différent du composé 1, montrent moins d'activité sur les souches testées. La structure du composé 1 apparaît donc comme critique pour obtenir une activité biologique importante sur les souches testées.

5. Bibliographie

- [1] Arulmurugan, S., Kavitha, P. H., Venkatraman, R. P. , Biological activities of Schiff base and its complexes: a review. *Rasayan J Chem.* 3(3): 385–410: 2010.
- [2] Schiff, H, *Ann Chem.* Paris,131:118–119, 1864.
- [3] Bringmann, G., Dreyer, M., Faber, J.H., Dalsgaard, P.W., Staerk, D., Jaroszewski, J. W., Ancistrocladus tanzaniensis C and related 5,1'- and 7,3'-coupled naphthylisoquinoline alkaloids from *Ancistrocladus tanzaniensis*. *J Nat Prod.* 67(5): 743–748: 2004.
- [4] Salimon, J., Salih, N., Ibraheem, H., Yousif, E. Synthesis of 2-N-salicylidene-5-(substituted)-1,3,4-thiadiazole as potential antimicrobial agents. *Asian J Chem.* 22(7): 5289–5296: 2010.
- [5] Guo, Z., Xing, R., Liu, S., Zhong, Z., Ji, X., Wang, L., Antifungal properties of Schiff bases of chitosan, N-substituted chitosan and quaternized chitosan. *Carbohydr Res.* 342(10): 1329–1332, 2007.
- [6] Williams, D.R., *Chem. Rev.*; 72: 203, 1972.
- [7] Campos, A., Anaconda, J.R. and Campos-Vallette, M.M., *Main group Metal chem.* 22: 283, 1999.
- [8] Sari, N., Arslan, S., Logoglu, E. and Sakiyan, I, G., *U.J. Sci.*, 16: 283, 2003.
- [9] Verma, M, Pandeya, S.N, Singh, K.N and Stabler, J. P., *Acta Pharm.* 54, 49, 2004.
- [10] Li, Y., Yang, Z.S., Zhang, H., Cao, B.J., Wang, F.D. , Artemisinin derivatives bearing Mannich base group: synthesis and antimalarial activity. *Bioorg Med Chem.* 11: 4363–4368, 2003.
- [11]- Elmali, A., Kabak, M., Elerman, Y., *Journal of Molecular Structure*, 484, 229–234, 1999.
- [12]-Mohammad, H.H., Mohammad, K.S., Kazem, B., Ross, W.H., William, C., *Naturforsch Z.*,62b, 621 – 624, 2007.
- [13]- Özlem, Ö., *Journal of Molecular Structure*, 1125, 260-271, 2016.
- [14]-Avadanei, M., Tigoianu R., Serpa C., Pina J., Cozan V., *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 332, 475–486, 2017.
- [15]-Gao, W. T., Zheng, Z., *Molecules*, 8, 788-792, 2003.
- [16]-Silverstein, R.M., Kiemle, F.X., Webster “ Spectrometric Identification of Organic Compounds”. De Boeck Supérieur, 3rd edition, *Collection of chemistry (in) organic*.175, 2016. [french]

Effet de la pression interne sur les propriétés photomagnétiques des matériaux de solutions solides à transition de spin de $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}(\text{1,10-phenanthroline})_2(\text{NCS})_2]$ (M = Ni(II), Zn(II) et Cd(II))

Mame Seyni Sylla,*[a,b] Chérif Baldé,*[a] Nathalie Daro,[b] Cédric Desplanches,[b] Mathieu Marchivie,[b] and Guillaume Chastanet*[b]

^a

^b Laboratoire de Chimie et Physique des Matériaux (LCPM) Université Assane Seck de Ziguinchor, BP 523, Sénégal

^c CNRS, Univ. Bordeaux, ICMCB UPR9048, 87 Avenue du Dr. Schweitzer, F-33600 Pessac, France; * Correspondence:

cbalde@univ-zig.sn, guillaume.chastanet@icmcb.cnrs.fr et ms.s6@univ-zig.sn

Résumé :

Les matériaux à transition de spin à base de fer (II) sont actuellement très convoités en raison de leurs potentielles propriétés pour le stockage d'informations, notamment par voie optique. Pour réaliser de telles applications industrielles, il est fondamental de comprendre mais aussi de maîtriser le comportement magnétique de ces matériaux. Les propriétés magnétiques thermiques et induites par la lumière d'une famille de complexes à transition de spin dilués de $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$ (M = Ni(II), Cd(II)), sont rapportées et comparées à des résultats précédents obtenus pour la même série mais avec des ions Zn(II) utilisés pour substituer les ions Fe(II) ; le but ultime était de valider l'influence de la taille et de la nature de l'ion métallique inerte sur les propriétés photoinduites des composés à transition de spin. Pour tous ces matériaux, nous avons mesuré systématiquement les valeurs de la température de transition de spin thermique ($T_{1/2}$) et de T(LIESST) (LIESST = light-induced excited spin-state trapping). Nous avons clairement observé que la dilution a un effet important sur les propriétés magnétiques et photomagnétiques. L'ampleur de ces effets dépend fortement de la nature du métal dilué. Cette comparaison donne un aperçu de l'effet de la taille de l'ion dopant sur T(LIESST) et $T_{1/2}$ et complète les études précédentes sur l'effet de la pression interne sur la durée de vie de l'état photo induit.

Mots clés : Fe(II) · Transition de spin · propriétés magnétiques · Photomagnétisme · effet de la dilution

On the Effect of the Internal Pressure on the Photoinduced Spin-Crossover Behavior of $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}(\text{1,10-phenanthroline})_2(\text{NCS})_2]$ Solid Solutions (M = Ni(II), Zn(II), and Cd(II))

Abstract:

Spin Crossover iron (II) -based materials are currently very coveted because of their potential properties for the storage of information, in particular by optical means. To achieve such industrial applications, it is fundamental to understand but also to master the magnetic behavior of these materials. The thermal and light-induced magnetic properties of a family of metal-diluted spin-crossover complexes, $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$ (M = NiII, CdII), are reported and compared to previous results obtained for the same series but with Zn(II) ions used to substitute Fe(II) ions; the ultimate goal was to validate the influence of the size and nature of the inert metal ion on the light-induced properties of spin-crossover compounds. For all of the materials, we measured the thermally induced spin-crossover temperature ($T_{1/2}$) and T(LIESST) (LIESST = light-induced excited spin-state trapping) values systematically. We observed clearly that the dilution has a strong effect on the magnetic and photomagnetic properties. The magnitude of these effects depends strongly on the nature of the diluting metal. This comparison gives insights into the effect of the size of the diluting ion on T(LIESST) and $T_{1/2}$ and completes the previous studies on the effect of internal pressure on the lifetime of the photoinduced state.

Keywords: Iron · Spin crossover · Magnetic properties · Photomagnetism · Dilution effect

1. Introduction

Depuis quelques décennies, les machines ont pris une place prépondérante dans notre quotidien en nous remplaçant dans bon nombre d'activités (enregistrement de données, communication). La miniaturisation tout en augmentant les capacités est un enjeu économique et financier majeur. Les ordinateurs en sont un exemple révélateur. De nos jours, l'idée qu'une molécule ou un ensemble de molécules puisse servir comme élément actif dans un dispositif électronique est fascinante. Ainsi, de nombreuses équipes de recherches de plusieurs disciplines (Physique, Chimie...) contribuent à ce défi.

Ainsi, en 1999, Létard et coll. introduisirent l'idée de systématiquement déterminer la température limite de photo-inscription T(LIESST) liée à la température $T_{1/2}$ de transition thermique par la relation

$T(\text{LIESST}) = T_0 - 0.3T_{1/2}$ [1] [2]. Plus $T_{1/2}$ (température d'équilibre) est basse, plus T(LIESST) sera élevée. Pour augmenter T(LIESST), il faut jouer sur la rigidité et la distorsion de la sphère de coordination (soit T_0) ou faire appel à la dilution métallique qui entraîne une diminution des températures $T_{1/2}$ vers les basses températures sans trop modifier le T(LIESST) [3]. Cette diminution de $T_{1/2}$ est très dépendante de la taille de l'ion impliqué. L'objectif phare de ce travail est d'aller explorer des solutions solides avec des ions très petits (Ni(II)) et très gros (Cd(II)) afin d'identifier le rôle de la pression interne sur la durée de vie de l'état photo-induit.

2. Matériel et méthodes

Tous les composés $[\text{Fe}_x\text{Cd}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$ et $[\text{Fe}_x\text{Ni}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$ ont été préparés selon la méthode de synthèse et de purification par extraction de type soxhlet du $[\text{Fe}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$. Pour ce faire, la solution aqueuse de sulfate de fer est remplacée par un mélange, dans les proportions désirées, de sulfate de fer et de sulfate de nickel ou de cadmium.

Les mesures magnétiques ont été réalisées à l'ICMCB à l'aide d'un magnétomètre à SQUID sous un champ magnétique constant de 20 kOe. Pour la mesure du T(LIESST), le SQUID a été couplé à une source laser continue. Concrètement, l'expérience du T(TIESST) est similaire à celle du T(LIESST), l'état piégé par trempe thermique a été étudié en introduisant l'échantillon rapidement, dans la cavité du SQUID à très basse température (5 K). Le signal magnétique est mesuré après la trempe en augmentant la température à la vitesse de 0,4 K/min jusqu'à observer une décroissance de l'état HS métastable vers l'état BS. La température T(TIESST) (Thermally-Induced Excited Spin-State Trapping) correspond au minimum de la dérivée $\partial \chi_M^{\text{exp}} / \partial T$. T(LIESST), la différence étant la façon d'obtenir l'état HS.

Les mesures de photo-magnétisme ont été réalisées sur une fine couche de composé cristallin déposée sur un film alimentaire (polyéthylène (PE)). Le signal magnétique est mesuré après une irradiation lumineuse à 514 nm. Cette longueur d'onde étant celle qui a présenté la meilleure efficacité. La position du minimum de la dérivée $\partial \chi_M^{\text{exp}} / \partial T$ permet de situer le T(LIESST) qui présente la température limite de photo-inscription. Autrement dit, c'est la température à laquelle l'information est perdue. métastable.

Résultats et discussions

Dans cette partie, nous allons faire une étude comparative des effets de la dilution des composés $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$ avec $\text{M} = \text{Zn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$ sur les propriétés magnétiques et photomagnétiques.

Rappelons que jusqu'à présent, les études menées rapportaient que plus l'ion inséré était volumineux (figure 1), plus il stabilisait l'état HS et plus les transitions étaient déplacées vers les basses températures, conformément à une perte de coopérativité.

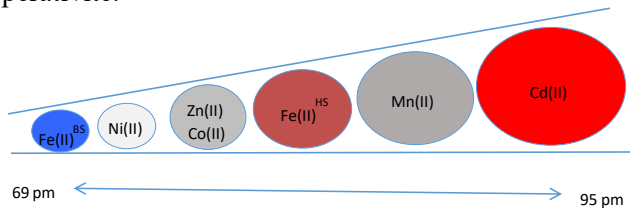


Figure 1 : Représentation schématique de la variation des rayons ioniques des différents métaux discutés dans ce travail.

3.1. Propriétés Magnétiques

Ces mesures ont permis de suivre l'évolution en fonction de la température du produit de la susceptibilité magnétique molaire ($\chi_M T$) par la température T. Dans le cas des systèmes dilués, ce produit ($\chi_M T$) prend en compte la contribution magnétique du fer et celle du métal utilisé pour la dilution. Dans la suite de ce travail, nous adopterons les notations suivantes :

- χ_M^{Fe} représente la contribution magnétique du fer [Fe]
- χ_M^{M} la contribution magnétique du métal [M] qui compose la matrice du système dilué
- χ_M^{exp} est la somme de la contribution du fer [Fe] qui intervient en proportion x et de la contribution du métal [M] qui intervient en proportion (1-x)
- x est le facteur de dilution
- $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}]$ symbolise les séries mixtes de complexes. Il vient donc :

$$\chi_M^{\text{exp}} = x \chi_M^{\text{Fe}} + (1-x) \chi_M^{\text{Cd}} \quad \text{Equation 1}$$

Soit $\chi_M^{\text{Fe}} T = \frac{\chi_M^{\text{exp}} T}{x} - \frac{(1-x) \chi_M^{\text{Cd}} T}{x} \quad \text{Equation 2}$

La contribution magnétique du cadmium est nulle car c'est un ion diamagnétique (Cd^{2+} , d^{10} , $S = 0$). Par conséquent, la susceptibilité magnétique totale ne prend en compte que la contribution du Fe^{2+} sur toute la gamme de température ($S = 0$ à basse température et $S = 2$, à haute température) et dès lors le produit ($\chi_M T$) diminuera au fur et mesure que la fraction x diminue (figure 2.a). Sachant que la forme BS de l'ion $\text{Fe}(\text{II})$ est diamagnétique ($\chi_M^{\text{Fe}} \text{BS} = 0$), le produit $\chi_M^{\text{Fe}} T$ est alors proportionnel à la fraction HS, γ_{HS} . La fraction HS peut donc être directement déduite à partir du produit $\chi_M^{\text{Fe}} T$ exprimé dans l'équation 3, la température ambiante est prise ici à 298 K (figure 2.b).

$\square HS \square \square FeT \square \square MFeT \square$
 $T \square \text{ambiante}$
 M

Equation 3

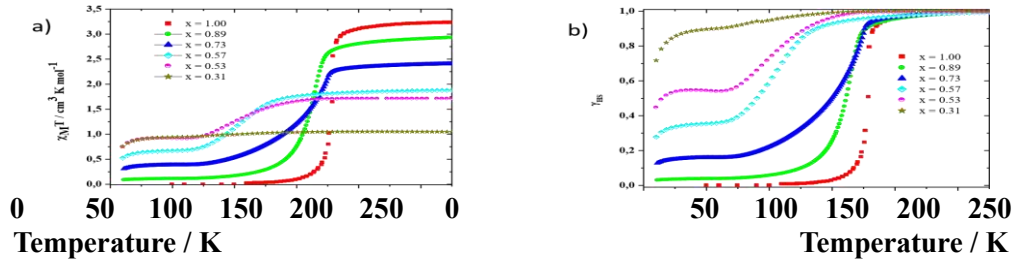


Figure 2 : a) Evolution en fonction de la température du produit $\square_M^{\text{exp}} T$, b) Evolution de la fraction HS en fonction de la température, des composés $[Fe_xCd_{1-x}(phen)_2(NCS)_2]$.

Le nickel est paramagnétique, son $(\chi_M T)_{Ni}$ est théoriquement égale à $1 \text{ cm}^3 \cdot \text{K} \cdot \text{mol}^{-1}$ comme attendu pour un ion Ni^{2+} , (d^8 , $S = 1$). Expérimentalement, nous avons mesuré une valeur de $1.02 \text{ cm}^3 \cdot \text{K} \cdot \text{mol}^{-1}$ que nous avons utilisée par la suite. Par conséquent, la susceptibilité magnétique totale prend en compte la contribution du Fe^{2+} et du Ni^{2+} sur toute la gamme de température et dès lors le produit $(\chi_M T)$ diminuera au fur à mesure que la fraction x diminue (figure 3.a). Sachant que la forme BS de l'ion $Fe(II)$ est diamagnétique ($\square_M^{Fe} BS = 0$), le produit $\square_M^{Fe} T$ est alors proportionnel à la fraction HS, γ_{HS} .

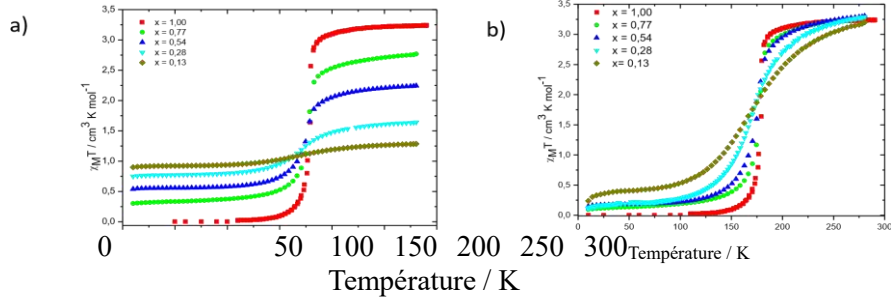


Figure 3 : a) Evolution en fonction de la température du produit $\square_M^{\text{exp}} T$, b) Evolution de la fraction HS en fonction de la température, des composés $[Fe_xNi_{1-x}(phen)_2(NCS)_2]$.

Ces résultats montrent en effet, qu'une diminution du facteur de dilution entraîne :

- une diminution de la valeur du produit $\square_M^{\text{exp}} T$ à haute température ;
- des transitions de plus en plus graduelles au fur et à mesure qu'on introduit l'ion dopant ;
- un déplacement de la température de transition vers les basses températures (diminution continue de $T_{1/2}$) ;
- une apparition de fraction résiduelle HS à basse température pour les fortes dilutions (faibles valeurs de x) pour le $[Fe_xCd_{1-x}(phen)_2(NCS)_2]$

3.2. Propriétés Photomagnétiques

Les deux types de mesures nous ont permis d'accéder aux valeurs des $T(\text{LIESST})$ et $T(\text{TIESST})$ qui sont rassemblés dans le Tableau 1. Une première remarque concerne les températures de relaxation des phases métastables $T(\text{TIESST})$ et $T(\text{LIESST})$ qui se révèlent identiques. La deuxième remarque est relative à l'efficacité de deux procédés pour induire l'état HS métastable. L'excitation lumineuse s'avère plus efficace que le refroidissement rapide ou trempe thermique. Notons également que les valeurs de $T(\text{LIESST})$ et $T(\text{TIESST})$ augmentent lorsque le taux de $Cd(II)$ croît.

Tableau 1 : Les températures $T_{1/2}$ et $T(\text{LIESST})$ des composés $[Fe_xCd_{1-x}(phen)_2(NCS)_2]$.

Fraction de dilution x	$T_{1/2}$ (K)	$T(\text{LIESST})$ (K) / $T(\text{TIESST})$ (K)
$x = 1,00$	176	62
$x = 0,89$	165	63
$x = 0,73$	150	63
$x = 0,57$	106	68
$x = 0,53$	105	68

$x = 0,31$	95	80

Nous avons rassemblé dans le tableau, les températures de transition $T_{1/2}$ et les températures limites de stockage de l'information, $T(\text{LIESST})$. L'observation des résultats dans ce tableau montre une diminution légère mais continue de la température $T(\text{LIESST})$ en fonction du taux de dilution.

Tableau 2 : Les températures $T_{1/2}$ et $T(\text{LIESST})$ des composés $[\text{Fe}_x\text{Ni}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$.

Fraction de dilution x	$T_{1/2}$ (K)	$T(\text{LIESST})$ (K)
$x = 1,00$	176	62
$x = 0,77$	172	61
$x = 0,54$	168	60
$x = 0,28$	164	56
$x = 0,13$	160	54

Ces résultats confirment la tendance et la conclusion tirée à partir de nos résultats expérimentaux. A savoir, plus l'ion dopant est volumineux, plus le déplacement de $T_{1/2}$ vers les basses températures est important. Par contre aucun déplacement de $T_{1/2}$ vers les hautes températures n'est observé malgré l'utilisation d'ions de faibles rayons ioniques (figure 4.a)

Il apparait clairement que les dopages au cadmium induisent une augmentation du $T(\text{LIESST})$ avec l'augmentation du taux de dopage. Alors que les dopages au zinc n'entraînent aucune variation du $T(\text{LIESST})$. Aussi, un comportement inverse est observé pour les dopages au nickel, à savoir une diminution du $T(\text{LIESST})$ avec l'augmentation du taux de dopage.

Les calculs de simulation menées sur les courbes de $T(\text{LIESST})$ [5] montrent qu'une diminution de la coopérativité défavorise la relaxation auto-accélérée et donc ralentit la relaxation. Le $T(\text{LIESST})$ subit donc une légère augmentation lorsque la coopérativité diminue. Autant dans le cas des dilutions au Cd c'est ce que nous observons, autant pour les dérivées au Zn et au Ni nous avons des tendances inverses (figure 4.b).

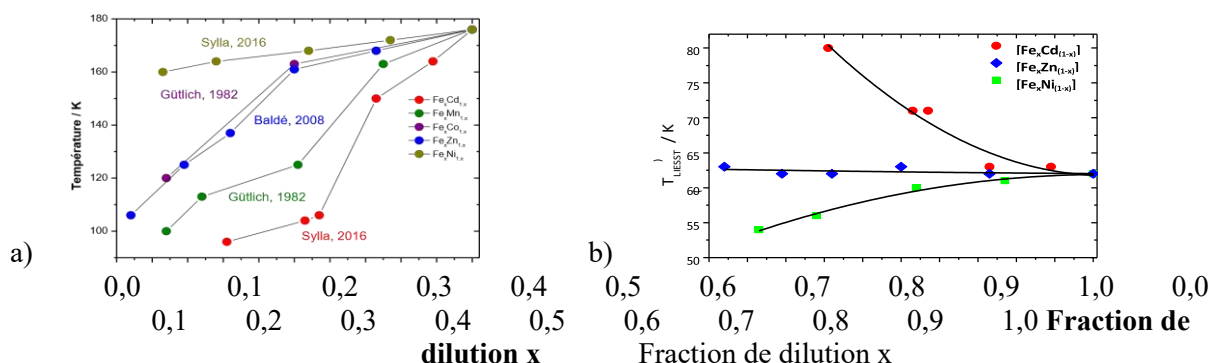


Figure 4 : Variations en fonction du taux de dilution de la température de transition $T_{1/2}$ (a) et des températures limites $T(\text{LIESST})$ (b).

Ainsi, la taille de l'ion dopant influence les propriétés photomagnétiques d'autant plus lorsque le rayon ionique du dopant est différent de celui de $\text{Fe}(\text{II})$ (HS). En effet, le Cd possédant un rayon ionique supérieur à celui du fer dans son état HS, stabilise l'état HS par pression interne « négative », augmentant d'autant la valeur du $T(\text{LIESST})$. Le Zn, ayant un rayon ionique semblable à celui du fer HS, stabilisera un peu moins l'état HS, décalant moins facilement le $T(\text{LIESST})$. Enfin, le Ni possédant un rayon ionique intermédiaire légèrement en faveur de l'état BS, aura donc tendance à une stabilisation de l'état de plus petit volume, à savoir l'état BS, ce qui engendre donc une légère diminution du $T(\text{LIESST})$ avec l'augmentation du taux de dopage.

4. Conclusion

Cette partie été consacrée à l'étude expérimentale des systèmes mixtes $[\text{Fe}_x\text{M}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$ avec ($\text{M} = \text{Cd}^{2+}$, Ni^{2+}). Les propriétés magnétiques et photomagnétiques de tous ces systèmes dilués ont été enregistrées, analysées, discutées et comparées aux systèmes $[\text{Fe}_x\text{Zn}_{1-x}(\text{phen})_2(\text{NCS})_2]$. La détermination des propriétés magnétiques de

ces systèmes nous a permis de confirmer les travaux antérieurs de Ganguli et coll., Martin et coll., et Balde et coll. [3] ;[4] ; [6] , à savoir des transitions de plus en plus graduelles et un déplacement de la température de transition vers les basses températures à mesure que la dilution augmente. A partir des résultats des propriétés magnétiques et photomagnétiques de ces systèmes, nous avons pu démontrer que l'augmentation ou la diminution du T(LIESST) est étroitement liée à la taille de l'ion dopant impliqué dans la dilution alors que le $T_{1/2}$ était continûment et différemment déplacé vers les basses températures selon l'ion introduit. Pour T(LIESST), les effets de pression interne jouent un rôle sur les paramètres thermodynamiques et la relaxation de l'état HS. Plus l'ion inséré est gros, plus il stabilise l'état HS photo-induit en ralentissant sa relaxation. Cet effet influence suffisamment les énergies d'activation et $k_{HL}(T \rightarrow \infty)$ pour moduler T(LIESST).

5. Bibliographie

- [1] Létard J. F, Nguyen O, Soyer H, Mingotau C, Delhaés P, Kahn. O, *Inorg. Chem.* 138 **(1999)** 3020. [2] Marcén S, thèse de doctorat, Université Bordeaux 1, (2002).
- [3] Baldé C, Desplanches C, Wattiaux A, Guionneau P, Gütllich P, Létard J. F, *Dalton. Trans.* **(2008)** 2702-2707.
- [4] Ganguli P, Gütllich P, Müller E.W, *Inorg. Chem.* 21 **(1982)** 3429-3433.
- [5] Chastanet G, Gaspar A. B, Real J. A, Létard J. F, *Chem Commun.* **(2001)** 819.
- [6] Martin J. P, Zarembowich J, Dworkin A, Haasnoot J. G, Codjovil E, *Inorg. Chem.* 33 **(1994)** 2617.

Etude de l'influence des argiles sur la dégradation du bleu de méthylène par procédé photo-fenton

Namory Méité^{1*}, Lébé Prisca Marie-Sandrine Kouakou¹, Aliou Guillaume Lemeyonouin Pohan², Alfred Niamien Kouamé¹, Issiaka Sanou³, Lydie Nina Amon⁴, Christelle Adja Kouakou¹, Yao Jonas Andji-Yapi¹

¹Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), UFR SSMT, Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Université Pelefero Gon Coulibaly, UFR des Sciences Biologiques, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

³Université Nazi BONI, Unité de Formation et de Recherche en Sciences Exactes et Appliquées (UFR/SEA), Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), B.P. 1091 Bobo 01, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

⁴Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

*Auteur correspondant : namorymeite2986@gmail.com

Résumé :

Les colorants industriels issus des activités de textiles constituent une menace pour l'environnement. Pour pallier ce problème, divers procédés ont été élaborés pour éliminer ces colorants dans les eaux usées avant leur rejet dans la nature. Les procédés conventionnels biologiques ou physiques s'avèrent souvent inefficaces et coûteux. Il est nécessaire de recourir à d'autres procédés tels que les procédés d'oxydation avancée (POA). Ce travail porte donc sur l'étude de l'influence de l'argile dans la dégradation du Bleu de Méthylène par le procédé photo-Fenton (procédés d'oxydation avancée (POA)), avec comme source d'irradiation, la lumière. Pour ce faire, deux argiles de Côte d'Ivoire référencées AB et Aga ont fait l'objet d'une caractérisation. Les résultats de la caractérisation ont montré respectivement que les argiles AB et Aga sont composées majoritairement de kaolinite (61,31-12,72%), de quartz (28,9-77,13%) et d'illite (11,26-8,75%). L'ajout des argiles au procédé photo-Fenton a permis d'améliorer la dégradation du polluant. En effet, le rendement est passé de 92% pour le procédé photo-Fenton à 98,43% avec l'ajout de l'argile AB et 98,13% pour l'ajout de l'argile Aga. Les résultats des cinétiques de dégradation montrent bien que la dégradation suit la cinétique de pseudo-second ordre avec des coefficients de corrélation supérieur à 0,99.

Mots clés : Bleu de Méthylène, argiles, photo-Fenton, polluant, dégradation.

Abstract:

Industrial dyes from textile activities pose a threat to the environment. To overcome this problem, various processes have been developed to remove these dyes from wastewater before they are released into the environment. Conventional, biological or physical processes often prove to be inefficient and costly. It is necessary to resort to other processes such as advanced oxidation (AOP) processes. This work therefore focuses on the study of the influence of clay in the degradation of Methylene Blue by the photo-Fenton process (advanced oxidation processes (AOP)), with light as the source of irradiation. To do this, two clays from Côte d'Ivoire referenced AB and Aga were characterized. The results of the characterization showed respectively that the AB and Aga clays are composed mainly of kaolinite (61.31-12.72%), quartz (28.9-77.13%) and illite (11.26-8.75%). The addition of clays to the photo-Fenton process improved the degradation of the pollutant. Indeed, the yield has increased from 92% for the photo-Fenton process to 98.43% with the addition of AB clay and 98.13% for the addition of Aga clay. The results of the degradation kinetics clearly show that the degradation follows the pseudo-second-order kinetics with correlation coefficients greater than 0.99.

Keywords : Methylene blue, clays, photo-Fenton, pollutant, degradation.

1. Introduction

L'expansion du secteur industriel s'est accompagnée d'un phénomène de pollution de l'eau dû à l'accumulation des polluants dans les eaux usées des industries comme les textiles, le papier, les cosmétiques, le caoutchouc et les plastiques. Parmi ces polluants figurent le Bleu de Méthylène (BM), colorant basique, qui est plus couramment utilisé dans la teinture du coton, du bois, de la soie et du papier [1]. Il fournit des couleurs vives, possède une excellente solidité des couleurs et est d'une application facile. La pollution des eaux a des effets néfastes sur l'environnement et la santé de l'homme. A cet effet plusieurs procédés physiques, chimiques et biologiques ont été développés pour éliminer ou détruire ces polluants, tels que la coagulation, la floculation, l'adsorption, la séparation membranaire, etc [2]. Cependant, certaines de ces méthodes ont révélé des limites liées d'une part à la production de sous-produits toxiques et d'autre part au coût financier parfois très élevé de mise en œuvre de ces traitements. Ces limites rendent ces méthodes inaccessibles [3,4]. Les procédés d'oxydation avancée apparaissent comme procédés alternatifs pour le traitement des eaux usées. Ils ont pour but la minéralisation quasi-totale des eaux chargées en polluants. Dans le cadre de cette étude, le choix s'est porté sur le procédé photo-Fenton. À ce procédé sera associé des ressources naturelles telles que l'argile et la lumière naturelle. De par son pouvoir adsorbant, l'argile piège les colorants. En effet, l'argile est un matériau naturel possédant des propriétés

absorbantes, elle est à moindre coût et répandue sur la majeure partie du territoire ivoirien. Elle possède un ensemble de particules de très petites tailles ayant moins de 2 μ m de diamètre apparent, qui au contact de l'eau glissent les unes sur les autres pour rendre compte du phénomène de plasticité. La lumière naturelle disponible tout au long de l'année avec des intensités variables peut constituer une source alternative utilisable surtout dans les pays en voie de développement. En effet, cette source d'énergie renouvelable est gratuite et inépuisable, elle est de loin l'énergie la plus abondante sur terre. Dans le but de valoriser les argiles, ce travail vise à étudier l'élimination du BM par le procédé photo-Fenton associé à l'argile.

2. Matières premières et techniques expérimentales

2.1. Matières premières

Deux matières premières argileuses sont utilisées dans cette étude, l'argile Aga a été prélevée dans la ville de *Gagnoa* située dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire, les coordonnées du site prélèvement de 6°07'37.6"N, 5°56'15.0"W. Le deuxième échantillon noté AB est l'argile de Bingerville de couleur blanchâtre, elle provient du gisement d'*Akouai-Agban*, dans la banlieue de la ville de *Bingerville* sur la rive lagunaire au Sud de la Côte d'Ivoire, les coordonnées du site de prélèvement sont de 5°16'12,883844N, 3°53'23.325"W. Ces échantillons sont présentés par la **figure 1**.

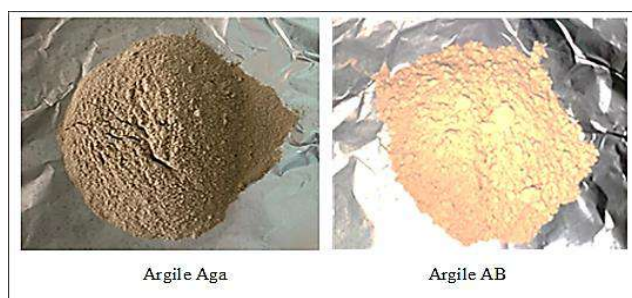


Figure 1 : Image des argiles Aga et AB

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation de la solution de Bleu de Méthylène (BM)

La solution de Bleu de Méthylène à traiter a été préparée en introduisant 0,0125 g de poudre de BM dans une fiole jaugée de 250 mL contenant de l'eau distillée qui a été complétée jusqu'au trait de jauge. Le mélange obtenu a été homogénéisé par agitation à l'aide d'un barreau aimanté pendant trente minutes (30 min).

2.2.2. Démarche expérimentale pour le procédé photo-Fenton

Pour étudier de l'influence de l'argile sur la dégradation du Bleu de Méthylène par procédé photo-Fenton, on ajoute à la solution de BM les concentrations optimales de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et de fer ferreux (Fe²⁺) déterminés préalablement. Dans l'ensemble du mélange, on fait varier une quantité d'argile de 0,05 g à 0,2 g. Le tout est déposé sur un agitateur magnétique à une vitesse modérée permettant son homogénéisation permanente par l'intermédiaire d'un barreau aimanté plongé dans celle-ci. Un prélèvement de 2 mL est effectué chaque 15 min durant 2 h par des seringues de 5 mL. Les prélèvements sont analysés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

2.3. Techniques expérimentales

2.3.1. Analyse chimique

Cette technique a pour but de déterminer la composition chimique de l'échantillon d'argile à partir du spectromètre d'émission Plasma ICP-AES (Industively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry) [5]. L'échantillon à caractériser a été mis en solution et converti en aérosol, puis vaporisé, atomisé, excité et/ou ionisé. Pour ce faire, on sèche à 110°C pendant 24 heures, 30 mg de chaque échantillon dans un tube en téflon et l'ensemble est introduit dans un dispositif micro-onde (CEM, MARS 5).

2.3.2. Spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie est une technique analytique quantitative, qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Le taux de décroissance de l'intensité lumineuse en fonction de l'épaisseur du milieu absorbant est donné par la loi de Beer-Lambert selon l'équation (Eq.1) :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot l \cdot C \quad (\text{Eq.1})$$

Avec : I_0 : intensité initiale de la lumière traversée ; I : intensité de la lumière transmise ; A : absorbance ; C : concentration en espèce absorbante (mol. L^{-1}) ; l : longueur du trajet optique dans la solution (cm) ; ϵ : coefficient d'absorption moléculaire ($\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

➤ Détermination de la courbe d'étalonnage

La solution aqueuse de BM a été préparée par dissolution de BM en poudre dans de l'eau distillée. La longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) a été obtenue par balayage des λ entre 200 et 800nm. Le pic de notre colorant est obtenu à 663,1nm. Afin d'obtenir la courbe d'étalonnage du BM nous avons préparé une solution mère de concentration 50 mg.L^{-1} . À partir de la solution mère nous avons déterminé les concentrations ($1,2,3,4,5 \text{ mg.L}^{-1}$). Ces dernières seront, par la suite, analysées par spectrophotométrie UV-visible. La **figure 2** représente la courbe d'étalonnage de BM. La courbe est linéaire sur l'intervalle de concentrations choisies, donc la loi de Beer-Lambert est vérifiée dans ce domaine de concentrations.

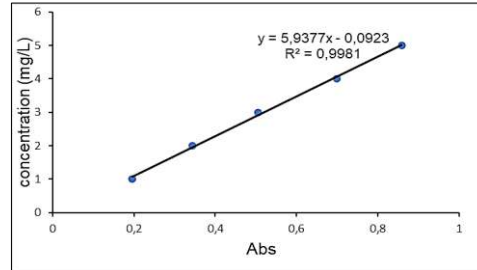


Figure 2 : Courbe d'étalonnage obtenue pour le dosage du Bleu de Méthylène par UV-Visible

➤ Détermination du taux d'élimination

Le pourcentage de dégradation du colorant a été calculé en utilisant l'équation (Eq.2) :

$$q_e = \frac{V}{m} \times (C_0 - C_e) \quad (\text{Eq.2})$$

$$E(\%) = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad (\text{Eq.3})$$

q_e : la quantité adsorbée par unité d'argile (mg.g^{-1}) ; V : volume de la solution de BM (mL) ; m : la masse de l'argile (g) ; C_0 : la concentration initiale de BM (mg.L^{-1}) ; C_e : la concentration à l'équilibre de BM (mg.L^{-1}) ; E : taux d'élimination de BM (%).

2.3.3. Etude des cinétiques de dégradation

Plusieurs modèles de cinétique ont été utilisés afin d'interpréter les données expérimentales [6]. Les deux modèles de cinétique couramment utilisés sont : le modèle de pseudo-premier ordre (PPO) et le modèle de pseudo-second ordre (PSO).

2.3.3.1. Modèle de pseudo-premier ordre

Lagergren, (1898) a proposé un modèle cinétique de pseudo-premier ordre exprimé par la relation suivante (Eq.4) :

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (\text{Eq.4})$$

Avec k_1 la constante de vitesse pour une cinétique du pseudo premier ordre (min^{-1}), t le temps de contact (min), q_t et q_e les capacités d'adsorption à l'instant t ($\text{mg d'adsorbat.g}^{-1}$ d'adsorbant) et à l'équilibre ($\text{mg d'adsorbat.g}^{-1}$ d'adsorbant), respectivement. L'intégration de l'équation (Eq.4) donne :

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (\text{Eq.5})$$

La valeur de k_1 est obtenue à partir de la pente du tracé linéaire de $\ln(q_e - q_t) = f(t)$.

2.3.3.2. Modèle de pseudo-second ordre

Une expression également très souvent utilisée est celle du pseudo-deuxième ordre. Il est représenté par la formule (Eq.6) [7]:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (\text{Eq.6})$$

Avec k_2 la constante de vitesse pour une cinétique du deuxième ordre ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), q_t et q_e les capacités d'adsorption à l'instant t ($\text{mg d'adsorbat.g}^{-1}$ d'adsorbant) et à l'équilibre ($\text{mg d'adsorbat.g}^{-1}$ d'adsorbant), respectivement.

L'intégration de l'équation (Eq.6) conduit à (Eq.7) :

$$\left(\frac{t}{qt}\right) = \left(\frac{t}{qe}\right) + \left(\frac{1}{k_2 \cdot qe^2}\right) \quad (\text{Eq.7})$$

Le modèle de pseudo-second ordre est vérifié lorsque le tracé $\frac{t}{qt}$ en fonction de t donne une relation linéaire, avec une pente égale à $\left(\frac{1}{k_2 \cdot qe^2}\right)$.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation du matériau argileux

3.1.1. Analyse chimique

L'analyse chimique des argiles AB et Aga a été réalisée par la spectrométrie d'Emission Plasma ICP-AES après une mise en solution par voie chimique à l'aide d'une micro-onde. La composition chimique exprimée sous forme d'oxyde est donnée dans le **tableau I**.

Tableau I : Composition chimique de l'argile (% massique d'oxyde)

Echantillons	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	TiO ₂	Na ₂ O	SiO ₂ /Al ₂ O ₃	Total
AB	62,4	28,6	3,2	1,3	0,9	0,8	2,18	97,2
Aga	86,92	8,32	2,81	1,01	0,74	0,19	10,44	99,99

Les résultats montrent une prédominance en silice (SiO₂) et en alumine (Al₂O₃) dans les deux matières premières. Les oxydes de potassium, de sodium et de titane y sont également présents en quantité relativement faibles. Le calcium et le manganèse se retrouvent sous forme de traces dans les argiles. Ces teneurs élevées en SiO₂ et Al₂O₃ montrent qu'ils sont des aluminosilicates [8]. Le rapport silice/alumine (SiO₂/Al₂O₃) est de 10,44 pour Aga et de 2,18 pour AB. Ce rapport est élevé dans les deux échantillons au lieu de 1,18 pour les kaolins purs [9]. Ces valeurs élevées suggèrent la présence d'une grande quantité de silice libre et d'argile de type 2/1.

3.1.2. Composition minéralogique

La composition minéralogique des argiles AB et Aga a été estimée à partir de l'analyse chimique et la composition chimique des phases minéralogiques détectées par diffraction des rayons X. Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau II**.

Tableau II : Composition minéralogique des argiles

Echantillons (%)	Kaolinite	Quartz	Illite	Goethite	Total
AB	61,36	28,6	10,1	-	100,05
Aga	12,72	75,43	8,75	3,12	100,02

3.2. Dégradation du Bleu de Méthylène par le procédé photo-fenton

3.2.1. L'influence de l'argile

Pour l'étude de l'influence de l'argile sur l'élimination du BM les valeurs optimales de peroxyde et de fer ont été utilisés pour le procédé photo-Fenton. Puis les masses des argiles AB et Aga ont été varié de 0,05g à 0,2g par pas de 0,05g sur une durée de 2 heures. Les résultats obtenus sont présentés sur la **figure 3**.

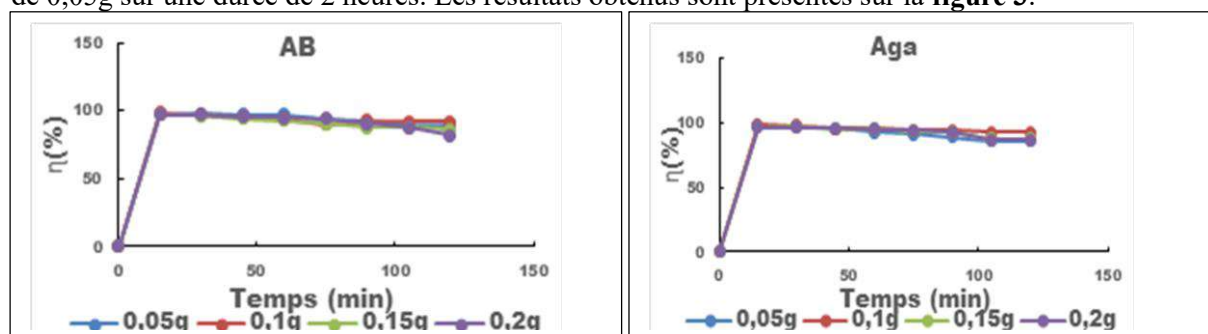


Figure 3 : Influence de la quantité (AB et Aga) dans l'élimination du BM par procédé photo-Fenton

Pour toutes les quantités d'argile utilisées, le taux d'élimination est élevé ($\eta > 90\%$). Parmi les masses argileuses utilisées, pour les masses de 0,05 à 0,15 g une augmentation rapide du taux d'élimination est observé. De 15 à 40 minutes, le rendement est constant à 98%. Au-delà de 40 minutes, une diminution du taux d'élimination du bleu méthylène est observé.

3.2.2. Cinétique de dégradation du BM par l'influence de l'argile

Lors de cette étude, les lois cinétiques du pseudo-premier ordre et du pseudo-second ont été utilisées. Le tracé de $\ln(q_e - q_t)$ en fonction du temps t pour la dégradation du BM avec l'influence de l'argile donne des formes linéaires (**figure 4**). Les valeurs de k_1 ont été calculées à partir des pentes de ces droites, et $q_{e, \text{cal}}$ à partir de l'ordonnée à l'origine.

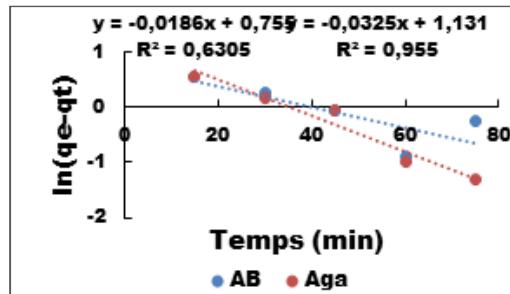


Figure 4 : Influence d'argiles sur la cinétique de pseudo premier ordre sur la dégradation du BM

➤ Cinétique du pseudo-premier ordre

La constante cinétique de dégradation du pseudo-premier ordre k_1 , la quantité de BM adsorbée à l'équilibre q_e , et le coefficient de corrélation R_1^2 sont indiquées dans le **tableau III**.

Tableau III : Constantes cinétiques du pseudo-premier ordre pour la dégradation du BM avec l'influence de l'argile

	Quantité (g)	$q_{e, \text{exp}}$ (mg/g)	$q_{e, \text{cal}}$ (mg/g)	K_1 (min^{-1})	R_1^2
AB	0,1	27,45	2,13	0,0186	0,6305
Aga	0,1	27,92	3,1	0,0325	0,955

Les résultats du **tableau III** montrent que, les coefficients de corrélation obtenus sont de 0,6305 pour 0,1g de AB et supérieurs à 0,95 pour la quantité de 0,1 g de l'argile Aga. Malgré les valeurs des coefficients de corrélation élevées, les q_e expérimentales ne sont pas en accord avec les q_e calculées à partir des formes linéarisées de la cinétique du pseudo-premier ordre. Par conséquent, le modèle cinétique du pseudo-premier ordre n'est bien adapté pour décrire la dégradation du BM avec l'influence de l'argile. Au-delà de cette quantité d'argile, on observe une diminution du taux d'élimination du polluant. Cela peut être dû à une difficulté des molécules de BM à atteindre les sites absorbants [10]. La solution devient plus trouble, ce qui conduit à une diminution de l'efficacité du catalyseur observée par la baisse de la quantité de lumière dans le liquide, par conséquent le nombre des radicaux hydroxyles responsables de la dégradation est réduit.

➤ Cinétique du pseudo-second ordre

Le tracé de $\frac{t}{q_t}$ en fonction du temps t pour la dégradation du BM avec l'influence de l'argile donne des formes linéaires (**figure 5**). Les valeurs de k_2 ont été calculées à partir des pentes de ces droites, et $q_{e, \text{cal}}$ à partir de l'ordonnée à l'origine

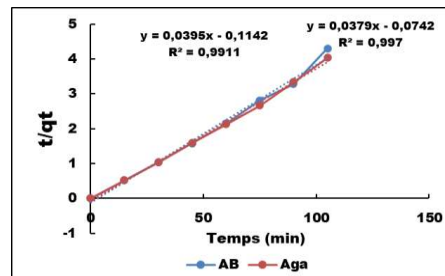


Figure 5 : Influence d'argiles sur la cinétique de pseudo-second ordre pour la dégradation du BM

La constante cinétique de la réaction d'adsorption du pseudo-second ordre k_2 , la quantité de phénol adsorbée à l'équilibre q_e , et le coefficient de corrélation R_2^2 sont indiquées dans le **tableau IV**.

Tableau IV : Constantes cinétiques du pseudo-second ordre pour la dégradation du BM avec l'influence de l'argile

	Quantité (g)	$q_{e, \text{exp}}$ (mg/g)	$q_{e, \text{cal}}$ (mg/g)	K_2 (min ⁻¹)	R_2^2
AB	0,1	27,45	25,32	-0,014	0,9911
Aga	0,1	27,92	26,36	-0,019	0,997

Le meilleur modèle établi pour l'étude de la cinétique de dégradation est choisi selon le facteur de corrélation. Plus ce facteur est élevé et proche de 1, plus le modèle est favorable pour l'étude du processus de dégradation [11]. Dans le **tableau IV**, nous remarquons que les coefficients de corrélation R_2^2 sont supérieurs aux coefficients R_1^2 pour toutes les quantités d'argiles. De plus, les valeurs de q_e expérimentales sont beaucoup plus proches des valeurs de q_e calculées à partir des formes linéaires de la cinétique du pseudo-second ordre pour toutes les quantités d'eau oxygéné. De ces résultats, il ressort que le modèle cinétique du pseudo-second ordre donne une meilleure description de la cinétique de réaction de la dégradation du BM avec l'influence de l'argile, contrairement au modèle cinétique du pseudo-premier ordre. Ces minéraux possèdent un fort pouvoir adsorbant du fait de la petite taille de leurs particules qui leur confère une surface spécifique importante. En effet, **Karim et al. (2010)** dans leur étude, ont montré que le processus d'adsorption sur l'argile brute du BM est très rapide pendant les dix (10) premières minutes de traitement et évolue lentement puis se stabilise au bout de la 40^{ème} minutes [12]. Lorsque la quantité d'argile augmente, on assiste au phénomène d'agglomération des particules d'argiles. De plus, **Badis (2018)** et **Manaa (2015)** l'ont montré pour l'élimination de deux polluants par photo-induction et l'élimination des composés pharmaceutiques par photo-Fenton [2,13].

4. Conclusion

Ce travail a pour but de valoriser les matériaux locaux dans l'optique de les utiliser pour le traitement des eaux usées. C'est dans ce cadre que les argiles AB et Aga ont été caractérisées. Les résultats de la caractérisation ont montré que l'argile AB et Aga sont composées majoritairement de kaolinite (61,31 et 12,72 %), de quartz (28,9 et 77,13 %) et d'illite (11,26 et 8,75 %). Il ressort que l'argile AB avec une proportion importante en kaolinite peut servir à l'adsorption du bleu de méthylène et la proportion de goethite dans l'argile Aga favoriserait le phénomène d'adsorption. L'influence des différentes argiles sur la dégradation du BM par le procédé photo-Fenton a été étudiées. Les résultats obtenus montrent que l'association adsorption et procédé photo-fenton a permis d'éliminer plus de 98% du polluant pour les deux types d'argiles. L'argile permet donc d'atteindre un rendement d'élimination propice pour les industries car la combinaison de ces deux procédés a permis d'obtenir un rendement de 98,43 % pour AB et 98,13 % pour Aga. Cette étude peut se poursuivre, en testant d'autres types de matériaux afin d'obtenir un matériau qui permet d'éliminer totalement le polluant.

Références

- [1] **M.A.R. Bhuiyan, A. Islam, A. Ali, M.N. Islam**, Color and chemical constitution of natural dye henna (*Lawsonia inermis* L) and its application in the coloration of textiles, *J. Clean. Prod.* 167 (2017) 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.08.142>.
- [2] **Z. Manaa**, Élimination des composés pharmaceutiques par photo-fenton hétérogène (goethite et argile synthétique): étude cinétique et transfert des espèces organiques à l'interface minérale solution, PhD Thesis, 2018. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1698> (accessed July 16, 2024).
- [3] **S. De Gisi, G. Lofrano, M. Grassi, M. Notarnicola**, Characteristics and adsorption capacities of low-cost sorbents for wastewater treatment: A review, *Sustain. Mater. Technol.* 9 (2016) 10–40. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2016.06.002>.
- [4] **I. Ali, Mohd. Asim, T.A. Khan**, Low-cost adsorbents for the removal of organic pollutants from wastewater, *J. Environ. Manage.* 113 (2012) 170–183. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.08.028>.
- [5] **I.A. Voïnovitch**, Analyse des sols, roches et ciments : méthodes choisies., Paris., 1988.
- [6] **S. Lagergren**, Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe ». *Kungliga Svenska Vetenskaps akademien, Handlingar*, Band (1898) 1–39.
- [7] **S. Messeaouda**, Etude de la capacité de rétention et d'élimination des cations métalliques par des adsorbants naturels, (2015). <https://www.theses-algerie.com> (accessed July 16, 2024).
- [8] **G. Nirmala, G. Viruthagiri**, FT-IR characterization of articulated ceramic bricks with wastes from ceramic industries, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 126 (2014) 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.01.143>.
- [9] **L.N. Amon, L.K. Konan, H. Goure-Doubi, J.Y.Y. Andji, J.K. Coulibaly, S. Oyetola**, Physico-chemical and structural properties of clay-based ceramic filters from Côte d'Ivoire. | *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* | EBSCOhost, 44 (2017) 70. <https://openurl.ebsco.com/contentitem/gcd:131165503?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:gcd:131165503> (accessed July 16, 2024).

- [10] **L.A.G. Pohan, O. Kambiré, M. Nasir, L. Ouattara**, Photocatalytic and Antimicrobial Properties of [AgTiO₂]: [Clay] Nanocomposite Prepared with Clay Different Ratios, *Mod. Res. Catal.* 9 (2020) 47–61. <https://doi.org/10.4236/mrc.2020.94004>.
- [11] **Y.-S. Ho**, Removal of copper ions from aqueous solution by tree fern, *Water Res.* 37 (2003) 2323–2330. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00002-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00002-2).
- [12] **B.K. Asmaa, H. Mohsine, B. Mina, Y. Abdelghani, M. Badia**, Élimination du colorant basique « Bleu de Méthylène » en solution aqueuse par l'argile de Safi, *Rev. J. Water Sci.* 23 (2010) 375-388.
- [13] **K. Badis**, Elimination de deux polluants organiques par photo-induction en phase homogène et hétérogène et par adsorption sur des supports inorganiques locaux, (2018). Thèse de doctorat, université frères mentouri - constantine 1, Algérie, pp.192 (accessed July 16, 2024).

Etude de l'influence du ciment sur l'exploitation des sachets plastiques comme liant alternatif pour la production de pavés

AMEWOUAME Komi Jean-Marcel^{1,2}*, SEGBEAYA Kwamivi, N¹., KOUTO Eugène², AYITE Yawovi Dany²

1 Laboratoire Chimie Organique et Sciences de l'Environnement, Université de Kara, Kara, BP 404, Togo

2 Laboratoire de Recherche en Sciences de l'Ingénieur, Ecole Polytechnique de Lomé, Lomé, BP 1515, Togo

*Correspondance : marcelamewouame@gmail.com

Résumé

Les villes sont confrontées aujourd'hui à l'inondation, ce qui est en partie causé par l'obstruction des caniveaux par des débris surtout les plastiques. Cette recherche répond au souci de valorisation des sachets plastiques en polyéthylène en utilisant des matériaux locaux et d'étudier le comportement physico-mécanique et de durabilité des éprouvettes. Ce procédé a consisté à la conception d'un prototype pour la fonte des sachets plastiques en utilisant le sable du ruisseau Ewaou comme charge. 24 éprouvettes de deux types ont été produites notamment ceux contenant du ciment ou non à des ratios de 10, 15, 20 et 25% en masse de sachets plastiques. Les résultats révèlent que l'augmentation de plastiques dans les mortiers sont inversement proportionnelle à l'absorption d'eau. De même les mortiers sans ciment contenant 25% de sachet plastique (MSC₂₅) et les mortiers à ciment contenant 25% de sachet plastique (MAC₂₅) ont donné une résistance en compression maximale respective de 9,45Mpa et 10,45Mpa. Le test de durabilité dans une solution d'acide sulfurique à 5% révèle que les MAC₂₅ et MAC₂₀ perdent 50% de leurs masses au bout de 28 jours. Cette étude a permis de connaître le meilleur ratio dont la prochaine étape serait de produire les pavés.

Mots clés : Sable du ruisseau Ewaou ; sachets plastiques ; ciment ; résistance à la compression.

Study of the influence of cement on the use of plastic bags as an alternative binder for the production of paving stones

Abstract

Cities today are faced with flooding, which is partly caused by the obstruction of gutters by debris, especially plastics. This research is a response to the need to recycle polyethylene plastic bags using local materials and to study the physical-mechanical behaviour and durability of the samples. The process involved designing a prototype for melting plastic bags using sand from the Ewaou stream as a filler. 24 specimens of two types were produced, in particular those containing cement or not at ratios of 10, 15, 20 and 25% by mass of plastic bags. The results show that the increase in plastic in the mortars is inversely proportional to water absorption. Similarly, cementless mortars containing 25% plastic bags (MSC₂₅) and cement mortars containing 25% plastic bags (MAC₂₅) gave a maximum compressive strength of 9.45 MPa and 10.45 MPa respectively. The durability test in a 5% sulphuric acid solution showed that MAC₂₅ and MAC₂₀ lost 50% of their mass after 28 days. This study has enabled us to identify the best ratio, the next stage of which would be to produce the pavers.

Key words : Sand from the Ewaou stream; plastic bags; cement; compressive strength.

1. Introduction

Les plastiques ont fait la révolution dans plusieurs domaines notamment l'électricité, la construction de bâtiments, les secteurs de la communication. Il est donc impossible pour un quelconque secteur vital de l'économie de fonctionner efficacement sans l'utilisation du plastique [1]. Ainsi, l'utilisation du plastique ne peut être interdit mais plutôt une valorisation par réutilisation sous diverses formes de ses déchets plastiques. La production mondiale de plastiques en 2019 est de 460 millions de tonnes dont (75% sont des déchets et 1/3 polluent les terres et océans chaque année), ce phénomène peut augmenter de 40% d'ici 2030 si des initiatives concrètes ne sont pas élaborées [2]. Dans le monde la pollution plastique constitue un sérieux problème environnemental. Les débris de plastique, ou encore les articles en plastique sont persistants, mobiles et toujours présent dans les environnements terrestres et aquatiques, voire dans les zones urbaines, rurales et éloignées. Les déchets plastiques de grande taille sont facilement visibles et nuisent aux espèces par l'enchevêtrement, et l'ingestion[3]. Il est à noter que l'élimination des déchets plastiques constitue un problème grave, car les matières plastiques peuvent prendre jusqu'à 4500 ans sans se dégrader [1]. En Afrique, plusieurs chercheurs ont abordé la notion de valorisation des déchets sous divers axes, notamment au Togo selon les travaux de Tsala-Mbala et al. [4], Amey et al.[5], au Cameroun par Saïfoulah et al.[6] et autres. L'objectif général de notre travail est de voir l'influence du ciment sur les mortiers en utilisant le polyéthylène basse densité plus précisément les sachets plastiques fondu comme liant.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Matériel

Tout au long de cette étude un certain nombre de matériels sont utilisés comme :

- Matières premières : tout au long de notre étude nous avons utilisé comme matière première les sachets plastiques vierges, le sable du ruisseau Ewaou au nord du Togo
le ciment CPJ-35 fourni par la société CIMTOGO et les résidus de charbon de bois
- Matériel de production : moule métallique de dimension 4x4x16, une balance de précision, équipement complet de réacteur, équipement de protection individuel (gants, cache nez, bottes).

2.2 Méthodes

Préparation du mortier témoin

La préparation du témoin passe par la formulation de plusieurs types de mortier en variant le ciment à pas de 20 g selon le tableau1.

Tableau 1 : Formulation du mortier témoin

Sable (g)	Variation du ciment	Ciment (g)	Eau (ml)	E/C
1350	-20	430	225	0,52
1350	0	450	225	0,5
1350	+20	470	225	0,47
1350	+40	490	225	0,46
1350	+60	510	225	0,44
1350	+80	530	225	0,42

Formulation des mortiers avec les sachets plastiques comme liant

Deux types de mortiers ont été essentiellement formulés à diverses proportions notamment le MACx et MSCx désignant respectivement les mortiers à ciment et les mortiers sans ciment avec x représentant en pourcentage la teneur en liant de sachet plastique de chaque formulation. Le tableau 2 illustre le dosage effectué.

Tableau 2 : Formulation des mortiers à base de sachets plastiques

Type de mortier	Sachets plastiques (g)	Sable (g)	Ciment (g)	Eau (g)	Total (g)
Mortier témoin	0	1350	450	225	1800
MAC ₂₅	450	1125	225	0	1800
MAC ₂₀	360	1215	225	0	1800
MAC ₁₅	270	1305	225	0	1800
MSC ₁₀	180	1395	225	0	1800
MSC ₂₅	450	1350	0	0	1800
MSC ₂₀	360	1440	0	0	1800
MSC ₁₅	270	1530	0	0	1800
MSC ₁₀	180	1620	0	0	1800

Test d'absorption

C'est la propriété d'un milieu poreux. Elle est obtenue par un essai d'immersion dans un bac d'eau potable sur des éprouvettes de dimension 4x4x16cm³. Les éprouvettes sont séchées pendant 24h à l'étuve à 105°C, puis, en émergeant dans un bac d'eau potable jusqu'à la stabilisation total de la masse de l'éprouvette [7]. On calcule la porosité ouverte par la formule suivante :

$$P = \frac{msat - msec}{msec} \times 100 \quad (\text{eq. 1})$$

P : Porosité ouverte, accessible à l'eau

msat : masse saturée

msec : masse sèche.

Essai d'attaque acide des éprouvettes

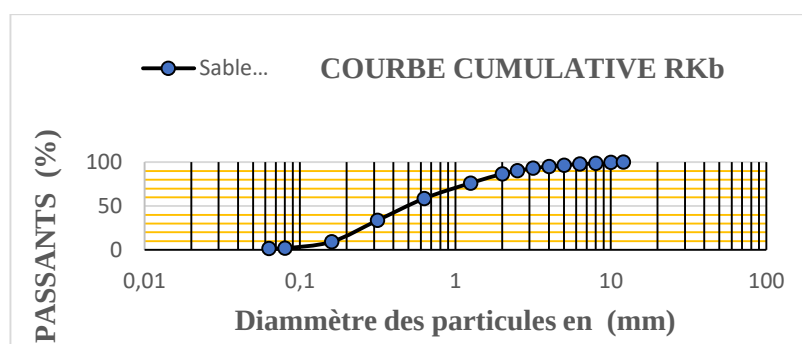
Pour vérifier la durabilité des éprouvettes nous avons opté pour l'attaque chimique sur les deux types d'éprouvettes contenant 20 et 25% de liant pendant 54 jours à une température de 20 °C ± 5. Après démoulage dans une solution d'acide sulfurique à 5% conformément à la norme ASTM C 267-96.

3. Résultats

3.1. Caractérisation

Tableau 3 : Caractéristiques du sable de la rivière Kara (RKa) et du ruisseau Ewaou (RKb)

Paramètres	Sable RKa	Sable RKb
Masse volumique apparente	1,47 2,69	1,62 2,72
Masse volumique absolue	62	79,93
Equivalent de sable	0,76	2,36
Module de finesse	0,25	3,61
Coefficient d'uniformité	0,14	0,76
Coefficient de classement		


Figure 1 : Sable du Ruisseau Ewaou

L'analyse granulométrique du RKa révèle que ce sable est très fin, ce qui se justifie par le module de finesse qui est de 0,76 et une classe granulaire de 0/2. Avec un ($C_u < 3$), ce sable dispose d'une granulométrie uniforme ou encore serrée et un coefficient de classement (C_c) qui n'est pas compris entre 1 et 3 ce qui témoigne de l'absence de certains diamètres entre les diamètres effectifs D_{10} et D_{60} , par conséquent ce sable a une granulométrie mal graduée. Le RKb est un sable à utiliser si l'on recherche une ouvrabilité satisfaisante et une bonne résistance avec des risques de ségrégation limités en se référant à son module de finesse et à sa classe granulaire qui est de 0/4. Son coefficient d'uniformité est supérieur à 3 ($C_u > 3$), ce qui montrerait que ce sable possède une granulométrie variée ou encore étalée, avec un coefficient de classement n'appartenant pas à l'intervalle 1 à 3 ce qui témoigne également de l'absence de certains diamètre entre D_{10} et D_{60} . [8] Le RKb par contre dispose d'un module de finesse de 2,36 qui est trois fois supérieur à celui de RKa. Cette valeur est comprise entre 2,2 et 2,8 donc ce sable est bon pour avoir un béton de bonne résistance. [9] Les masses volumique absolue et apparente sont respectivement de 2,691 et 1,471 g/cm^3 pour le RKa et de 2,717 et 1,624 g/cm^3 pour RKb. Le constat révèle que les valeurs de RKb sont légèrement supérieures à ceux de RKa, il est à noter également que la masse volumique du sable varie selon qu'il soit tassé, humide ou sec. Les valeurs des masses volumiques absolues des deux types de sables sont comprises dans la gamme (2,63 à 2,75 g/cm^3) obtenus dans la zone nord du dans le cadre de la caractérisation physique des sables silteux du Togo [10].

3.2. Essai mécanique sur le témoin

Les essais effectués sur le témoin sont réalisés à 7 et 28 jours. Le tableau 4 illustre les essais de résistance à la compression.

Tableau 4 : Variation de la résistance à la compression

E/C	Résistance à 7 jours			σ	CV (%)	Résistance à 28 jours (Mpa)			σ	CV (%)
	Rmin	Rmoy	Rmax			Rmin	Rmoy	Rmax		
0,42	18,45	19,38	20,31	1,31	6,75	23,46	24,16	24,86	0,98	4,05
0,44	19,76	20,46	21,17	0,99	4,83	25,84	26,24	26,64	0,56	2,13
0,45	21,70	22,37	22,76	0,47	2,10	28,56	28,95	29,34	0,91	3,14
0,47	19,39	19,77	20,14	0,53	2,68	26,25	26,9	27,55	0,91	3,38
0,5	18,71	19,09	19,47	0,54	2,83	25,53	26,14	26,75	0,86	3,21
0,52	16,85	17,65	18,46	1,36	7,70	24,5	24,75	25	0,35	1,41

CV : Coefficient de variation

3.3. Essai physico-mécanique sur les éprouvettes à plastiques

Les essais d'absorption par immersion, la résistance en compression sont illustrés par les figures 2 à 5

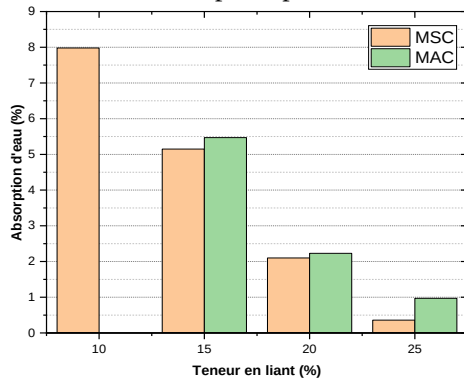


Figure 2 : Absorption d'eau

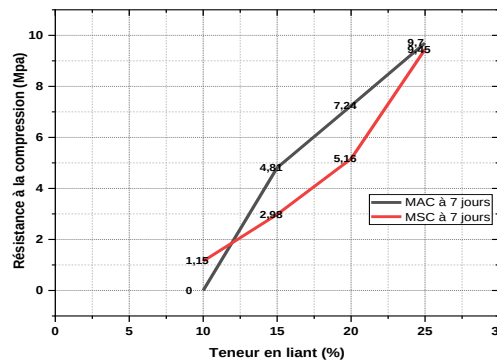


Figure 3 : Résistance à la compression à 7 jours

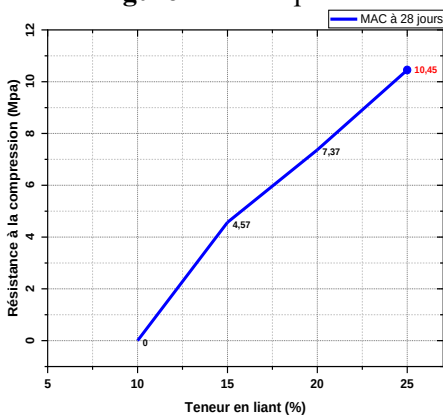


Figure 4 : Résistance à la compression à 28 jours

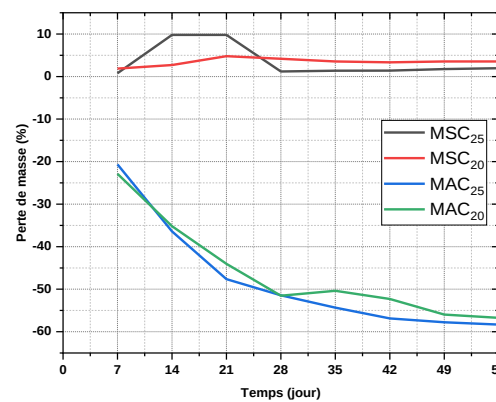


Figure 5 : Perte de masse dans 5%(H₂SO₄)

Les essais mécaniques ont été effectués à 7 et 28 jours après trempage dans un bain d'eau pour les mortiers à ciment (MAC), les essais mécaniques ont été réalisés au bout de 7 jours pour les mortiers sans ciment (MSC). Cette différence s'explique par le fait que la présence du ciment dans une matrice augmente sa résistance au cours du temps lorsqu'il est conservé dans de l'eau. La figure 2 montre l'absorption d'eau des deux types d'éprouvettes. Les éprouvettes ont atteint leur saturation au bout de 72 heures sauf le MSC₂₅ et le MSC₂₀ qui sont saturés au bout de 48 heures. Le faible taux d'absorption du MSC₂₅ pourrait s'expliquer par l'étanchéité du plastique due à la quantité considérable de liant. L'accroissement progressive en deçà du MSC₂₅ se justifie par l'augmentation du sable, par conséquent une diminution de l'adhésion entre le sable et le liant et donc une absorption conséquente d'eau. Ces résultats sont accord avec l'étude expérimental de la formulation du mortier à base de sable silteux du Togo et de liant de sachet plastique type « voltic »[10]. Pour les éprouvettes constitués d'un mélange de ciment et de plastiques à l'exception du MAC₁₀ qui n'a pas donné de résultat. On remarque de même que la quantité de plastique est inversement proportionnelle à l'absorption d'eau des éprouvettes. De même une comparaison de l'absorption d'eau des MAC et MSC montre que les MAC absorbent plus d'eau par rapport au MSC sur tous les ratios. Cette différence pourrait s'expliquer par l'incorporation du ciment dans le mélange qui absorbe de l'eau au cours du temps. Les figures 3 et 4 montrent la résistance en compression au bout de 7 et 28 jours. A 7 jours elle varie de 1,15 à 9,45 MPa respectivement pour les MSC₁₀ et MSC₂₅. On constate donc que l'augmentation de la contrainte est proportionnelle à la teneur en liant. Ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux trouvés par Amey [10] qui trouve une résistance de 10,3Mpa avec un taux de liant de 22% en utilisant les sachets de type « voltic ». Cette différence peut se justifier par la faible densité des sachets plastiques par rapport au sachet de types voltic. Néanmoins on remarque une légère augmentation par rapport à l'étude menée par Tchhouali et al. [11] qui trouve une résistance de 9Mpa en utilisant les sachets plastiques fondus tout en substituant le sable par 30% d'argile. La figure 4 présente la résistance en compression à 28 jours. Elle donne une résistance maximale de 10,45Mpa pour le MAC₂₅ légèrement élevé par rapport au MSC₂₅ (9,45Mpa). Cette différence pourrait s'expliquer par la présence du ciment dont la matrice augmente de résistance au cours du temps. Pour évaluer la

durabilité de nos éprouvettes de mortier à ciment nous avons effectué le test de l'attaque à l'acide qui constitue à plonger les échantillons dans une solution d'acide sulfurique à 5%. Au bout de 28 jours, la solution acide a été remplacé par une autre à cause des impuretés qui s'y sont déposés dû à la dégradation progressive de certains éprouvettes des mortiers. D'après le graphique pour un intervalle de 0 à 28 jours avant changement de la solution acide, les éprouvettes des mortiers à ciment perdent plus de 50% de leurs masses et sur le même intervalle de temps, il y a augmentation de masse atteignant un pic de 10% des éprouvettes des mortiers. Cette différence pourrait s'expliquer par le dépôt de résidu sur les éprouvettes des mortiers sans ciment dû à l'érosion des éprouvettes des mortiers à ciment. L'érosion des éprouvettes des mortiers à ciment s'expliquerait par la réaction entre le ciment et l'acide contrairement aux éprouvettes des mortiers sans ciment. Après 28 jours suivit du remplacement de la solution acide, on observe une perte de masse de 10% pour les éprouvettes des mortiers à ciment par rapport à une constante des éprouvettes des mortiers à ciment. Ces constats sont également faits par Recioui et Siradji [12]. Ils ont produit des éprouvettes avec des déchets de briques ou non en incorporant du déchet plastique polyéthylène téréphtalate (PET) à diverses proportions, et ont observés que ceux contenant uniquement du (PET) ont une bonne durabilité.

4. Conclusion

Au cours de cette étude deux types de sable ont été caractérisés et le meilleur sable était le sable du ruisseau Ewaou. La résistance maximale pour ce type de sable au bout de 28 jours est de 28,95Mpa. La plus grande contrainte obtenue est de 9,45 et 10,45Mpa respectivement pour les éprouvettes des mortiers sans ciment et des mortiers à ciment. Ces résultats ne révèlent qu'une différence de 1Mpa, par conséquent ces types de formulation sont plus durables dans les milieux à faible trafic. Nous avons réussi à mettre en exergue l'influence du ciment dans les mortiers fabriqués avec du sachet plastique fondu sur la décalcification dans l'acide sulfurique, nous remarquons donc que non seulement l'ajout des 225g de ciment au mortier n'a pas une influence conséquente en termes de résistance, mais ces éprouvettes subissent une érosion progressive jusqu'à une perte de masse avoisinant les 50%.

5. Références

- [1] Gawande, Amit, Zamare, G., Renge, V. C., « An overview on waste plastic utilization in asphaltting of roads. », *Journal of Engineering Research and Studies*, p. 1-5, 2012.
- [2] Sara yokowboski, « La pollution plastiques des océans dans le monde : les sources, les solutions et le rôle du Canada », 2019-37-F, 2019.
- [3] K. B. Amey, « Optimization of the Traction Resistance of Hydraulic Mortars Based on Togo Sands », *Open Journal of Applied Sciences*, vol. 11, n° 7, p. 807-817, 2021.
- [4] C. Tsala-Mbala, K. S. Hayibo, T. K. Meyer, N. Couao-Zotti, P. Cairns, et J. M. Pearce, « Technical and Economic Viability of Distributed Recycling of Low-Density Polyethylene Water Sachets into Waste Composite Pavement Blocks », *Journal of Composites Science*, vol. 6, n° 10, p. 289, 2022.
- [5] K. B. Amey, K. Neglo, O.-D. Samah, A. Y. Kouto, et A. P'Kla, « Étude expérimentale de la formulation de mortier à base de sable silteux du Togo et de liant de sachets plastiques type «volic» », *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, vol. 10, n° 3, 2014.
- [6] V. DE GAROUA, « Valorisation des déchets plastiques dans la production des matériaux de construction: cas des pavés dans la ».
- [7] M. Regourd, H. Hornain, et B. Mortureux, « Microstructure of concrete in aggressive environments », *Durability of Building Materials and Components*, p. 253-68, 1980.
- [8] M. Thior et al., « Caractéristiques granulométriques et dynamique sédimentaire entre les différentes unités géomorphologiques du littoral de la Casamance (Sénégal) », *revue ivoirienne des sciences et technologies*, 2019.
- [9] S. Bennoui et M. Abdeldjalil, « Calcul de la compacité des mélanges granulaires des matériaux locaux », université Ahmed Draia-ADRAR, 2020.
- [10] K. B. Amey, K. Neglo, S. Tamba, A. K. C. Johnson, Y. E. Kouto, et E. Nayo, « Caractérisation physique de sables silteux au Togo », *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, vol. 10, n° 2, 2014.
- [11] D. A. Tchahouali, H. Kowanou, K. B. Amey, E. A. Sanya, et F. Tosse, « Mise au point et caractérisation physique et mécanique d'un matériau à base de sable argileux lié par des déchets plastiques fondus. », *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé*, vol. 16, n° 2, p. 593-600, 2014.
- [12] H. RECIUI et C. Z. SIRADJ, « Etude de l'influence des attaques chimiques sur des mortiers à base de sable de dunes et déchets de plastique PET et brique », université Ghardaia, 2022.

Synthèse, caractérisation et étude des propriétés antioxydantes d'un ligand base de Schiff et de son complexe tétranucléaire de cuivre II

Ngoné Diouf^{1,2*}, Ibrahima El hadj Thiam¹, Rokhaya Sylla-Gueye², Nango Gaye², James Orton ³, Simon Coles ³ et Mohamed Gaye¹

1 : Laboratoire de Chimie de Coordination Organique et des Biomolécules, Département de Chimie FST/UCAD, Dakar 10700, Sénégal.

2 : Laboratoire de Chimie Physique, Minérale, Organique et Thérapeutique, Département de Pharmacie FMPO/UCAD, Dakar 10700, Sénégal.

3 : UK National Crystallography Service, School of Chemistry, Faculty of Engineering and Physical Sciences, University of Southampton, Southampton, UK

* ngonediouf8@gmail.com

Résumé :

L'étude du comportement des métaux de transition avec des ligands biologiquement actifs constitue un domaine actif de recherche. Les complexes de cuivre présentent un intérêt particulier et sont considérés comme de bons modèles dans l'étude de la réactivité des centres métalliques dans les métalloenzymes.

L'utilisation du 2-[[2-(2-hydroxybenzylidèneamino)phénylimino]méthyl]phénol (H₂L) avec le sel de chlorure de cuivre (II) a permis d'obtenir un complexe tétranucléaire formulé comme [Cu(L)]₄.16H₂O. Le composé a été étudié et caractérisé par analyse élémentaire, spectroscopies infrarouge et UV-visible, conductivité molaire et mesures magnétiques à température ambiante. La structure du complexe a été résolue par cristallographie aux rayons X. Le complexe cristallise dans le groupe d'espace monoclinique P21/c avec les paramètres de mailles suivants : a = 11,7571(2) Å, b = 16,8082(2) Å, c = 36,5351(5) Å, β = 94.9540(10)°, V = 7192.94(18) Å³.

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de ces composés, nous avons utilisé la méthode de balayage au DPPH. Les résultats de l'étude comparative des propriétés antioxydantes du ligand libre et de son complexe ont permis de conclure que le complexe est plus actif que le ligand. Dans la suite de nos travaux, nous comptons étudier les propriétés magnétiques et anti-inflammatoires de ce complexe.

Mots clés : Ligand ; complexe ; antioxydant ; cristallographique

Synthesis, characterization and study of the antioxidant properties of a Schiff base ligand and its tetranuclear copper II complex

Abstract

The study of the behavior of transition metals with biologically active ligands is an active area of research. Copper complexes are of particular interest, and are considered good models for studying the reactivity of metal centers in metalloenzymes.

The use of 2-[[2-(2-hydroxybenzylidèneamino)phénylimino]méthyl]phénol (H₂L) with the copper(II) chloride salt afforded a tetranuclear complex formulated as [Cu(L)]₄.16H₂O. The compound was studied and characterized by elemental analysis, infrared and UV-visible spectroscopy, molar conductivity and magnetic measurements at room temperature. The structure of the complex was resolved by X-ray crystallography. The complex crystallizes in the monoclinic space group P21/c with the following lattice parameters: a = 11.7571(2) Å, b = 16.8082(2) Å, c = 36.5351(5) Å, β = 94.9540(10)°, V = 7192.94(18) Å³. To assess the antioxidant activity of these compounds, we used the DPPH scanning method. The results of the comparative study of the antioxidant properties of the free ligand and its complex led to the conclusion that the complex is more active than the ligand. Our next step is to investigate the magnetic and anti-inflammatory properties of this complex.

Keywords : Ligand ; complex ; antioxidant ; crystallographic

1. Introduction

La chimie de coordination des complexes de métaux de transition a fait l'objet de nombreux travaux depuis le début des années 2000. Une grande partie de ces études s'est concentrée sur le rôle du métal central dans l'activité des complexes [1]. Les auteurs se sont intéressés à la synthèse de complexes visant à comprendre les rôles du métal dans les métallo-enzymes [2], dans la catalyse, dans le traitement de certaines maladies comme le cancer, la tuberculose et les infections bactériennes [3]. Les complexes de base de Schiff en cuivre présentent un intérêt particulier et sont considérés comme de bons modèles pour l'étude de la réactivité des centres métalliques dans les métalloenzymes [4]. Les complexes de type [CuII (salen)] (salen=N,N'-bis(salicylidèneiminato)éthylène) sont largement étudiés et plusieurs propriétés biologiques (antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires, antivirales...) et physiques (optiques et magnétiques) leur sont attribuées. Dans cette étude, nous rapportons la synthèse, la caractérisation structurale et l'étude des propriétés antioxydantes du ligand base de Schiff et de son complexe tétranucléaire de cuivre II.

2. Matériel et méthodes

Le salicylaldéhyde, le 1,2-diaminobenzène et le $\text{CuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ étaient de qualité réactif analytique et ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich. Tous les solvants utilisés étaient de qualité réactif analytique et ont été utilisés directement sans purification supplémentaire. Les analyses élémentaires de C, H et N ont été enregistrées sur un instrument VxRio EL. Les spectres infrarouges ont été obtenus sur un spectromètre FTIR Spectrum Two de Perkin Elmer dans la région $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Le spectre UV-Visible a été enregistré sur un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda UV-Visible de Perkin Elmer. Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés dans le DMSO- d_6 sur un spectromètre Bruker 500 MHz à température ambiante en utilisant le TMS comme référence interne.

2.1. Synthèse du 2-{{2-(2-hydroxybenzylidèneamino)phénylimino}méthyl}phénol (H_2L)

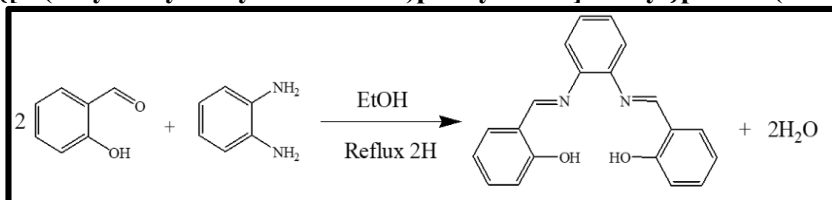


Schéma : Synthèse du ligand 2-{{2-(2-hydroxybenzylidèneamino)phénylimino}méthyl}phénol (H_2L)

Mode opératoire :

À une solution de 4,84 g (40 mmol) de salicylaldéhyde dans 15 mL d'éthanol, on ajoute goutte à goutte une solution de 2,16 g (20 mmol) de 1,2-diaminobenzène dans 15 mL d'EtOH. Un précipité orange apparaît progressivement. Deux gouttes d'acide acétique glacial ont été ajoutées, et le mélange a été porté à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité orange a été récupéré par filtration et lavé avec 5 mL d'éthanol avant d'être séché sous vide.

La recristallisation dans du méthanol d'une petite quantité de poudre de ce ligand a donné des cristaux oranges aptes à la diffraction aux rayons X au bout de deux semaines.

Rendement 96,5 %. P. F > 260°C . Anal. Calc pour $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$: C : 75,93 ; H : 5,10 ; N : 8,86. Trouvé : C : 75,90 ; H : 5,06 ; N : 8,88. RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) 6,97-7,66 (m, 12H, H_{Ar}) ; 8,94 (s, 2H, $\text{HC}=\text{N}$) ; 12,93 (s, 2H, OH). IR (cm^{-1}) : 3254 ; 1610 ; 1596,8 ; 1557,95 ; 1479,96 ; 1361,32 ; 1275,35 ; 909 ; 787.

2.2. Synthèse du complexe tétranucléaire de cuivre (II) $[\text{Cu}(\text{L})]_4$

Le complexe a été préparé en mélangeant une solution de 10 ml de méthanol du ligand H_2L (316 mg, 1 mmol) et une solution méthanolique du sel métallique $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (168 mg, 1,25 mmol). Une solution verte a été obtenue après reflux d'une heure. La solution a été filtrée et laissée en évaporation lente. Après deux semaines, des cristaux verts appropriés à la diffraction aux rayons X ont été recueillis. Analyse calculée pour $[\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{CuN}_2\text{O}_4]$ C, 58.03 ; H, 4.38 ; N, 6.77. Trouvé : C, 58.00 ; H, 4.348 ; N, 8,88. $\wedge$ (S $\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) : 16,33 – 19,79. IR (v, cm^{-1}) : 1607, 1581, 1532, 1463, 1444, 1313, 1192, 1154, 923, 750. UV-vis (Solution, DMF, λ (nm)) : 277, 309, 426, 589. μeff (MB) = 2,93.

3. Résultats et discussion

3.1. Étude générale

Le spectre IR du ligand H_2L montre une bande d'intensité moyenne à 1610 cm^{-1} qui est attribuée à la vibration $\nu_{\text{C}=\text{N}}$. L'absence des bandes dues aux vibrations $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ et $\nu_{\text{N}-\text{H}}$ du groupe amine, combinée à l'apparition de la nouvelle bande $\nu_{\text{C}=\text{N}}$, indique la réussite de la réaction de condensation. La bande qui apparaît à 1190 cm^{-1} est attribuée à la vibration $\nu_{\text{O}-\text{H}}$ du groupement phénolique. La bande pointée à 3254 cm^{-1} est attribuée à la vibration $\nu_{\text{O}-\text{H}}$. Les bandes dues aux vibrations $\nu_{\text{CAr}=\text{CAr}}$ se situent entre 1479 et 1600 cm^{-1} . La réaction de condensation est confirmée par les analyses des spectres RMN. Le signal pointé à 8,12 ppm dans le spectre RMN ^1H et le signal à 164 ppm dans le spectre ^{13}C sont, respectivement, dus à l'atome de proton $\text{H}-\text{C}=\text{N}-$ et à l'atome de carbone $\text{H}-\text{C}=\text{N}-$ du groupe azométhine formé après la condensation. Le signal à 12,93 ppm est attribué au proton phénolique. Les signaux qui apparaissent dans la région 6,97-7,66 ppm sont dus aux protons de l'anneau aromatique.

Lors de la coordination avec l'ion cuivre (II), la bande due à la vibration $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ a été légèrement déplacée vers les basses fréquences à 1607 cm^{-1} . Le complexe formé est essentiellement neutre, avec une conductivité molaire de $16,33 \text{ S cm}^2 \text{mol}^{-1}$. Le spectre électronique du complexe enregistré dans une solution millimolaire de DMF révèle une bande d'absorption centrée à 426 nm attribuée au transfert de charge ligand $\rightarrow$ métal. Deux autres bandes d'absorption dues aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ du ligand sont pointées, respectivement, à 277 nm et 309 nm. La bande d'absorption pointée à 589 nm est attribuée à la transition $d \rightarrow d$ ($^2\text{B}_{1g} \rightarrow ^2\text{A}_{1g}$) d'un ion Cu (II) à géométrie

planaire carrée. La valeur du moment magnétique à température ambiante du complexe de 2,93 MB est cohérente avec la présence de plus d'un ion Cu (II).

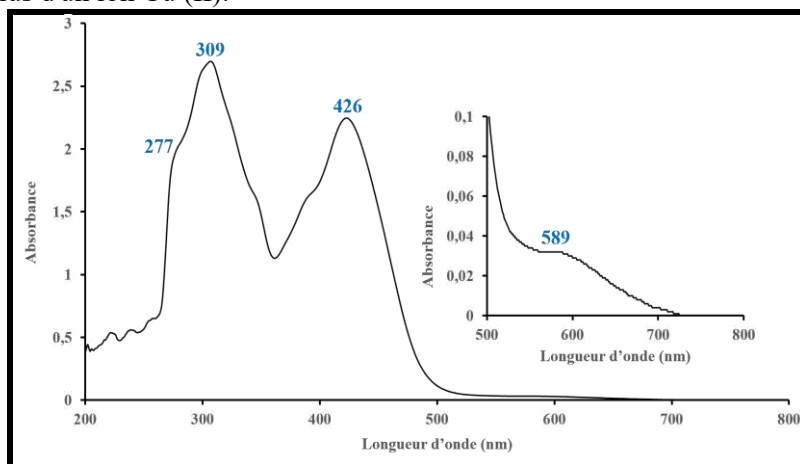


Figure 1 : Spectre électronique du complexe $[Cu(L)]_4$

3.2. Etude cristallographique du ligand H_2L et de son complexe $[Cu(L)]_4$

3.2.1 Description de la structure cristalline du ligand H_2L

La détermination de la structure du ligand (Figure 2) révèle que le composé cristallise dans le système cristallin monoclinique avec le groupe d'espace $P2_1/c$ comme en atteste les paramètres de la maille : $a = 5.9359$ (3) Å, $b = 16.3427$ (9) Å, $c = 16.1489$ (9) Å et $\beta = 92.072$ (5)°. Les distances des liaisons N1—C7 [1,2855 (15) Å], N2—C14 [1,2837 (15) Å] indiquent que ces liaisons sont doubles. Ces valeurs montrent que le composé n'a pas subi une hydrolyse de la fonction azoméline. Les valeurs des longueurs de liaisons N1—C8 [1,4178 (15) Å], N2—C13 [1,4115 (14) Å], O1—C1 [1,3545 (14) Å], O2—C20 [1,3510(14) Å] montrent par contre qu'elles sont des liaisons simples.

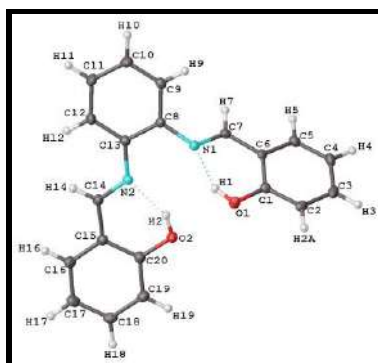


Figure 15 : Vue ORTEP de la structure cristalline du ligand H_2LB

3.2.2 Description de la structure cristalline du complexe $[Cu(L)]_4$

Le complexe cristallise dans le système monoclinique avec le groupe d'espace $P2_1/c$. La vue ORTEP est représentée à la figure 3. L'unité asymétrique est constituée de quatre centres Cu indépendants sur le plan cristallographique, avec des géométries planes carrées. La géométrie autour des atomes de Cu, qui sont tétracoordinés, est déterminée par l'indice de distorsion ou le paramètre de tétragonalité $\tau_4 = (360^\circ - \alpha - \beta)/141^\circ$ où α et β sont les deux plus grands angles autour de ces derniers. Les valeurs attendues pour τ_4 sont zéro pour un plan carré parfait et un pour un tétraèdre parfait. La valeur de τ_4 , qui est de 0,100 (Cu1), 0,037 (Cu2), 0,036 (Cu3) et 0,075 (Cu4) suggère une géométrie plane carrée déformée. Chaque ion Cu est coordonné aux deux atomes d'azote azométhinique et aux deux atomes d'oxygènes phénolates. Les longueurs de liaison dans le plan carré autour du Cu sont presque égales dans les deux cas. Les longueurs O-Cu et O-N sont respectivement comprises entre [1,891(2)-1,917(2) Å] et [1,936(2)-1,954(2) Å]. Les valeurs des angles O-Cu-O et N-Cu-N sont respectivement comprises entre 83,71(10)-84,17(11)° et 86,51(8)-89,98(10)°. Les angles O-Cu-N sont les plus grands angles cissoïdes autour des atomes de Cu [92,90(10)-95,10(9)°]. Chaque ligand forme, lors de la coordination, deux anneaux à six membres de type CuOCCCN et un anneau à cinq membres CuNCCN. Les valeurs des angles transoïdes O-Cu-N sont comprises entre [171,34(15)-178,76(9)°].

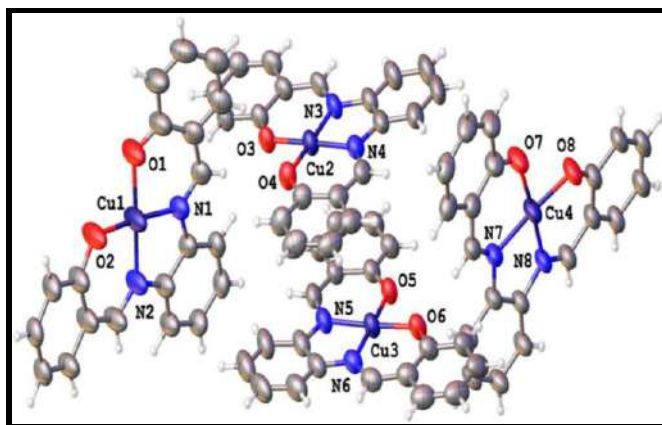


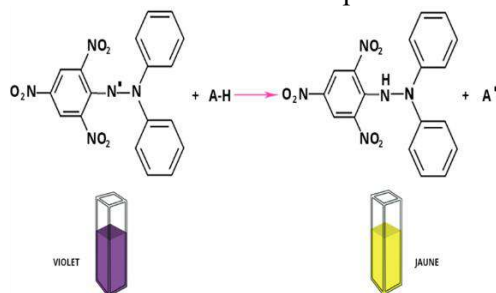
Figure 3 : Structure cristalline du complexe $[Cu(L)]_4$

3.2. Etude des propriétés antioxydantes du ligand et du complexe

Pour évaluer l'activité antioxydante de ces composés, nous avons utilisé la méthode de balayage au DPPH qui consiste à mesurer le pouvoir antioxydant des composés en utilisant comme référence l'acide ascorbique.

Mode opératoire :

Une quantité de 4 mg de poudre de DPPH est dissoute dans 100 ml d'éthanol. La solution a été conservée pendant 12 heures à l'abri de la lumière avant utilisation. Les composés ont été dissouts dans 1 mL d'ETOH. Dans chaque tube contenant 0,1 mL d'une concentration de ligand ou de complexe, on y ajoute 3,9 mL de la solution de DPPH. Les composés ont été testés à différentes concentrations. Après conservation des tubes à l'obscurité pendant 30 minutes, la lecture de l'absorbance se fait à la spectrophotométrie à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. La figure 4 montre le tracé des courbes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration



Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

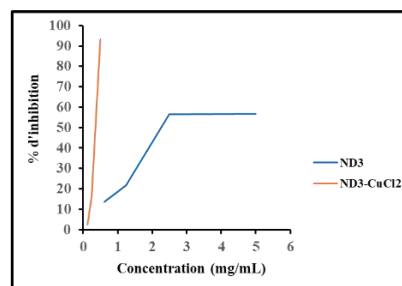


Figure 4 : Activité antioxydante du ligand et de son complexe

L'analyse des courbes montre que le complexe (avec une CI_{50} de 0,36 mg/mL) est plus actif que le ligand libre ($CI_{50} = 2,25$ mg/mL) mais est moins actif que la référence qui est l'acide ascorbique 0,078 mg/mL.

4. Conclusion

Dans ce travail, nous avons synthétisé et caractérisé par les spectroscopies FTIR, RMN et UV-visible ainsi que par des mesures de magnétisme et de conductance un ligand base de Schiff et son complexe dérivé de cuivre (II). Les structures de ces composés ont été confirmées par la technique de diffraction aux rayons X. Chaque ion Cu (II) du complexe est coordonné par une molécule de ligand qui agit de manière tétradentate par l'intermédiaire de deux atomes d'azote azométhiniques et de deux atomes d'oxygènes phénolates. Le polyèdre de coordination autour de chaque centre de Cu (II) est mieux décrit comme une géométrie planaire carrée déformée. L'étude comparative des propriétés antioxydantes des composés a permis de conclure que le complexe est plus actif que le ligand libre. En perspective, nous comptons d'étudier les propriétés magnétiques et anti-inflammatoires du complexe.

5. Bibliographie :

- [1]- Diouf et al., (2023), Synthesis, Spectroscopic Studies And X-Ray Structure Determination Of A Tetranuclear Copper Complex Derived From The Schiff Base Ligand N,N'-Bis(Salicylidene)Diaminobenzene, *Journal of Applied Chemistry*, 16, 01-07.
- [2]- Shahraki, S. (2022). Schiff base compounds as artificial metalloenzymes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 218, 112727.

- [3]- Gur'eva et al., (2022). Copper(II) complexes with terpene derivatives of ethylenediamine: synthesis, and antibacterial, antifungal and antioxidant activity. *RSC Advances*, 12(15), 8841–8851.
- [4]- Liu et al., (2022), Biomimetic catalytic aerobic oxidation of C–sp(3)–H bonds under mild conditions using galactose oxidase model compound Cu II, *Chemical Science*, 13(33), 9560–9568.
- [5]- Reed et al., (2021), Molecular understanding of heteronuclear active sites in heme–copper oxidases, nitric oxide reductases, and sulfite reductases through biomimetic modelling, *Chemical Society Reviews*, 50(4), 2486–2539.

Nouveau matériau à base de complexe Fe (III) trichlorure dérivé du ligand N'-(thiophène-2-ylméthylène) isonicotinohydrazide bidenté : Synthèse, structure aux rayons X, caractérisation spectrale et étude électrochimique

Dame Gadiaga ^{a,b}, Adama Sy ^{a,b}, Cheikh Ndoye ^a, Bocar Traoré ^a, Grégory Excoffier ^c, Ousmane Diouf ^a et Mohamed Gaye ^{a*}

^a LCCO Département Chimie, Université Cheikh Anta DIOP, Dakar, Sénégal.

^b LSAO-MED, Gaston Berger Université, Saint-Louis, Sénégal.

^c Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Marseille, FSCM, Spectropole, Marseille, France
damegadiaga@gmail.com

Résumé

Les bases de schiff obtenues par condensation de nicotinique hydrazide et d'un cétoprécurseur, sont largement utilisées dans la synthèse des complexes de métaux de transition. Ces ligands en plus de leurs activités biologiques avérées présentent un intérêt théorique particulier, dû à la possibilité d'obtenir une grande variété de complexes de type monomère ou polymère. A ce titre, un complexe de Fe (III) dérivé du ligand (E)-N'-(thiophène-2-ylméthylène) isonicotinohydrazide a été synthétisé et caractérisé par conductance électrique dans des solvants non aqueux, spectroscopies FT-IR et électronique, mesure magnétique à température ambiante, étude électrochimique ainsi que la détermination de la structure par diffraction des rayons X. Dans le complexe, le ligand agit sous sa forme bidentate neutre, se coordonnant par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène du groupement carbonyle et de l'atome d'azote azométhinique. La géométrie octaédrique à spin élevé attribuée au complexe de Fe (III) a été confirmée par les données magnétiques. L'étude électrochimique montre qu'un processus à un électron a déterminé la réaction électrochimique qui est gouvernée par un transfert d'électron avec un processus irréversible. La structure du complexe a également été déterminée par diffraction des rayons X, révélant un environnement octaédrique autour de l'ion Fe (III).

Mots clés : Ligand, complexe, bidentate

New material based on Fe(III) trichloride complex derived from the bidentate N'-(thiophene-2-ylmethyle) isonicotinohydrazide ligand: Synthesis, X-ray structure, spectral characterization and electrochemical study

Summary

Schiff bases obtained by condensation of nicotinic hydrazide and a ketoprecursor are widely used in the synthesis of transition metal complexes. In addition to their proven biological activities, these ligands are of particular theoretical interest, due to the possibility of obtaining a wide variety of monomeric or polymeric complexes.

To this end, an Fe (III) complex derived from the ligand (E)-N'-(thiophene-2-ylmethyle) isonicotinohydrazide was synthesised and characterised by electrical conductance in non-aqueous solvents, FT-IR and electron spectroscopy, magnetic measurement at room temperature, electrochemical study, and structural determination by X-ray diffraction. In the complex, the ligand acts in its neutral bidentate form, coordinating via the oxygen atom of the carbonyl group and the azomethine nitrogen atom. The high-spin octahedral geometry attributed to the Fe (III) complex was confirmed by the magnetic data. The electrochemical study shows that a one-electron process determined the electrochemical reaction, which is governed by electron transfer with an irreversible process. The structure of the complex was also determined by X-ray diffraction, revealing an octahedral environment around the Fe (III) ion.

Key words: Ligand, complex, bidentate

1. Introduction

Les bases de Schiff hydrazones forment une classe de composés organiques synthétisés par la réaction de condensation d'un composé de type $R_1R_2C=NNH_2$ et de composés de type $R_3R_4C=O$ ou $R_5HC=O$. Ces composés, qui peuvent présenter des sites donneurs tels que O, N ou S, sont des ligands utiles largement utilisés en chimie de coordination. En fonction de leur topologie et de la nature des substituants, ils peuvent agir avec l'ion métallique de manière bidentée, tridentée ou tétradentée. Ces types de ligands peuvent agir sous des formes neutres ou déprotonées en raison de la tautomérisation des céto-énols qui peut se produire aussi bien en solution qu'à l'état solide [1-4]. Les bases de Schiff dérivées de l'hydrazide nicotinique ou isonicotinique sont largement étudiées en chimie de coordination pour leur capacité à lier les ions métalliques par l'intermédiaire de l'atome d'azote azométhine, de l'atome d'oxygène carbonyle et de l'atome d'azote pyridine [5-11]. Ces faits renforcent l'intérêt des chimistes de coordination pour ces ligands et leurs analogues. Des travaux de recherche impliquant des métaux de transition et des hydrazides nicotiniques ou isonicotiniques ont fait état de composés présentant des propriétés intéressantes telles que la fluorescence [12-14], le magnétisme [15], l'activité de piégeage du radical

superoxyde [16], l'activité antibactérienne [17,18], l'activité catalytique [19,20] et l'activité antitumorale [21,22]. À cet égard, dans le cadre de notre étude sur les complexes hydrazones [23-29], nous avons préparé et caractérisé le ligand hydrazone (E)-N'-(thiophène-2-ylméthylène) isonicotinohydrazide (HL) et son complexe Fe (III) et nous avons étudié la structure des composés et leurs propriétés électrochimiques.

2. Matériel et méthodes

Le 2-thiophène-carbaldéhyde, l'hydrazide d'acide isonicotinique et le $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ont été achetés auprès d'Aldrich et utilisés sans autre purification. Les solvants étaient de qualité réactive et ont été purifiés par les méthodes habituelles. Les analyses élémentaires ont été effectuées dans un microanalyseur Carlo-Erba EA. Les spectres infrarouges ont été enregistrés avec un spectromètre FTIR Spectrum Two de Perkin Elmer dans la région 4000-400 cm^{-1} . Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés en dmsO-d_6 sur un spectromètre Bruker 500 MHz à température ambiante en utilisant le TMS comme référence interne. Les spectres UV-Vis ont été réalisés sur un spectrophotomètre UV/Visible Perkin-Elmer Lambda 365 (1000-200 nm). La conductance molaire de 10-3 M dans une solution de DMF du complexe métallique a été mesurée à 25 °C à l'aide d'un conductimètre WTW LF-330 équipé d'une cellule de conductivité WTW. La susceptibilité magnétique du complexe à température ambiante a été mesurée à l'aide d'une balance de susceptibilité magnétique Johnson Matthey scientifique {calibrant $\text{Hg}[\text{Co}(\text{SCN})_4]$ }. Les points de fusion ont été enregistrés sur un appareil Büchi et sont incorrects.

2.1 Synthèse du ligand (E)-N'-(thiophène-2-ylméthylène)isonicotinohydrazide (HL)

Dissoudre 2 g (14,58 mmol) d'hydrazide isonicotinique dans un ballon contenant 30 ml de méthanol, ajouter 2,4 g (21,14 mmol) de 2-thiophène-carboxaldéhyde et deux gouttes d'acide acétique glacial. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. La solution claire ainsi obtenue est filtrée à chaud. Après refroidissement, le précipité blanc qui apparaît est lavé avec du méthanol puis séché dans un dessiccateur contenant du P_2O_5 . Rendement : 80%. Tf : $> 260^\circ\text{C}$. Anal. calcd. pour $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_3\text{OS}$: % C 57.13 ; % H 3.92 ; % N 18.17 ; % S 13.86. Trouvé : % C 57.11 ; % H 3.90 ; % N 18.15 ; % S 13.86. IR ($\square$, cm^{-1}) : 1662 [$\nu(\text{C}=\text{O})$ amide] ; 1630 [$\nu(\text{C}=\text{N})$], 1594-1407 [$\nu(\text{C}=\text{N}) + \nu(\text{C}=\text{Ar})$], 1065 [$\nu(\text{N}-\text{N})$ azométhine]. RMN ^1H [DMSO ; $\delta(\text{ppm})$] : 7,14-8,68 (7H, anneaux H), 12 (s, 1H, OH-iminole). ^{13}C NMR [dmsO-d_6 ; $\delta(\text{ppm})$] : 161,91 [(C-iminole)] ; 144,77 [C=N] ; 122,03-150,79 [C_{Ar}].

2.2 Synthèse du complexe de Fe(III) (1)

Introduire dans un ballon de 100 mL contenant 10 mL de méthanol, 0,193 g (1 mmol) du ligand HL. 5 mL d'une solution de méthanol contenant 0,1988 g (1 mmol) de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ont été ajoutés à la suspension résultante. Le mélange est agité à température ambiante pendant une heure. La solution claire obtenue est filtrée et le filtrat est soumis à une évaporation lente. Quelques jours plus tard, des cristaux bruns convenant à la diffraction des rayons X ont été récupérés et lavés avec de l'éther diéthylique. IR ($\square$, cm^{-1}) : 3276 ; 3186 ; 3142 ; 3070 ; 1658 ; 1595 ; 1557 ; 1470 ; 1362 ; 1185 ; 1154 ; 1027 ; 829. UV-vis (Solution, DMF, nm) : 219 ; 357 ; 421. $\mu_{\text{eff}}(\mu\text{B}) = 5.47$. Δ (Solution, DMF, Ω -1. cm^2 .mol $^{-1}$) : solution fraîche 50 ; deux semaines plus tard : 52.

2.3 Collecte de données radiographiques, détermination et affinement de la structure

Les cristaux uniques de HL et de 1 ont été cultivés par évaporation lente d'une solution de méthanol du complexe correspondant. Les cristaux appropriés ont été sélectionnés et montés sur un diffractomètre Rigaku Oxford Diffraction Super Nova au rayonnement $\text{MoK}\alpha$. Le cristal a été maintenu à 299(2) K pendant la collecte des données. En utilisant Olex2 [30], la structure a été résolue avec le programme de solution de structure SHELXT [31] en utilisant des méthodes directes et affinée avec le package d'affinage SHELXL [32]. Les détails cristallographiques des composés HL et 1 sont résumés dans le tableau 1, et les longueurs de liaison, les angles de liaison des composés sont répertoriés dans le tableau 3, respectivement. Les graphiques moléculaires ont été générés à l'aide d'ORTEP-3 [33].

Table 1. Crystal data and structure refinement for HL and 1

Chemical formula	C ₁₁ H ₉ N ₃ OS (HL)	C ₁₂ H ₁₃ Cl ₃ FeN ₃ O ₂ S (1)
Mr	231.27	425.51
Crystal system	Monoclinic	Triclinic
Space group	Cc	P-1
Temperature (K)	299	299
a (Å)	10.0287 (4)	6.0713(1)
b (Å)	13.6033 (3)	10.1910(2)
c (Å)	8.5626 (3)	13.8844(2)
α (°)	90	84.995(1)
β (°)	111.369 (4)	79.633(1)
γ (°)	90	75.255(1)
V (Å ³)	1087.83 (7)	816.44(2)
Z	4	2
Radiation type	Mo K α	Mo K α
μ (mm ⁻¹)	0.28	1.55
Crystal size (mm)	0.22 × 0.12 × 0.08	0.22 × 0.14 × 0.10
Tmin, Tmax	0.673, 1.000	0.673, 1.000
No. of measured	10035	15434
No. of independent reflections	1908	2897
No. of observed [$I > 2\sigma(I)$] reflections	1721	2443
R_{int}	0.037	0.034
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0.031	0.030
$wR(F^2)$	0.076	0.071
GOF	1.09	1.05
No. of reflections	1908	1897
No. of parameters	145	207
No. of restraints	2	3
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	0.11, -0.18	0.45, -0.22

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Étude générale

"Le spectre IR du ligand libre présente une bande intense à 1662 cm⁻¹ attribuée à la vibration ν C=O du groupe amide" [34]. "La bande observée à 1630 cm⁻¹ est attribuée aux vibrations ν C=N du groupe imine" [35,36] et "les absorptions apparaissant dans la région 1594-1407 cm⁻¹ sont dues aux vibrations ν C=C et ν C=N des anneaux aromatiques" [37]. Les bandes d'absorption pointées dans la région 1393-1222 cm⁻¹ sont attribuées aux vibrations ν C-N du groupe amide et celle observée à 1065 cm⁻¹ est due à la vibration ν N-N de la fraction azométhine. La présence de la vibration de la liaison C-N indique strictement l'existence du ligand sous sa forme amide à l'état solide. Ceci est confirmé par la présence de la vibration ν N-H à 3428 cm⁻¹. La bande assez large centrée sur 3675 cm⁻¹, attribuée à la vibration ν O-H des molécules d'eau libre, suggère que le ligand est hydraté. Les vibrations de déformation des liaisons -C-H des anneaux aromatiques sont observées dans la région 999-740 cm⁻¹. Les spectres RMN 1H et 13C du ligand ont été enregistrés en dmso-d₆. Le spectre RMN 1H révèle un signal à 12,00 ppm qui est attribué aux protons -OH. Ce fait suggère qu'une iminolisation du ligand a lieu en solution [-NHC=O $\leftrightarrow$ N=C(OH)-]. Le signal observé à 8,78 ppm est attribué au proton azométhine. Les signaux des protons aromatiques apparaissent dans la plage 7,14-8,68 ppm. Dans le spectre RMN 13C, le signal dû à l'atome de carbone azométhine (H-C=N) pointe à 144,57 ppm. L'atome de carbone de l'iminol [-N=C(OH)-] [34] présente un signal à 161,91 ppm confirmant l'iminolisation. Le spectre électronique du ligand enregistré dans une solution diluée de DMF montre une absorption intense à 323 nm attribuée aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ des noyaux aromatiques et/ou $n \rightarrow \pi^*$ de la fonction imine du ligand. Lors de la coordination, le spectre IR du complexe montre un déplacement vers les basses fréquences de la bande d'absorption due au ν C=N qui pointe à 1610 cm⁻¹. La valeur ν C=O diminue de 1662 cm⁻¹ dans le spectre du ligand libre à 1635 cm⁻¹ dans le spectre du complexe. Ces observations indiquent l'implication de l'atome d'azote azométhine et de l'atome d'oxygène du groupe amide dans la coordination avec le métal. La bande à 3300 cm⁻¹ est due à $\square$ OH du méthanol coordonné. Les mesures de conductivité molaire du complexe effectuées à partir d'une solution millimolaire fraîchement préparée de DMF (50 Ω -1.cm².mol⁻¹) et deux semaines plus tard (52 Ω -1.cm².mol⁻¹) indiquent que le complexe est un électrolyte neutre selon Geary [38]. "La légère augmentation de la valeur est indicative d'une bonne stabilité du complexe en solution DMF. Le spectre électronique du complexe enregistré en solution DMF montre des absorptions à 323 nm et 442 nm qui sont respectivement attribuées aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ de l'anneau aromatique et/ou $n \rightarrow \pi^*$ de la fraction azométhine et aux transferts de charge du ligand vers le métal. Le complexe présente un moment magnétique de 5,47 μ B correspondant à cinq électrons non appariés" [39].

3.2 Électrochimie

Les propriétés électrochimiques du ligand et du complexe ont été étudiées par la méthode de voltampérométrie cyclique. Les voltammogrammes ont été enregistrés à partir d'une solution d'eau distillée dans laquelle est utilisé un système à trois électrodes comprenant une électrode de travail (GCE), une électrode de référence Ag/AgCl et une contre-électrode en fil d'acier inoxydable. L'étude électrochimique est particulièrement axée sur le comportement redox du ligand et du complexe dans la solution d'eau utilisée comme électrolyte. Un balayage de potentiel dans la gamme de potentiel comprise entre -0,5 et 0,8 V par rapport à Ag/AgCl, imposant une vitesse de balayage égale à 20 mV/s a été réalisé pour le ligand et le complexe. L'étude qualitative du voltammogramme enregistré dans la solution du ligand (Fig. 1) a révélé la présence d'un pic anodique et d'un pic cathodique respectivement aux potentiels 0,3 V et -0,2 V. Ces pics anodiques et cathodiques sont dus respectivement à l'oxydation et à la réduction du ligand.

L'étude du comportement électrochimique du complexe montre la présence d'un faible pic anodique à -0,14 V suivi d'un large pic anodique autour de 0,42 V et d'un pic cathodique qui sort au potentiel de -0,2 V. La bande au potentiel autour de -0,2 V correspond à la réduction du fer (III) en fer (II). Cette réduction résulte probablement de la rupture de la liaison métal-chlorure selon la réaction $[\text{Fe(III)(HL)(Cl)}_3(\text{MeOH})] + e^- \rightarrow [\text{Fe(II)(HL)(Cl)}_2(\text{MeOH})] + \text{Cl}^-$. On constate que la différence de potentiel est plus importante dans le complexe que dans le ligand. Ceci montre l'aspect purement électronique du complexe par rapport au ligand avec l'apparition d'un couple redox aux potentiels les plus élevés, montrant ainsi la présence d'un dans la solution qui confirme la formation du complexe. L'étude des voltammogrammes cycliques avec différentes vitesses de balayage entre 10 et 45 mV/s (Fig. 2) montre une augmentation des intensités des pics de courant anodique et cathodique en fonction de la vitesse de balayage. De plus, on note que l'allure des courbes n'est pas déformée même à des vitesses de balayage élevées (45 mV/s), ce qui prouve qu'il n'y a pas de décomplexation. Ensuite, le pic de potentiel anodique se déplace positivement tandis que le pic cathodique se déplace vers des potentiels négatifs, montrant que la réaction électrochimique est gouvernée par un processus de transfert d'électrons. De même, l'espacement entre les pics (tableau 2) augmente avec la vitesse de balayage, ce qui indique un processus irréversible. Les courants de pointe anodiques et cathodiques varient linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage (figure 3). Ces résultats suggèrent que le processus est régi par un processus de diffusion électrochimique.

3.3 Structure du ligand HL

Le complexe cristallise dans le système monoclinique avec un groupe spatial Cc. Le diagramme ORTEP est représenté à la figure 4 et les distances et angles des liaisons sélectionnées sont résumés dans le tableau 3. Le ligand adopte une configuration E par rapport à la liaison C5=N3. Le fragment carbonohydrizide est presque coplanaire avec l'anneau thiophénique, avec un angle dièdre de 4,09(1)° entre leurs plans moyens. Le plan moyen de l'anneau pyridinique est fortement tordu à l'opposé des plans moyens de l'anneau thiophénique et du groupement carbonohydrizide, avec des valeurs d'angle diédral de 30,62(1)° et 29,13(1)°, respectivement. Le groupement hydrazone est assez plan avec une déviation maximale du plan des moindres carrés de 0,024(2) Å pour l'atome C6. La longueur de la liaison C6=O1 de 1,224 (4) Å, caractéristique d'une double liaison, indique la non-iminolisation de la molécule. Seule la forme céto de la molécule est présente. Cette observation est consolidée par les distances de liaison 1,338 (4) Å [N2-C6] et 1,387 (3) Å [N3-N2] qui indiquent une liaison simple et la distance de liaison de 1,260 (4) Å [N3-C5] qui indique une liaison double. Ces distances sont comparables à celles du composé 3-([[(thiophène-2-yl)méthylidène]hydrazinyl]carbonyl)chlorure de pyridinium dihydraté [40]. Les O1 et N3 sont en conformation syn par rapport à la liaison C6-N2 [O1-C6-N2-N3 = 5,6(5)°]. L'atome de soufre du cycle thiophénique et l'atome N3 sont en conformation syn par rapport à la liaison C4-C5 [S1-C4-C5-N3 = -1.6(5)]. L'empaquetage des molécules révèle que les feuilles des différentes unités sont reliées par une liaison hydrogène intermoléculaire impliquant la fraction hydrazinyle -NH et -CH comme donneur et l'atome d'azote pyridinique comme accepteur (N2-H2---N1i et C5-H5---N1i : i = x-1/2, -y+3/2, z-1/2) résultant en une boucle 6) comme le montre la Fig. 4. Une liaison hydrogène intermoléculaire supplémentaire impliquant -CH comme donneur et un atome d'azote azométhine comme accepteur (C1-H1-N3ii : ii = x-1/2, -y+1/2, z-1/2) est observée. Les couches moléculaires formées sont presque parallèles au plan ac (tableau 4 et figure 5). Ces couches s'empilent le long de l'axe b.

3.4 Structure du complexe (I)

Le complexe cristallise dans le système triclinique avec un groupe spatial P-1. Le diagramme ORTEP est représenté à la figure 6 et les distances et angles des liaisons sélectionnées sont résumés dans le tableau 3. L'unité asymétrique contient une action Fe(III), une molécule de ligand neutre, trois anions chlorure coordonnés et une molécule de méthanol coordonnée. Le ligand agit de manière bidentée par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène

du carbonyle et de l'atome d'azote de l'azométhine. L'atome de soufre de l'anneau thiophénique et l'atome d'azote de l'anneau pyridinique ne sont pas coordonnés. Le cation Fe(III) se trouve dans des environnements de coordination approximativement octaédriques. La sphère de coordination du Fe1 est rempli par le carbonyle O1 [Fe1-O1 = 1,9776 (17) Å], l'atome d'azote N3 de la fraction azométhine azométhine [Fe1-N3 = 2.166 (2) Å] ; l'atome d'oxygène l'atome d'oxygène O2 de la molécule de méthanol coordonnée [Fe1-O2 = 2,0948 (18) Å] et trois anions chlorures coordonnés [Fe1-O2 = 2,0948 (18) Å]. anions chlorures coordonnés [Fe1-Cl1 = 2.3105 (7) Å ; Fe1-Cl2 = 2.3317 (7) Å ; Fe1- Cl3 = 2.4037 (7) Å]. Les longueurs des liaisons Fe-Cl sont légèrement plus longues que les valeurs rapportées pour le complexe FeLCl dans lequel HL = 5-(2-(2-hydroxyphényl) hydrazono)-hydroxyphényl)hydrazono)-2,2-diméthyl4,6- dione [41]. L'environnement autour de Fe1 est mieux l'environnement de Fe1 est le mieux décrit par une géométrie octaédrique. Le meilleur plan équatorial du polyèdre autour de l'ion Fe(III) est constitué par le plan équatorial de l'ion Fe(III). Fe(III) est constitué par deux atomes de la molécule de base de Schiff deux molécules chélatrices de la base de Schiff, un atome d'oxygène de la molécule de méthanol coordonnée. de la molécule de méthanol coordonnée et un anion chlorure terminal (rms 0.00485) avec l'ion Fe(III) à 0,0687(7) Å de ce plan. Les positions axiales sont occupées par deux anions chlorure terminaux Les positions axiales sont occupées par deux anions chlorure terminaux Cl3-Fe1-Cl1 [168.85(3)°]. Les angles autour de Fe1 s'écartent fortement des valeurs idéales de 90 et 180°. les valeurs idéales de 90 et 180° attendues pour un octaèdre parfait. d'un octaèdre parfait. Les angles cissoïdes varient de 87,32(6) à 94,36(3)°, tandis que les angles transoïdes sont 163.92(7)° [O1-Fe1-O2] et 165.43(6)° [O1-Fe1-O2]. 165,43(6)° [N3-Fe1-Cl2]. Les liaisons hydrogène intermoléculaires faibles de type C-H-Cl [C12-H12C---Cl1] entraîne la formation d'une formation d'un anneau S(6). Liaison hydrogène intermoléculaire intermoléculaire de type O-H---Cl [O2-H2-Cl2i ; i = x-1, y, z] et N-H---Cl [N1-H1-Cl3ii ; ii = -x+2, -y+1, -z+1] relie les molécules. En outre C-H---Cl faible [ie. C2- H2A---Cl1iii ; iii = -x, -y+1, -z+2] (tableau 5) ont étendu la structure en un réseau tridimensionnel (Fig. 7).

Table 2. Summary of peak potentials at different scan rates

V (mV/s)	V ^{1/2} (mV/s) ^{1/2}	E _{p_{ox}} (V)	E _{p_{red}} (V)	ΔE _p (V)
10	3.16	0.358	-0.100	0.458
15	3.87	0.370	-0.146	0.516
20	4.47	0.394	-0.170	0.564
25	5	0.410	-0.226	0.636
30	5.47	0.422	-0.240	0.662
35	5.91	0.432	-0.252	0.684
40	6.32	0.438	-0.266	0.704
45	6.70	0.448	-0.278	0.726

Table 3. Selected geometric parameters (Å, °)

HL			
O1—C6	1.224 (4)	N3—C5	1.260 (4)
N3—N2	1.387 (3)	N2—C6	1.338 (4)
1			
Fe1—Cl3	2.4037 (7)	Fe1—O1	1.9776 (17)
Fe1—Cl1	2.3105 (7)	Fe1—O2	2.0948 (18)
Fe1—Cl2	2.3317 (7)	Fe1—N3	2.166 (2)
Cl1—Fe1—Cl3	168.85 (3)	O2—Fe1—Cl3	80.03 (5)
Cl1—Fe1—Cl2	94.36 (3)	O2—Fe1—Cl1	89.29 (6)
Cl2—Fe1—Cl3	91.39 (3)	O2—Fe1—Cl2	104.28 (6)
O1—Fe1—Cl3	92.51 (5)	O2—Fe1—N3	89.91 (8)
O1—Fe1—Cl1	97.03 (6)	N3—Fe1—Cl3	87.82 (6)
O1—Fe1—Cl2	90.01 (5)	N3—Fe1—Cl1	89.00 (6)
O1—Fe1—O2	163.92 (7)	N3—Fe1—Cl2	165.43 (6)
O1—Fe1—N3	75.50 (7)	Cl3—Fe1—Cl1	168.85 (3)

Table 4. Hydrogen-bond geometry (Å, °) for HL

D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
N2—H2...N1 ⁱ	0.86	2.26	3.102 (4)	166.7
C5—H5...N1 ⁱ	0.93	2.67	3.497 (4)	149.2
C1—H1...N3 ⁱⁱ	0.93	2.69	3.612 (4)	171.2

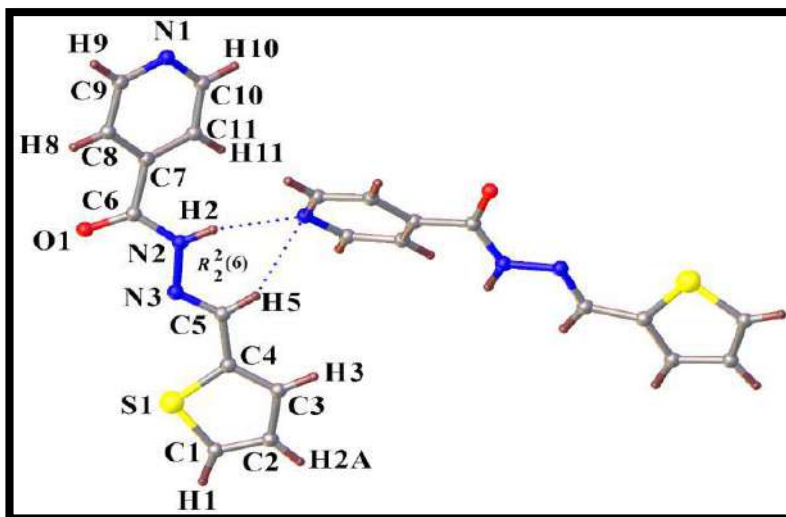
 Symmetry codes: (i) $x-1/2, -y+3/2, z-1/2$; (ii) $x-1/2, -y+1/2, z-1/2$.


Figure 1: structure cristalline du ligand

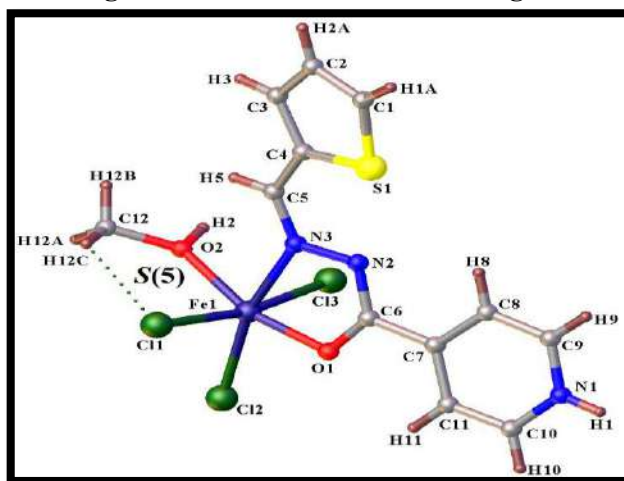


Figure 2: structure cristalline du complexe

4. Etude des propriétés électrochimiques du ligand et du complexe

Les propriétés électrochimiques du ligand et du complexe ont été étudiées par la méthode voltammétrie cyclique. Les voltammogrammes ont été enregistrés à partir d'une solution d'eau distillée dans lequel on utilise un système à trois électrodes comprenant une électrode de travail (GCE), une électrode de référence Ag/AgCl et une contre électrode en fil d'acier inoxydable. L'étude électrochimique est particulièrement axée sur le comportement redox du ligand et du complexe dans la solution d'eau utilisée comme électrolyte. Un balayage de potentiel dans la plage de potentiel comprise entre -0.5 à 0.8 V par rapport à Ag/AgCl, imposant une vitesse de balayage égale à 20 mV/s a été réalisé pour le ligand et le complexe. L'étude qualitative du voltammogramme enregistré dans la solution du ligand (Isonicotinic acid thiophene-2-ylmethylene-hydrazide) (**figure 1**) a révélé la présence d'une vague anodique et d'une vague cathodique respectivement aux potentiels 0.3 V et -0.2 V. Ces bandes anodiques et cathodiques sont dues respectivement à l'oxydation et à la réduction des atomes d'oxygène ou d'azote du ligand. L'étude du comportement électrochimique du complexe montre la présence d'une faible vague anodique à -0.14V suivie d'une large vague anodique vers 0.42 V et d'une vague cathodique qui sort au potentiel -0.2 V. La bande qui apparaît vers -0.14 V est attribuée à l'oxydation du méthanol [1] tandis que la bande large observée vers 0.42 V correspond à la fois à l'oxydation du Fe (III) [2] et du chlore [3]. Enfin, celle au potentiel -0.2 V correspond à

la réduction du chlore [4]. Nous notons que la différence de potentiels est plus importante dans le complexe (**Fe** (**HL_A**)**Cl₃MeOH**) comparé à celui du ligand (Isonicotinic acid thiophene-2-ylmethylene-hydrazide). Ce qui montre l'aspect purement électronique du complexe vis à vis du ligand avec l'apparition de couple redox aux potentiels les plus élevés montrant ainsi la présence d'un nouveau couple dans la solution, ce qui confirme la formation du complexe.

4.1. Etude cinétique du complexe [Fe (HL_A)Cl₃MeOH]

L'étude des voltammogrammes cycliques avec différentes vitesses de balayage compris entre 10 à 45 mV/s (**Figures 2**) permet de constater une augmentation des intensités des courants de crête anodique comme cathodique en fonction de la vitesse de balayage. De plus, nous notons que l'aspect des courbes n'est pas déformé même à des vitesses de balayage élevées (45 mV/s), ce qui prouve qu'il n'y a pas de décomplexation. Ensuite, le pic de potentiel anodique se déplace positivement tandis que le pic cathodique se déplace vers les potentiels négatifs, montrant que la réaction électrochimique est régie par un processus de transfert d'électrons. De même, l'espacement entre les pics (**Tableau 1**) augmente avec la vitesse de balayage, indiquant un processus irréversible. Les courants de crête anodique comme cathodique varie linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage (**Figure 3**). Ces résultats suggèrent que le processus est régi par un processus électrochimique de diffusion, qui sera idéal pour une analyse quantitative dans des applications pratiques.

CONCLUSION

Le ligand HL et son complexe de fer(III) ont été préparés et caractérisés par l'analyse des éléments, les spectroscopies ¹H et ¹³C NMR ? IR, UV-Vis, le moment magnétique et la conductivité molaire. Les structures du ligand et du complexe ont été établies par diffraction des rayons X simples. Le ligand, qui possède quatre sites de coordination potentiels, n'agit que de manière bidentée par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène du carbonyle et de l'atome d'azote de l'azométhine ; l'atome de soufre du thiophène et l'atome d'azote de la pyridine ne sont pas coordonnés. La molécule de ligand réagit en mode non déprotoné. Ces complexes de Fe(III) sont des électrolytes neutres dans une solution de DMF. La valeur du moment magnétique du composé indique un complexe mononucléaire, comme le confirme la diffraction des rayons X.

REFERENCES

1. Ngororabanga JMV, Dembaremba TO, Mama N, Tshentu ZR. Azo-hydrazone tautomerism in a simple coumarin azo dye and its contribution to the naked-eye detection of Cu²⁺ and other potential applications. *Spectroch. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2023;289:122202. Available: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.122202>
2. Zengin A, Serbest K, Emirik M, Özil M, Menteşe E, Faiz, Ö. Binuclear Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of hydrazone Schiff bases: Synthesis, spectroscopy, DFT calculations, and SOD mimetic activity. *J. Mol. Struct.* 2023;1278:134926. Available: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.134926>
3. Tamboura FB, Haba PM, Gaye M, Sall AS, Barry AH, Jouini T. Structural studies of bis-(2,6-diacetylpyridine-bis-(phenylhydrazone)) and X-ray structure of its Y(III), Pr(III), Sm(III) and Er(III) complex. *Polyhedron.* 2004;23(7):1191–1197. Available: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2004.01.014>
4. Raj BNB, Kurup MRP, Suresh E. Synthesis, spectral characterization and crystal structure of N-2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde-N'-4-nitrobenzoyl hydrazone and its square planar Cu(II) complex. *Spectroch. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2008;71(4):1253–1260. Available: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2008.03.025>
5. Lumme P, Elo H, Jänne J. Antitumor activity and metal complexes of the first transition series. Trans-bis(salicylaldoximate)copper(II) and related copper(II) complexes, a novel group of potential antitumor agents. *Inorg. Chim. Acta.* 1984;92(4):241–251. Available: [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)80045-6](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)80045-6)
6. Shahverdizadeh GH, Tiekink ERT, Mirtamizdoust B. *catena*-Poly[[lead(II)-μ-N'-[1-(pyridin-2-yl-κN)ethylidene]isonicotinohydrazidato-κ3N',O:N1] perchlorate]. *Acta Crystallogr, Sect. E: Crystallogr, Commun.* 2011; 67(12):m1727–m1728. Available: <https://doi.org/10.1107/S1600536811046691>
7. Shahverdizadeh GH, Tiekink ERT, Mirtamizdoust B. *catena*-Poly[[[bis(methanol-κO)lead(II)]-μ-N'-[1-(pyridin-2-yl-κN)ethylidene]isonicotinohydrazidato-κ3N',O:N1] perchlorate]. *Acta Crystallogr, Sect. E: Crystallogr Commun.* 2011;67 (12):m1729–m1730. Available: <https://doi.org/10.1107/S1600536811046769>
8. Sall O, Tamboura FB, Sy A, Barry AH, Thiam EI, Gaye M, Ellena J. Crystal structures of two CuII compounds: *Catena*-poly[[[chloridocopper(II)]-μ-N-[ethoxy(pyridin-2-yl)methylidene]- N'-[oxido(pyridin-3-yl)methylidene]hydrazine-κ4N,N',O:N''] and di-μ-chlorido-1:4κ2Cl:Cl-2:3κ2Cl:Cl-dichlorido-2κCl,4κCl-bis[μ3-ethoxy(pyridin-2-yl)methanolato-1:2:3κ3O:N,O;O;1:3:4κ3O:N,O;N,O]bis[μ2-ethoxy(pyridin-2-yl)methanolato-1:2κ3N,O;O;3:4κ3N,O;O]tetracopper(II). *Acta Crystallogr, Sect. E: Crystallogr, Commun.* 2019;75(7):1069–1075. Available: <https://doi.org/10.1107/S2056989019008922>
9. Faye M, Sow MM, Gaye PA, Dieng M, Gaye M. Crystal structures of bis-{N'-[1-(pyridin-2-yl-κN)ethylidene]nicotine hydrazide-κ2N',O}cobalt(II)bis(perchlorate) dihydrate and bis-{N'-[1-(pyridin-2-yl-κN)ethylidene]nicotinohydrazide-κ2N',O}copper(II)

- perchlorate. *Eur. J. Chem.* 2021;12(2):159–164.
Available:https://doi.org/10.5155/eurjchem.12.2.159-164.2074
10. Danilescu O, Bourosh PN, Petuhov O, Kulikova OV, Bulhac I, Chumakov YM, Croitor L. Crystal Engineering of Schiff Base Zn(II) and Cd(II) Homo- and Zn(II)M(II) (M = Mn or Cd) Heterometallic Coordination Polymers and Their Ability to Accommodate Solvent Guest Molecules. *Molecules.* 2021;26(8):2317.
Available:https://doi.org/10.3390/molecules26082317
11. Liu H-J, Yi R, Chen D-M, Huang C, Zhu B-X. Self-Assembly by Tridentate or Bidentate Ligand: Synthesis and Vapor Adsorption Properties of Cu(II), Zn(II), Hg(II) and Cd(II) Complexes Derived from a Bis(pyridylhydrazone) Compound. *Molecules.* 2021;26(1):109.
Available:https://doi.org/10.3390/molecules26010109
12. Jiang T, Tian L-C, Mo X-J, Chen D-M, Huang C, Zhu B-X, Zhu C. Synthesis, structural diversity, DFT and luminescence properties of Ni(II), Zn(II) and Cd(II) complexes derived from a 2, 2'-bipyridyl hydrazone Schiff base. *Polyhedron.* 2022; 221:115861.
Available:https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.115861
13. Zhang K, Yang Z, Wang B, Sun S-B, Li Y-D, Li T, Liu Z, An, J. A highly selective chemosensor for Al³⁺ based on 2-oxo-quinoline-3-carbaldehyde Schiff-base. *Spectroch. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2014;124:59–63.
Available:https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.12.076
14. Fan L, Li T, Wang B, Yang Z, Liu C. A colorimetric and turn-on fluorescent chemosensor for Al(III) based on a chromone Schiff-base. *Spectroch. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2014;118:760–764.
Available:https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.09.062
15. Li H, Xu G-C, Zhang L, Guo J-X, Jia D-Z. Structural diversity and properties of four complexes with 4-acyl pyrazolone derivative. *Polyhedron.* 2013;55:209–215.
Available:https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.03.024
16. Yang Z-Y. Synthesis, Characterization and scavenger effects on O₂ – of 3d Transition Metal Complexes of Isonicotinoyl hydrazone derived from isoniazid with PMBP. *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* 2000;30(7):1265–1271.
Available:https://doi.org/10.1080/00945710009351832
17. Devi J, Kumar S, Kumar D, Jindal DK, Poornachandra Y. Synthesis, characterization, in vitro antimicrobial and cytotoxic evaluation of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes derived from bidentate hydrazones. *Res. Chem. Intermed.* 2022;48(1):423–455.
Available:https://doi.org/10.1007/s11164-021-04602-8
18. Hayat M, Khan KM, Saeed S, Salar U, Khan M, Baig T, Ahmad A, Parveen S, Taha, M. Antimicrobial Activities of Synthetic Arylidine Nicotinic and Isonicotinic Hydrazones. *Lett. Drug Des. Discovery.* 2018;15(10):1057–1067. Available:https://doi.org/10.2174/1570180814666170914120337
19. Kargar H, Kaka-Naeini A, Fallah-Mehrjardi M, Behjatmanesh-Ardakani R, Amiri RH, Munawar KS. Oxovanadium and dioxomolybdenum complexes: synthesis, crystal structure, spectroscopic characterization, and applications as homogeneous catalysts in sulfoxidation. *J. Coord. Chem.* 2021;74(9–10):1563–1583.
Available:https://doi.org/10.1080/00958972.2021.1915488
20. Kargar H, Kargar K, Fallah-Mehrjardi M, Munawar KS. Syntheses, characterization, and catalytic potential of novel vanadium and molybdenum Schiff base complexes for the preparation of benzimidazoles, benzoxazoles, and benzothiazoles under thermal and ultrasonic conditions. *Monatsh. Chem.* 2021;152(6):593–605.
Available:https://doi.org/10.1007/s00706-021-02780-0
21. Iliev I, Kontrec D, Detcheva R, Georgieva M, Balacheva A, Galić N, Pajpanova T. Cancer cell growth inhibition by aroylhydrazone derivatives. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2019;33(1):756–763.
Available:https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1608302
22. Ashiq U, Jamal RA, Mesaik MA, Mahroof-Tahir M, Shahid S, Khan KM. Synthesis, Immunomodulation and Cytotoxic Effects of Vanadium (IV) Complexes. *Med. Chem.* 2014;10(3):287–299.
Available:https://doi.org/10.2174/15734064113099990033
23. Diouf O, Gaye M, Sall AS, Tamboura F, Barry AH, Jouini T. Crystal structure of diaqua-2,6-diacetylpyridine-bis(acetylhydrazone)copper(II) complex dinitrate hydrate, [Cu(C₁₃H₁₇N₅O₂)(H₂O)₂](NO₃)₂·H₂O. *Z. Krist-New Cryst. St.* 2001;216(1–4):443–444. Available:https://doi.org/10.1524/ncrs.2001.216.14.443
24. Haba PM, Gaye M, Sall AS, Barry AH, Jouini T. Crystal structure of aquabis(4-methyl-5-formyl-imidazolofuranoylhydrazone)-(trinitrato)praseodymium(III) monohydrate, Pr(H₂O)(C₉H₁₀O₂N₄)₂(NO₃)₃·H₂O. *Z. Krist-New Cryst. St.* 2004;219(2): 106–108.
Available:https://doi.org/10.1524/ncrs.2004.219.2.106
25. Sy A, Dieng M, Thiam IE, Gaye M, Retailleau P. Dichlorido{N'-[phenyl(pyridin-2-yl-κN)methylidene]isonicotinohydrazide-κ2N',O}zinc. *Acta Crystallogr, Sect. E: Crystallogr, Commun.* 2013;69(2):m108.
Available:https://doi.org/10.1107/S1600536813001281
26. Sow MM, Diouf O, Gaye M, Sall AS, Castro G, Pérez-Lourido P, Valencia L, Caneschi A, Sorace L. Sheets of Tetranuclear Ni(II) [2 × 2] Square Grids Structure with Infinite Orthogonal Two-Dimensional Water–Chlorine Chains. *Cryst. Growth Des.* 2013;13(10):4172–4176. Available:https://doi.org/10.1021/cg400885f
27. Tamboura FB, Diouf O, Barry AH, Gaye M, Sall, AS. Dinuclear lanthanide(III) complexes with large-bite Schiff bases derived from 2,6-diformyl-4-chlorophenol and hydrazides: Synthesis, structural characterization and spectroscopic studies. *Polyhedron.* 2012;43(1):97–103.
Available:https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.06.025
28. Seck TM, Gaye PA, Diouf O, Thiam IE, Gaye, M. Synthesis, Spectroscopic Studies, and Crystal Structure Determination of a Novel Mn(II) Complex with N,N'-1,5-bis(2-acetylpyridinyl)carbonohydrazone Ligand. *Chem. Afr.* 2020;3(4):949–954.
Available:https://doi.org/10.1007/s42250-020-00140-9
29. Faye M, Gaye PA, Sow MM, Dieng M, Tamboura FB, Gruber N, Gaye, M. Synthesis, Characterization and Single Crystal X-ray Crystallography of Nd(III) and Pr(III) Complexes with the Tridentate Schiff Base Ligand N'-(1-(pyridin-2-yl)ethylidene)nicotinohydrazide. *Earthline J. Chem. Sci.* 2021;6(1):99–117.
Available:https://doi.org/10.34198/ejcs.6121.99117

30. Dolomanov OV, Bourhis LJ, Gildea RJ, Howard JAK, Puschmann H. OLEX2: a complete structure solution, refinement, and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.* 2009;42(2):339–341.
Available: <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>
31. Sheldrick GM. Integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr, Sect. A: Found. Adv.* 2015;71:3–8. Available: <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>
32. Sheldrick GM. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr, Sect. C: Struct. Chem.* 2015;71:3–8.
Available: <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>
33. Farrugia LJ. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). *J. Appl. Crystallogr.* 1997;30:565.
Available: <https://doi.org/10.1107/S0021889897003117>
34. Stani C, Vaccari L, Mitri E, Birarda G. FTIR investigation of the secondary structure of type I collagen: new insight into the amide III band. *Spectroch. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2020;229:118006.
Available: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.118006>
35. Casellato U, Guerriero P, Tamburini S, Vigato PA, Benelli C. Mononuclear, homo- and heteropolynuclear complexes with acyclic compartmental Schiff bases. *Inorg. Chim. Acta.* 1993;207(1):39–58.
Available: [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)91454-3](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)91454-3)
36. Aruna VAJ, Alexander V. Synthesis of lanthanide(III) complexes of a 20-membered hexaaza macrocycle. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1996:1867–1873.
Available: <https://doi.org/10.1039/DT9960001867>
37. Ran J-W, Zhang S-Y, Hu B, Xu B, Li Y. Trinuclear and mononuclear nickel(II) complexes incorporating tridentate 2-[(pyridine-2-ylimine)methyl]phenol ligand: Syntheses, crystal structures and magnetic properties. *Inorg. Chem. Commun.* 2008;11(12):1474–1477.
Available: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2008.10.013>
38. Geary WJ. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.* 1971; 7(1):81–122.
Available: [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0)
39. Chandra S, Gupta LK. Spectroscopic approach in characterization of chromium(III), manganese(II), iron(III) and copper(II) complexes with a nitrogen donor tetradentate, 14-membered azamacrocyclic ligand. *Spectroch. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2005;61(9): 2139–2144.
Available: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.06.060>
40. Chandrasekaran T, Suresh M, Novina JJ, Padusha MKSA, Vasuki G, Kasthuri B. Crystal structure of 3-((thiophen-2-yl)methylidene)hydrazinyl}carbonylpyridinium chloride dihydrate. *Acta Crystallogr, Sect. E: Crystallogr Commun.* 2014;70(9): o976–o977. Available: <https://doi.org/10.1107/S1600536814017565>
41. Kumar SS, Sreepriya RS, Biju S, Sadasivan V. Synthesis, crystal structure and spectroscopic studies of trivalent Fe(III) and mixed valent ion-pair Co(II,III) complexes with 5-(2-(2-hydroxyphenyl)hydrazono)-2,2-dimethyl-4,6-dione. *J. Mol. Struct.* 2019;1197:235–243.
Available: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.07.04>

Synthèse, caractérisation et structure cristalline aux rayons X d'un co-cristal 1:1 de bis{bis[[(2-(1H-imidazol-2-yl)méthylidène)amino)phénolato-κ³N,N',O]nickel(II)} et bis{bis[[(2-(1H-imidazol-2-yl)méthylidène)amino)phénol-κ³N,N',O]nickel(II)}tétrachlorure pentahydrate..

Babacar DIOP^{1*}, Thierno Moussa SECK², Ousmane DIOUF³, Farba B. TAMBOURA⁴, Mohamed Lamine GAYE⁵

1 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal.

2 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal

3 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal

4 Université Alioune Diop, UFR SATIC, Bambey, Sénégal

5 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal

* babacar22.diop@ucad.edu.sn

Résumé :

Un grand nombre de ligands chélateurs organiques ont été préparés et utilisés pour synthétiser des complexes métalliques des métaux de transition. Ces bases de Schiff, qui constituent une classe importante de ligands sont omniprésentes dans la chimie de coordination en raison des nombreuses possibilités de coordination qu'elles offrent. Plusieurs études ont été réalisées sur les bases de Schiff bi-, tri-, tétra-, penta et hexadentates [1-3].

La présente étude décrit la synthèse et l'étude structural du ligand 2-((1H-imidazol-2-yl)méthylèneamino)phénol, qui a été utilisé pour générer un complexe supramoléculaire tridimensionnel formulé comme $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$. Le composé en question cristallise dans le groupe spatial orthorhombique Fddd. Pour ce composé, la structure révèle une unité mononucléaire neutre $[\text{Ni}(\text{HL})_2]$ et une unité mononucléaire cationique $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]^{2+}$. Dans l'unité neutre, la molécule organique agit comme un tridentate par l'intermédiaire d'un atome d'azote imino, d'un atome d'azote de l'anneau imidazole et d'un atome d'oxygène phénolate. Dans l'unité cationique, elle agit comme tridentate par l'intermédiaire d'un atome d'azote imino, d'un atome d'azote de l'anneau imidazole et d'un atome d'oxygène du groupement phénol non déprotoné. Dans les deux unités, l'ion nickel(II) est hexacoordiné et l'environnement de coordination peut être décrit comme une géométrie octaédrique déformée. De nombreuses liaisons hydrogène relient les molécules en un réseau tridimensionnel.

Mots Clés : Ligand, Base de Schiff, Complexe supramoléculaire

Synthesis, characterisation and X-ray crystal structure of a 1:1 co-crystal of bis{bis[[(2-(1H-imidazol-2-yl)methylidene)amino)phenolato-κ³N,N',O]nickel(II)} and bis{bis[[(2-(1H-imidazol-2-yl)methylidene)amino)phenol-κ³N,N',O]nickel(II)}tetrachloride pentahydrate.

Abstract

A large number of organic chelating ligands have been prepared and used to synthesize metal complexes of transition metals. These Schiff bases which constitute an important class of ligands are ubiquitous in coordination chemistry because of the many coordination possibilities they offer. Several studies have reported bi-, tri-, tetra-, penta and hexadentate Schiff bases [1-3].

The present investigation describes the synthesis and structural study of the ligand 2-((1H-imidazol-2-yl)methyleneamino)phenol, which was used to generate three dimensional supramolecular complex formulated as $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$. The title compound crystallizes in the orthorhombic space group Fddd. For this compound, the structure reveals that one neutral mononuclear unit $[\text{Ni}(\text{HL})_2]$ and one cationic mononuclear unit $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]^{2+}$. In the neutral unit, the organic molecule acts as a tridentate through one imino nitrogen atom, one nitrogen atom from the imidazole ring and one phenolate oxygen atom. In the cationic unit, it acts as tridentate through one imino nitrogen atom, one nitrogen atom from the imidazole ring and one oxygen atom of non-deprotonated phenol group. In both units the nickel(II) ion is hexacoordinated and the coordination environment can be described as distorted octahedral geometry. Numerous hydrogen bonds link the molecules into three dimensional network.

Keywords : Ligand, Schiff base, Supramolecular complex

1. Introduction

De nos jours les complexes polynucléaires sont très recherchés en raison de leur potentiel d'application dans divers domaines tels que le magnétisme moléculaire [4], la catalyse, l'optique et la biologie [5]. Parmi eux on peut citer les complexes de Nickel qui présentent des propriétés biologique et magnétique. A titre d'exemple on peut citer les travaux de Babacar et ses collaborateurs qui ont rapporté un complexe de Co-cristal de Nickel.

C'est dans cette perspective que le travail que nous rapportons s'est concentré sur l'utilisation de la base de Schiff H_2L ($\text{H}_2\text{L} = 2-((1\text{H-imidazol-2-yl})\text{méthylèneamino})\text{phénol}$) qui possède des sites donneurs N,O capable d'encapsuler l'ion métallique.

Les différentes techniques spectroscopiques telles que l'infrarouge, la RMN, l'UV-visible et la conductimétrie sont utilisés pour la caractérisation du ligand et de son complexe. L'analyse de la diffraction aux rayons X sur un Co-cristal nous a permis d'élucider la structure cristalline du ligand et celle du complexe.

2. Matériels et méthodes

Les réactifs et solvants utilisés pour synthétiser le ligand H₂L et son complexe de Ni(II) sont le **1H-imidazole-2-carboxaldehyde**, le **2-aminophénol**, le **chlorure de Ni(II) hexahydraté** et le **méthanol**. Ils sont d'origine Aldrich Sigma et sont utilisés sans aucune purification au préalable. Les techniques de caractérisation utilisées sont l'infrarouge, la RMN ¹H, RMN ¹³C, l'UV-visible, conductimètre et la diffraction des rayons X.

2.1. Synthèse du ligand 2-((1H-imidazol-2-yl)méthylèneamino)phénol) H₂L

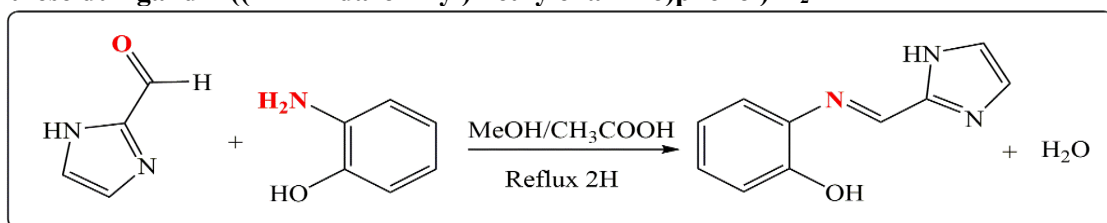


Schéma 3 : Synthèse du ligand 2-((1H-imidazol-2-yl) méthylèneamino)phénol) H₂L

Mode opératoire :

Dans un ballon de 250 mL contenant 20 cm³ d'éthanol, on introduit 1 g (10,41 mmol) de **1H-imidazol-2-carbaldehyde**. Après agitation sous reflux pendant 30 mn on obtient une suspension blanche dans laquelle on y ajoute une solution d'éthanol contenant 1,33 g (10,41 mmol) du **2-aminophénol** et quelques gouttes d'acide acétique glaciale. Le mélange est porté à reflux pendant deux heures. On obtient une solution orange qui après refroidissement est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le produit récupéré est sous forme de liquide visqueux orange.

- IR (cm⁻¹) : 3369 ; 3144 ; 1622 ; 1586 ; 1548 ; 1489 ; 1456 ; 1435 ; 1402 ; 1246 ; 1147 ; 1116
- RMN ¹H (dmso-d₆, δ en ppm) : 6,35 – 7,69 (m, 6H, **H du cycle aromatique et imidazole**) ; 8,23 (s, 1H, CH=N imine) ; 9,59 (s, 1H, NH cycle imidazole) ; 13,32 (s 1H, O-H phénolique)
- ✓ RMN ¹³C (dmso-d₆, δ en ppm) 156,24 (C-7) ; 152,92 (C-6) ; 146,95 (C-1) 146,79 (C-8) ; 141,30 (C-4) ; 128,88 (C-10, C-9) ; 126,62 (C-3) ; 124,36 (C-5) ; 115,28 (C-2).
- ✓

2.2. Synthèse du complexe du Co-cristal de Ni(II)

Dans un ballon de 100 mL contenant 20 mL de méthanol on dissout le ligand H₂L et agité jusqu'à dissolution totale du ligand pendant 30 mn ensuite on ajoute du chlorure de nickel hexahydraté.

Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2H on obtient une solution rouge. La solution obtenue est filtrée et laissée à l'évaporation lente pendant quelques jour et on obtient un Co-cristal.

Point de fusion : > 260 °C. Rendement : 76 %. **IR (cm⁻¹)** : 3400 ; 3147 ; 1605 ; 1551 ; 1585 ; 1553 ; 1431 ; 1334 ; 1333 ; 1303 ; 1196 ; 1100 ; 862 ; 834 : **UV-vis (DMF, nm)** : 211 ; 445 ; 508 **Λ (Ω⁻¹.cm².mol⁻¹, DMF)** : solution fraîche : 101,12 ; Quinze jours après : 106,62.

3. Résultats et discussion

3.1. Etude RMN ¹H et ¹³C du ligand 2-((1H-imidazol-2-yl)méthylèneamino)phénol) H₂L

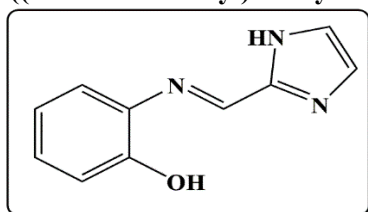


Schéma 2 : Structure du ligand H₂L

Sur le spectre RMN ¹H du proton du ligand H₂L apparaît un signal à 13,32 ppm sous forme de singulet intégrant un proton correspondant au proton **HO** du phénol. Le signal à 9,59 ppm sous forme de singulet intégrant un proton correspond au proton **NH** du cycle imidazole. Le proton de l'imine qui sort sous forme de singulet

intégrant 1H est attribué au proton CH=N iminique. Entre [7,69-6,35] ppm nous repérons des signaux sous forme de multiplet intégrant au totale 6 protons, ils sont attribués au 6 protons du noyau aromatique et imidazole.

Le spectre du carbone 13 dans du dmso-d₆ du ligand H₂L affiche 10 signaux qui confirment la présence de tous les atomes de carbone du ligand. Les atomes de carbone C-7 ; C-6 ; C-1 et C-8 sortent respectivement à 156,24 ppm, 152,92 ppm, 146,95 ppm et à 146,79 ppm. Les atomes de carbone des noyaux aromatique et imidazole exceptés les atomes de carbone quaternaires C-6, C-1, C-8 sortent respectivement à 141,30 (C-4) ; 128,88 (C-10, C-9) ; 126,62 (C-3) ; 124,36 (C-5) ; 115,28 (C-2).

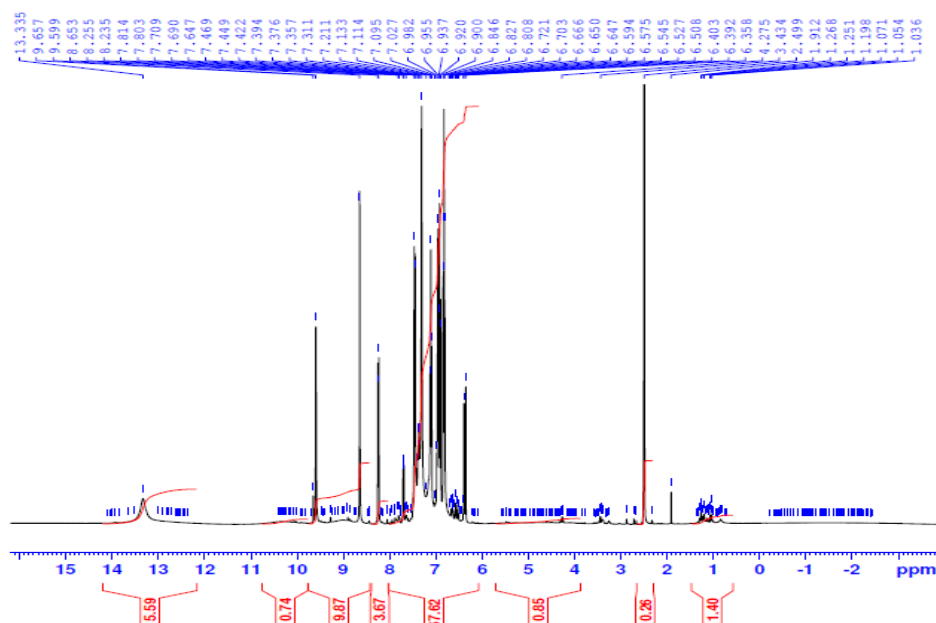
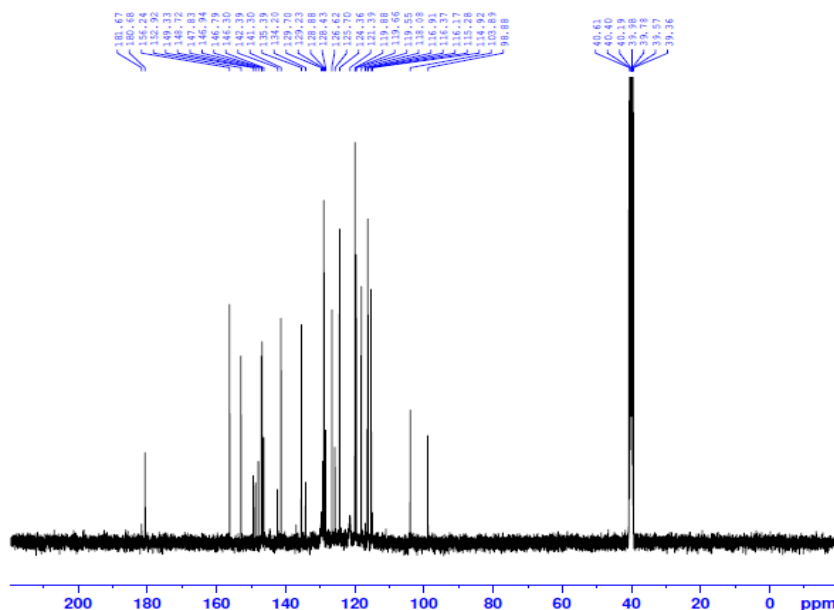


Figure 16 : Spectre RMN ¹H du ligand H₂L



Composés	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$ imine (cm^{-1})	$\nu(\text{C}=\text{N})$ Imidazole (cm^{-1})	$\nu(\text{N}-\text{H})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$
H_2L	3339	1622	1586	3144	1247
$\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$	3400	1605	1551	3147	1303

Sur le spectre infrarouge du complexe de $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$ nous observons les bandes caractéristiques du ligand. Parmi les vibrations du ligand, nous allons nous intéresser à celles des fonctions susceptibles de participer à la complexation des ions métalliques. Il s'agit des vibrations $\nu(\text{C}-\text{O})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$ imine et $\nu(\text{C}=\text{N})$ de l'imidazole. A partir des données du tableau, nous remarquons un glissement vers les basses fréquences des bandes $\nu(\text{C}=\text{N})$ imine, $\nu(\text{C}=\text{N})$ de l'imidazole après la coordination du ligand avec les ions métalliques. Ces bandes sortent respectivement à 1605 cm^{-1} et 1551 cm^{-1} sur le spectre du complexe alors qu'elles sont observées sur celui du ligand à 1622 cm^{-1} et 1586 cm^{-1} . Ce glissement est dû à la participation des atomes d'azote de la fonction imine et de l'imidazole du ligand à la coordination des ions métallique. L'augmentation de la vibration $\nu(\text{C}-\text{O})$ sur le spectre du complexe par rapport au ligand libre montre la coordination du groupement $(\text{C}-\text{O})$ à la coordination du métal.

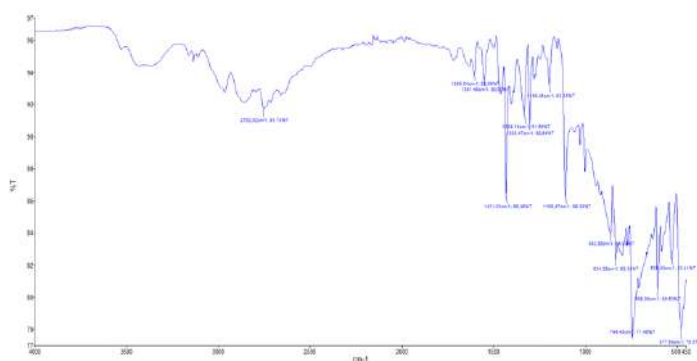


Figure 3 : Spectre IR du complexe $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$

Les valeurs de la conductivité molaire de la solution fraîche de DMF contenant le complexe et après quinze jours de conservation valent respectivement $101,12 \text{ } \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ et $106,62 \text{ } (\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$. Elles montrent que le complexe $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$ est un électrolyte neutre [6] et qu'il est stable en solution dans du DMF.

Sur le spectre UV-visible du complexe, nous observons des bandes de transitions entre $[211-280] \text{ nm}$ sont attribuées respectivement aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ du ligand [7]. Outre ces absorptions intra-ligand, sort dans la zone du visible une bande de transition à 445 nm correspondant à une bande de transfert de charge ligand-métal (TCLM).

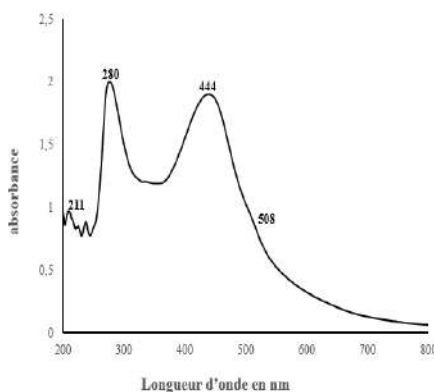


Figure 4 : Spectre UV-visible du complexe $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$

3.3. Etude cristallographique du ligand H_2L et du complexe $\{[\text{Ni}(\text{HL})_2]_2 \cdot [\text{Ni}(\text{H}_2\text{L})_2]_2 \cdot (\text{Cl})_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5\}$

L'analyse cristallographique du complexe $\{[Ni(HL)_2]_2[Ni(H_2L)_2]_2(Cl)_4(H_2O)_5\}$ montre qu'il cristallise dans le système orthorhombique avec un groupe d'espace Fddd. Les paramètres de la maille élémentaire sont $a = 13.9269(4) \text{ \AA}$; $b = 25.5295(16) \text{ \AA}$; $c = 43.1739(15) \text{ \AA}$ et $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$

La structure cristalline du complexe consiste en une unité mononucléaire neutre $[Ni(HL)_2]$, d'une unité mononucléaire cationique $[Ni(H_2L)_2]^{2+}$, de deux molécules d'eau et d'une molécule d'eau semi-libre qui se trouve sur l'axe de rotation double et de deux anions chlorure qui agissent en tant qu'anions libres qui se trouvent sur un axe de rotation double et deux anions de chlorure qui agissent comme des contre-anions. Dans l'unité $[Ni(HL)_2]$ neutre, deux ligands de base de Schiff tridentés dans lesquels les groupes phénoliques sont déprotonés sont liés à l'ion nickel(II) de façon tridentée, ce qui donne une configuration mer résultant en une configuration mer.

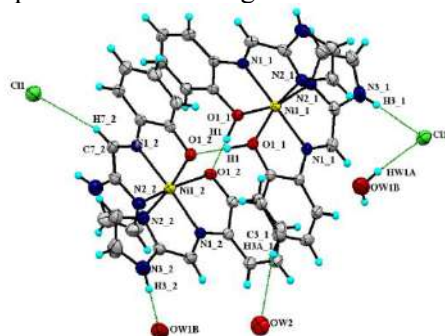


Figure 5 : Structure cristalline du complexe de $\{[Ni(HL)_2]_2.[Ni(H_2L)_2]_2.(Cl)_4.(H_2O)_5\}$

4. Conclusion

Le travail rapporté concerne la synthèse et l'étude structurale d'un Co-cristal dinucléaire-trinucléaire dérivant du ligand mononucléaire organique, 2-((1H-imidazol-2-yl)méthylèneamino) phénol. Dans l'unité neutre ainsi que dans l'unité cationique, les ions de nickel sont hexacoordinés. Dans les deux unités les environnements autour des ions nickel sont décrits comme un polyèdre octaédrique. Dans l'unité neutre le ligand est monodéprotoné, ce qui donne un atome d'oxygène phénolate tandis que dans l'unité cationique le ligand reste non déprotoné. En perspective nous comptons étudier les propriétés antioxydante, antifongique et la toxicité du ligand H_2L et les propriétés luminescentes du complexe $\{[Ni(HL)_2]_2.[Ni(H_2L)_2]_2.(Cl)_4.(H_2O)_5\}$ obtenu.

5. Bibliographie :

- [1] Aggoun, D.Fernández-García, M.López, D.Bouzerafa, B.Ouennoughi, Y. Setifi ; et A.Ourari., *Polyhedron*, (2020). 187, 114640.
- [2] A.Rajeev ; A.Bhunia ; S.Arunkumar ; M. Chari ; N. Sankaralingam (2021). *Inorganica Chimica Acta*, (2021).526, 120515.
- [3] Silva, A.L.R.Oliveira, P.C.F.C.Gonçalves, J.M.Morais, V.M.F.da Silva, *Inorganica Chimica Acta*, (2022) 535, 120845
- [4] J. Ferrando-Soria, J. Vallejo, M. Castellano, J. Martínez-Lillo, E. Pardo, J. Cano, I. Castro, F. Lloret, R. Ruiz-García, M. Julve, Molecular magnetism, *Coord. Chem. Rev.*, **2017**, 339, 17–103.
- [5] Gatteschi, L. Bogani, A. Cornia, M. Mannini, L. Sorace, R. Sessoli, Molecular magnetism, status and perspectives, *Solid State Sci.*, **2008**, 10, 1701–1709.
- [6] W. J. Geary, *Coord. Chem. Rev.*, **7**, (1971), 85.
- [7] V. L. Siji, M. R. Sudarsanakumar, S. Suma, *Polyhedron*, **29**, (2010), 2035–2040.

Synthèse de biopolymère à partir de coquilles d'escargots : application dans l'élimination de bleu de méthylène

Kouakou vianet BOSSOMBRA, Fatoumata KONE, * Tchirioua EKO, Lynda EKO

1 Kouakou vianet BOSSOMBRA, 02 Bp 801 Abidjan 02 – CÔTE D'IVOIRE.

2 Fatoumata KONE, 02 Bp 801 Abidjan 02 – CÔTE D'IVOIRE

3 Tchirioua EKO, 02 Bp 801 Abidjan 02 – CÔTE D'IVOIRE

4 Lynda EKO, 02 Bp 801 Abidjan 02 – CÔTE D'IVOIRE

* bossomkv@gmail.com

Résumé :

Le développement de l'industrie textile a conduit à une augmentation de la pollution des eaux par les colorants organiques spécialement le bleu de méthylène. L'adsorption est une méthode couramment utilisée pour éliminer les colorants organiques de l'eau. Le chitosane, un polysaccharide naturel dérivé de la chitine est connu pour sa capacité d'adsorption élevée des colorants organiques. Cette étude a consisté à élaborer du chitosane à partir de coquilles d'escargot afin de l'utiliser dans l'élimination du bleu de méthylène des eaux. Les tests d'adsorption du bleu de méthylène par le chitosane obtenu ont été effectués en faisant varier divers paramètres physico-chimiques. Les résultats ont montré que le biopolymère a une capacité maximale d'adsorption du bleu de méthylène de 3,5 mg/g. L'efficacité d'adsorption augmente tant avec l'augmentation de la concentration initiale en bleu de méthylène qu'avec l'augmentation de la masse d'adsorbant. L'étude cinétique révèle que l'adsorption est rapide pendant les 5 premières minutes et l'équilibre d'adsorption est atteint après 3h. La cinétique d'adsorption est mieux décrite par le modèle du pseudo-second ordre traduisant une chimisorption. Cette approche offre une solution économique et respectueuse de l'environnement pour la décontamination des eaux polluées par le bleu de méthylène, tout en valorisant la biomasse locale.

Mots Clés : biopolymère ; bleu de méthylène ; Adsorption

Synthesis of biopolymer from snail shells: application in the elimination of methylene blue

Abstract:

The development of the textile industry has led to an increase in water pollution by organic dyes, especially methylene blue [1]. Adsorption is a commonly used method to remove organic dyes from water [2]. Chitosan, a natural polysaccharide derived from chitin found in crustacean shells, is known for its high adsorption capacity for organic dyes. This study consisted of producing chitosan from snail shells in order to use it in the elimination of methylene blue from water. The adsorption tests of methylene blue by the chitosan obtained were carried out by varying various physicochemical parameters. The results showed that the biopolymer has a maximum methylene blue adsorption capacity of 3.5 mg/g. The adsorption efficiency increases both with the increase in the initial concentration of methylene blue and with the increase in the mass of adsorbent. The kinetic study reveals that adsorption is rapid during the first 5 minutes and adsorption equilibrium is reached after 3 hours. The adsorption kinetics is better described by the pseudo-second order model reflecting chemisorption. This approach offers an economical and environmentally friendly solution for the decontamination of water polluted by methylene blue, while promoting local biomass.

Keywords: biopolymer; methylene blue; Adsorption

1. Introduction

La pollution de l'eau est un problème majeur en raison de la forte croissance démographique et de l'intensification des activités industrielle. Cette pollution affecte aussi bien les ressources en eaux sous terraines que celles de surface. Parmi les activités industrielles et domestiques, figurent celle du textile et de la teinturerie artisanale dont les effluents contiennent de nombreuses substances toxiques parmi lesquels on retrouve les colorants. Ces colorants sont une menace sérieuse pour les êtres humains et pour les écosystèmes aquatiques, en raison de leur caractère toxique et de leur persistance après leur rejet dans les milieux récepteur [1]. Le bleu de méthylène est un colorant couramment utilisé dans la teinturerie du coton, du bois et de la soie. Chez l'Homme, il peut provoquer au contact de l'œil des brûlures pouvant aller du simple gêne à des complications grave voir une cécité. Son inhalation peut donner lieu à des difficultés respiratoires et son ingestion orale produit une sensation de brûlure, des nausées, des vomissements, [2]. L'élimination des colorants dans les effluents industriels et domestiques avant leurs rejets dans l'environnement s'avère d'un grand intérêt. De nombreuses études récentes se sont intéressées au développement de méthodes efficaces pour l'élimination des colorants toxique en solutions aqueuses [3]. Les méthodes telles que, la précipitation, la coagulation-floculation, la photo-oxydation[4], et la digestion biologique [5] ont été développés pour le traitement de ces eaux. Bien que ces techniques soient performantes pour l'élimination de nombreux colorants toxiques, elles demeurent couteuses pour les pays en développement. La

méthode d'adsorption reste la technique la plus courante pour l'élimination de polluant en raison de son efficacité et du faible coût que nécessite sa mise en œuvre. Plusieurs adsorbants tels que, des charbons actifs [7], de la chitine [8] et des déchets agroalimentaires [9] ont été couramment utilisés dans divers processus d'adsorption de polluants. De plus en plus, la communauté scientifique s'oriente vers de nouveaux matériaux de synthèse d'adsorbant pour des raisons d'efficacité et de spécificité des polluants cibles. Les biopolymères sont des matériaux prometteurs pour l'adsorption des colorants de l'eau en raison de leur origine naturelle, de leur biodégradabilité et de leur non-toxicité. Le chitosane est un biopolymère dérivé de la chitine, un polysaccharide présent dans la carapace des crustacés, des champignons et des insectes. Il est utilisé dans la préparation de divers produits biomédicaux [10] et comme adsorbant pour l'élimination de polluants [11].

L'objectif de cette étude est de produire du chitosane à partir de déchets de coquilles d'escargot en vue d'en faire une application dans le traitement des eaux contaminées en bleu de méthylène, par la méthode d'adsorption. De façon spécifique il s'agira d'extraire par voie chimique la chitine des coquilles d'escargot en vue de sa transformation en chitosane, et d'effectuer des essais d'adsorption du bleu de méthylène en solution aqueuse en faisant varier divers paramètres physico-chimiques.

2. Matériel et méthodes (Times New Roman 11 normal)

2.1. Matériel

Les coquilles d'escargots de l'espèce *Archachatina Marginata* utilisé dans cette étude proviennent de la ville de Soubré du sud-ouest de la Côte d'Ivoire. Après avoir été lavées à l'eau distillée, les coquilles ont été séchées à l'étuve à 100°C pendant 24h enfin broyées en fine poudre. Les produits chimiques utilisés, respectivement NaOH, HCl, ont été achetés auprès de Sigma Aldrich. La solution mère de bleu de méthylène (BM) a été préparée en dissolvant la poudre du colorant dans de l'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à ce que la poudre soit complètement soluble. Une solution initiale d'une concentration de 100mg/L est obtenue. Les solutions filles sont préparées en diluant cette solution mère. Les solutions de travail ont été obtenues en diluant la solution mère aux concentrations souhaitées avec de l'eau distillée.

2.2. Extraction de la chitine

La poudre obtenue a été mélangée à une solution d'hydroxyde de sodium NaOH 1N à un ratio de solvant à solide (w/v) de (1/10, g/ml). Le mélange est bouilli à 70°C dans un bain marie pendant 2H sous agitation puis filtrée. La matière obtenue a été lavée plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à la neutralité puis séchée à l'étuve pendant une nuit à une température de 105°C afin d'éliminer toutes les protéines qui ont été séparées de la chitine.

L'échantillon obtenu a ensuite été mélangé à une solution d'acide chlorhydrique HCl à 1N à un ratio de solvant à solide (w/v) de (1/10, g/ml). Le mélange obtenu est bouilli à 70°C dans un bain marie pendant 2H sous agitation. Le mélange obtenu a été filtré et la matière obtenue a été lavée plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à un pH neutre puis séchée à l'étuve pendant une nuit à une température de 105°C afin de dissoudre les minéraux qui accompagnent les coquilles.

2.3. Synthèse du biopolymère par la désacétylation de la chitine.

La désacétylation est une étape délicate qui vise à substituer un nombre maximal et adéquat de groupements acétyles pour obtenir du chitosane. Dans cette étude, la désacétylation a été réalisée en traitant le matériau avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à une concentration de 50 % à un ratio de solvant à solide (w/V) de (1/10, g/ml), bouilli dans un bain marie pendant 2H sous agitation à une température de 80°C à 90°C. Le produit obtenu a ensuite été filtré et lavé plusieurs reprises avec de l'eau distillée jusqu'à les filtrats deviennent neutre, puis séché à l'étuve à une température de 105°C.

2.4. Procédure expérimentale du processus d'adsorption

Les expériences d'adsorption ont été réalisées en introduisant une quantité de 0,5 g poudre des coquilles traitée dans un volume de 100 ml de solution de bleu de méthylène (BM) puis agitées à température ambiante. Les effets de la concentration initiale en bleu de méthylène (0 à 100 mg/L), du temps de contact (0 à 6h) et de la masse d'adsorbant (0 à 3g) ont été étudiés. Après équilibre, l'adsorbant a été récupéré par filtration et les concentrations résiduelles en bleu de méthylène dans les solutions aqueuses ont été déterminées par dosage spectrophotométrique dans le domaine du visible en utilisant un spectrophotomètre UV visible. Le rendement d'élimination du colorant Re et la quantité de colorant adsorbée par unité de masse d'adsorbant Q_e ont été calculés respectivement par les équations.

$$R_e = \frac{c_0 - c_e}{c_0} \cdot 100$$

$$Q_e = \frac{(c_0 - c_e)}{m} \cdot V$$

- c_0 (mg/L) : concentration initiale de la solution du colorant.
- c_e (mg/L) : concentration initiale à l'équilibre.
- V (L) : volume de la solution du colorant.
- m (g) : masse de l'adsorbant.
-

2.5. Modélisation du phénomène d'adsorption

L'application des isothermes d'adsorption est très utile pour décrire l'interaction entre l'adsorbat et l'adsorbant. Il existe plusieurs modèles pour analyser les données expérimentales sur l'équilibre d'adsorption. Les modèles de Langmuir et Freundlich sont les modèles d'adsorption de surface les plus utilisés pour les systèmes à soluté unique. Des modèles cinétiques tels que le pseudo-premier ordre, le pseudo-second ordre ont été utilisés pour comprendre la cinétique d'adsorption. Le tableau 1 présente les équations et les paramètres de ces isothermes d'adsorption et modèles cinétiques. Les isothermes d'adsorption et les modèles cinétiques de pseudo-premier et pseudo-second ordre ont été ajustés en appliquant la méthode d'ajustement linéaire. Les modèles théoriques les plus appropriés décrivant les données expérimentales ont été sélectionnés en tenant compte du coefficient de corrélation (R)

Tableau 1 : Equations des modèles de Langmuir et de Freundlich

3. Résultats et discussion

3.1. Effet de la concentration initiale sur d'adsorption du bleu de méthylène par le biopolymère.

L'influence de la concentration initiale en ions bleu de méthylène sur la capacité d'adsorption du chitosane a été étudiée.

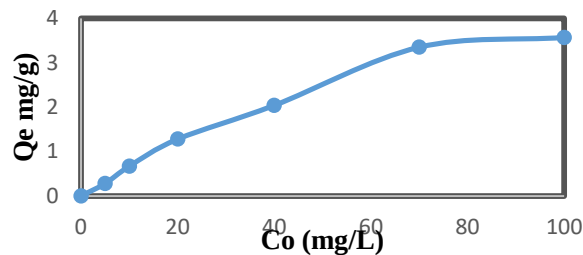


Figure 1 : Effet de la concentration initiale en bleu de méthylène

Les résultats obtenus et présentés sur la **Figure 1** montrent que l'isotherme d'adsorption du BM est de type I selon la classification de l'IUPAC. L'isotherme montre que l'élimination du bleu de méthylène par le biopolymère augmente avec la concentration initiale en bleu de méthylène en solution jusqu'à atteindre une capacité maximale d'adsorption de 3,5 mg/g lorsque la concentration initiale C_0 est de 70 mg/L. Elle présente à faible concentration en solution une concavité tournée vers le bas traduisant une diminution des sites libres au fur et à mesure que la concentration initiale en bleu de méthylène augmente.

3.2. Modélisation du phénomène d'adsorption par les isothermes de Freundlich et de Langmuir

Les données expérimentales d'adsorption ont été analysées avec les formes linéaires des modèles de Langmuir et de Freundlich. Les paramètres de Freundlich (K_F et n), de Langmuir (Q_m et K_L) correspondant, ainsi que les coefficients de détermination (R) obtenus sont donnés dans le tableau 2

Tableau 2 : Paramètre de Freundlich et de Langmuir

Paramètres	Freundlich			Langmuir		
	R^2	n	K_F	R^2	Q_{max}	R_L
	0,93	0,36	0,003	0,75	7,5	0,29

Il ressort de cette étude à travers les coefficients de détermination que le modèle de Freundlich est mieux adapté pour expliquer le phénomène d'adsorption du bleu de méthylène sur le biopolymère. Ce résultat suggère la formation possible de plusieurs couches d'adsorption sur la surface de l'adsorbant et l'hétérogénéité des sites

d'adsorption avec des énergies de fixation différentes. Le coefficient de Freundlich (n) facteur d'hétérogénéité qui est compris entre 1 et 10 traduit une adsorption favorable.

3.3. Effet du temps de contact sur l'adsorption du BM par le biopolymère

Le temps de contact est un paramètre important dans les procédés d'adsorption, la **figure 2** présente les rendements d'élimination du BM par le biopolymère en fonction du temps pour la concentration optimale initiale en bleu de méthylène de 70mg/L.

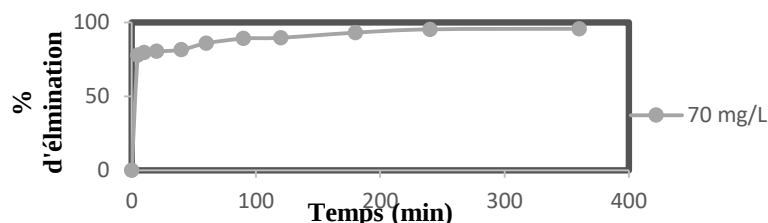


Figure 2: Evolution des rendements d'élimination en fonction du temps de contact.

Les résultats obtenus montrent que le chitosane synthétisé a un pouvoir adsorbant très intéressant pour la concentration étudiée (70mg/L) et révèlent que l'adsorption de bleu de méthylène sur celui-ci se fait en trois étapes

- Adsorption relativement rapide du colorant BM due à la présence des sites libres à la surface du matériau ce qui conduit à l'augmentation du rendement d'élimination du BM par le chitosane. Cette étape dure presque 5min pour les trois concentrations.
- Diminution de la vitesse d'adsorption reflétée par une augmentation très faible du pourcentage d'élimination. Cela a été attribué à la diminution de la quantité du colorant BM en solution et du nombre de sites disponibles pour l'adsorption. Les sites extérieurs non occupés restants sont difficiles à occuper avec le temps du fait de la formation des forces répulsives entre les molécules du BM à la surface du solide (adsorbées) et celles de la phase aqueuse (libres).
- Stabilité du pourcentage d'élimination et l'équilibre du système atteinte après 3 h : dans cette étape finale, aucune amélioration en capacité d'adsorption n'est constatée, ceci est dû probablement à l'occupation quasi-totale des sites d'adsorption disponibles ; on observe un plateau qui correspond à l'état d'équilibre. Cela peut être expliqué par le fait qu'à l'équilibre la surface spécifique est saturée

3.4. Modélisation de la cinétique d'adsorption du bleu de méthylène

3.4.1. Modèle cinétique de pseudo-premier ordre

La cinétique d'adsorption permet d'estimer le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre d'adsorption et de décrire le mécanisme d'adsorption [12]. Afin de déterminer le modèle cinétique de rétention du bleu de méthylène sur le chitosane, les données expérimentales d'adsorption ont été appliquées par l'équation linéaire de pseudo-premier ordre et présentée sur les figures ci-dessous. Les paramètres du modèle de pseudo-premier ordre et les coefficients de corrélation obtenus sont rassemblés dans le Tableau 5.

Tableau 3: Paramètres cinétiques d'adsorption du BM par le chitosane pour le modèle pseudo-premier ordre.

C_i (mg/L)	Q_{exp} (mg/L)	Pseudo premier ordre		
		Q_e (mg/g)	k_1 (min^{-1})	R^2
70	3, 35	1,06	0,016	0,86

La valeur de R^2 a été trouvée relativement faible (0.86) pour la concentration initiale de 70mg/L. Le calcul de Q_e pour cette concentration montre que les quantités de colorant adsorbées prévues par ce modèle sont plutôt très faibles par rapport aux quantités expérimentales. Ces observations nous emmènent à dire que l'adsorption du bleu de méthylène par notre matériau n'exprime pas un processus de diffusion contrôlée puisqu'il ne suit pas l'équation du pseudo-premier ordre.

3.4.2. Modèle cinétique de pseudo-second ordre

Les données expérimentales d'adsorption du bleu de méthylène par le chitosane ont été traité avec le modèle cinétique de pseudo-second ordre et présenté sur les figures ci-dessous. Les valeurs des quantités adsorbées Q_e , les constantes de pseudo-second ordre k_2 et les coefficients de régression R^2 pour les trois concentrations utilisées sont données dans le **tableau 4**

Tableau 4: Paramètres cinétiques de l'adsorption du BM par le chitosane pour le modèle pseudo-second ordre.

C_i (mg/L)	Q_{exp} (mg/L)	Pseudo-second ordre		
		Q_e (mg/g)	k_2 (min ⁻¹)	R^2
40	1,85	1,87	0,10	0,99
70	3,35	3,38	0,05	0,99

Au vu de ces résultats, il apparaît que la quantité adsorbée à l'équilibre Q_e augmente avec l'augmentation de la concentration initiale, tandis que la constante k_2 diminue. Par ailleurs, les valeurs de R^2 sont très élevées et sont toutes supérieures à 0,99 et dépassent de loin celles obtenues avec le modèle du pseudo-premier ordre. Les quantités fixées à l'équilibre Q_e sont très proches des valeurs retrouvées expérimentalement. De ce fait, le modèle de pseudo second ordre est le plus fiable pour décrire la cinétique d'adsorption du BM par le chitosane, l'adsorption chimique étant l'étape de contrôle de vitesse.

3.5. Effet de la masse d'adsorbant sur le pourcentage d'élimination du BM par le chitosane

L'étude de l'influence de la masse de chitosane sur l'adsorption du bleu de méthylène est présentée par la courbe de la figure 3.

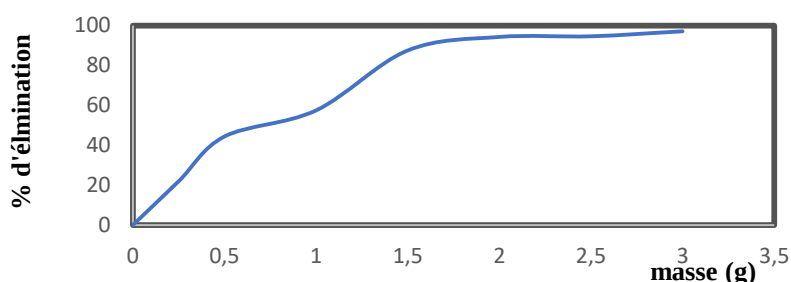


Figure 3: Evolution de rendement d'absorption en fonction de la masse

D'après les résultats obtenus, nous constatons que le taux d'élimination du colorant BM augmente avec l'augmentation de la quantité d'adsorbant utilisée. En effet, l'augmentation de la masse de l'adsorbant engendre l'accroissement du nombre de sites actifs disponibles pour la fixation du colorant, ce qui entraîne l'augmentation du pourcentage d'élimination.

4. Conclusion

Le principal objectif de cette étude était de développer un biopolymère à partir de la chitine extraite des coquilles d'escargots afin de le tester dans l'élimination du bleu de méthylène. Les tests d'adsorption du bleu de méthylène par ce biopolymère ont été réalisés, en faisant varier plusieurs paramètres tels que la concentration initiale en colorant, le temps de contact et la masse de l'adsorbant. Les résultats ont montré que la quantité de colorant adsorbée augmentait avec la concentration initiale en soluté jusqu'à atteindre une capacité maximale d'adsorption de 3.5 mg/g à la concentration initiale de 70 mg/L en bleu de méthylène. La modélisation des données expérimentales d'adsorption avec les équations linéaires de Freundlich et Langmuir nous a montré que le phénomène d'adsorption du bleu de méthylène sur le chitosane est mieux décrit par le modèle de Freundlich. L'étude cinétique quant à elle a montré que l'équilibre d'adsorption peut être atteint après 3h quel que soit la concentration initiale et les données de cinétique d'adsorption se sont révélées mieux décrites par le modèle de pseudo-deuxième ordre.

L'influence de la masse a également été mise en évidence, montrant une amélioration des rendements d'élimination du bleu de méthylène avec l'augmentation de la masse de chitosane en solution. Cette étude a démontré la possibilité d'utiliser le chitosane comme adsorbant pour les polluants organiques en particulier pour le bleu de méthylène. Cependant, certaines améliorations et études complémentaires sont nécessaires en l'occurrence une caractérisation du matériau synthétisé afin de mieux comprendre le mécanisme d'interaction entre le chitosane et le bleu de méthylène et une étude de la désorption du colorant pour la régénération de l'adsorbant.

Références bibliographiques

- [1] Xue Y., Mou Y., Hou Y., Chen J., Li Z. (2018). Extraction of Chitosan from Snail Shell and Its Degradation Behavior. *Materials* (Basel), 11(11), 2282.
- [2]. Nguyen V.T., Le T.H., Truong V.K., et al. (2020). Biopolymer Films Derived from Snail Shells: Fabrication, Characterization, and Biocompatibility. *Materials* (Basel), 13(2), 394.

- [3]. Li Q., Chen Y., Xu Z., et al. (2019). Enhanced Mechanical Properties of Chitosan Films by Blending with Natural Polymers. *Polymers* (Basel), 11(9), 1426.
- [4]. Braconnot, H (1811) Sur la nature des champignons. *Ann.Chim. Phys.* 79 :265.
- [5]. Hoppe – Seiler F. (1894) Uber chitin und zellulose. *Ber Deut Chem Gesell* 27 :3329-3331.
- [6]. Grégorio Crini, Pierre-Marie Badot, Éric Guibal, « Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application », presses universitaires de Franche-Comté ,2009.
- [7]. Crini G, Badot P.M, Morin-Crini N, Traitement des eaux par du chitosane : intérêts, méthodes et perspectives, *re126*, 2, (2009)
- [8]. Rauch F, Dornish M (2006) Chitosan in : An introduction to biomaterials. Guelcher SA, Hollinger JO, eds. CRC press 14 :249.
- [9] : Nugraha Edhi Suyatma, Développement de films biodégradable à base de chitosane Etude de mélange chitosane /PLA, de la plastification et de la comptabilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, Juin 2006.
- [11]. No H.K., Meyers S.P, and Lee.K.S.. *J. Agric. Food Chem.* 37(1989)575.
- [12]. Roberts, GAF Structure de la chitine et du chitosane. En *chimie de la chitine* ; Roberts, GAE, éd. ; Palgrave Macmillan : Londres, Royaume-Uni, 1992 ; p. 85–91.

Développement et validation d'une technique d'extraction liquide-liquide du valium (assurance qualité sur 10 échantillons saisis)

Fadjimata SALIFOU KARIMOUNE¹, Rabani ADAMOU¹, Idrissa MOUSSA², Khalid IKHIRI²

¹ Laboratoire Matériaux, Eaux et Environnement (LAMEE), Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni. BP 10667, Niamey (Niger).

² Laboratoire des substances naturelles et de synthèse organique (LASNASO), département de chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni. BP 10667, Niamey (Niger).

Auteur correspondant : salifoufadjimata@gmail.com Tel : (+227)96284953/ 90054873

Résumé

Appartenant à la famille des benzodiazépines et classé dans la catégorie des drogues semi-légales ; le diazépam est un calmant. Associé souvent à d'autres médicaments, il peut servir à traiter l'épilepsie. Le présent travail propose un développement de technique d'extraction liquide-liquide simple, efficace et fiable pour le contrôle de qualité des médicaments à base de ces composés (benzodiazépines). Les réactifs utilisés sont : l'échantillon pur de Valium® (10 mg) qui a été acheté en pharmacie et qui a servi de référence, l'acide chlorhydrique (37%), le dichlorométhane (CH₂Cl₂) et l'ammoniaque (NH₄OH) 32% ont été achetés auprès de VWR – France. Cette technique d'extraction a été développée et validée pour la détection du principe actif du diazépam contenue dans certaines substances saisies en utilisant les Normes des Pharmacopée Internationale, Volume 2, 3^{ème} Edition et Pharmacopée Européenne, 6^{ème} Edition, Tome 2. Il ressort de cette étude que 70% des échantillons testés ont une teneur comprise entre 99-101% telle que recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Les médicaments répondant aux normes de l'OMS peuvent être utilisés en psychiatrie ou en urgences. Cette technique peut être utilisée dans les laboratoires de contrôle de qualité en cas de contrôle qualité de substances contenant le Diazépam.

Mots-clés : Diazépam, technique d'extraction, Extraction Liquide-Liquide.

Development and validation of a liquid-liquid extraction technique for valium (quality assurance on 10 seized samples)

Abstract

A member of the benzodiazepine family and classified in the semi-legal drug category, diazepam is a minor tranquilizer. Often combined with other drugs, it can be used to treat epilepsy. The present work proposes the development of a simple, effective and reliable liquid-liquid extraction technique for the quality control of drugs based on these compounds (benzodiazepines). The reagents we have used are: a pure sample of Valium® (10 mg) has been purchased from a pharmacy and has been used as a reference, the hydrochloric acid (37%), the dichloromethane (CH₂Cl₂) and the ammonia (NH₄OH) (32%) have been purchased from VWR - France. This extraction technique has been developed and validated for the detection of the active ingredient diazepam in certain seized substances, by using the standards of the International Pharmacopoeia, Volume 2, 3rd Edition and the European Pharmacopoeia, 6th Edition, Volume 2. The result of this study showed that 70 % of the samples tested have a active ingredient ranging between 99 - 101 %, as recommended by the WHO (World Health Organization). Drugs meeting WHO standards can be used in psychiatry and emergency medicine. This technique can be used in quality control laboratories for quality control of substances containing diazepam.

Keywords : Diazepam, extraction technique, Liquid-Liquid Extraction.

1. Introduction

L'extraction est un procédé de séparation qui consiste à extraire une ou plusieurs espèces chimiques d'un mélange solide ou liquide [1], [2], [3]. Les tests qualitatifs ne détectent que le principe actif (PA) majeur d'un produit et donnent des résultats erronés dans 10 à 70 % des cas [4], [5], [6], [7], [8], [9]. Ces tests ne sont pas recommandés dans le cadre médico-légal qui exige un suivi de traitement d'un usager de drogue [4]. Il existe plusieurs techniques d'extraction, dont quelques-unes ont donné des bons rendements selon les chercheurs qui les ont utilisées. Ce sont l'Extraction en Phase Solide ou solide-liquide (EPS), qui consiste à extraire une substance présente dans un solide pour la faire passer dans un solvant liquide (la macération, l'infusion et la technique de décoction) [2], [3], [10]. La Micro extraction liquide-liquide dispersive couplée à la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (DLLME/CG/MS) est une technique qui consiste à déterminer la présence et extraire des composés organiques dans un milieu liquide [2], [11], [12], [13], [14], [15]. L'Extraction de Fluide Supercritique (SFE) consiste à précipiter le produit extrait. Lors de la précipitation du produit, le fluide supercritique perd son pouvoir de dissolution lorsque la pression est diminuée [2], [16], [17]. L'Extraction en Phase Liquide ou liquide-liquide (EPL) est une technique qui permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant à l'aide d'un autre solvant d'extraction dans lequel elle est plus soluble. Les deux solvants, le solvant initial et celui d'extraction n'étant pas miscibles [2], [15].

Notre travail consiste à développer, valider une technique d'extraction simple, efficace et de les appliquer aux substances saisies contenant le principe actif (PA) pour confirmer ou infirmer la présence du PA dans les substances saisies. Si certaines d'entre-elles répondent aux normes préconisées par l'OMS, on peut les administrer aux patients internés aux urgences (cas des patients pauvres) ou en psychiatries [18], [19]. Pour les substances qui ne répondent pas aux normes recommandées par l'OMS, elles peuvent être incinérées lors de la journée internationale de l'incinération des drogues qui est le 26 Juin [20], [21], [22], [23], [24].

2. Matériel et Méthodes expérimentales

2.1. Présentation du Diazépam

Étant un tranquillisant de la famille des benzodiazépines, le Diazépam est la deuxième 'une des drogues semi-légales la plus consommée et vendue au Niger [1], [25]. Il est prescrit en cas d'anxiété ou dans le traitement des manifestations liées au sevrage alcoolique [2], [26], parfois en association avec d'autres médicaments pour traiter les crises d'épilepsie. Le valium (Figure 1) communément appelé Diazépam est un tranquillisant de la famille des benzodiazépines ; classé dans la catégorie des médicaments semi-légaux. Sa formule chimique est $C_{16}H_{13}ClN_2O$; son poids moléculaire est de 284,8 [27], [28]; Son nom selon l'IUPAC est 7-chloro-1-méthyl-5-phényl-3H-1, 4-benzodiazépine-2-one [19], [29], [30], [31], [32].

2.2. Propriétés chimiques et physiques

Il se présente sous forme de comprimés, gélules, substances injectables et suppositoires. C'est une poudre cristalline blanche, jaune ou bleu-claire avec une température de fusion de 125° à 126°C. Il est légèrement insoluble dans l'eau sauf en milieux aqueux acide (0,05 g·L⁻¹ à 25 °C); soluble dans l'éthanol, le chloroforme et l'éther [18], [33], [34].

2.3. Formule semi-développée

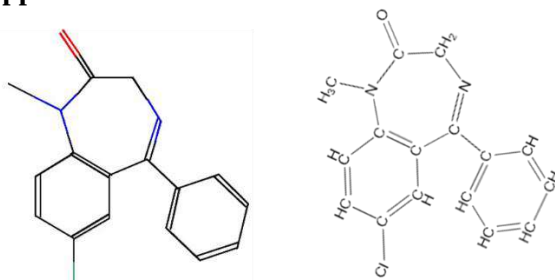


Figure 18: Structure chimique de Diazépam & Formule semi-développée du Diazépam
(Rouge : O ; Vert : Cl ; Bleu : N ; Noir : C/-CH₃/-CH₂)

2.4. Méthodes expérimentales

Tout d'abord nous présentons les échantillons saisis dans le tableau ci-dessus, puis les matériels et produits chimique ayant servi a faire l'extraction ; enfin le développement et la validation de la technique d'extraction proposée.

Tableau III : Caractéristiques des échantillons saisis contenant le Diazépam

Code	Dosage indiqué/ comprimé	Poids moyen	Forme et nom obtenu	Origine
D ₁	5 mg	209.67 mg	Comprimé, Scellé N°102/2018	Parquet
D ₂	5 mg	186.04 mg	Comprimé, ESKAY, Scellé N°100/2018	OCRTIS
D ₃	5 mg	182.44 mg	Comprimé, ESKAZEPAM	OCRTIS
D ₄	5 mg	191.5 mg	Comprimé ESKAZEPAM	Parquet
D ₅	5 mg	189.49 mg	Comprimé, Scellé N°415/18	Parquet
D ₆	5 mg	204.85 mg	Comprimé, Scellé N°875/2018	Parquet
D ₇	5 mg	180.61mg	Comprimé, Scellé N°2355/19	Parquet
D ₈	5 mg	243.67 mg	Comprimé, Scellé N°97/2017	Parquet
D ₉	10mg	144.27 mg	Comprimé, Scellé N° 99/2017	Parquet
D ₁₀	10 mg	144.05 mg	Comprimé, Scellé N° 99/2017	OCRTIS

2.5. Produits chimiques et réactifs expérimentaux utilisés pour le Diazépam

L'échantillon pur de Valium® (10 mg), a été acheté en pharmacie, le temps de péremption n'était pas inférieur à 3 ans au moment de l'étude. L'acide chlorhydrique (37% ; densité de 1,18 ; poids moléculaire de 36,5) le dichlorométhane (CH₂Cl₂) et l'ammoniaque (NH₄OH) 32% ont été achetés auprès de VWR - France. Quelques échantillons de Diazépam des saisies nous ont été fournis par l'OCRTIS et le parquet après la signature de la décharge.

2.6. Proposition et validation de la technique d'extraction proposée pour le Diazépam

Tout d'abord peser le ballon vide. Faire une prise d'essai (PE) de 10 mg dans une fiole de 50ml ; le compléter jusqu'au trait de jauge (200 µgmL⁻¹) avec HCl 0,1 M. Filtrer la solution avec du papier wattman ; la basifier avec de l'ammoniaque (NH₄OH) 32%. La transvaser dans une ampoule à décanter ; puis extraire la solution par 50 mL de dichlorométhane (CH₂Cl₂). Récupérer la phase dichlorométhanique dans un ballon. Evaporer, garder le ballon dans un dessiccateur pendant une trentaine de minutes ; repeser le ballon et faire le calcul des masses en utilisant l'équation 1. [32], [35].

$$T = \left(\frac{M_{exp}}{M_{thq}} \right) \times 100 \% \text{ (Equation 1), où}$$

T : Teneur du principe actif en pourcentage

M_{exp} : masse expérimentale de la drogue

La masse expérimentale étant la somme du matériel vide (bécher ou ballon) et de la PE

PE : prise d'essai

M_{thq} : masse théorique de la drogue.

3. Résultats et Discussion

3.1. Présentation des résultats des rendement de spécialité et saisies contenant du Diazépam

Tableau IV: Présentation des résultats des rendement de spécialité et saisies contenant du Diazépam

C E	M exp. (g)	M thq. (g)	T _m (%)	PP (%)	Méthode C (% spécialité)
D ₁	51,6075	52,0157	99,20	D	100
D ₂	53,3709	53,7196	99,34		
D ₃	51,4894	51,8458	99,32		
D ₄	53,9679	53,5994	99,31		
D ₅	51,5387	51,1792	99,30		
D ₆	55,1537	53,5994	102,9		
D ₇	46,6722	51,8580	90		
D ₈	55,7088	52,0157	107,1		
D ₉	58,0120	58,0217	100		
D ₁₀	64,1600	64,1744	100		

CE : code d'échantillon, PP : Produit Pharmaceutique, M_{exp} : masse expérimentale, M_{thq} : masse théorique, T_m : teneur en masse, g : gramme

Selon les résultats, tous les dix (10) échantillons à base de diazépam sont dosés à des concentrations de 5 ou 10 mg PA. 70 % des échantillons sont conformes aux normes de principe actif recommandées par l'OMS et la Pharmacopée Internationale (PI) (99-101%). Ils contiennent au moins de 99 % et au plus 100 % de PA revendiqué. Parmi toutes les saisies contenant le Diazépam, les échantillons D₉ et D₁₀ ont 100 % de PA ; ce sont les meilleurs ; donc des médicaments très bons. Trois échantillons (de D₆ à D₈) ont des concentrations inférieures aux normes ; ils qui ne répondent pas aux normes cela est dû probablement aux mauvaises conditions de conservation de ces médicaments, c'est-à-dire la décomposition du PA dans de mauvaises conditions de conservation (exposition au soleil ou dans une salle non climatisée pendant longtemps). Les teneurs en masse de D₆ et D₈ sont très élevées par rapport aux normes recommandées. Celle de D₇ est inférieure, moins de 99% de PA. Rabani a trouvé des résultats similaires dans ces recherches, de même que d'autres chercheurs tels que l'équipe d'Okoromah, celle de Hisham et de Ben Lakhdar [32], [36], [37], [38].

Tous les résultats trouvés avec l'application des techniques d'extraction des échantillons de Diazépam sont similaires à ceux obtenus avec l'utilisation du spectrophotomètre UV (insérer une référence)

4. Conclusion générale et Perspectives

4.1. Conclusion générale

Cette technique d'extraction proposées, développée, validée et appliquée à certaines substances saisies, peut être utilisée dans les laboratoires à titre comparatif par rapport aux autres techniques d'analyse de diazépam. Elle peut

être utilisée aussi dans les laboratoires de contrôle de qualité. ; s'ils s'avèrent être des bons médicaments ; ils peuvent être utilisés dans les centres sanitaires particulièrement aux urgences et en psychiatrie généralement dans les pays en développement (PED) et en particulier au Niger.

4.2. Perspectives de recherche

En perspective, nous comptons :

- Développer et optimiser l'extraction des certaines substances contenant les dérivés du Diazépam,
- Développer techniques d'extraction et mettre en œuvre des méthodes d'investigations non-évasives sur la base des cheveux et des métabolites du diazépam dans certains liquides physiologiques (urine et sueur).
-

5. Remerciements

Les auteurs remercient vivement :

La Gendarmerie Nationale de Niamey ;

L'Université Abdou Moumouni (UAM) de Niamey ;

L'Office central de Répression de Trafic Illicites des Stupéfiants (OCRTIS) du Niger ;

Le Ministère de la Justice de Niamey ;

Le Procureur de la République près le Tribunal de Grande Instance (TGI/HS) de Niamey.

6. Bibliographie

- [1] B. Paw, G. Miztal, H. Hopkala, and J. Drozd, "Development and validation of a HPLC method for the determination of cetirizine in pharmaceutical dosage forms," *Pharmazie*, vol. 57, no. 5, pp. 313–315, 2002.
- [2] "Extraction (chimie) — Wikipédia." Accessed: Jun. 14, 2021. [Online]. Available: [https://fr.wikipedia.org/wiki/Extraction_\(chimie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Extraction_(chimie))
- [3] "Extraction des drogues | Bertin Instruments." Accessed: Jun. 14, 2021. [Online]. Available: <https://www.bertin-instruments.fr/preparation-echantillons-homogeneisateurs/application/extraction-des-drogues/>
- [4] "Tests rapides de dépistage des drogues et TSO en médecine générale." Accessed: Jun. 02, 2021. [Online]. Available: <https://www.rvh-synergie.org/prises-en-charge-des-addictions/penser-ensemble-les-prises-en-charge/therapeutiques/substitution-mso/689-tests-rapides-de-depistage-des-drogues-et-tso-en-medecine-generale.html>
- [5] "les tests rapides de drogue de la police sont-ils fiables ? - Français - IOI." Accessed: Jun. 02, 2021. [Online]. Available: <https://www.theioi.org/fr/nouvelles/nouvelles-actuel/les-tests-rapides-de-droque-de-la-police-sont-ils-fiables>
- [6] S. W. Toennes *et al.*, "Influence of Ethanol on the Pharmacokinetic Properties of 9-Tetrahydrocannabinol in Oral Fluid," *J. Anal. Toxicol.*, vol. 37, no. 3, pp. 152–158, Apr. 2013, doi: 10.1093/jat/bkt002.
- [7] "Cannabis et autres stupéfiants: tests de dépistage disponibles | AtouSante." Accessed: Jun. 02, 2021. [Online]. Available: <https://www.atousante.com/apptitude-inaptitude/apptitude-travail-pathologie/cannabis-travail/cannabis-tests-depistage-disponibles/>
- [8] ONUDC, *RAPPORT MONDIAL SUR LES DROGUES 2009 NATIONS UNIES OFFICE CONTRE LA DROGUE ET LE CRIME Vienne*. 2009. Accessed: Jun. 01, 2021. [Online]. Available: www.unodc.org
- [9] N. Samyn, V. Areschka, and A. Verstraete, "Évaluation de tests de dépistage des drogues sur le terrain," *Ann. Toxicol. Anal.*, vol. 12, no. 2, pp. 105–115, 2000, doi: 10.1051/ata/2000016.
- [10] P. M. Y. GAILLARD, G. PEPIN, P. MARQUET, P. KINTZ, M. DEVEAUX, "Identification et dosage de la benzoylecgonine, cocaïne, méthylecgonine-ester, codeine, morphine et 6-acétylmorphine dans le sang total," *TOXICORAMA*, n°2, p. 6, 1996.
- [11] H. K. Saeed Habibollahi, Nahid Tavakkoli, Vahid Nasirian, "Determination of Tramadol by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Combined with GC-MS," *J. Chromatogr. Sci.*, p. 7, 2014, doi: 10.1093/chromsci/bmu118.
- [12] F. R. et M. B. Mahado Ismail, Mark Baumert, Derek Stevenson, John Watts, Roger Webb, Catia Costa, "A diagnostic test for cocaine and benzoylecgonine in urine and oral fluid using portable mass spectrometry," *R. Soc. Chem.*, p. 9, 2016.
- [13] T. G. Alan G Ryder, Gerard M O'Connor, "Quantitative analysis of cocaine in solid mixtures using Raman spectroscopy and chemometric methods," *J. Raman Spectrosc.*, p. 7, 2000, doi: 10.1002/(sici)1097.
- [14] N. P., "Le screening toxicologique aux urgences," 2010.
- [15] B. Yilmaz and A. F. Erdem, "Simultaneous Determination of Tramadol and Its Metabolite in Human Urine by the Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method," *ournal Chromatogr. Sci. Vol. 53, Issue 7*, p. 8, 2015, doi: 10.1093/chromsci/bmu214.
- [16] K. Takaichi, "Direct extraction of benzodiazepine metabolite with supercritical fluid from whole blood," *Natl. Res. Inst. Police Sci. Chiba, Japan, Probl. Forensic Sci.*, vol. XLIII, p. 12, 2000.
- [17] T. C. Michael Schaffer, Virginie Hill, "Hair Analysis for Cocaine: The Requirement for Effective wash Procedures

- and Effects of Drug Concentration and Hair Porosity in Contamination and Decontamination,” *J. Anal. Technol.*, vol. 29, p. 8, 2005, doi: 10.1093.
- [18] Fadjimata, “Données d’enquête.” p. 1, 2017.
- [19] S. K. Fadjimata and A. Rabani, “Optimization , development and validation by UV spectrophotometric method for the determination of a solid semi- legal drug : Valium,” *IOSR J. Appl. Chem.*, vol. 12, no. 12, pp. 51–58, 2020, doi: 10.9790/5736-1212015158.
- [20] “26 juin: ONUDC - World Drug Day – Journée internationale contre l’abus et le trafic illicite de drogues - cnapa.” Accessed: Jun. 02, 2021. [Online]. Available: <http://cnapa.lu/fr/2020/06/26-juin-onudc-world-drug-day-journee-internationale-contre-labus-et-le-traffic-illicite-de-drogues/>
- [21] “29^{ème} Journée internationale de lutte contre l’abus des substances illicites et des drogues | ActuNiger.” Accessed: Sep. 05, 2020. [Online]. Available: <https://www.actuniger.com/societe/11790-29eme-journee-internationale-de-lutte-contre-labus-des-substances-illicites-et-des-drogues>
- [22] “Journée mondiale de la lutte contre la drogue: L’Ocris incinère plus de 7 tonnes de drogue #aDakar_com.” Accessed: Jun. 02, 2021. [Online]. Available: <http://news.adakar.com/h/76728.html>
- [23] PNN, “Plus de deux tonnes de cannabis saisis des trafiquants de drogue à Niamey.”
- [24] U. Nations, “Journée internationale contre l’abus et le trafic de drogues | Nations Unies”, Accessed: Jun. 02, 2021. [Online]. Available: <https://www.un.org/fr/observances/end-drug-abuse-day>
- [25] “Droque au Sahel: La source principale de financement des jihadistes | Slate.fr.” Accessed: Jul. 03, 2016. [Online]. Available: <http://www.slate.fr/tribune/67413/operation-serval-terroristes-narcotrafiquants>
- [26] “Qu’est-ce que le Valium (diazépam) ? (Effets secondaires, sevrage à l’arrêt...) | Psychomédia.” [Online]. Available: <http://www.psychomedia.qc.ca/medicaments/qu-est-ce-que-le-valium-diazepam>
- [27] M. D. O. and B. W. Anthony C Moffat, *CLARKE’S Analysis of Drugs and poisons, Fourth Edition*. 2011.
- [28] M. D. O. and B. W. Anthony C Moffat, *CLARKE’S Analysis of Drugs and poisons; Fourth Edition*. 2011.
- [29] A. Cesarani, D. Alpin, B. Monti, and G. Raponi, “The treatment of acute vertigo,” *Neurol. Sci.*, vol. 25, no. SUPPL. 1, pp. S26–30, Mar. 2004, doi: 10.1007/s10072-004-0213-8.
- [30] “Diazépam — Wikipédia.” Accessed: Nov. 09, 2018. [Online]. Available: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Diazepam>
- [31] M. Lader, A. Tylee, and J. Donoghue, “Withdrawing benzodiazepines in primary care,” *CNS Drugs*, vol. 23, no. 1. pp. 19–34, 2009. doi: 10.2165/0023210-200923010-00002.
- [32] C. A. Okoromah and A. F. Lesi, “Diazepam for treating tetanus,” *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 1, p. CD003954, Jan. 2004, doi: 10.1002/14651858.cd003954.pub2.
- [33] M. D. O. and B. W. Anthony C Moffat, *CLARKE’S Analysis of Drugs and poisons, Fourth Edition*. 2011.
- [34] “Benzodiazepines drug profile | www.emcdda.europa.eu.” Accessed: Jun. 04, 2021. [Online]. Available: https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/benzodiazepines_fr
- [35] C. Franzelius, A. Ingrid, Ingo Deinp, A. Ludwig, and G. Machbert, “Simultaneous Extraction of Selected Benzodiazepines and Benzodiazepine-Glucuronides from Urine by Immunoabsorption,” 1998. [Online]. Available: <https://academic.oup.com/jat/article/22/5/359/811219>
- [36] A. A. and M. S. Rabani Adamou, “Quality Control of Paracetamol Drugs in West Africa: Spectrophotometric Analysis of Eight Most Available Commercial Formulations in Niger.-Indian Journals,” *Asian J. Res. Chem.*, p. 4, 2011, [Online]. Available: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ajrc&volume=4&issue=12&article=016>
- [37] H. E. Abdellatif, M. M. El-Henawee, H. M. El-Sayed, and M. M. Ayad, “Spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for analysis of tramadol, acebutolol and dothiepin in pharmaceutical preparations,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 65, no. 5, pp. 1087–1092, Dec. 2006, doi: 10.1016/j.saa.2006.02.008.
- [38] C. Ben Lakhdar, N. G. Vaillant, and F. C. Wolff, “Price elasticity of demand for cannabis: Does potency matter?,” *Addict. Res. Theory*, vol. 24, no. 4, pp. 300–312, Jul. 2016, doi: 10.3109/16066359.2016.1139699.

Elaboration d'hydroxyapatite à partir du marbre d'Idadjo pour des applications biomédicales : Influence des méthodes.

Igor Bien-Aimé AKODEDJROHOUN^{1*}, Etienne V. SAGBO¹, David DODOO-ARHIN², Marielle Y. AGBAHOUNGBATA¹

¹Laboratoire de Chimie Physique, Matériaux et Modélisation Moléculaire (LCP3M), Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), Bénin

²BANGA Africa Energy & Hybrid Materials Lab, Department of Materials Science and Engineering, University of Ghana, Legon, Ghana
*Auteur correspondant: ledisciplelavoisier@gmail.com

Résumé

L'hydroxyapatite (HAP) est le principal composant inorganique du matériau osseux et est largement utilisée dans diverses applications biomédicales en raison de son excellente bioactivité et de sa biocompatibilité. Dans cette étude, des poudres d'hydroxyapatite (HAP) ont été élaborées à partir du minerai de marbre d'Idadjo dans le but de le valoriser comme source de calcium en utilisant de l'acide phosphorique et du dihydrogénophosphate d'ammonium comme sources de phosphore via deux méthodes à savoir : la méthode de double décomposition et la méthode par neutralisation. Les particules d'HAP synthétisées ont été caractérisées par diffraction des rayons X (DRX) et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRFT). Ces analyses nous ont montré que la méthode de double décomposition est meilleure avec une HAP monophasique. Par contre, nous obtenons un mélange de phosphates de calcium (HAP et TCP) avec la méthode par neutralisation. La cristallinité des poudres d'HAP élaborées s'améliore avec l'augmentation de la température de calcination de 100 à 1000 °C. La stabilité thermique des particules synthétisées a également été étudiée par les analyses thermiques (ATG/ATD) qui ont révélé une bonne stabilité des poudres avec une perte en masse d'environ 10 %. Ces caractéristiques font de ces HAP, un matériau utilisable pour des applications biomédicales.

Mots clés: Marbre, hydroxyapatite, méthodes

Elaboration of hydroxyapatite from Idadjo marble for biomedical applications: Influence of methods.

Abstract

Hydroxyapatite (PAH) is the main inorganic component of bone material and is widely used in various biomedical applications due to its excellent bioactivity and biocompatibility. In this study, hydroxyapatite powders (PAH) were developed from Idadjo marble ore with the aim of valorizing it as a source of calcium using phosphoric acid and ammonium dihydrogen phosphate as sources of calcium. phosphorus via two methods namely: the double decomposition method and the neutralization method. The synthesized PAH particles were characterized by X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). These analyzes showed us that the double decomposition method is better with a monophasic PAH. On the other hand, we obtain a mixture of calcium phosphates (PAH and TCP) with the neutralization method. The crystallinity of the PAH powders produced improves with increasing the calcination temperature from 100 to 1000 °C. The thermal stability of the synthesized particles was also studied by thermal analyzes (TGA/DTA) which revealed good stability of the powders with a mass loss of approximately 10 %. These characteristics make these PAHs a usable material for biomedical applications.

Key words: Marble, hydroxyapatite, methods

1. Introduction

Les traumatismes dus aux accidents de la circulation constituent un problème mondial majeur de santé publique. Il est estimé à plus de 1,2 millions de morts par an et de 50 millions de blessés graves par an dans le monde [1]. Grâce au développement de la chirurgie, il est possible de réparer ou de remplacer les parties endommagées du tissu osseux. Pour combler le déficit, la médecine utilise plusieurs matériaux à savoir les métaux notamment le fer. L'organisme humain le rejette car le fer métal n'est pas compatible. Cherchant la compatibilité, le choix est porté sur les matériaux naturels biologiques c'est-à-dire l'os venant du patient lui-même (autogreffe) ou l'os venant d'un autre patient (allogreffe) ou encore l'os venant d'un animal (hétérogreffe). Ces matériaux sont limités par l'insuffisance d'échantillons disponibles et leurs grandes variabilités de comportement. Désormais, les regards sont tournés vers les matériaux synthétiques. Quels matériaux synthétiques donc ? Il a été prouvé que l'os humain est constitué d'environ 60 % de phase minérale qui n'est que de l'hydroxyapatite. De plus, l'hydroxyapatite est biocompatible, bioactive, ostéoinductrice, non toxique et non inflammatoire. C'est pour ces raisons que nous avons opté pour l'élaboration de l'hydroxyapatite à partir du marbre d'Idadjo comme source de calcium en utilisant deux méthodes de synthèse à savoir la méthode de double décomposition et celle de neutralisation. Cette étude présente les résultats de l'analyse par diffraction des rayons X, la spectroscopie infrarouge et les analyses thermiques des poudres d'hydroxyapatite élaborées à partir du marbre d'Idadjo (Ouèssè) du Bénin.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matière première

La matière première utilisée dans cette étude est le marbre échantillonné à Idadjo (Ouèssè) au Bénin. Il contient 99,6 % de carbonate de calcium CaCO_3 . [2]



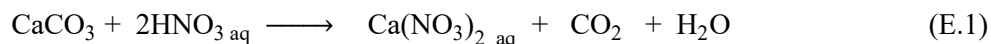
Fig. 1 Photos du marbre d'Idadjo et de la poudre obtenue après broyage

2.2. Méthodes

La poudre de marbre d'Idadjo est essentiellement constituée de carbonate de calcium (calcite). Une tentative est faite pour convertir le carbonate de calcium du marbre en hydroxyapatite phosphocalcique en l'utilisant comme source de calcium. Pour cette synthèse deux (2) méthodes ont été utilisées à savoir : la méthode de double décomposition et la méthode de neutralisation.

2.2.1. Synthèse d'hydroxyapatite par la méthode de double décomposition

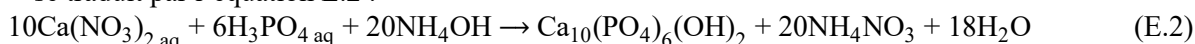
La poudre de marbre a été décarbonatée préalablement dans une solution d'acide nitrique 2M jusqu'à saturation selon l'équation E.1 :



La suspension a été filtrée et la quantité d'ions calcium présents dans la solution de nitrate de calcium a été déterminée par dosage complexométrique en retour. Les ions calcium présents dans la solution acide sont complexés par l'ajout, en excès, d'acide éthylène diaminetétraacétique (EDTA). L'excès d'EDTA est ensuite dosé par ajout progressif d'une solution de zinc à 0,05 M à pH basique et en présence d'un indicateur coloré, le Noir Eriochrome T (NET).

La synthèse proprement dite se fait en deux étapes :

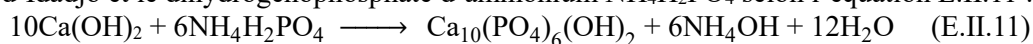
- La première consiste à la préparation de deux solutions (A et B) qui seront utilisées comme des réactifs.
- **La solution A** de calcium est la solution de nitrate de calcium 1M précédemment préparée à partir de la poudre de marbre et dosée. 50 mL de cette solution est prélevée.
- **La solution B** de phosphate est obtenue par la dilution de 13,7 mL d'acide ortho phosphorique de densité $d = 1,68$ et de pourcentage $p = 85 \%$ dans 130 ml d'eau distillée.
- La seconde étape consiste à placer la solution A dans une bouteille en verre bien propre contenant au préalable 200 mL d'eau. Elle est portée à 60°C . A l'aide d'une pissette à ammoniac, la solution B ajustée à $\text{pH} = 10$ avec de l'ammoniac, est versée goutte à goutte sur la solution A. La réaction mise en évidence se traduit par l'équation E.2 :



La présence d'ammoniaque en excès est nécessaire pour avoir un milieu basique proche de 10. Une fois l'addition terminée, la préparation est maintenue à 60°C et sous agitation durant 4 heures. Le précipité obtenu est porté à maturation pendant 72 heures, puis lavé, centrifugé et séché à 100°C pendant 12 heures à l'étuve.

2.2.2. Synthèse d'hydroxyapatite par la méthode de neutralisation

La synthèse de la HAP a été réalisée par réaction entre la chaux éteinte $\text{Ca}(\text{OH})_2$ obtenue par calcination à 1000°C du marbre d'Idadjo et le dihydrogénophosphate d'ammonium $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ selon l'équation E.II.11 :



La synthèse proprement dite se fait en deux étapes :

- La première consiste à la préparation de deux solutions (C et D) qui seront utilisées comme des réactifs.
- **La solution C** de calcium est une suspension préparée en dispersant sous agitation $m = 26,8$ g d'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dans $V = 100$ mL d'eau distillée.
- **La solution D** de phosphate est une solution obtenue en dissolvant $m = 25$ g de dihydrogénophosphate d'ammonium $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ dans $V = 100$ mL d'eau distillée.
- La seconde étape consiste à placer la solution C dans une bouteille en verre bien propre. Elle est portée à 60°C . La solution D est versée goutte à goutte sur la solution C. Le rapport molaire Ca/P est fixé à 1,67.

Le précipité obtenu est porté à maturation pendant 72 heures, puis lavé, centrifugé et séché à 100°C pendant 12 heures à l'étuve.

Les poudres de HAP préparées par ces deux méthodes, ont été soumises à un traitement thermique de différentes températures à savoir 700 et 1000°C pendant 3 heures sous air dans un four à moufle à régulation automatique.

La caractérisation par diffraction des rayons X, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et les analyses thermiques a été réalisée sur les échantillons séchés à 100°C et également sur les échantillons calcinés aux différentes températures ci-dessus mentionnées pour les deux méthodes de synthèse utilisées.

Les mesures de diffraction des rayons X sur poudre (p-XRD) ont été réalisées à l'aide d'un diffractomètre Philips (PANalytical, modèle X'pert Pro MPD) ayant pour caractéristiques Cu-K α ($1,54059 \text{ \AA}$), 45 kV et 40 mA dans la plage de valeurs 2θ entre 5° - 80° .

La liaison chimique a été analysée par spectroscopie infrarouge à transmission, en utilisant un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de type ALPHA. L'analyse est faite sur les pastilles (mélange de poudre de marbre et KBr) dans la gamme spectrale $4000 - 450 \text{ cm}^{-1}$.

L'analyse thermique, c'est-à-dire la thermogravimétrie (TG) et l'analyse thermique différentielle (DTA), ont été réalisées à l'aide d'un système TA Instruments SDTQ600, de la température ambiante à 1000°C , à 20°C/min et un débit d'azote de 100 ml/min .

3. Résultats et discussion

3.1. Diffraction des rayons X (p-DRX)

La détermination des phases de la poudre HAP synthétisée par deux (2) méthodes différentes à savoir la méthode de double décomposition et celle de neutralisation a été effectuée par analyse de diffraction des rayons X.

Le diffractogramme aux rayons X de la poudre de HAP élaborée par la méthode de double décomposition à partir du marbre d'Idadjo et calcinée à 1000°C (HAP-MD-E-1000) est illustré à la figure 2A. Toutes les raies de diffraction observées sur le diffractogramme de l'échantillon HAP-MD-E-1000 sont caractéristiques de l'hydroxyapatite de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ référencée par la fiche PDF 01-084-1998. L'analyse minéralogique par DRX montre clairement qu'aucune phase cristalline secondaire n'est détectée [3]. Ainsi donc, l'hydroxyapatite élaborée par la méthode de double décomposition est monophasique [4][5]. Les pics de diffraction sont fins, ce qui révèle une grande cristallinité des poudres.

La figure 2D est le résultat du zoom de la figure 2B dans la plage d'angles 31 à 35° . A partir de cette figure 2D, nous constatons qu'au fur et à mesure que la température de calcination augmente, la largeur à mi-hauteur des raies diminue et la cristallinité des particules de HAP augmente. L'analyse des deux courbes indique que la cristallinité de l'hydroxyapatite n'est bonne qu'à des températures de calcination supérieures à 700°C . Par conséquent, la cristallinité de l'hydroxyapatite est fonction de la température de calcination. Il est à signaler que la même HAP chauffée à 100°C est amorphe c'est-à-dire ne présentant pas de pic.

D'après la figure 2C, nous constatons la présence de la phase apatitique dans l'échantillon obtenu par la méthode de neutralisation (HAP-MN-1000) comme dans l'échantillon obtenu par la méthode de double décomposition dans l'eau (HAP-MD-E-1000). En plus des raies apatitiques, d'autres raies sont observées et sont caractéristiques du phosphate tricalcique (β -TCP) de formule $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ référencée par la fiche PDF 01-070-2065. L'analyse minéralogique par DRX montre clairement que HAP-MD-E-1000 présente une seule phase cristalline alors que HAP-MN-1000 possède deux phases cristallines. Ainsi donc, l'hydroxyapatite élaborée par la méthode de double décomposition est meilleure avec les conditions expérimentales utilisées.

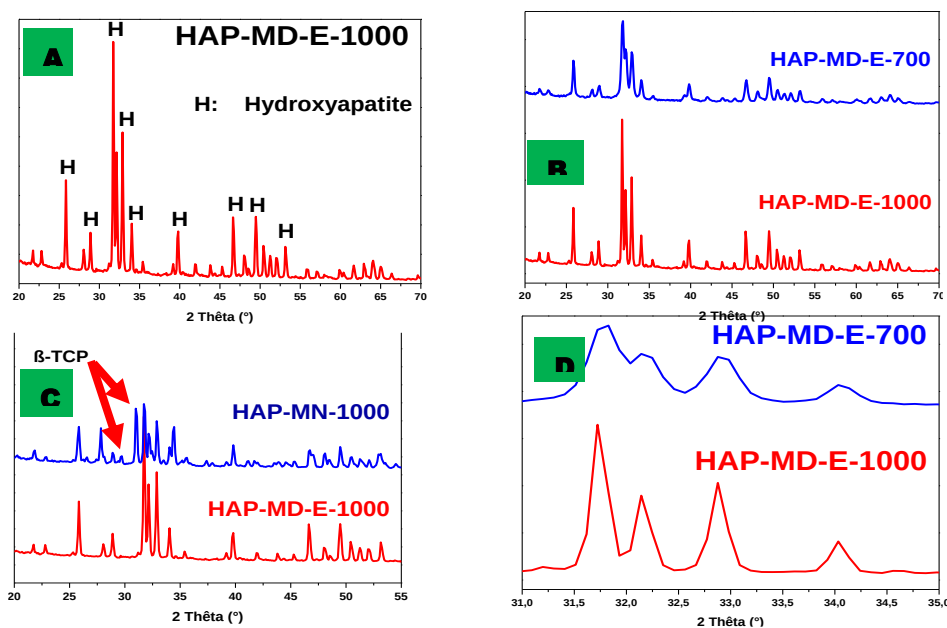


Fig. 2 Diffractogrammes des échantillons élaborés

3.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Une analyse infrarouge a été effectuée sur des poudres d'hydroxyapatite élaborée par la méthode de double décomposition et calcinée à 100 °C et 1000 °C, et notées respectivement HAP-MD-E-100 et HAP-MD-E-1000 (figures 3A et 3B). Les spectres obtenus présentent des bandes P-O et O-H respectivement des groupements phosphates et hydroxyles qui sont caractéristiques d'une hydroxyapatite phosphocalcique. En effet, d'une part, les bandes observées à 474, 571, 602, 962, 1046 et 1087 cm^{-1} représentent les modes de vibration de PO_4^{3-} [6]. La bande d'absorption autour de 630 cm^{-1} correspond au mode vibratoire des ions OH^- du réseau apatitique [7][8][9]. Et d'autre part, les bandes caractéristiques de l'eau (H_2O) adsorbée apparaissent à 1621, 1685, 3404 et 3560 cm^{-1} [10][11]. L'eau adsorbée a été éliminée lors de la calcination à 1000 °C. La présence des groupements PO_4^{3-} et $-\text{OH}$ apatitique confirme bel et bien la formation d'hydroxyapatite. [9][12][13][14][15]

Les figures 3C et 3D montrent les spectres IRTF des poudres d'hydroxyapatite élaborées par la méthode de décomposition HAP-MD-E-1000 et par la méthode de neutralisation HAP-MN-1000 et calcinées à 1000 °C pendant 3 heures. Nous remarquons sur ces spectres, les mêmes bandes d'absorption correspondant aux groupements phosphate PO_4^{3-} et hydroxyde OH^- du réseau de l'hydroxyapatite. Par ailleurs, nous constatons qu'à 630 cm^{-1} , la bande du groupement OH apatitique de HAP-MN-1000 obtenue par la méthode de neutralisation est en retrait en intensité par rapport à celle observée au niveau de HAP-MD-E-1000 obtenue par la méthode de double décomposition. Ce constat est due à la présence, à la fois, d'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ et de phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dans la poudre HAP-MN-1000 révélée par la diffraction des rayons X. Le taux de OH apatitique dans HAP-MN-1000 est évidemment inférieur à celui de HAP-MD-E-1000 constituée uniquement d'hydroxyapatite.

Signalons au passage qu'aucune bande d'absorption caractéristique de l'eau n'a été constatée, due à la calcination à 1000 °C.

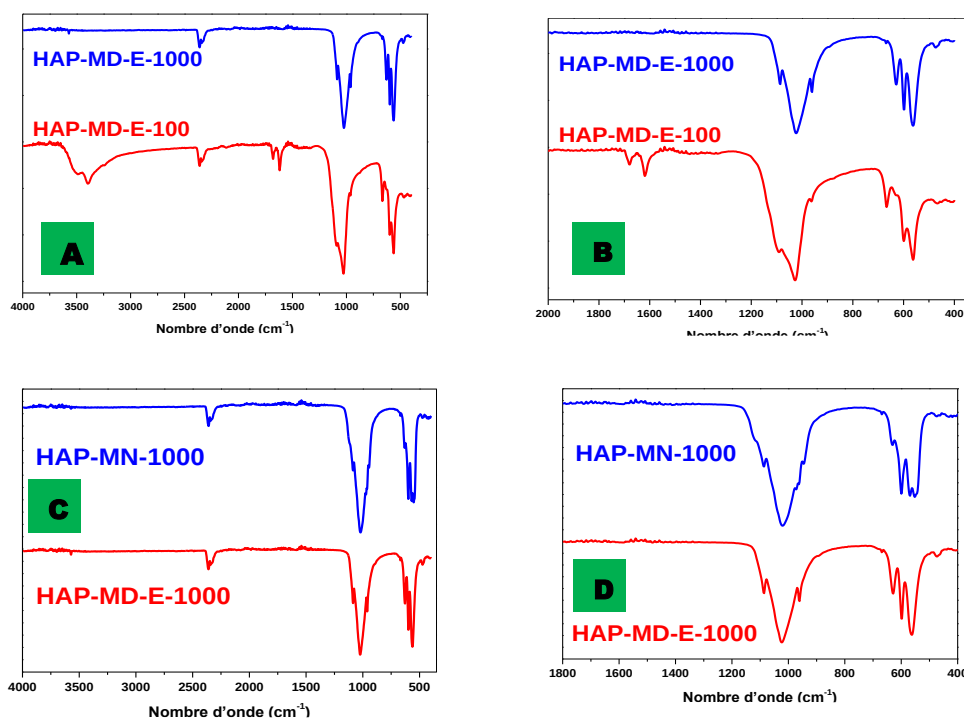


Fig. 3 Spectres IRTF des échantillons élaborés

3.6. Analyses thermiques gravimétrique/différentielle

Généralement, une substance soumise à un traitement thermique peut subir une modification de ses propriétés physico-chimiques à savoir le changement de phase, la modification de structure et la décomposition.

La stabilité thermique des poudres d'hydroxyapatite élaborées par la méthode de double décomposition (HAP-MD-E-100) et par la méthode de neutralisation (HAP-MN-100) a été étudiée, pour nous permettre de mettre en évidence les transformations cristallines et de mettre en jeu le transfert de matière au cours du traitement thermique. Les analyses thermogravimétriques permettent d'associer les variables de masse à des phénomènes enthalpiques endothermiques ou exothermiques, en fonction de la température.

La figure 4 montre les thermographes ATG et ATD de l'hydroxyapatite élaborée par les deux méthodes. Comme nous l'observons, la courbe ATG enregistrée pour les deux échantillons ne présente pas de décomposition détectable observée.

Dans le cas des deux échantillons analysés (HAP-MD-E-100 et HAP-MN-100), l'analyse thermogravimétrique (ATG) a mis en évidence une perte de masse totale d'environ 10 % observée entre la température ambiante et 1000 °C correspond à la déshydratation de l'hydroxyapatite c'est-à-dire le départ de l'eau libre contenue dans les pores et de l'eau fortement liée [16][17]. Cette perte de masse attribuée à la désorption de l'eau, est indiquée par un pic endothermique assez large et centré à 200 °C sur la courbe ATD. Au-delà de 500 °C jusqu'à 1000 °C est observée la transformation structurale de l'hydroxyapatite de l'état amorphe à l'état cristallin c'est-à-dire à la cristallisation de l'hydroxyapatite de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (formation de l'hydroxyapatite bien cristallisée). Nous remarquons, que ces pertes sont relativement faibles, jusqu'à la température de 1000 °C, ce qui indique la grande stabilité thermique des poudres de HAP synthétisées par les deux (2) méthodes. Ces résultats confirment ainsi ceux obtenus suite au traitement des données de diffraction des rayons X et de la spectroscopie d'absorption infrarouge, qui ont mis en évidence une hydroxyapatite non carbonatée (absence des bandes relatives aux groupements carbonates) dans le cas des deux poudres d'hydroxyapatite élaborées.

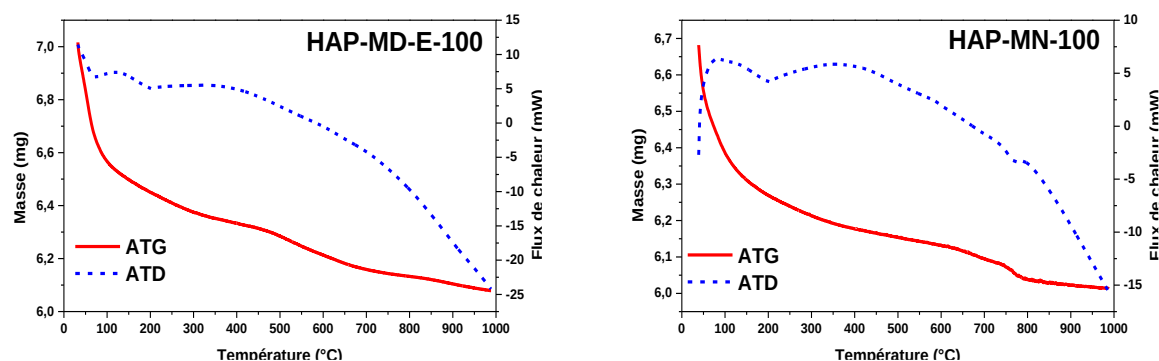


Fig. 4 Courbes ATG-ATD des échantillons élaborés et chauffés à 100 °C

4. Conclusion

L'objectif de ce travail de recherche est de préparer l'hydroxyapatite (HAP) à partir du marbre d'Idadjo (Ouèssè) du Bénin. Ainsi nous avons à travers deux méthodes telles que la méthode de double décomposition et la méthode de neutralisation, synthétisé l'hydroxyapatite dont les diverses applications en médecine et en pharmacie sont bien connues.

La diffractométrie des rayons X (DRX) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) ont permis d'identifier les phases cristallines et structurales des produits de synthèse. Les résultats de ces analyses révèlent uniquement l'hydroxyapatite pour la méthode de double décomposition et un mélange d'hydroxyapatite et de phosphate tricalcique (β -TCP) pour la méthode de neutralisation. La cristallinité des poudres de HAP élaborée s'améliore avec l'augmentation de la température de calcination de 100 à 1000 °C. La stabilité thermique des particules synthétisées a également été étudiée par les analyses thermiques (ATG/ATD) qui ont révélé une bonne stabilité des poudres avec une perte en masse d'environ 10 % à 1000 °C. Ces caractéristiques font de ces HAP, un matériau utilisable pour des applications biomédicales. La méthode de double décomposition est la meilleure pour l'élaboration d'hydroxyapatite à base de la poudre de marbre d'Idadjo qui est une potentielle source de calcium.

5. Références

- [1] OMS, *Chapitre 1 intitulé Données fondamentales Rapport mondial sur la prévention des traumatismes dus aux accidents de la circulation*. 2017.
- [2] D. D.-A. Igor B.A. Akodedjrohoun, Etienne V. Sagbo, "Physico-chemical Characterization of Calcitic Marble from Idadjo (Ouèssè) in Benin Republic," *Chem. Res. J.*, vol. 8(3), pp. 35–44, 2023.
- [3] W. Wei, R. Sun, J. Cui, and Z. Wei, "Removal of nitrobenzene from aqueous solution by adsorption on nanocrystalline hydroxyapatite," *DES*, vol. 263, no. 1–3, pp. 89–96, 2010, doi: 10.1016/j.desal.2010.06.043.
- [4] W. D. T. A. Niakan, S. Ramesh, P. Ganesan, C. Y. Tan, J. Purbolaksono, H. Chandran, "Sintering behaviour of natural porous hydroxyapatite derived from bovine bone," *Ceram. Int.*, vol. 41(2), pp. 3024–3029, 2015.
- [5] N. D. B. D. O. Obada, E. T. Dauda, J. K. Abifarin, D. Dodoo-Arhin, "Mechanical properties of natural hydroxyapatite using low cold compaction pressure: Effect of sintering temperature," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 239, 2020.
- [6] B. O. Asimeng *et al.*, "Preparation and characterization of hydroxyapatite from Achatina achatina snail shells : effect of carbonate substitution and trace elements on defluoridation of water," *J. Asian Ceram. Soc.*, vol. 6, no. 3, pp. 205–212, 2018, doi: 10.1080/21870764.2018.1488570.
- [7] P. V. Russell SW, Luptak KA, Suchicital CTA, Alford TL, "Chemical and Structural Evolution of Sol-Gel-Derived Hydroxyapatite Thin Films under Rapid Thermal Processing.," *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 79, pp. 837–842, 1996.
- [8] G. H. Sargin Y, Kizilyalli M, Telli C, "A New Method for the Solid-State Synthesis of Tetracalcium Phosphate: A Dental Cement: X-ray Powder Diffraction and IR Studies.," *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 17, pp. 963–970, 1997.
- [9] H. L. Jaber, "Synthesis and characterization of hydroxyapatite powder from natural Camelus bone," 2017, doi: 10.1007/s41779-017-0120-0.
- [10] D. Gopi, J. Indira, L. Kavitha, M. Sekar, and U. K. Mudali, "Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles by a novel ultrasonic assisted with mixed hollow sphere template method," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 93, pp. 131–134, 2012, doi: 10.1016/j.saa.2012.02.033.
- [11] T. R. R. M. D.K. Pattanayak, R. Dash, R.C. Prasad, B.T. Rao, "Synthesis and sintered properties evaluation of calcium phosphate ceramics.," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, p. 684–690., 2007.
- [12] D. Mehta, S. George, and P. Mondal, "Synthesis of Hydroxyapatite by Chemical Precipitation Technique and Study of Its Biodegradability," no. June, 2014.
- [13] N. A. S. M. Pu, P. Koshy, H. Z. Abdullah, M. I. Idris, and T. C. Lee, "Syntheses of hydroxyapatite from natural sources Heliyon Syntheses of hydroxyapatite from natural sources," *Heliyon*, no. May, p. e01588, 2019, doi:

- 10.1016/j.heliyon.2019.e01588.
- [14] Z. W. W. Wei, L. Yang, W. Zhong, J. Cui, "Poorly crystalline hydroxyapatite: a novel adsorbent for enhanced fulvic acid removal from aqueous solution.," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 332, p. 328–339., 2015.
 - [15] S. Meski *et al.*, "Synthesis of hydroxyapatite from mussel shells for effective adsorption of aqueous Cd (II)," pp. 1226–1237, 2019, doi: 10.2166/wst.2019.366.
 - [16] J. C. Elliott, "Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates.," *Elsevier, Amsterdam*, 1994.
 - [17] J. C. and G. M. Heughebaert, "Étude de l'évolution de l'orthophosphate tricalcique non cristallin en phosphate apatitique à la faveur d'une réaction chimique, à température ordinaire.," *Rev. Phys. Appliquée*, vol. 12(5), p. 691–694., 1977.

DETECTION ELECTROCHIMIQUE D'UN PERTURBATEUR ENDOCRINIEN, LE PROPYLPARABENE

Teadouanka Luciano LOUA*, Bernadette EHUI AVO BILE, Olivier François Aristide Bertrand KOFFI, De Serifou MATYLA, Koffi Jules N'DA

Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Cocody, Côte d'Ivoire.

Le propylparabène est suspecté d'être un perturbateur endocrinien ou encore de provoquer des cancers du sein. Les parabènes, comme d'autres perturbateurs endocriniens, pourraient produire des effets pathologiques sur l'organisme ou sa descendance à la suite d'une modification de la fonction hormonale. Au regard de ces inquiétudes suscitées chez les consommateurs, il est impérieux de faciliter sa détection afin de préserver la santé des populations. Dans ce travail, il s'est agi de synthétiser un capteur électrochimique susceptible de détecter le propylparabène. L'électroactivité de la surface de notre électrode a été améliorée par l'utilisation d'un modificateur qui est le moringa. Les méthodes électrochimiques utilisées sont la voltammétrie cyclique et la voltammétrie à ondes carrées. Cette étude électrochimique s'est articulée autour de certains paramètres comme l'influence de la concentration du propylparabène sur l'électrode de travail et la limite de détection. Le capteur électrochimique synthétisé a montré une bonne sensibilité quant à la détection du propylparabène avec une limite de détection de $2,59 \cdot 10^{-7} \text{M}$. En perspective, nous comptons élaborer d'autres capteurs susceptibles de détecter le méthylparabène. Nous comptons aussi modifier notre électrode avec d'autres plantes, en vue d'améliorer la limite de détection de notre capteur.

Mots clés : Electrode modifiée ; le propylparabène ; capteur électrochimique ; le moringa

ELECTROCHEMICAL DETECTION OF AN ENDOCRINE DISRUPTOR, PROPYLPARABENE

Abstract :

Propylparaben is suspected of being an endocrine disruptor or even of causing breast cancer. Parabens, like other endocrine disruptors, could produce pathological effects on the body or its offspring following a change in hormonal function. In view of these concerns raised among consumers, it is imperative to facilitate its detection in order to preserve the health of the population. In this work, the aim was to synthesize an electrochemical sensor capable of detecting propylparaben. The electroactivity of the surface of our electrode was improved by the use of a modifier which is moringa. The electrochemical methods used are cyclic voltammetry and square wave voltammetry. This electrochemical study was structured around certain parameters such as the influence of the concentration of propylparaben on the working electrode and the detection limit. The synthesized electrochemical sensor showed good sensitivity for the detection of propylparaben with a detection limit of $2.59 \cdot 10^{-7} \text{M}$. In the future, we intend to develop other sensors capable of detecting methylparaben. We also plan to modify our electrode with other plants, in order to improve the detection limit of our sensor.

Keywords: Modified electrode; propylparaben; electrochemical sensor; moringa

1. Introduction

Un parabène est un conservateur (antimicrobien et antifongique) essentiellement utilisé dans les cosmétiques et, de façon plus marginale, dans les médicaments et certains aliments comme additifs alimentaires (identifiés sur les étiquettes par E214 jusqu'à E219). Les parabènes les plus utilisés sont : le propylparabène, dits « à chaîne longue » ; le méthylparabène (E214 et E215), dits « à chaîne courte » [1]. Cependant, une étude scientifique menée en Angleterre et publiée en 2004 [2] a lancé la polémique quant à la réelle sécurité d'emploi de ces molécules. Des études *in vitro* [3] et *in vivo* [4] ont montré que certains parabènes pouvaient avoir une faible activité oestrogénique. D'autres études réalisées dans le domaine des perturbateurs endocriniens (PEs) ont montré que les parabènes nécessitent une approche particulière des relations dose-effet [5]. Ainsi, ils sont suspectés d'agir comme des substances cancérogènes, même à très faible dose.

Le propylparabène est suspecté d'être un perturbateur endocrinien ou encore de provoquer des cancers du sein. La sécurité d'utilisation du propylparabène, conservateur très bien toléré et autorisé dans les produits cosmétiques, a été largement évaluée par de nombreux comités d'experts (européen, américain, néerlandais etc.) [6]. Rien qu'en Europe, la sécurité d'utilisation du propylparabène dans les produits cosmétiques a été évaluée en 2005, 2006, 2008, 2010, 2011, 2013 et une nouvelle fois en 2020 en tenant compte de toutes les données scientifiques existantes y compris celles portant sur la perturbation endocrinienne.

Les substances soupçonnées d'être des perturbateurs endocriniens commencent à être connues du public principalement à cause des effets qu'elles pourraient entraîner sur la santé humaine. Or, ces substances sont également présentes dans l'environnement consécutivement à leur fabrication ou à leur utilisation par l'être humain. Les données montrent que le milieu aquatique est le plus contaminé, les autres milieux (sols, air) pouvant

être considérés comme vecteur vers les eaux [7]. Les organismes aquatiques peuvent donc également subir les effets de ces substances.

Selon la commission européenne, un perturbateur endocrinien (PE) est une substance étrangère à l'organisme qui produit des effets pathologiques sur l'organisme à la suite d'une modification de la fonction hormonale. Les PEs agissent donc en imitant l'action des hormones naturelles telles que les œstrogènes ou la testostérone, en bloquant les récepteurs des hormones mais aussi, en agissant sur la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion des hormones, modifiant ainsi leurs concentrations [8].

Les controverses suscitent des inquiétudes chez les consommateurs, ainsi il est impérieux de faciliter la détection des parabènes afin de préserver la santé des populations. L'objectif de ce travail est d'élaborer un capteur électrochimique capable de détecter de façon immédiate la présence du propylparabène. Le choix du modificateur s'est porté sur une plante, le Moringa. Les résultats obtenus de ce travail ont été comparés à ceux émanant d'une étude faite sur un autre perturbateur endocrinien, l'acide perfluorooctane [9]. Cette comparaison porte sur le modificateur de l'électrode de travail, les limites de détection et de qualification.

2. Matériels et méthodes

2.1 Réactifs et solutions

La modification utilisée pour élaborer les électrodes est le Moringa (*Moringa oleifera*). Le Moringa ou arbre de vie ou arbre à raifort, à cause de la saveur de ses racines, est très répandu dans les pays subtropicaux.

Les feuilles de moringa sont riches en protéines, calcium, potassium, magnésium, fer et en phénols totaux. Elles contiennent également de la vitamine A, C et E [10] et sont considérées comme bonnes sources de phytonutriments tels que les caroténoïdes et les tocophérols [11]. En Inde et aux Philippines, les feuilles de Moringa oleifera sont utilisées pour préserver les aliments grâce à leur pouvoir antioxydant [12, 13]. Voir figure 1.



Fig. 1 : Feuilles du Moringa (*Moringa oleifera*).
(Source : <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-1371-moringa-oleifera-arbre-vie.html>)

La poudre de carbone graphite a été obtenue auprès de Sigma-Aldrich avec une pureté de 99%. L'eau distillée a été utilisée pour préparer toutes les solutions. Le sulfate de sodium de formule Na_2SO_4 à 0,1 M a été utilisé pour constituer le milieu analytique. Sa pureté et sa masse molaire sont respectivement de 99% et de 142,03 g/mol. C'est un solide cristallin blanc. Ce produit a été obtenu auprès de PROLABO. Le 4-hydroxybenzoate de propyle ou propylparabène de formule $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$ est d'une pureté de 99% et de masse molaire égale à 180,21 g/mol. Ce produit a été fourni par la société Chimitec. Il est sous forme de poudre blanche.

2.2 Instrument

Les études électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat. Mini EC2 type « plug and play » piloté par un logiciel (Dorado 2019) permettant l'acquisition des données. La contre électrode de référence utilisée est une électrode au calomel saturé. L'électrode de référence est mise dans un luggin capillaire dont l'extrémité est placée très proche de l'électrode de travail afin de réduire la chute ohmique [14]. L'électrode de travail est une électrode à pâte de carbone modifiée par le Moringa (EPC/Mor).

2.3 Electrodes

Les feuilles de Moringa ont été séchées à l'air libre, à l'abri du soleil pendant plus de trois semaines. Une fois séchées, ces feuilles sont broyées à l'aide d'un mixeur Jiasound. Après le broyage, les échantillons sont passés dans un tamis de mailles inférieures à 100 μm pour avoir une poudre très fine. La poudre de Moringa a été ajoutée à la poudre de carbone graphite à une proportion de 3% de la poudre de carbone graphite. Ce pourcentage est faible que celui de l'Aloe vera utilisé (5%) comme modificateur pour la même électrode à pâte de carbone [9]. La

poudre commerciale de carbone graphite et de Moringa ont été mélangées avec le liant, l'huile de paraffine et avec le solvant, l'éthanol absolu.

La pâte obtenue a servi à remplir la cavité de l'électrode (support creux qui porte la tige de carbone ; de surface égale à 0,1256 cm²). La tige assure le contact électrique avec la pâte. L'électrode ainsi obtenue (EPC/Mor) est séchée à température ambiante avec soin pendant 24 heures. Une fois sèche, un polissage mécanique de la surface de l'électrode est réalisé sur papier lisse avant son utilisation pour éliminer toutes les irrégularités et obtenir une surface régulière.

2.4 Méthodes

La désoxygénation des solutions a été effectuée par le barbotage d'azote gazeux pendant 10 minutes avant la manipulation.

L'électrode modifiée (EPC/Mor) a été caractérisée en présence du propylparabène par la voltammétrie cyclique et la voltammétrie à ondes carrées. La surface des électrodes a été observée à l'aide d'un microscope optique LEICA EZ4HD piloté par un logiciel LAS EZ. Le grossissement utilisé est de 10/0,25. L'influence de la concentration du P.P a été étudiée pour exprimer la variation de la densité de courant en fonction de la concentration du propylparabène. Cette variation a permis de calculer la limite de détection (LD) qui traduit la plus petite quantité de propylparabène que l'électrode de travail est capable de détecter. La limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) ont été calculées en utilisant les expressions issues des travaux de Miller et Miller [15]. Dans ces travaux, il a été montré que la déviation standard du courant moyen (SD) mesuré lors de la mesure voltamétrique peut être déterminé par l'équation (1). A partir de SD, la limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) peuvent être respectivement calculées grâce aux équations (2) et (3).

$$SD = \frac{1}{(n-2)} \sum_{j=1}^n (i_j - I_j)^2 \quad (1) \quad LD = 3 \times \frac{SD}{Pente} \quad (2) \quad LD = 10 \times \frac{SD}{Pente} \quad (3)$$

Où i_j est la valeur expérimentale du courant identifié à la manipulation j et I_j est la valeur correspondante calculée à la même concentration en utilisant l'équation de calibration.

N est le nombre de mesures effectuées ; « Pente » est la pente de l'équation de calibration.

Pour rappel, la limite de détection est la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être détectée, avec une incertitude acceptable, mais non qualifiée dans la condition expérimentale ; et la limite de quantification est la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être qualifiée, avec une incertitude acceptable dans les conditions expérimentales.

3. Résultats et discussions

3.1 Modification de la surface de l'électrode à pâte de carbone par le Moringa

L'électrode à pâte de carbone modifiée par le Moringa (EPC/Mor) a été caractérisée par la voltamétrie cyclique. Ce voltamogramme a été ensuite superposé à celui de l'électrode mère (EPC mère) pour s'assurer de la modification de sa surface. La figure 2 montre la superposition des voltamogrammes cycliques.

La superposition des courbes voltamétriques montre une nette différence. Ainsi, le dégagement de dioxygène sur l'EPC mère commence au potentiel 0,6 V/ECS tandis que pour l'EPC/mor, le potentiel de dégagement de dioxygène est à 0,7 V/ECS. Dans le sens retour, le dégagement de dihydrogène pour l'EPC pur est au voisinage de -0,4 V/ECS tandis que pour l'EPC/Mor ce dégagement s'effectue au environ de -0,2 V/ECS. Les deux courbes ne sont pas superposables, ce qui confirme que le Moringa a bien modifié la surface de l'électrode.

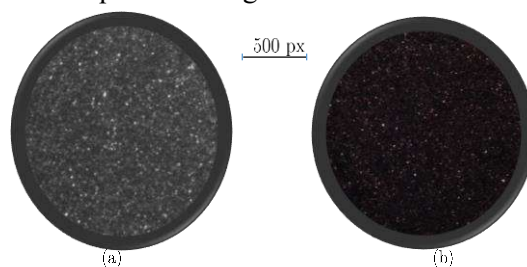


Fig. 3. Microscopie optique (grossissement 10/0,25).

(a) Electrode à pâte de carbone graphite (EPC mère)

(b) Après modification par le Moringa (EPC/Mor)

Les surfaces de l'électrode avant et après la modification ont été photographiées à l'aide d'un microscope optique LEICA EZ4HD piloté par un logiciel LAS EZ (figure 3).

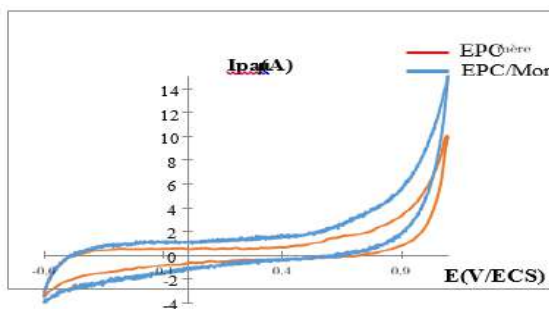


Fig 3 : superpositions des voltammogrammes de EPC mère et EPC/Mor dans Na_2SO_4 à 0,1 M,

La figure 3 présente les surfaces de l'électrode à pâte de carbone mère (EPC mère) et de l'électrode à pâte de carbone modifiée par le Moringa (EPC/Mor) à 3%. L'EPC/Mor présente une surface à coloration rouge violacée, ce qui pourrait être le fait de la présence du Moringa associé à la poudre de carbone.

3.2 Caractérisation électrochimique de l'EPC/Mor en présence du Propylparabène

L'électrode modifiée EPC/Mor a été caractérisée en présence du propylparabène (P.P). La figure 4 présente les voltammo-grammes cycliques de l'électrode à pâte de carbone modifiée par le Moringa à blanc et en présence du propylparabène.

Dans le domaine des potentiels allant de -0,6 V/ECS à 1,1 V/ECS, nous avons effectué la superposition des voltammo-grammes de l'EPC/Mor avec et sans le propylparabène. La figure 4 montre une quasi superposition des deux courbes dans l'intervalle des potentiel -0,4 V/ECS à 0,4 V/ECS et une vague d'oxydation entre les potentiels 0,5 V/ECS et 0,8 V/ECS dans le sens aller. L'électrode à pâte de carbone modifiée au Moringa pourrait être capable de détecter le propylparabène, avec un pic de potentiel à environ 0,7 V/ECS et une intensité de 6,96 μA .

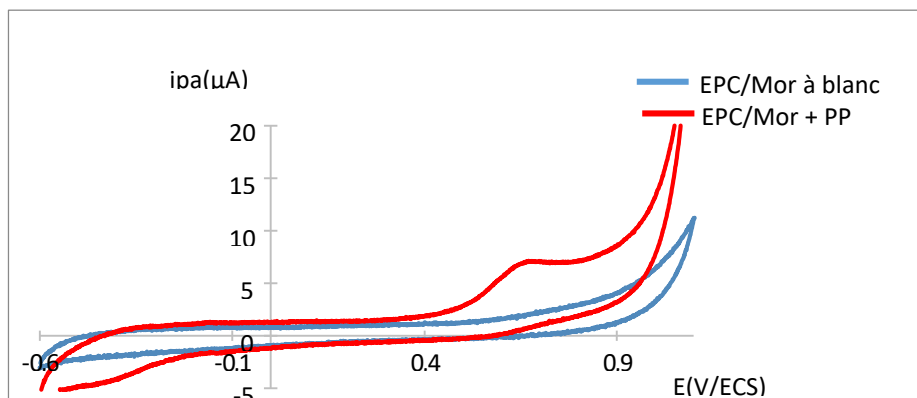


Fig. 4. Superposition des voltammogrammes de EPC/Mor à blanc et EPC/Mor en présence du propylparabène (PP) dans Na_2SO_4 0,1 M, $v = 100 mV/s$, de -0,6 V/ECS à 1,1 V/ECS.

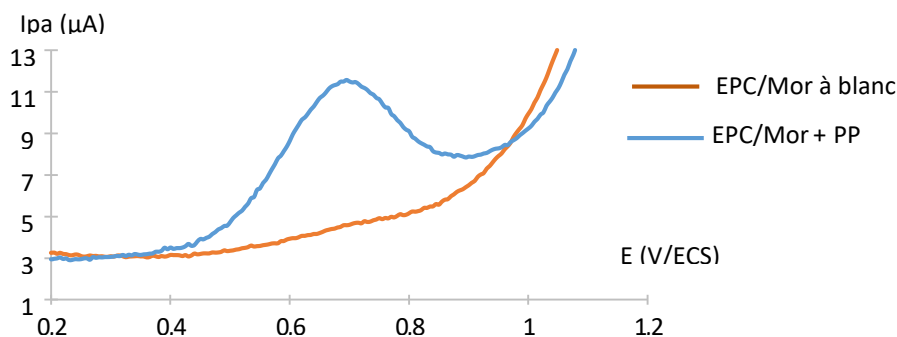
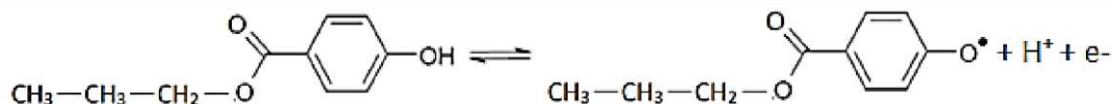


Fig. 5. Voltammétrie à ondes carrées de l'électrode à pâte de carbone modifiée au Moringa en présence et en absence du propylparabène dans une solution de Na_2SO_4 0,1 M, Amp = 50 mV ; N=25 Hz ; pas de potentiel = 5 mV.

Ces mêmes électrodes ont été caractérisées par la voltammétrie à ondes carrées. La figure 5 présente la superposition des voltammogrammes obtenus. Il apparaît clairement une modification de l'allure du voltammogramme à ondes carrées en présence du propylparabène. En présence du propylparabène, le voltammogramme présente une vague d'oxydation avec un pic à environ 0,7 V/ECS en accord avec les résultats obtenus par la voltammétrie cyclique.

L'équation d'oxydation possible du propylparabène est donnée ci-dessous [16] :



3.3 Effet de la variation de la concentration du propylparabène

La figure 6 présente le comportement électrochimique de l'EPC/Mor dans une solution de sulfate de sodium contenant des concentrations variables de propylparabène (vitesse de balayage de 100 mV/s). Dans l'intervalle de potentiel de -0,6 V/ECS et 1,1 V/ECS, les différentes concentrations de propylparabène considérées (en μM) sont : 1,6 ; 2,2 ; 2,7 ; 3,8 ; 4,4 et 5,5.

La figure 6 montre que plus la concentration du propylparabène augmente, plus l'intensité du pic est grande. En présence du PP, il y a une augmentation de la densité du courant aux environs de 0,7 V/ECS. Cette vague met en évidence l'oxydation du PP. Ces résultats sont confirmés par ceux obtenus par la voltammétrie à ondes carrées en présence du propylparabène à différentes concentrations (figure 7). Aux alentours du potentiel de 0,7 V/ECS, il est observé une croissance de l'intensité du pic d'oxydation lorsque la concentration du propylparabène augmente.

En se situant aux potentiels autour de 0,7 V/ECS, le tracé du courant de vague d'oxydation en fonction des concentrations du propylparabène donne une droite dont le coefficient de détermination est de 0,999 (figure 8).

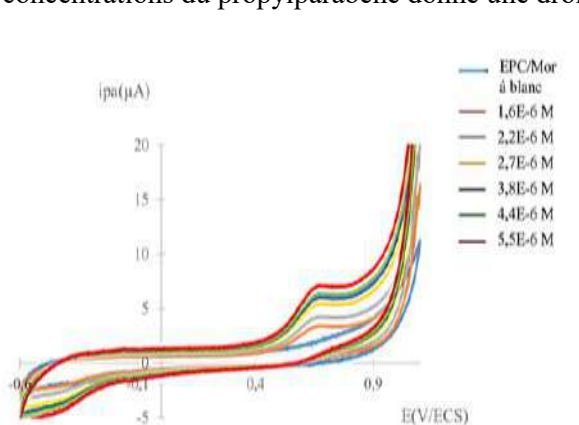


Fig.6. Voltammogrammes cyclique de EPC/Mor à blanc et EPC/Mor en présence du propylparabène à différentes concentrations dans 25mL de Na_2SO_4 0,1M, $v = 100$ mV/s, de -0,6V/ECS à 1,1V/ECS

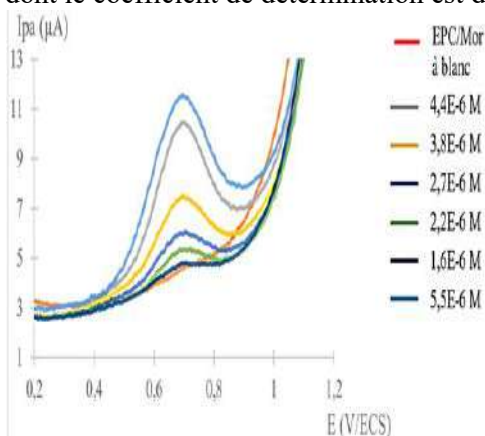


Fig.7. Voltammétrie à onde carrée de l'EPC/Mor en présence du propylparabène à différentes concentrations dans une solution de Na_2SO_4 0,1M ,Amp = 50 mV ; N= 25 Hz pas de potentiel = 5mV.

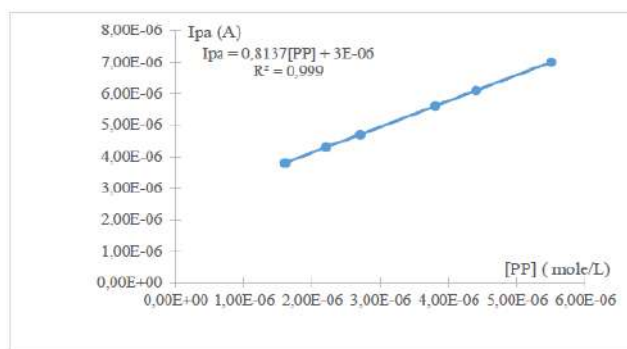


Fig. 8. Courbe de calibration de la variation de la concentration de PP.

La limite de détection déduite dans ce travail a été comparée à celles d'autres capteurs dans le tableau 1.

Tableau 1 : Limites de détection de quelques capteurs électrochimiques pour détecter le propylparabène.

Capteurs électrochimiques	Limite de détection (mol/L)	références
Microélectrode en fibre de carbone	$5,55 \cdot 10^{-7}$	[16]
Electrode de mercure suspendue (HDME)	$1,07 \cdot 10^{-7}$	[17]
Electrode à pate de carbone modifiée au moringa (EPC/Mor)	$2,59 \cdot 10^{-7}$	Présent travail

3.4. Reproductibilité

La reproductibilité du capteur élaboré pour la détection du propylparabène a été étudiée. Cinq électrodes (EPC/Mor) préparées dans les mêmes conditions ont été caractérisées en présence du propylparabène ($5,5 \cdot 10^{-6}$). Le tableau 2 présente les résultats obtenus. On note une variation très faible d la densité de courant pour les cinq mesures effectuées. Au vu de ces résultats, nous pouvons conclure que les expériences sont reproductibles.

Tableau 2 : Densité de courant en fonction des mesures effectuées

Mesures	1	2	3	4	5
$I_p(\mu A)$	3,290	3,291	3,289	3,291	3,290

4. Conclusion

La présente étude a montré que le capteur électrochimique synthétisé, c'est-à-dire EPC/Mor a une bonne sensibilité quant à la détection du propylparabène avec une limite de détection de $2,59 \cdot 10^{-7}$ M et une limite de quantification de $8,63 \cdot 10^{-7}$ M. L'étude de l'influence de la concentration du propylparabène sur l'EPC/Mor a montré que la densité du courant augmente linéairement avec les concentrations du propylparabène. Les résultats obtenus sont suffisamment reproductibles.

En perspective, nous comptons élaborer d'autres capteurs susceptibles de détecter le méthylparabène. Nous comptons aussi modifier notre électrode avec d'autres plantes, en vue d'améliorer la limite de détection du capteur qui sera obtenu.

Références

- [1] Léon Bérard, centre de lutte contre le cancer ; [https:// WWW.cancer-environnement.fr/fiches/expositions-environnementales/parabenes/](https://WWW.cancer-environnement.fr/fiches/expositions-environnementales/parabenes/) (site visité le 18/11/2023)
- [2] P.D Dabre, A. Aljarrah, W.R Miller, N.G. coldham, *Concentrations of parabens in human breast tumours*. Journal of Applied Toxicology 24 (1) (2004) 5-13.
- [3] E.J. Routledge, J. Parker, J. Odum, J. Ashby, Some Alkyl Hydroxy Benzoate Preservative (Parabens) Are Estrogenic, Toxicology and Applied Pharmacology 153(1) (1998) 12-19.
- [4] S. Oishi, Effect of butylparaben on the male reproductive system in rats, Toxicology and industrial Health 17(1)(2001) 31-39.
- [5] Les cahiers de la Recherche, Santé, Environnement, Travail (2012), Anses Editions.
- [6] Cosmetic Ingredient Review and National institute for Public Health and the Environment, RIVM report, Pays-bas (2017).
- [7] Daniel vallauri, Laurine Ollivier, Yann Laurans, Perturbateurs Endocriniens et Biodiversité, World Wilde Fund (WWF-France), 35/37 rue Baudin, 93310 Le Pré-Saint-Gervais (2011) 24.
- [8] C. Radovan, D. Cinghita, F. Manea, M. Mincea, C. Cofan, V. Ostafe, Electrochemical sensing and Assessment of parabens in Hydro-Alcoholic Solution and Water Using a Boron-Doped Diamond Electrode, Sensors 8(7)(2008) 4330-4349.
- [9] Koffi Jules N'da, Bernadette Ehui Avo Bilé, Olivier François Aristide Bertrand Koffi, Teadouanka Luciaono Loua, De Serifou Matyla, Méthode électroanalytique pour la détection d'un perturbateur endocrinien, l'acide perfluorooctane, RAMReS Sciences des Structures de la Matière 7(1) (2023) 37-47.
- [10] S. Hekmat, M. Kathryn, M. Soltani, G. Robert, Sensory evaluation of locally grown fruit purees and inulin fibre on probiotic yogurt in Mwanza, Tanzania and the microbial analysis of probiotic yogurt fortified with Moringa oleifera, Journal of Health, Population, and Nutrition, 33 (2015) 60-67.
- [11] R.K. Saini, N.P. Shetty, M.Prakash, P.Giridhar, Effect of Dehydration Methods on retention of Carotenoides, Tocopherols, Ascorbic Acid and Antioxidant Activity in Moringa Oleifera leaves and Preparation of a RTE Product, Journal of Food Science and Technology 51(9) (2014) 2176-2182.
- [12] P. Siddhuraju, K. Becker, Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of Drumstick tree (Moringa oleifera Lam.) leaves, Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (2003) 2144-2155.
- [13] Kamel Kaidi, Ahmed Boulal, Abdelkader Mekkassi, L'effet antibactérien et antifongique de l'huile essentielle des feuilles de moringa oleifera Lam, International Journal of Resources and Environment 5(1) (2023) 58-86.
- [14] Pohan Aliou Lemeyonouin Guillaume, Ouattara Lassiné, Kondro Konan Honoré, Kambiré Ollo, Trokourey Albert, Electrochemical Treatment of the Wastewaters of Abidjan on Thermally Prepared Platinum Modified Metal Oxides Electrodes, European Journal of Scientific Research 94(1) (2013) 96-100.
- [15] J.C Miller, J.N Miller, Basic statistical methods for analytical chemistry Part I. Statistics of repeated measurements, Analyst 113 (1988) 1351-1353
- [16] M. Slawomir, M. Jakubczyk, A. Skorupa, Voltammetric determination of total content of parabens at a carbon fiber microelectrode in pharmaceutical preparations, International journal of electrochemical science 11 (2016) 1661-1675
- [17] Shatha Y. Yahyaa, Suham T. Ameen, Kadhim K. Hashim, Détermination voltampérométrique cyclique du méthylparabène et du propylparabène dans les préparations pharmaceutiques, Journal of Kufa for chemical science 2(2) (2017) 82-113.

Caractéristiques physicomécanique et thermique des adobes amendés au ciment et aux fibres de noix de coco

Issiaka Sanou^{1,2}, Halidou Bamogo^{1,2}, Moussa Ouedraogo^{1,2}, Yalé Abdoul Aziz Serebe¹, Seynou Mohamed², Jean-Emmanuel Aubert³, Younoussa Millogo^{1,2}.

¹Université Nazi BONI, Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST), 01 BP 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

²Université Joseph KI-ZERBO, Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LC2M), UFR/ Sciences Exactes et Appliquées 03 B.P. 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³LMDC, Université de Toulouse, INSA/UPS Génie Civil, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse cedex 04 France de Toulouse.

Résumé : L'objectif de ce présent travail est d'étudier les caractéristiques physicomécanique et thermique des adobes amendés au ciment et aux fibres de noix de coco. Ainsi, une terre argileuse du Burkina Faso composée de la kaolinite (62%), du quartz (32%) et de la goethite (2%) avec un indice de plasticité de 21,5% a été utilisée comme matière première de base pour la formulation des adobes. Les adobes ont été élaborés avec une teneur de 4% de ciment et des fibres de coco à tes teneurs de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1% puis leur propriétés physique, mécanique et thermique déterminés. Il ressort des résultats obtenus que la présence des fibres de coco réduit la densité apparente et le retrait volumique et augmenter la porosité et l'absorption capillaire d'eau des adobes. Par ailleurs la tenue mécanique des adobes s'est améliorée avec l'ajout de 0,4 ; 0,6 et 0,8% de fibres. La conductivité thermique des adobes diminue avec le taux de fibres dans le composite due à la présence de la cellulose des fibres. Au regard de l'amélioration de ces propriétés, les adobes amendés au ciment et aux fibres de noix de coco sont utilisables pour la construction d'habitats durables.

Mots clés : Fibres de coco, adobes, propriétés physicomécaniques, conductivité thermique.

Physico-mechanical and thermal characteristics of adobes amended with cement and coconut fibers

The objective of this present work is to study the physicommechanical and thermal characteristics of adobes amended with cement and coconut fibers. Thus, a clayey soil from Burkina Faso composed of kaolinite (62%), quartz (32%) and goethite (2%) with a plasticity index of 21.5% was used as a basic raw material for the formulation of adobes. The adobes were made with a cement content of 4% and coconut fibers at a content of 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1% then their physical, mechanical and thermal properties determined. It appears from the results obtained that the presence of coconut fibers reduces the apparent density and volume shrinkage and increases the porosity and capillary water absorption of adobes. Furthermore, the mechanical strength of the adobes has improved with the addition of 0.4; 0.6 and 0.8% fiber. The thermal conductivity of adobes decreases with the fiber content in the composite due to the presence of cellulose in the fibers. In view of the improvement of these properties, adobes amended with cement and coconut fibers can be used for the construction of sustainable habitats.

Keywords: Coconut fibers, adobe, physicommechanical properties, thermal conductivity.

1. Introduction

Depuis plusieurs décennies les hommes bâtissent des villes, la terre crue a été et demeure à travers les traditions historiques et populaires l'un des principaux matériaux de construction utilisés sur notre planète. Aujourd'hui encore, environ 33 % de la population mondiale vit dans des maisons en terre [1]. De plus en plus, ce type de construction est délaissée au profit de la construction en parpaing de ciment au regard de ses performances mécaniques. Cependant cette méthode de construction revient plus couteuse et énergivore. En effet la production d'une tonne de ciment génère en moyenne la même quantité de CO₂ et correspond à environ 4,9 GJ d'énergie libérée [2]. Le ciment par son caractère énergivore et son coût élevé rend son accessibilité difficile surtout pour les pays en voie de développement comme le Burkina Faso. Il apparait donc que la construction écologique et pour une population à revenu modeste dans un pays en voie de développement peut se reposer sur l'utilisation des briques en terre crue moulée à la main. Cependant, ces briques présentent des failles du fait de leur faible résistance mécanique et faible tenue à l'eau [3,4]. Pour pallier les problèmes de résistance mécanique et la faible tenue à l'eau, il est donc nécessaire d'améliorer la qualité de ces briques en terre crue afin de les rendre plus performantes et durables. C'est ainsi que plusieurs travaux de recherche ont été réalisés sur l'amélioration des propriétés physique, mécanique, hydrique et thermique par l'utilisation des fibres végétales, ciment, chaux et pouzzolane [3,4,5-7]. Bien que la présence des fibres végétales d'une part et du ciment d'autre part ait permis de renforcer les différentes propriétés des adobes, force est de reconnaître que peu de travaux ont été consacré à l'association des fibres et ciment pour la stabilisation des briques en terre crue à notre connaissance [8,9]. L'objectif de ce présent

travail est d'étudier l'effet du mélange ciment-fibre de coco sur les propriétés physico-mécanique et thermique des adobes pour la construction d'habitats durables.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matières premières

La matière première argileuse faisant l'objet de cette étude a été prélevée dans la localité de Kôdeni dans la commune de Bobo Dioulasso à l'ouest du Burkina Faso. Le site de Kôdeni a pour coordonnées géographiques : (11°08' Latitude Nord et 04°18' Longitude Ouest). Cette argile a fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques [10]. Cependant, nous donnerons quelques-unes de ses caractéristiques géotechniques et minéralogiques dans le cadre de ce présent travail. Pour la suite du travail, cette matière première sera référencée KD. Les fibres de coco sont extraites du mésocarpe des coques de la noix de coco. Les fibres de coco sont caractérisées par leur pH acide, leur faible densité, leur capacité d'absorption élevée et leur grande résistance à la traction [11].

2.2. Méthodes de caractérisation des adobes

2.2.1. Caractérisation physique

Après formulation, quelques caractéristiques physiques des adobes ont été déterminées. Il s'agit de la densité apparente, la porosité, le retrait volumique et l'absorption d'eau par capillarité. La densité a été déterminée par la méthode de la pesée hydrostatique utilisée par Dao et al [6]. La porosité fermée a été déduite de la densité en utilisant l'équation 1 [6] :

$$\eta (\%) = (1 - \frac{d_a}{d_s}) \times 100 \quad (1)$$

Avec : η (%) : la porosité fermée, d_a : la densité apparente et d_s : la densité absolue. Les pourcentages R (%) de retrait volumique sont obtenus par la différence des volumes de l'éprouvette d'adobe avant séchage (V_i) et celui après séchage pour une durée minimale de 28 jours (V_f) selon l'équation 2.

$$R(\%) = \frac{V_i - V_f}{V_i} \times 100 \quad (2)$$

Le phénomène d'absorption d'eau par capillarité se caractérise par l'augmentation de la masse des adobes lorsqu'ils sont immergés dans l'eau. Les essais ont été réalisés en s'inspirant du protocole décrit par plusieurs auteurs [3,6]. Cet essai consiste à mesurer l'accroissement de la masse de l'éprouvette placée dans un récipient dont le niveau d'eau est 5 mm au-dessus de la face inférieure de l'éprouvette. En pratique, cette condition est obtenue en disposant les éprouvettes d'adobes sur un lit de gravillons. On mesure alors la masse de l'éprouvette en fonction du temps à 1, 4, 9, 16, 36, 49 et 64 minutes. Le coefficient C d'absorption d'eau de chaque éprouvette est calculé selon le temps d'immersion par l'équation 3 :

$$C = \frac{100M}{s\sqrt{t}} \quad (3)$$

Avec : M : masse d'eau absorbée par l'éprouvette (g), s : surface de base de l'éprouvette (m²), et t : temps écoulé en minutes depuis le début de l'immersion de l'éprouvette.

2.2.2. Caractérisation mécanique

Les caractéristiques mécaniques des adobes déterminés sont essentiellement la résistance mécanique à la flexion et celle à la compression. L'essai à la flexion a été réalisé sur les éprouvettes prismatiques de type 4 cm x 4 cm x 16 cm. La rupture est effectuée sous charge concentrée à l'aide d'une machine de marque CONTROLAB. Le dispositif de flexion comporte deux appuis à rouleau sur lesquels repose l'éprouvette prismatique suivant une face latérale de moulage, et un troisième rouleau de même diamètre, équidistant des premiers, et transmettant la charge F. La contrainte de rupture par flexion est donnée par l'équation 4 :

$$R = \frac{3}{2} \times \frac{FL}{b^3} \quad (4)$$

Avec : F la charge ; L la distance entre les appuis et b l'arrête de la section carrée du prisme.

L'éprouvette utilisée pour l'essai de la flexion donne deux moitiés utilisables pour l'essai de compression. Chaque moitié est soumise à une charge monotonement croissante jusqu'à la rupture. La résistance à la compression est le rapport entre la charge de rupture et la section transversale de l'éprouvette à partir de l'équation 5 :

$$R_c = \frac{10F}{S} \quad (5)$$

Avec : R_c : résistance à la compression de l'éprouvette en MPa ; F : charge maximale supportée par l'éprouvette en kN et S : valeur moyenne de la section en cm². Les essais de la flexion et de compression sont effectués conformément à la norme NF P 15-471.

2.2.3. Conductivité thermique des adobes

La conductivité thermique (λ) des adobes a été mesurée en utilisant une sonde TR-1 (diamètre de 2,4 millimètres, longueur de 10 cm, fonctionnant sur la gamme de 0,1 à 4 Wm⁻¹K⁻¹) reliée à un analyseur de propriétés thermiques KD2 Pro. La sonde est introduite dans un trou réalisé au centre d'une des faces carrées de l'adobe, préalablement séché, de sorte qu'il n'y ait pas de contact avec l'air.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractéristiques géotechniques et minéralogique de l'argile KD

3.1.1. Caractérisation géotechnique

Les caractéristiques géotechniques de la matière première argileuse KD étudiés sont essentiellement l'analyse granulométrique, les limites d'Atterberg et la valeur au bleu de méthylène. Les valeurs obtenues sont consignées dans le **tableau 1**. L'analyse du tableau montre que l'argile KD est composé de 50% en masse de sable qui constitue le squelette et 50% en masse de particules fines (passant inférieur à 80 μ m) dont 40% d'argile. Cette fraction fine joue le rôle de liant entre les grains de plus grande taille [7]. Les limites d'Atterberg constituées de limites de liquidité et de plasticité ont été déterminées à partir la norme NF P 94-051. Quant à la valeur au bleu de méthylène, elle a été réalisé selon la norme NF P94-068. L'indice de plasticité (I_p) qui constitue la différence entre la limite de liquidité (W_L) et celle de plasticité de plasticité (W_P) est de 23%. Cette valeur montre que l'échantillon est un sol argileux moyennement plastique. La valeur au bleu de méthylène qui est de 1,43 g/100g montre que KD appartient à la catégorie des sols argileux sensibles à l'eau. D'une manière générale, les sols argileux sont bien adaptés pour la stabilisation des sols.

Tableau 1 : Caractéristiques géotechniques de l'argile KD

Distribution granulométrique			Limites d'Atterberg	
Sable grossier (> 2 mm)		16	Limite de liquidité, W _L (%)	44
Sable fin (80 µm – 2 mm)		34		
Fines	Limon (2 - 80 µm)	10	Limite de plasticité W _P (%)	21
	Argile (< 2 µm)	40		
Valeur au bleu de méthylène (g/100g)			Indice de plasticité I _P (%)	23
1.43				

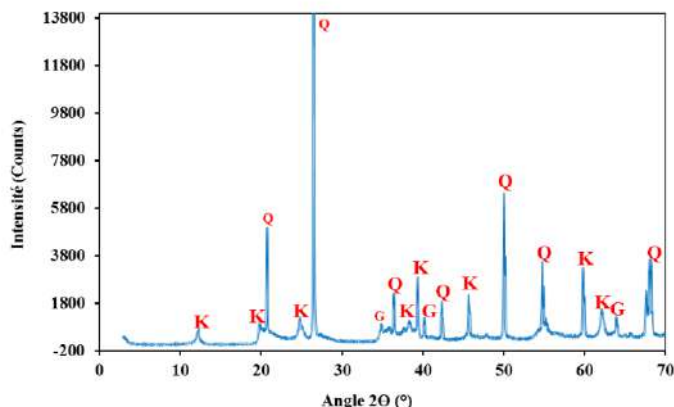
W_L : limite de liquidité ; W_P : limite de plasticité et I_p : indice de plasticité

3.1.2. Caractérisation chimique et minéralogique

Le diffractogramme de KD est présenté par la **figure 1**. Le dépouillement du diffractogramme montre que l'argile KD contient de la kaolinite ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$), du quartz (SiO_2) et de la goethite ($FeO(OH)$). En combinant les résultats de la diffraction des rayons X et ceux de l'analyse chimique, la teneur des phases minérales cristallisées présente dans l'argile KD a été évaluée en utilisant la relation de Yvon et al citée par Dao et al [6]. Les résultats sont consignés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Composition chimique et minéralogique de l'argile KD

Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	P ₂ O ₅	PF	Total
%	60,79	24,36	1,71	-	0,20	0,05	0,02	0,37	1,44	-	11,11	100
Minéral	Kaolinite			Quartz			Goethite			Balance		Total
%	62			31			2			5		100



K : kaolinite, Q : quartz, G : goethite

Figure 1 : Diffractogramme de l'argile KD

Il ressort de l'analyse du **tableau 2** que l'échantillon KD est riche en kaolinite et en quartz mais contient une teneur non négligeable en goethite. La balance qui est de 5% est constituée de minéraux amorphes et/ou surtout de la matière organique. Ces résultats sont en accord avec ceux de la géotechnique, confirmant que l'argile KD est riche en matière argileuse et en quartz. Au vu des données l'argile de KD est convenable pour l'élaboration d'adobes car l'échantillon contient une forte proportion de kaolinite qui servira de liant des particules isolées et de quartz qui servira de squelette et ne contient pas d'espèces argileuses gonflantes telles que les montmorillonites.

3.2. Optimisation de la teneur en ciment

L'optimisation de la teneur en ciment a consisté à substituer progression 0, 2, 4, 6, 8 et 10% de la matière première argileuse par du ciment. Le paramètre étudié fut la résistance mécanique en compression. Il s'agit de déterminer la teneur minimale de ciment qui donnera une résistance mécanique acceptable pour la construction d'habitat selon les normes en vigueur [12]. La **figure 2** présente l'évolution des résistances mécanique en fonction de la teneur en ciment. L'analyse de la figure montre une augmentation de la résistance mécanique jusqu'à 8% de substitution du ciment par la terre argileuse montrant ainsi une amélioration du comportement mécanique des adobes avec l'apport du ciment. Au-delà de 8% la résistance mécanique diminue. Ce même constat a été fait par d'autres auteurs mais à des teneurs en ciment différents de la nôtre [6, 13]. Dao et al ont observé une augmentation de la résistance mécanique des adobes obtenus par substitution du ciment jusqu'à 12% de substitution [6]. Par contre Millogo et al ont observé une diminution de la résistance mécanique des adobes contenant plus de 10% de chaux [5]. Par ailleurs, les adobes contenant plus de 2% de ciment ont une résistance mécanique à la compression supérieure à la valeur minimale de 2 MPa requise par la norme en vigueur pour les constructions à niveau simple [12]. Par conséquent la teneur de 4% en ciment constituera la teneur optimale en ciment. A cette teneur nous y ajouterons des fibres de coco à des teneurs de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1% puis étudierons les propriétés physique, mécanique et thermique des adobes issus.

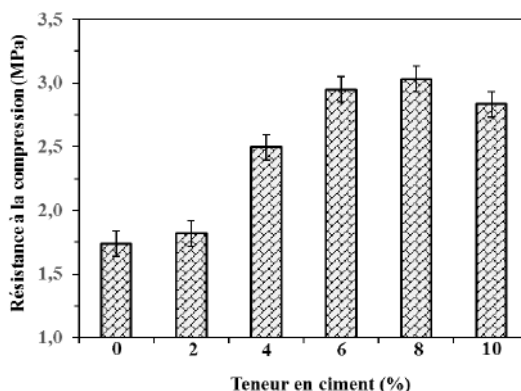


Figure 2 : Résistance à la compression des adobes adjuvés au ciment

3.3. Propriétés physico-mécaniques et thermiques des composites argile-ciment-fibre de coco

3.3.1. Caractéristiques physiques

La densité apparente, la porosité, le retrait volumique (**figure 3**) et l'absorption d'eau par capillarité (**figure 4**) sont les caractéristiques physiques des adobes amendés au ciment-fibres de coco qui ont été étudiées. L'analyse de la **figure 3** montre que la densité apparente et le retrait volumique diminuent avec l'augmentation de la teneur en fibre de coco dans l'adobe tandis que la porosité augmente avec l'ajout des fibres. Ce constat se justifierait par la faible densité des fibres par rapport à la matière première argileuse. Cette diminution de la densité est également à l'origine de la baisse du retrait volumique. Cette même observation a été faite par Sanou et al pour des adobes stabilisés au ciment et à la cendre de balle de riz [7]. Pour eux la densité est une fonction croissante du retrait. Par conséquent une augmentation de la densité entraîne également une augmentation du retrait. Pour Ouedraogo et al, la diminution de la densité est due au volume considérable occupé par les fibres dans le composite [14]. Par ailleurs, une densification des fibres peut se produire en surface, créant de ce fait des pores accessibles en différents endroits du matériau élaboré ce qui entraîne une augmentation de la porosité. Aussi, nos valeurs de densités sont plus faibles que celles obtenues par Ouedraogo et al. En effet les fibres de coco ont une densité plus faible que la bagasse de canne à sucre ou la balle de riz utilisés par ces auteurs. Le coefficient d'absorption d'eau par capillarité des adobes augmente avec l'ajout des fibres jusqu'à 0,8 % de fibres dans l'adobe. Ce comportement des adobes est dû au caractère hydrophile des fibres de coco à cause de la présence de la cellulose et des hémicelluloses. En fait, les fibres de coco en raison de leur grande capacité d'absorption ont une affinité pour l'eau ce qui entraîne une augmentation du coefficient d'absorption d'eau des adobes contenant ces fibres jusqu'à saturation. La diminution du coefficient d'absorption est due à la présence excessive des fibres dans l'adobe. En effet la forte présence des fibres de coco dans l'adobe peut boucher des pores internes et par conséquent ralentit la cinétique de remontée capillaire de l'eau. Les valeurs de coefficient d'absorption d'eau de nos adobes sont supérieures à celles obtenues par Ouedraogo et al pour des adobes stabilisés avec la balle de riz [14]. En effet, la capacité d'absorption des fibres de coco (610%) est largement supérieure à la capacité d'absorption de la balle de riz (88%). Donc les fibres de coco sont plus hydrophiles que la balle d'où la différence de valeur observée.

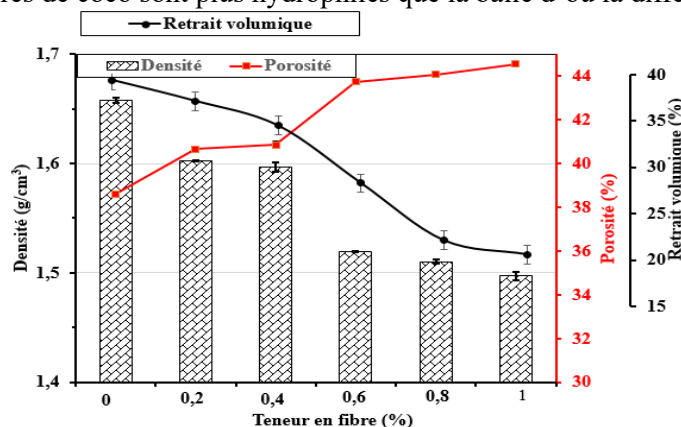


Figure 3 : Densité, porosité et retrait volumique des composites argile-ciment-fibres de coco

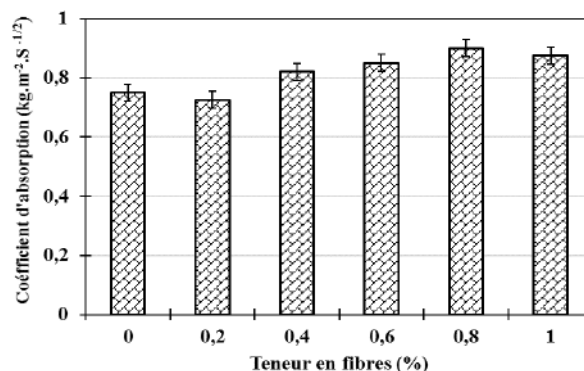


Figure 4 : Coefficient d'absorption d'eau par capillarité des adobes en fonction de la teneur en fibres

3.3.2. Comportement mécanique

Les caractéristiques mécaniques des adobes étudiées sont essentiellement les résistances mécaniques à la flexion et à la compression. La **figure 5** donne l'évolution des résistances mécaniques en fonction de la teneur en fibres dans l'adobe. L'analyse de la figure montre que la résistance mécanique aussi bien en flexion qu'en compression augmente avec la teneur de fibre jusqu'à 8% de fibre dans l'adobe. L'augmentation de la résistance à la

compression est due à une bonne adhérence des fibres de coco avec la matrice argilo-cimentaire à cause de leur surface rugueuse. Également la formation des CSH qui collent les particules de la terre argileuse consolidant ainsi le matériau pourrait être à la base de l'amélioration de la résistance à la compression [7]. Aussi, l'augmentation de la résistance serait aussi due à la possibilité de formation des liaisons hydrogènes entre les molécules des fibres de coco, les minéraux argileux et éventuellement les molécules de CSH [14]. Quant à la résistance à la flexion, son augmentation est essentiellement due à la bonne résistance à la traction des fibres de coco [11]. Ce résultat aussi peut s'expliquer par la formation des CSH ou des liaisons hydrogènes qui consolident les composites. La chute de la résistance mécanique peut s'expliquer par le phénomène d'entassement des fibres dans la matrice argilo-cimentaire engendrant une forte macroporosité. Aussi la forte teneur en fibres pourrait inhiber l'hydratation du ciment donc la formation des CSH et diminuer les résistances mécaniques. Tous les adobes élaborés ont une résistance à la compression supérieure à 2 MPa donc utilisables dans la construction d'habitats selon les normes en vigueur [12]

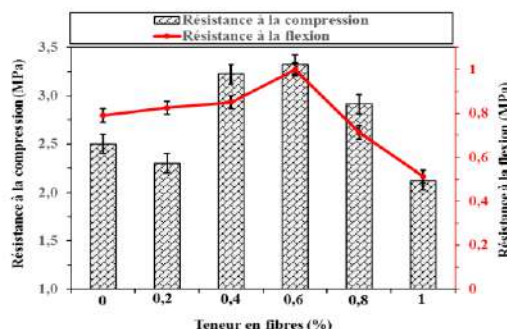


Figure 5 : Résistance mécanique des adobes en fonction de la teneur en fibres de coco

3.3.3. Conductivité thermique

L'évolution de la conductivité thermique des adobes en fonction de la teneur des fibres de coco est indiquée par la **figure 6**. L'analyse de cette figure montre que la conductivité thermique des adobes décroît en fonction de la teneur en fibres. La présence de la cellulose, un bon isolant thermique, est à la base de cette décroissance de conductivité [14]. Aussi, l'augmentation de la teneur en fibres s'accompagne d'une augmentation de la porosité et ces pores vont renfermer de l'air ; ce qui a pour conséquence la baisse de la conductivité thermique. L'utilisation de ces adobes dans la construction des habitats offre un bon confort thermique aux occupants et constitue une solution pour réduire la consommation en énergie due à l'utilisation des climatiseurs.

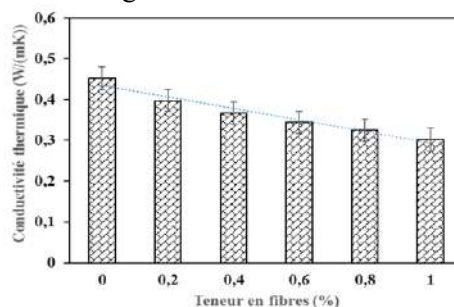


Figure 6 : Conductivité thermique des adobes en fonction de la teneur en fibres de coco

4. Conclusion

Ce présent travail a consisté à étudier l'effet du mélange ciment-fibre de coco sur les propriétés physicomécanique et thermique des adobes. Les différents résultats obtenus permettent de tirer les conclusions remarquables suivantes : la matière première argileuse est composée de kaolinite (62 %), quartz (32), et de goethite (2 %) avec un indice de plasticité de 21,5%, cette terre convient donc pour l'élaboration des adobes pour les habitats. - la teneur en ciment de 4% constitue le pourcentage minimal qui offre une résistance mécanique à la compression supérieure à 2 MPa pour la construction d'habitat selon les normes en vigueur.

Le maintien de la teneur 4% de ciment ainsi que la substitution progressive de la terre argileuse par 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1% de fibre de coco a influencé les propriétés physico-mécanique et thermique des adobes élaborés avec :

- une diminution de la densité et du retrait volumique et une augmentation de la porosité et du coefficient d'absorption d'eau par capillarité fermée due à la faible densité des fibres contenues dans la matrice argilo-

cimentaire ; une amélioration de la résistance mécanique des adobes due à une bonne adhérence des fibres de coco avec la matrice argilo-cimentaire et à la formation des liaisons hydrogènes et des CSH ;

- une diminution de la conductivité thermique des adobes due à la présence de la cellulose des fibres qui constitue un bon isolant thermique. Les adobes élaborés du point de vue caractéristique physicomécanique et conductivité thermique conviennent pour la construction des habitats durables.

Références bibliographiques

- [1] H. Binici, O. Aksogan, T. Shah, Investigation of fibre reinforced mud bricks as a building material. *Construction and Building Materials* 19 (2005), 313-318.
- [2] M. Ouedraogo, M. Sawadogo, I. Sanou, M. Barro, S. Nassio, M. Seynou, L. Zerbo, Characterization of sugar cane bagasse ash from Burkina Faso for cleaner cement production: Influence of calcination temperature and duration. *Result in Materials* 14 (2022) 100275.
- [3] M. Ouédraogo, K. Dao, Y. Millogo, J-E. Aubert, A. Messan, M. Seynou, L. Zerbo, M. Gomina, Physical, thermal and mechanical properties of adobes stabilized with fonio (*Digitaria exilis*) straw. *Journal of Building Engineering* 23 (2019) 250-258.
- [4] Y. Millogo, J. C. Morel, J-E. Aubert, K. Ghavami, Experimental analysis of pressed Adobe Blocks reinforced with *Hibiscus cannabinus* fibers. *Construction and Building Materials* 52 (2014), 71-78.
- [5] Y. Millogo, M. Hajjaji, R. Ouédraogo, Microstructure and physical properties of lime clayed-adobes bricks. *Construction and Building Materials* 22 (2008), 2386-2392.
- [6] K. Dao, M. Ouedraogo, Y. Millogo, J-E. Aubert, M. Gomina, Thermal, hydric and mechanical behaviours of adobes stabilized with Cement. *Construction and Building Materials* 158 (2018) 84–96. [7] I. Sanou, M. Seynou, L. Zerbo, R. Ouedraogo, Mineralogy, Physical and Mechanical Properties of Adobes Stabilized with Cement and Rice Husk Ash. *Science Journal of Chemistry* 7 (1) (2019) : 1-10. [8] M. Wade, M. Ba, M. Ndiaye, Mechanical Characterization of a BLOCK of Compressed Earth, Stabilized with Cement and Reinforced with Typha Fibers. *American Journal of Civil Engineering and Architecture*, Vol. 11, No. 3, (2023) 89-93.
- [9] J. Khedari, P. Watsanasathaporn, J. Hirunlabh, Development of fibre-based soil-cement block with low thermal conductivity. *Cem. Concr. Compos.* 27 (2005), 111–116.
- [10] H. Bamogo, M. Ouedraogo, I. Sanou, K.A.J. Ouedraogo, K. Dao, J-E. Aubert, Y. Millogo, Improvement of water resistance and thermal comfort of earth renders by cow dung: an ancestral practice of Burkina Faso. *Journal of Cultural Heritage* 46 (2020), 42-51.
- [11] H. Danso, Properties of Coconut, Oil Palm and Bagasse Fibres: As Potential Building Materials, 3rd International Conference on Natural Fibers: Advanced Materials for a Greener World, ICNF 2017, 21-23 June 2017, Braga, Portugal. *Procedia Engineering* 200 (2017) 1–9.
- [12] XPP 13-901 Blocs de terre comprimée pour murs et cloisons: Définitions Specifications-Methodes d'essais- Conditions de réception (2001).
- [13] Y. Millogo, J-C. Morel, Microstructural characterization and mechanical properties of cement stabilised adobes. *Materials and Structures* 45 (2012), 1311–1318.
- [14] M. Ouedraogo, H. Bamogo, I. Sanou, K. Dao, K. A. J. Ouedraogo, J- E. Aubert, Y. Millogo, Microstructure, Physical and Mechanical Properties of Adobes Stabilized with Rice Husks. *International Journal of Architectural Heritage* (2022), 1-16.

Nanocomposite hybride d'hydroxyde double lamellaire : un excipient pour la norfloxacin

N'guadi Blaise Allou¹, N'goran Séverin Eroi², Rajib Lochan Goswamee³, Ello Aimé Serge¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu, UFR SFA, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire

³Advanced Materials Group, Materials Science and Technology Division, CSIR-NEIST, Jorhat 785006, Assam, Inde

*allounguadi@yahoo.fr

Résumé : La principale préoccupation de la pharmacie, il y a quelques décennies, était de trouver des molécules actives avec effets indésirables réduites. La chimie organique de synthèse a permis de contrôler ce domaine par la découverte de molécules d'intérêt. Bien que ces molécules aient démontré leur efficacité, le manque de leur contrôle spatio-temporel dans l'organisme dans les formulations traditionnelles provoque des effets secondaires. Par conséquent, le développement de certaines stratégies nécessaires à une bonne observance du traitement en réduisant le nombre de prises palliant ainsi à ces effets secondaires devient important. Dans ce travail, des matériaux hybrides à base d'hydroxyde double lamellaire (HDL) intercalés par la norfloxacin (NOR) déposée sur la surface d'un carbone fonctionnalisé (CA) enrobés par la carboxyméthylcellulose (CMC) réticulée avec de l'acide citrique ont été préparés pour une libération contrôlée de la NOR. Sur la base des profils de libération, il a été constaté que la libération *in vitro* de la NOR était retardée lorsqu'elle était intercalée dans CA-LDH, provoquant sa libération progressive. Cependant, l'augmentation de la teneur en CMC diminue le taux de libération de la NOR. Par conséquent, un ajustement des quantités CA-LDH-NOR et CMC aiderait à contrôler le taux de libération de NOR.

Mots clés : Hydroxyde double lamellaire ; Libération contrôlée ; Norfloxacin ; Nanocomposite hybride.

Layered double hydroxide hybrid nanocomposite: an excipient for norfloxacin

Abstract: The main concern of pharmacy, a few decades ago, was to find active molecules with reduced undesirable effects. Synthetic organic chemistry has made it possible to control this field through the discovery of interest molecules. Although these molecules have demonstrated their effectiveness, the lack of their spatial and temporal control in the body, using traditional formulations, causes side effects. Consequently, development of certain strategies necessary for good compliance with treatment by reducing the number of doses thus compensating for these side effects becomes important. In this work, hybrid materials based on layered double hydroxide (LDH) intercalated by norfloxacin (NOR) deposited over the surface of functionalized carbon (AC) coated by carboxymethylcellulose (CMC) cross-linked with citric acid were prepared for NOR controlled released. Based on the release profiles, it was found that NOR, *in vitro* release, was delayed when intercalated into AC-LDH, causing its gradual release. However, increasing the CMC content decreases the NOR release rate. Therefore, adjusting the amounts of AC-LDH-NOR and CMC would help control the NOR release rate.

Keywords: Layered double hydroxide; Controlled released; Norfloxacin; Hybrid nanocomposite

1. Introduction

Au cours de ces dernières décennies, l'un des domaines de recherche les plus importants et intéressants en science des matériaux reste le développement d'excipients pouvant contrôler la libération de la substance active. En effet, afin de surmonter les nombreux effets indésirables provoqués par les systèmes thérapeutiques conventionnels, les nouvelles formulations médicamenteuses devraient idéalement être biocompatibles, biodégradables, stables dans les conditions physiologiques, confortables pour le patient, capables d'atteindre une capacité de charge élevée, facile à fabriquer et capables de libérer le principe actif sur les sites cibles de manière contrôlée [1,2]. C'est dans ce contexte que récemment, un grand nombre de nanoparticules ont été développées pour faciliter l'administration de médicaments, parmi lesquelles des hydroxydes double lamellaire (HDL).

Les HDL ou argiles anioniques représentent une classe importante de matériaux inorganiques en couches formés par un réseau de cations métalliques divalents et trivalents contenant des anions d'hydroxyde et des anions échangeables entre les couches. Une attention considérable a été accordée à l'utilisation des HDL dans des études récentes comme catalyseur [3], adsorbant [4], agent anticorrosion [5], retardateur de flamme [6], capteurs et électrodes [7,8] en raison de leur bonne biocompatibilité, leur faible cytotoxicité, leur propriété d'échange anionique et leur synthèse facile en laboratoire. Cependant, en raison du fait que l'espace inter lamellaire des HDL peut servir de réservoir où les principes actifs sont stockés et libérés de manière contrôlée, ces matériaux ont un grand potentiel en tant qu'agents d'administration de médicaments dans le domaine pharmaceutique [9–12].

La carboxyméthylcellulose (CMC), un polymère naturel et un polysaccharide soluble dans l'eau, reste l'un des biomatériaux les plus populaires utilisés dans la formulation de supports de substances actives à libération prolongée [13–15]. Cela est dû au fait que la matrice polymère hydrophile est relativement flexible et fournit généralement un profil de libération reproductible [16]. En plus de cela, il faut également ajouter que la CMC possède d'autres propriétés aussi intéressantes les unes que les autres, telles que la non-toxicité, le caractère

renouvelable, une bonne biocompatibilité et biodégradabilité et un faible coût par rapport à d'autres polymères naturels [17,18].

Bien que l'intercalation de la Norflaxacine (NOR) dans les couches inter lamellaires de HDL ait donné de bons résultats [19], l'agrégation rapide des HDL dans des milieux de culture tels que la solution tampon de phosphate salin reste l'un des problèmes de son utilisation [9]. Par conséquent, dans cette contribution, du charbon actif peu coûteux provenant de tiges d'*Ipomoea Carnea* a été combiné avec des HDL pour produire une dispersion colloïdale améliorée d'un composite hybride dispersé dans une matrice CMC. La CMC a été choisie comme polymère pour améliorer la protection des nanohybrides HDL–NOR obtenus par intercalation de la NOR entre les couches inter lamellaires des HDL déposées sur la surface du charbon actif par une méthode de co-précipitation. Les chaînes de la CMC linéaires préparées doivent en outre être interconnectées par un agent de réticulation favorisant la formation du réseau afin de produire un système mécaniquement stable et de libérer le médicament de manière contrôlée [20]. Le réseau CMC ainsi formé permettra d'augmenter les propriétés de libération lente de la formulation médicamenteuse finale obtenue. L'acide citrique a été choisi comme agent de réticulation en raison de sa non-toxicité et de sa grande disponibilité. La NOR a été utilisée comme médicament d'essai dans cette étude, non seulement en raison de sa prescription fréquente, mais également du fait que sa dose élevée, prise à long terme, peut entraîner une diminution de la spermatogenèse, une atrophie testiculaire et des opacités lenticulaires [21,22]. Étant donné que la dissolution et l'absorption complètes de la NOR ne se produisent que dans l'intestin grêle moyen et inférieur (pH = 7,4), des tests de libération *in vitro* de la NOR ont été étudiés en utilisant une solution tampon de phosphate pH=7,4 comme milieu de libération pour prouver l'efficacité du matériau hybride synthétisé comme agent à libération lente pour les molécules d'antibiotique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Synthèse des HDL intercalées par la NOR, déposés sur la surface d'un charbon actif (CA) à base de tige d'*Ipomoea Carnea*

Le dépôt de la NOR intercalé dans les HDL sur la surface du carbone a été préparé *via* la méthode de co-précipitation conventionnelle [23]. Une solution contenant 0,02 mole de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ et 0,01 mole de $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ a été ajoutée goutte à goutte dans une solution vigoureusement agitée (140 ml) contenant 0,075 mole de NaOH, 1 g de NOR et 0,5 g de CA à pH 10, suivie d'une agitation pendant 30 min sous une atmosphère d'azote pour minimiser la contamination du CO_2 atmosphérique. La température du réacteur a été maintenue à 50°C. Ensuite, la suspension a été transférée dans un autoclave à téflon et maintenue à l'étuve à 80°C pendant 24 heures. Le solide résultant a été filtré, lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée, séché à 60°C et noté CA–HDL–NOR. La quantité totale de la NOR dans les galeries CA–LDH est estimée à 17,10 %.

2.2. Préparation du nanocomposite CMC@CA–HDL–NOR

Les nanocomposites CMC@CA–HDL–NOR ont été synthétisés selon la méthode décrite par Demitri et al. [24]. Dans un processus typique, la quantité souhaitée de CMC et 50 mg de CA–HDL–NOR ont été dispersées dans 50 ml d'eau distillée. Le mélange a été agité à la température ambiante pendant 24 heures. Ensuite, de l'acide citrique (poudre) a été ajouté à la solution polymère de sorte que sa concentration finale s'élève à 1 g/L. La solution a été homogénéisée sous agitation vigoureuse pendant 30 minutes et soumise à une agitation à l'ultrason pendant 10 minutes pour disperser les particules A CA–HDL–NOR et réduire l'agrégation. La solution homogène obtenue a été transférée dans une boîte de Pétri et séchée au four à 40°C pour évaporer l'eau, pendant 24 heures. Enfin, le traitement de durcissement a été réalisé en chauffant le composite polymère séché à 80°C pendant 24 heures. À des fins de comparaison, des composites contenant AC–HDL, NOR et AC–HDL et NOR non intercalés ont été préparés selon le même processus. Les compositions des composites ainsi que leurs codes sont reportés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1. Composition et code des composites.

Code	CMC (g)	CA–HDL (mg)	NOR (mg)	CA–HDL–NOR (mg)	Acide Citrique (mg)
C0	1	–	–	–	50
C1	0,25	–	–	50	50
C2	0,5	–	–	50	50
C3	1	–	–	50	50
C4	1	32,90	17,10	–	50
C5	1	–	17,10	–	50
C6	1	50	–	–	50

2.3. Étude du comportement de libération de la NOR

La libération *in vitro* de la NOR de CMC@CA-HDL-NOR en fonction du temps a été réalisée en immergeant 100 mg du composite dans 100 ml d'une solution tampon de phosphate (PBS) pH 7,4 à une température constante de 37 °C sous une vitesse d'agitation lente de 100 tr/min. À des intervalles de temps appropriés, un échantillon de 5 ml de la solution a été prélevé et immédiatement remplacée par un volume égal pour maintenir le volume constant. La quantité de la NOR libérée dans la solution a été mesurée à intervalles réguliers pendant 12 heures par balayage spectrophotométrique UV-Vis à une longueur d'onde de 277 nm. Les études sur le comportement de libération ont été réalisées trois fois et les résultats ont été présentés sous forme de valeurs moyennes avec les barres d'erreur d'écart type (SD) correspondantes.

2.4. Test de cytotoxicité *in vitro* du composite

Le test de cytotoxicité *in vitro* de CMC@CA-HDL-NOR contre la lignée cellulaire du cancer de l'ovaire humain (PA-1) et la lignée cellulaire épithéliale ovarienne normale (IOSE-364) a également été étudié. IOSE-364 a été cultivé dans des milieux 1:1 Medium 199 et MCDB M105; et PA-1 a été cultivé dans Minimum Essential Medium (MEM) (modification alpha). Les milieux ont été complétés avec 10% de sérum de veau fœtal et 1% de solution d'antibiotique pénicilline streptomycine à 37°C dans un incubateur à 5% de CO₂. Des cellules à une concentration de 5000 cellules/puits ont étéensemencées dans des plaques de microtitration à 96 puits et exposées à diverses concentrations (0, 5, 10, 20, 30 et 40 µg/ml dans du PBS) du nanocomposite. Le pourcentage relatif de survie cellulaire a été déterminé à l'aide du test MTT. Après un traitement de 24 heures et 48 heures, du MTT (5 mg/ml) a été ajouté dans chaque puits et incubé pendant 4 heures à 37°C. Les cristaux de formazan formés ont été dissous dans du DMSO. L'intensité du formazan coloré formé a été déterminée en mesurant l'absorbance à 570 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (BioTek, USA). Le pourcentage de viabilité cellulaire a été calculé à l'aide de la formule suivante:

$$\% \text{ de viabilité cellulaire} = (\text{OD moyenne du test} / \text{OD moyenne du contrôle}) \times 100$$

Les expériences ont été répétées trois fois et les viabilités cellulaires ont été présentées comme la moyenne $\pm$ écart type.

3. Résultats et discussions

3.1. Analyse par diffraction des rayons X

Les composites synthétisés ont été caractérisés par la DRX sur poudre (**Figure 1**). Le diffractogramme de CA-HDL présentait les réflexions typiques des matériaux de type hydrocalcite avec les plans (003), (006), (009), (110) et (113), indiquant une structure bien cristallisée des composites préparés. Cependant, le pic caractéristique (002) correspondant au CA peut également être observé dans le profil DRX de CA-LDH. Le pic de réflexion le plus important correspondant à l'espacement basal (d_{003}) a été observé à une valeur de 2θ égale à 11,40°, représentant un espacement d de 0,77 nm. La même valeur a également été rapportée dans la littérature [26].

Une diminution du pic de réflexion principal de 11,40° à 6,62° a été observée lorsque les HDL se développent sur la surface du CA en présence de NOR, gardant les pics de diffraction (110) et (113) à la même position. Ce déplacement du pic de réflexion basique indique l'intercalation réussie de la NOR dans l'espace inter lamellaire des HDL déposés sur la surface du CA. A cause de l'intercalation de l'antibiotique, l'espacement d augmente de 0,77 à 1,33 nm. La couche principale des HDL de type brucite a une épaisseur de 0,48 nm [27]. En conséquence, l'espace de la galerie pour le matériau CA-HDL-NOR s'avère être de 0,85 nm, ce qui est plus petit que la longueur de la NOR, 1,16 nm [28]. Par conséquent, on peut supposer que les molécules de la NOR sont disposées en monocouche dans une configuration inclinée au sein des couches de brucite des HDL avec un angle d'inclinaison de 42,6°, comme illustré sur la **Figure 1**.

Le diffractogramme du CMC pur (**Figure 1c**) montre une large réflexion centrée sur une valeur 2θ d'environ 20°, indiquant la structure amorphe du CMC [29]. En comparaison avec le CMC pur, le diffractogramme du composite CMC@CA-HDL-NOR (**Figure 1d**) montre le caractère amorphe typique à celui du CMC, suggérant que CA-HDL-NOR est bien dispersé dans la matrice polymère. L'absence de nouveau pic signifie qu'il n'y a pas eu d'intercalation des chaînes polymères entre les couches des HDL, d'où l'exfoliation totale des particules de CA-HDL-NOR.

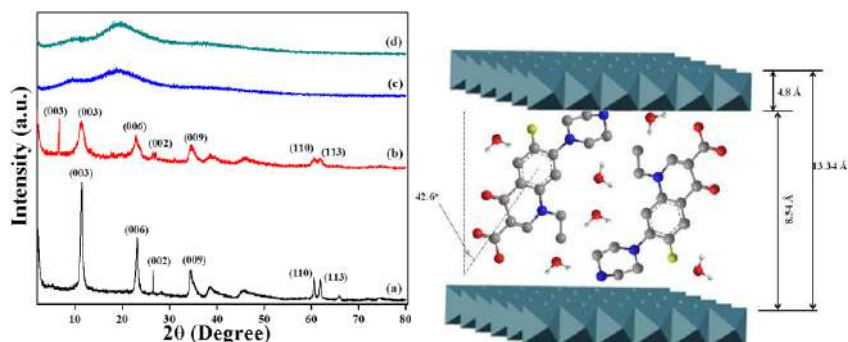


Figure 1: Diffractogrammes de (a) CA-HDL, (b) CA-HDL-NOR, (c) CMC et (d) CMC@CA-HDL-NOR et une représentation schématique possible de l'orientation de la NOR dans les HDL.

3.2. Spectroscopie infrarouge

La **Figure 2** montre les spectres IR de CA-HDL, CMC pur, NOR, CA-HDL-NOR et CMC@CA-HDL-NOR. Dans tous les spectres, une bande d'absorption forte et large dans la région d'environ 3350 à 3500 cm^{-1} est observée, ce qui est dû à la vibration d'étirement O-H des molécules d'eau sur les surfaces des couches ainsi qu'aux liaisons hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires [30,31]. Dans le spectre FT-IR du CA-HDL (**Figure 2a**), les bandes correspondant aux vibrations d'étirement et de flexion des anions carbonate dans les couches, les vibrations d'étirement M-O et M-O-H ont été observées à environ 1364 , 778 , 682 et 553 cm^{-1} [32]. Les bandes situées autour de 2321 , 1521 et 1111 cm^{-1} ont été attribuées à l'étirement des groupes carbone-oxygène et carboxylate.

Le spectre FT-IR de CMC (**Figure 2b**) montre un pic lié à la vibration d'étirement C-H associée aux atomes d'hydrogène de méthane à 2913 cm^{-1} . Les pics aux alentours de 1626 et 1412 cm^{-1} peuvent être attribués aux vibrations d'étirement symétriques et asymétriques des groupes carboxylates [33].

Comme le montre le spectre FT-IR de la NOR (**Figure 2d**), les pics à 3399 , 2845 , 1729 et 1619 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'étirement N-H, aux vibrations d'étirement C-H (du groupe -COOH), au groupe -COOH et vibration C=O, respectivement. Les deux pics observés à 1581 et 1395 cm^{-1} ont été attribués à des vibrations d'étirement antisymétriques et symétriques du groupe -COO-. Les pics à 1487 cm^{-1} représentaient $\nu_{\text{O-C-O}}$ des acides et à 1249 cm^{-1} suggéraient une vibration de flexion du groupe O-H, indiquant la présence d'acide carboxylique.

Dans le spectre FT-IR de CA-HDL-NOR, les pics caractéristiques liés à CA, HDL et NOR intercalés sont représentés à 3447 , 2852 , 1629 , 1588 , 1492 , 1383 , 1256 et 1040 cm^{-1} . Comme indiqué sur la **Figure 2(e)**, la bande à 1364 cm^{-1} dans le spectre CA-HDL s'est déplacée vers 1383 cm^{-1} et le pic lié à la vibration C=O dans le spectre de la NOR s'est déplacé vers 1629 cm^{-1} en raison à l'interaction entre les couches des HDL et la NOR. Les pics caractéristiques liés aux NOR, CA, HDL et CMC intercalés sont représentés à 2913 , 1618 , 1421 , 1074 , 1028 et 556 cm^{-1} dans le spectre CMC@CA-HDL-NOR (**Figure 2f**).

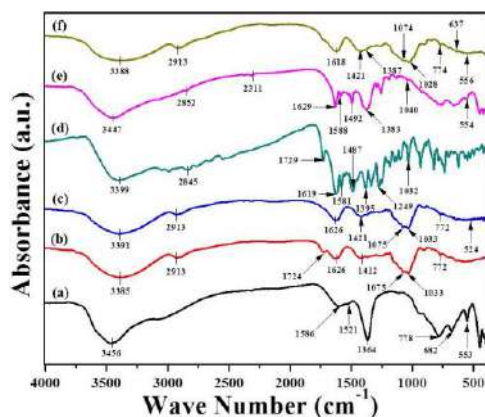


Figure 2: Spectres FT-IR de (a) CA-HDL, (b) CMC pur, (c) C6, (d) NOR, (e) AC-HDL-NOR et (f) CMC@CA-HDL-NOR.

3.3. Analyse au microscope électronique

Une analyse FE-SEM a été réalisée pour étudier la morphologie de surface des nanocomposites CA-HDL, CA-HDL-NOR, CMC pur et CMC@CA-HDL-NOR et les images obtenues sont présentées sur la **Figure 3**. Les HDL déposées sur la surface de carbone fonctionnalisé (**Figure 3a**) étaient sous une forme hexagonale irrégulière, en forme de feuille, ayant une dimension de particule comprise entre 40 et 80 nm, ce qui est caractéristique des HDL [34]. Comme le montre la **Figure 3b**, l'incorporation de la NOR produit une agrégation des particules de HDL en raison des fortes interactions entre elles et les molécules de la NOR. La **Figure 3c** indique une surface lisse du composite CMC pur. En revanche, l'ajout de CA-HDL-NOR fait disparaître la surface lisse de la CMC (**Figure 3d**) avec des particules CA-HDL-NOR bien dispersées dans la matrice CMC. La longueur des particules inférieure à 300 nm peut être observée dans la matrice CMC.

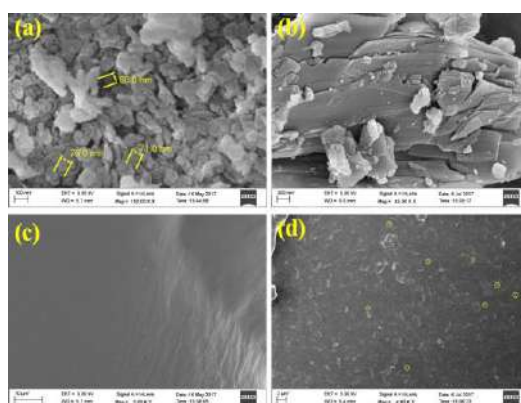


Figure 3: Micrographies FE-SEM de (a) CA-HDL, (b) CA-HDL-NOR, (c) CMC pur et (d) CMC@CA-HDL-NOR.

3.4. Profils de libération

Le profil de libération cumulative *in vitro* de la NOR à partir de C1, C2, C3, C4 et C5 a été déterminé dans une solution tampon de phosphate, pH 7,4 à 37°C, comme illustré sur la **Figure 4(A)**. Une comparaison entre le profil de libération des composites contenant la NOR intercalé (C3) et ceux non intercalés (C4 et C5) a été effectuée. La libération de la NOR à partir de C5 montre une libération initiale forte avec 67 % de la NOR libéré après 90 minutes, suivie d'une libération plus lente où 93 % du principe actif a été libéré après 720 minutes. Cependant, l'ajout de CA-HDL dans C5 donne un comportement de libération différent. La libération rapide a été réduite (46%) après l'incorporation de CA-HDL et elle est observée dans les 60 premières minutes. Cela suggère que l'ajout de CA-HDL ralentit la libération de la NOR. Ce comportement peut être dû à l'interaction entre les anions NOR et les couches chargées positivement de CA-HDL [35]. Contrairement aux deux composites précédents, il a été observé que le ralentissement de la libération de la NOR est beaucoup plus important en C3. La libération a commencé par un effet de libération modéré avec 21% de la NOR libérés dans les 30 minutes et s'est poursuivie lentement mais n'a même pas atteint les 50% de libération après 720 minutes d'étude. La **Figure 4(B)** indique le mécanisme de libération du principe actif à partir de C3. Ainsi, la libération plus lente de la NOR à partir de C3 pourrait être attribuée au fait qu'avant que les anions de la NOR ne diffusent vers le milieu de libération, les anions du milieu de libération (anions de phosphate) devraient d'abord pénétrer dans le réseau du CMC et permettre la libération des anions de la NOR intercalés de CA-HDL dans la matrice CMC par un processus d'échange d'anions. Après l'échange ionique, les anions de la NOR peuvent diffuser à travers la matrice CMC vers le milieu de libération [1].

De plus, une étude comparative a été réalisée sur l'effet de la quantité de CMC ajoutée lors de la préparation du composite. Comme le montre la **Figure 4(A)** (composites C1, C2 et C3), l'augmentation de la quantité de CMC entraîne une diminution du taux de libération de la NOR. Par conséquent, sur la base de cette observation, la quantité de la matrice CMC dans le composite pourrait être ajustée afin de contrôler la vitesse de libération du principe actif.

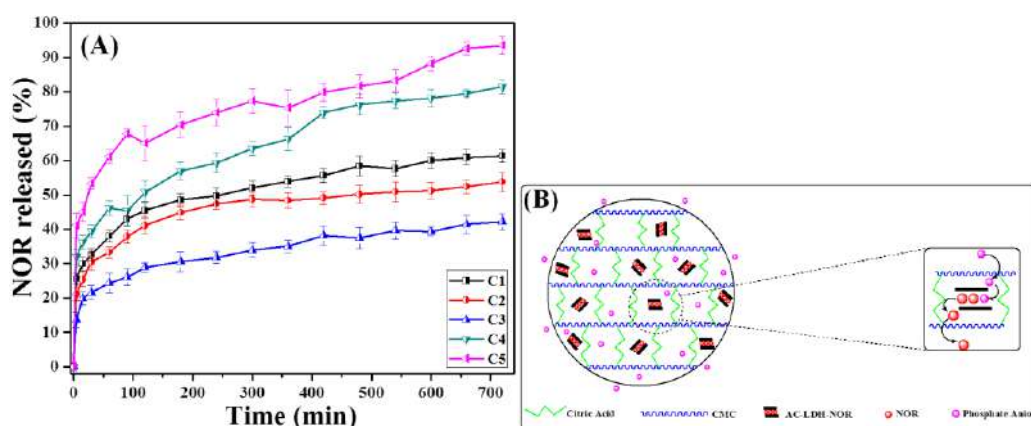


Figure 4. (A) Profils de libération de norfloxacine à partir de C1, C2, C3, C4 et C5 et (B) Représentation schématisée du comportement de libération de NOR à partir du composite CMC@AC-HDL-NOR.

3.5. Test de cytotoxicité

Bien que la biocompatibilité des HDL et du CMC ait déjà été rapportée [36,37], un test *in vitro* au MTT a été étudié pour vérifier la cytotoxicité du composite CMC@AC-HDL-NOR contre les cellules IOSE-364 et cellules PA-1 pendant 24 et 48 heures, respectivement. Les résultats ont indiqué que le porteur CMC@AC-HDL-NOR a une viabilité cellulaire d'environ 85%, ce qui suggère que ce composite n'est pas toxique pour les cellules du cancer de l'ovaire et les cellules épithéliales ovariennes normales aux doses utilisées dans cette étude pendant un traitement de 24 et 48 heures, comme le montre la **Figure 5**. De plus, il a été également observé qu'il n'y avait pas de différence significative sur la viabilité cellulaire à 24 et 48 heures, ce qui suggère que pendant cette période, aux doses indiquées, la NOR n'est pas libérée pour montrer l'effet toxique.

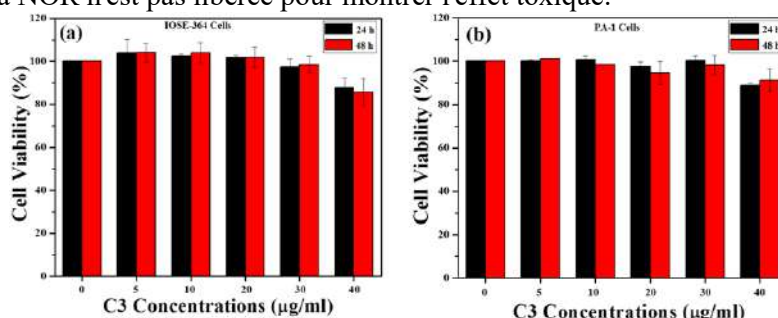


Figure 5: Le test de cytotoxicité de CMC@AC-HDL-NOR à différentes concentrations indiquées en utilisant (a) des cellules IOSE-364 et (b) des cellules PA-1 à 24 et 48 heures, respectivement.

4. Conclusion

En résumé, un composite à base de carboxyméthylcellulose réticulée avec de l'acide citrique non toxique et de la norfloxacine intercalée dans des hydroxydes double lamellaire déposée sur la surface d'un charbon actif à base de tiges d'*Ipomoea Carnea* a été préparé avec succès. Les composites préparés ont été caractérisés par différentes techniques expérimentales telles que la DRX, FT-IR et FE-SEM pour étudier leur structure et leur morphologie. L'incorporation du CA-HDL dans la matrice CMC a affecté la libération de la NOR sans entraver l'activité antibactérienne des composites obtenus. L'ajout de CA-HDL ralentit la libération de la NOR de la matrice polymère et ce ralentissement était beaucoup plus important lorsque la NOR est stocké entre la couche intermédiaire des HDL. De plus, l'augmentation de la quantité de CMC entraîne une diminution du taux de libération de la NOR. Par conséquent, la quantité de CMC dans le composite pourrait être ajustée afin de contrôler la vitesse de libération du principe actif. Le test MTT a montré que les composites synthétisés sont non toxiques pour les cellules épithéliales normales de l'ovaire et les cellules cancéreuses aux doses indiquées utilisées pour cette étude à 24 et 48 heures de traitement. Par conséquent, le CMC@CA-HDL-NOR préparé pourrait être un candidat prometteur pour son application en tant que système de libération contrôlée de médicaments.

5. Références

- [1] Barkhordari, S., Yadollahi, M. *Appl. Clay Sci.* 121–122 (2016) 77–85.
- [2] Liu, D., Yang, F., Xiong, F., Gu, N. *Theranostics* 6(9) (2016) 1306–1323.
- [3] Saikia, P., Saikia, J., Sarmah, S., Allou, N.B., Goswamee, R.L. *J. CO₂ Util.* 21 (2017) 40–51.

- [4] Zubair, M., Daud, M., McKay, G., Shehzad, F., Al-Harthi, M.A. *Appl. Clay Sci.* 143 (2017) 279–292.
- [5] Liu, Y., Yu, T., Cai, R., Li, Y., Yang, W., Caro, J. *RSC Adv.* 5 (2015) 29552–29557.
- [6] Guo, B., Liu, Y., Zhang, Q., Wang, F., Wang, Q., Liu, Y., Li, J., Yu, H. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 23039–23047.
- [7] Lu, Y., Zhao, Y. *Particuology* 8 (2010) 202–206.
- [8] Zhang, L., Chen, Y., Zhang, Z., Lu, C. *Sens. Actuators B Chem.* 193 (2014) 752–758.
- [9] Allou, N.B., Saikia, P., Borah, A., Goswamee, R.L. *Colloid Polym. Sci.* 295 (2017) 725–747.
- [10] Bi, X., Zhang, H., Dou, L. *Pharmaceutics* 6 (2014) 298–332.
- [11] Senapati, S., Thakur, R., Verma, S.P., Duggal, S., Mishra, D.P., Das, P., Shripathi, T., Kumar, M., Rana, D., Maiti, P. *J. Controlled Release* 224 (2016) 186–198.
- [12] Wang, L., Xing, H., Zhang, S., Ren, Q., Pan, L., Zhang, K., Bu, W., Zheng, X., Zhou, L., Peng, W. *Biomaterials* 34 (2013) 3390–3401.
- [13] Butun, S., Ince, F.G., Erdugan, H., Sahiner, N. *Carbohydr. Polym.* 86 (2011) 636–643.
- [14] Elumalai, R., Patil, S., Maliyakkal, N., Rangarajan, A., Kondaiah, P., Raichur, A.M. *Nanomedicine* 11 (2015) 969–981.
- [15] Park, Y.-H., Ha, S.K., Choi, I., Kim, K.S., Park, J., Choi, N., Kim, B., Sung, J.H. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 21 (2016) 110–118.
- [16] Kamel, S., Ali, N., Jahangir, K., Shah, S.M., El-Gendy, A.A. *Express Polym. Lett.* 2 (2008) 758–778.
- [17] Juncu, G., Stoica-Guzun, A., Stroescu, M., Isopencu, G., Jinga, S.I. *Int. J. Pharm.* 510 (2016) 485–92.
- [18] Kondaveeti, S., Damato, T.C., Carmona-Ribeiro, A.M., Sierakowski, M.R., Petri, D.F.S. *Carbohydr. Polym.* 165 (2017) 285–293.
- [19] Li, Y., Bi, H.-Y., Wang, G.-W., Wang, N., Chen, C.-X., Li, Z.-Z., Fan, X.-M. *J. Disper. Sci. Technol.* 37 (2016) 366–373.
- [20] James, H.P., John, R., Alex, A., Anoop, K.R. *Acta Pharm. Sin. B* 4 (2014) 120–127.
- [21] Roberts, J.R. *Emergency Medicine News* 30 (2008) 16–18.
- [22] Fernández, J., Del Arbol, L.R., Gómez, C., Durandez, R., Serradilla, R., Guarner, C., Planas, R., Arroyo, V., Navasa, M. *Gastroenterology* 131 (2006) 1049–1056.
- [23] Li, B., He, J., Evans, D.G., Duan, X. *Int. J. Pharm.* 287 (2004) 89–95.
- [24] Demitri, C., Del Sole, R., Scalera, F., Sannino, A., Vasapollo, G., Maffezzoli, A., Ambrosio, L., Nicolais, L. *J. App. Polym. Sci.* 110 (2008) 2453–2460.
- [25] Sezonov, G., Joseleau-Petit, D., D'Aril, R. *J. Bacteriol.* 189 (2007) 8746–8749.
- [26] Zheng, Y., Chen, Y. *RSC Adv.* 7 (2017) 1520–1530.
- [27] Liang, D., Yue, W., Sun, G., Zheng, D., Ooi, K., Yang, X. *Langmuir* 31 (2015) 12464–12471.
- [28] Ni, Z.-M., Xia, S.-J., Wang, L.-G., Xing, F.-F., Pan, G.-X., Hu, J. *Chem. J. Chinese U.* 28 (2007) 1214–1219.
- [29] Baniasad, A., Ghorbani, M. *Int. J. Biol. Macromolec.* 86 (2016) 901–906.
- [30] Huang, Q.-J., Zeng, H.-Y., Zhang, W., Feng, B., Liu, X.-J., Duan, H.-Z., Ding, P.-X. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 60 (2015) 525–531.
- [31] Singh, R.K., Khatri, O.P. *J. Microsc.* 246 (2012) 43–52.
- [32] Parida, K.M., Mohapatra, L. *Chem. Eng. J.* 179 (2012) 131–139.
- [33] Yadollahi, M., Namazi, H., Aghazadeh, M. *Int. J. Biol. Macromolec.* 79 (2015) 269–277.
- [34] Wang, Y., Zhang, D., Bao, Q., Wu, J., Wan, Y. *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 23106–23113.
- [35] Ambroggi, V., Pietrella, D., Nocchetti, M., Casagrande, S., Moretti, V., De Marco, S., Ricci, M. *J. Colloid Interface Sci.* 491 (2017) 265–272.
- [36] Wang, L., Wang, Y., Wang, X. *Materials* 10 (2017) 1140.
- [37] Donnadio, A., Ambroggi, V., Pietrella, D., Pica, M., Sorrentino, G., Casciola, M. *RSC Adv.* 6 (2016) 46249–46257.

Réactivité pouzzolanique de deux argiles calcinées de l'ouest de la Côte d'Ivoire dans une solution saturée de chaux

Manouan Wedjers Max Robin¹, Gouré Doubi Bi Irié Hervé², Kouakou Lébé Prisca Marie-Sandrine³, Koffi Atta Kouamé Brice¹, Kouamé Alfred Niamien³, Méité Namory³

¹UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Man, Côte d'Ivoire.

²UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de constitution et de réaction de la matière Université Felix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Résumé : La production de ciment génère une grande quantité de CO₂, en raison de la décarbonatation du calcaire utilisé pour fabriquer le clinker [1, 2]. Cette étude porte sur deux échantillons d'argile provenant de l'ouest de la Côte d'Ivoire. L'objectif est de déterminer la capacité de fixation des ions Ca²⁺ de ceux-ci. Pour ce faire, les échantillons bruts ont été calcinés, broyés et tamisés. Les pouzzolanes obtenues ont été analysées par des méthodes minéralogiques et chimiques, des analyses géotechniques. Un test à la chaux saturée a permis d'étudier la capacité de fixation des ions calcium par ces deux argiles calcinées. Les analyses minéralogiques et chimiques ont révélé une quantité plus élevée de silice, d'alumine et d'oxyde de fer dans les échantillons bruts. Ils montrent également la présence de minéraux tels que le quartz, la kaolinite et des phases associées. La distribution granulométrique des échantillons calcinés a montré un déplacement des particules vers une taille plus grande. Le test à la chaux saturée a révélé que les échantillons calcinés étaient plus réactifs. Cette étude a montré que ces deux argiles pourraient être utilisées pour produire du métakaolin. Ce qui font d'elles d'excellentes candidates comme matière première dans la fabrication du ciment.

Mots clés : argiles brutes, argiles calcinées, solution saturée de chaux, réactivité pouzzolanique.

Pozzolanic reactivity of two calcined clays from western Ivory Coast in a lime solution

Abstract: Cement production generates a large amount of CO₂, due to the decarbonation of the limestone used to make the clinker [1, 2]. This study focuses on two clay samples from western Côte d'Ivoire. The aim is to determine their Ca²⁺ ion binding capacity. To do this, the raw samples were calcined, crushed and sieved. The pozzolans obtained were analysed using mineralogical, chemical and geotechnical methods. A saturated lime test was used to study the calcium ion binding capacity of these two calcined clays. Mineralogical and chemical analyses revealed higher levels of silica, alumina and iron oxide in the raw samples. They also show the presence of minerals such as quartz, kaolinite and associated phases. The particle size distribution of the calcined samples showed a shift towards larger particle sizes. The saturated lime test revealed that the calcined samples were more reactive. This study showed that these two clays could be used to produce metakaolin. This makes them excellent candidates as raw materials for cement manufacture.

Keywords: raw clays, calcined clays, saturated lime solution, pozzolanic reactivity.

1. Introduction

Le ciment Portland, principal constituant du béton, demeure à ce jour le matériau de construction le plus utilisé à travers le monde. Il intervient dans la construction des bâtiments et des infrastructures routières et bien d'autres ouvrages. Cette forte demande en ciment n'est pas sans conséquences sur notre environnement. En effet, l'industrie cimentaire est très énergétivore, ce qui engendre l'émission d'une importante quantité de dioxyde de carbone et d'autres gaz à effet de serre, en raison de la décarbonatation du calcaire utilisé pour fabriquer le clinker [1, 2]. Selon les estimations, le ciment est responsable de 36% des 7,7 milliards de tonnes de CO₂ émises annuellement par le secteur de construction [3]. Aussi, selon l'International Energy Agency [4], la construction et opération des bâtiments sont responsables ensemble d'environ 40 % des émissions de CO₂ pendant toute leur durée de vie qui sont souvent estimés à environ 60-75 ans dans la plupart des analyses de cycles de vie.

Pour toutes ces raisons, il convient de trouver des alternatives afin de réduire l'impact environnemental des bâtiments qui utilisent comme principal liant le ciment. Pour ce faire, de nombreuses recherches scientifiques s'orientent sur de nouveaux matériaux innovants et écologiques pouvant se substituer partiellement ou totalement au ciment. A ce titre, certaines études ont porté sur l'utilisation de la poudre de verre dans le béton [5, 6] et d'autres sur la substitution partielle du ciment par des ajouts de matières minérales aluminosilicatées ayant des propriétés pouzzolaniques tels que la fumée de silice, les cendres volantes, le métakaolin [7-9], etc. La substitution par des additions minérales s'est montrée très intéressante dans la mesure où ces matières sont disponibles localement donc à moindre coût et présentent un intérêt écologique avec aussi de très bonnes performances proches de celles des matériaux cimentaires [8-10]. Le métakaolin, pouzzolane obtenue après traitement thermique d'une argile kaolinique entre 500 et 900°C suscite un très grand intérêt dans la communauté scientifique. En effet, sa production permet d'une part, d'avoir des liants aux propriétés assez intéressantes et moins coûteux du fait de la

disponibilité des matières premières argileuses localement et d'autre part, sa production limite les émissions de CO₂ ce qui en fait un matériau écologique.

Ce travail vise dans un premier temps à évaluer l'aptitude de deux argiles à la production de métakaolin et dans un second temps à étudier la réactivité de ces argiles brutes et calcinées vis-à-vis des ions Ca²⁺ afin d'estimer leurs potentialités comme matière première de substitution du clinker dans la fabrication du ciment.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Matériel

Les matières premières argileuses notées ME1 et ME2 utilisées dans cette étude ont été prélevées dans le village de Delobly, dans la région de Man située à l'Ouest de la Côte d'Ivoire. Les coordonnées géographiques du site de prélèvement sont 6°52'13.2"N 7°24'07.5"W. Les deux échantillons broyés puis tamisés à 100µm et par la suite calcinés à 710°C afin d'évaluer leur activité pouzzolanique sont dénommés ME1_710°C et ME2_710°C.

Pour l'évaluation de l'activité pouzzolanique des échantillons, de la chaux éteinte Ca(OH)₂ extra pur à 98% fournie par le laboratoire Merck a été utilisé.

2.2 Méthodes

2.2.1. Cycle thermique

Pour l'évaluation de l'activité pouzzolanique, les échantillons d'argile ont été calcinés à 710°C à l'aide d'un four de marque CERADEL. La calcination a été réalisée de la température ambiante à 710°C avec une vitesse de montée en température de 5°C/min. Le cycle de calcination de ces échantillons est illustré sur la **figure 1**.

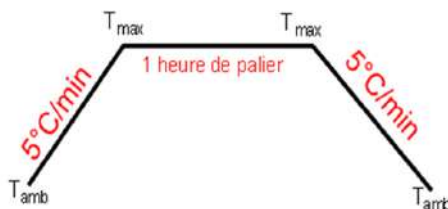


Figure 1 : Cycle thermique utilisé pour la calcination des argiles

2.2.2. Caractérisations physico-chimiques des argiles brutes et calcinées

La composition chimique des échantillons bruts d'argile a été déterminée par la méthode ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry).

Les phases cristallines des échantillons ont été déterminées par Diffraction des Rayons X à l'aide d'un diffractomètre Bruker D8 ADVANCE, sur les poudres. L'identification des phases a été réalisée en comparant les diffractogrammes obtenus avec la base de données internationale ICDD (International Centre for Diffraction Data) à l'aide du logiciel EVA (Brukers AXS).

La surface spécifique des échantillons bruts et calcinés à 710°C a été mesurée par la méthode BET. Les mesures ont été effectuées à l'aide de l'appareil Micromeritics Tristar II, sur les poudres tamisées à 100µm, dégazées à 200°C pendant 16 heures.

L'analyse granulométrique des argiles brutes et calcinées a été réalisée à l'aide du granulomètre laser Mastersizer 3000.

2.2.3. Evaluation de l'activité pouzzolanique : Test à la chaux saturée

L'activité pouzzolanique a été évaluée sur les échantillons bruts et calcinés à 710°C par le test à la chaux saturée. Pour ce faire, une solution de chaux saturée a été préparée en dissolvant 2,2 g de chaux dans 1 L d'eau distillée. Ensuite, 1g de chaque échantillon est mis dans une bouteille en plastique contenant 75 ml de la solution saturée de chaux, le mélange est scellé puis conservé pendant 1, 3 et 7 jours dans une étuve maintenue à une température de 40°C. Après filtration, les ions Ca²⁺ contenus dans le filtrat sont titrés avec une solution d'EDTA concentrée à 0,03 mol/L après un ajustement du pH à 12,5 avec une solution de NaOH (2,5 mol/L), en utilisant l'indicateur coloré de Patten et Reeders. Quant aux ions OH⁻, ils ont été titrés dans le filtrat avec une solution de HCl à 0,1mol/L avec l'utilisation de l'orange de méthyle comme indicateur coloré. Les résultats obtenus sont illustrés par un graphique donnant la concentration des ions Ca²⁺ exprimée en mmol/L, équivalent à la quantité de CaO en fonction de la concentration en ions OH⁻ exprimé aussi en mmol/L. Ainsi, à partir de la quantité en ions calcium contenus dans le mélange initial, on détermine la quantité de CaO fixée par les argiles brutes et calcinées.

3. Résultats et discussion

3.1 Caractérisations physico-chimiques des échantillons

Les résultats de l'analyse chimique des échantillons bruts d'argiles ME1_brut et ME2_brut sont présentés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Composition chimiques des échantillons bruts d'argile (% massique d'oxydes)

Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	K ₂ O	MgO	Na ₂ O	TiO ₂	SiO ₂ /Al ₂ O ₃
ME1_brut	69,94	14,47	12,11	0,41	0,27	0,33	0,17	2,3	4,83
ME2_brut	71,21	16,47	9,94	0	0,29	0	0,16	1,89	4,32

La composition chimique met en lumière la présence de trois oxydes majeurs dans les deux échantillons bruts à savoir la silice (SiO₂), l'alumine (Al₂O₃) et l'oxyde de fer (Fe₂O₃). Les rapports massiques SiO₂/Al₂O₃ de 4,83 et 4,32 respectivement pour ME1_brut et ME2_brut suggère la présence de minéraux argileux de type 1 : 1 et 2 : 1 ainsi que de la silice libre qui pourrait être du quartz. Par ailleurs, la composition chimique des échantillons montre qu'ils peuvent être utilisés comme pouzzolanes. En effet, selon la norme ASTM C 618, un matériau peut être utilisé comme pouzzolane si la somme des oxydes SiO₂, Al₂O₃ et Fe₂O₃ est supérieure à 70% en masse des oxydes (ASTM C 618, 2008), ce qui est le cas pour les deux échantillons bruts dont la somme de leurs oxydes sont respectivement 96,52% et 97,62% pour ME1 et ME2.

La **figure 2** présente les diffractogrammes obtenus pour les quatre échantillons. Les principaux pics des phases cristallines identifiées ont été référencés en utilisant les fiches JCPDS.

Les diffractogrammes des échantillons bruts ont mis en évidence la présence de kaolinite (Si₂Al₂O₅(OH)₄) ; de quartz (SiO₂) ; de goethite (α-FeOOH) et d'hématite (α-Fe₂O₃). Sur les diffractogrammes des échantillons calcinés à 710°C, le quartz et l'hématite sont toujours observés. En revanche, les pics représentatifs de la kaolinite et de la goethite ne figurent plus sur les diffractogrammes des échantillons calcinés. Cela s'explique par le fait que la température de calcination (710°C) est largement supérieure aux températures de décomposition de ces deux minéraux. En effet, pour la kaolinite, la température de déshydroxylation qui correspond aux départs des hydroxyles structuraux se situe généralement entre 500 et 650°C [11] et engendre la formation d'une phase amorphe appelée métakaolinite. La réaction s'écrit selon **l'équation 1** :

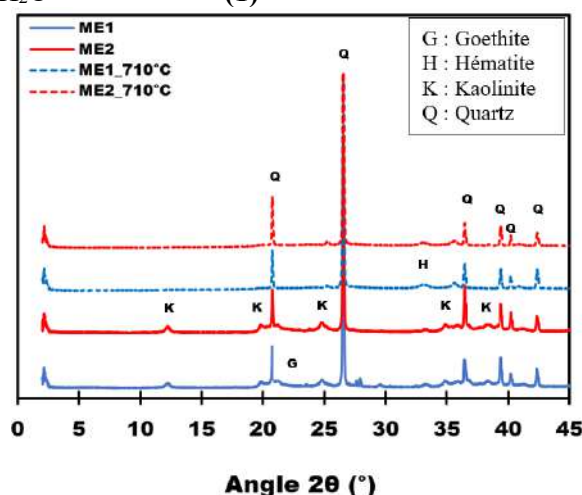
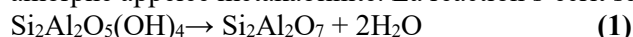


Figure 2 : Diffractogrammes des échantillons bruts et calcinés

La métakaolinite formée a de bonnes propriétés pouzzolaniques dues à sa structure amorphe [11]. Pour la disparition du pic de la goethite, elle peut s'expliquer par la déshydroxylation de celle-ci en hématite, transformation qui a lieu généralement autour de 300°C [12, 13]. Cette réaction de déshydroxylation s'écrit suivant **l'équation 2**.



La composition minéralogique des échantillons bruts a été déterminée à l'aide des résultats de l'analyse chimique élémentaire et ceux de la diffraction des rayons X. Cette composition semi-quantitative a été déterminée par calculs en se servant de **l'équation 3** [14].

$$T(a) = \sum M_i P_i(a) \quad (3)$$

T(a) : Teneur (%) d'oxyde de l'élément chimique "a"

M_i : Teneur (%) en minéral "i" dans la matière étudiée contenant l'élément "i"

$P_i(a)$: Proportion de l'élément "a" dans le minéral "i"

Les résultats obtenus après les différents calculs sont résumés dans le **Tableau 2**. La kaolinite et le quartz sont les minéraux majeurs présents dans les deux échantillons bruts. A ces deux minéraux sont associés des composés de fer (goethite et hématite).

Tableau 2 : Composition minéralogique semi-quantitative des échantillons bruts

	Kaolinite	Quartz	Composés de fer (Goethite, Hématite)
ME1	36,6	52,91	13,47
ME2	41,67	51,72	11,6

Les courbes des analyses granulométriques des échantillons bruts et calcinés à 710°C sont présentées sur les figures 3.

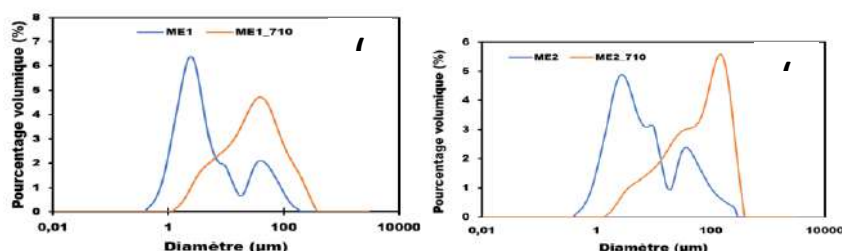


Figure 3 : Distribution granulométrique de ME1 et ME1_710°C (a) et ME2 et ME2_710°C (b)

De l'analyse des résultats, il ressort que les échantillons bruts sont constitués de trois populations centrées à 2,6 ; 10 et à 39 µm pour ME1 et à 2,97 ; 10,09 et à 39,23 µm pour ME2.

Ces résultats montrent que les deux échantillons sont fins. Les différents intervalles dans lesquels se situent les fractions granulométriques permettent de conclure que les échantillons sont riches en limon fin et grossier. Pour les métakaolins ME1_710°C et ME2_710°C, nous avons une seule population centrée à 39,23 et 133 µm respectivement. Les diamètres maximums correspondant à des volumes cumulés de 10% ; 50% et 90% sont consignés dans le **tableau 3**. Ces résultats montrent une évolution de la taille des particules vers des particules de plus grande taille après calcination à 710°C pour les deux échantillons bruts. Cette augmentation de la taille des particules peut s'expliquer par une diminution de la fraction argileuse suite à la décomposition de la kaolinite et a été largement observée dans la littérature [15]. Aussi, les valeurs de d_{50} montrent que les échantillons bruts et calcinés ME1 sont plus fins que ceux de ME2 (brut et calcinés).

Tableau 3 : Distribution granulométrique et surface spécifique des échantillons

Echantillons	Distribution granulométrique			Surface spécifique
	d_{10} (µm)	d_{50} (µm)	d_{90} (µm)	Surface spécifique (m ² /g)
ME1	1,15	3,12	43,5	34,6
ME1_710°C	3,18	17,6	65,4	29,9
ME2	1,36	4,9	55,03	29
ME2_710°C	4,81	37,5	109	31,1

Les surfaces spécifiques mesurées par la méthode BET sont également consignées dans le tableau 3. Les résultats montrent une surface spécifique plus importante pour ME1 (34,6 m²/g). Cette valeur plus importante peut s'expliquer d'une part, par une quantité plus grande d'éléments fins dans cet échantillon et d'autre part, par le taux élevé d'oxydes de fer. En effet, il est montré dans la littérature une évolution linéaire de la surface spécifique des argiles en fonction du taux de fer et aussi, la taille des grains est l'un des facteurs qui influence la surface spécifique [16]. Après calcination à 710°C, il est constaté une diminution de la surface spécifique pour le métakaolin obtenu avec ME1, cela peut s'expliquer par une meilleure déshydroxylation lors de la calcination aboutissant à une coalescence des particules. Pour l'échantillon ME2, la surface a augmenté légèrement pour le métakaolin obtenu, ce qui peut s'expliquer par une mauvaise déshydroxylation de la kaolinite plus importante dans cet échantillon (51,72%). Cependant il est important de noter que les valeurs des surfaces spécifiques obtenues pour les métakaolins ME1_710°C et ME2_710°C sont beaucoup importantes que celles rencontrées dans certaines études ce qui peut être à l'actif de la texture des matières premières [17, 18].

3.2 Analyse chimique de l'activité pouzzolanique des échantillons : test à la chaux

Le test à la chaux saturée a été utilisé pour évaluer l'activité pouzzolanique des échantillons bruts et calcinés à 710°C. Les résultats des tests de saturation à la chaux pour les différents échantillons sont présentés sur la **figure**

4. La quantité de chaux fixée par les différents échantillons augmente au cours du temps. Les résultats mettent en évidence une faible activité pouzzolanique pour les échantillons bruts car le taux de fixation de la chaux n'a pratiquement pas évolué du 1^{er} au 7^{ème} jour soit environ 11% avec ME1 contre 6% avec ME2.

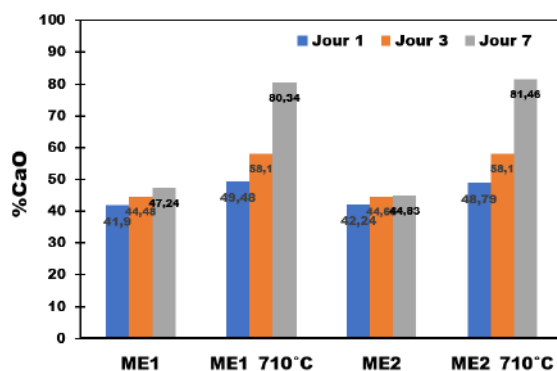


Figure 4 : Saturation des échantillons à la chaux

En revanche, avec les métakaolins obtenus après calcination des échantillons bruts à 710°C (ME1_710°C et ME2_710°C), la capacité de consommation de la chaux est élevée avec plus de 80% de chaux consommée après 7 jours. La capacité de consommation rapide de l'hydroxyde de calcium des échantillons calcinés peut être due à l'apparition des défauts de surface et/ou à l'augmentation de la surface d'adsorption. Selon Walker et Pavia [19], le facteur dominant qui détermine l'activité pouzzolanique est le caractère amorphe. La réactivité de ces échantillons serait donc due à la présence de silice amorphe. Ces résultats permettent de conclure que les matières premières argileuses ME1 et ME2 calcinées à 710°C présentent une bonne réactivité pouzzolanique donc utilisables dans de nouveaux types de ciment.

Par la suite, les quantités d'ions $[Ca^{2+}]$ restant en fonction des ions hydroxydes $[OH^-]$ restant en solution le 1^{er} ; 3^e et 7^e jours et la courbe de solubilité de la portlandite sont présentées sur les figures 5. La courbe de solubilité de $Ca(OH)_2$ délimite la zone pouzzolanique en dessous de cette courbe et la zone non pouzzolanique au-dessus. Les résultats montrent que les quatre échantillons présentent une activité pouzzolanique car ils sont tous situés en dessous de la courbe de solubilité de $Ca(OH)_2$. Cependant, ME1_710°C et ME2_710°C présentent une réactivité plus importante après 7 jours, ce qui indique que les argiles calcinées ont consommées une partie de $Ca(OH)_2$ suite à une réaction pouzzolanique. Cette réactivité pouzzolanique observée pour les échantillons calcinés pourrait s'expliquer d'une part par la présence de silice amorphe qui est un des facteurs dominant qui détermine l'activité pouzzolanique [19] et d'autre part, à la surface spécifique relativement grande comparée à celle rencontrée dans les métakaolins.

Au regard des résultats obtenus, les argiles ME1 et ME2 calcinées à 710°C présentent une bonne réactivité pouzzolanique, elles pourraient donc être utilisées comme matière première de substitution du clinker dans la fabrication de ciment.

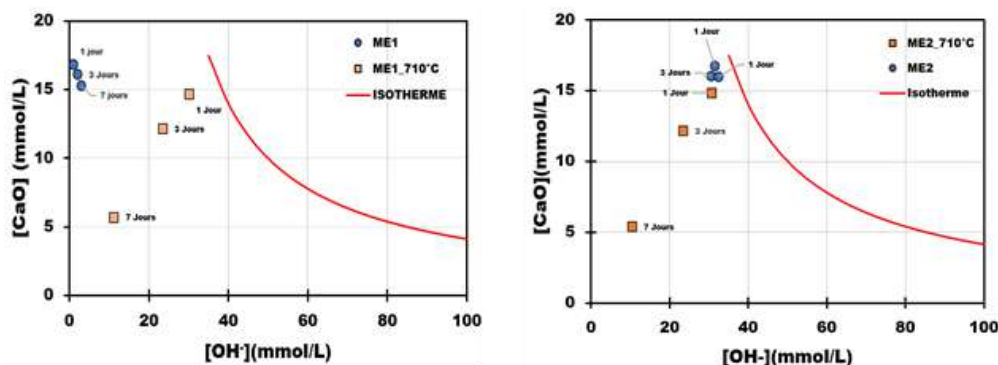


Figure 5 : Concentration $[Ca^{2+}]$ restant en fonction de $[OH^-]$ pour les différents échantillons

4. Conclusion

Le contexte actuel de réchauffement climatique lié à l'émission de gaz à effet de serre, dont le secteur de la construction est en partie responsable, pousse au développement de nouveaux matériaux de construction à faible impact environnemental. Depuis quelques années, l'on a recours à la valorisation des matières premières argileuses qui représentent un fort potentiel écologique. Ce travail avait donc pour principal objectif d'évaluer la

réactivité pouzzolanique de deux argiles locales afin de les utiliser comme substituant au clinker dans le ciment. Pour ce faire, deux échantillons nommés ME1 et ME2 ont été prélevés dans la région de Man à l'Ouest de la Côte d'Ivoire puis calcinés à 710°C. Les résultats de l'analyse chimique des échantillons bruts ont montré qu'ils sont essentiellement constitués de silice (SiO₂), d'alumine (Al₂O₃) et d'oxydes de fer (Fe₂O₃) dont la somme est au-delà de 96% pour les deux échantillons. Pour la composition minéralogique, le quartz, la kaolinite et les oxydes de fer (goethite et hématite) sont les principales phases cristallines. Au niveau de la distribution granulométrique, les échantillons bruts ME1 et ME2 présentent trois populations centrées à 2,6 ; 10 et à 39 µm pour ME1 et à 2,97 ; 10,09 et à 39,23 µm pour ME2. Quant aux échantillons ME1_710°C et ME2_710°C, ils ont une granulométrie moins étalée constituée d'une seule population centrée respectivement à 39,23 et 133 µm. Les surfaces spécifiques mesurées sont relativement importantes tant pour les échantillons bruts que ceux calcinés ce qui laisse présager une bonne réactivité. L'activité pouzzolanique des échantillons bruts et calcinés a été étudiée par le test à la chaux saturée. Les résultats de ce test ont mis en évidence une bonne réactivité pouzzolanique des échantillons calcinés avec une consommation de Ca(OH)₂ de plus de 80% après 7 jours contre environ 10% pour les échantillons bruts. Par ailleurs, les ions OH⁻ et Ca²⁺ restants en solution pour les échantillons calcinés ont des concentrations très en dessous de la courbe de solubilité de la portlandite le 1^{er} ; 3^e et 7^e jour, ce qui met en lumière une réaction pouzzolanique. L'ensemble des résultats de cette étude a montré que les deux échantillons ME1_710°C et ME2_710°C peuvent être utilisés comme pouzzolanes pour une substitution du clinker du ciment du fait de leur bonne réactivité.

5. Bibliographie

- [1] Habert, G. (2013) Environmental impact of Portland cement production. *Eco-Efficient Concrete*. pp 3 – 25.
- [2] Verma, Y.; Mazumdar, B. et Ghosh, P. (2020) Dataset on the electrical energy consumption and its conservation in the cement manufacturing industry. *Data in brief* 28, 104967.
- [3] Bajželj, B.; Allwood, J. M. et Cullen, J. M. (2013) Designing Climate Change Mitigation Plans That Add Up. *Environmental Science & Technology*, 47(14), 8062-8069.
- [4] IEA. (2021). *Buildings : A source of enormous untapped efficiency potential*.
- [5] Du, H. et Tan, K. H. (2013) Use of waste glass as sand in mortar : Part II–Alkali–silica reaction and mitigation methods. *Cement and Concrete Composites*, 35(1), 118-126.
- [6] Saggai, S.; Bouaka, W.; Benhaddou, A. et Belaid, I. (2021) Use of Glass Powder and Sand Dune in Concrete : Characterization and Performance. *Defect and Diffusion Forum*, 406, 521-531.
- [7] Donatello, S.; Tyrer, M. et Cheeseman, C. R. (2010) Comparison of test methods to assess pozzolanic activity. *Cement and Concrete Composites*, 32(2), 121-127.
- [8] Ravikumar, D.; Peethamparan, S. et Neithalath, N. (2010) Structure and strength of NaOH activated concretes containing fly ash or GGBFS as the sole binder. *Cement and Concrete composites*, 32(6), 399-410.
- [9] Sepulcre-Aguilar, A. et Hernández-Olivares, F. (2010) Assessment of phase formation in lime-based mortars with added metakaolin, Portland cement and sepiolite, for grouting of historic masonry. *Cement and Concrete Research*, 40(1), 66-76.
- [10] Ribeiro, D. V.; Silva, A. S.; Labrincha, J. A. et Morelli, M. R. (2013). Rheological properties and hydration behavior of portland cement mortars containing calcined red mud. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 40(6), 557-566.
- [11] Bich, C.; Ambroise, J. et Péra, J. (2009) Influence of degree of dehydroxylation on the pozzolanic activity of metakaolin. *Applied Clay Science*, 44(3-4), 194-200.
- [12] Doubi, H. G.; Kouamé, A. N.; Konan, L. K.; Tognonvi, M. et Oyetola, S. (2017) Thermal conductivity of compressed earth bricks strengthening by shea butter wastes with cement. *Materials Sciences and Applications*, 8(12), 848.
- [13] Sanou, I.; Ouedraogo, M.; Bamogo, H.; Meité, N.; Seynou, M.; Aubert, J.-E. et Millogo, Y. (2024) Microstructural, physical, and mechanical characteristics of adobes amended with cement-metakaolin mixtures. *Emergent Materials*.
- [14] Ouedraogo, M.; Bamogo, H.; Sanou, I.; Mazars, V.; Aubert, J.-E. et Millogo, Y. (2023) Microstructural, physical and mechanical characteristics of adobes reinforced with sugarcane bagasse. *Buildings*, 13(1), 117.
- [15] Poussardin, V. (2022) *Calcined clays and marlstones as supplementary cementitious materials* [PhD Thesis, École centrale de Nantes; Université de Sherbrooke (Québec, Canada)].
- [16] Kouamé, A. N.; Doubi, B.; Konan, L. K.; Tognonvi, M. et Oyetola, S. (2020) The effect of Shea butter wastes on Physical Properties of Compressed Earth Bricks (CEB) and Cement Stabilized. *Aust. J. Basic Appl. Sci*, 13, 19-26.
- [17] Gharzouni, A.; Sobrados, I.; Balouti, S.; Joussein, E. et Rossignol, S. (2017) Control of polycondensation reaction generated from different metakaolins and alkaline solutions. *Journal of Ceramic Science and Technology*, 8(3), 365-376.
- [18] N'cho, W.; Gharzouni, A.; Jouin, J.; Aimable, A.; Sobrados, I. et Rossignol, S. (2023) Effect of mixing metakaolins : Methodological approach to estimate metakaolin reactivity. *Ceramics International*, 49(12), 20334-20342.
- [19] Walker, R. et Pavia, S. (2011) Physical properties and reactivity of pozzolans, and their influence on the properties of lime–pozzolan pastes. *Materials and Structures*, 44(6), 1139-1150.

Etude électrochimique d'une électrode de supercondensateur à base de charbon actif de coques de coco

KOUTOUAN Djako Oscar Eric¹, DIABATE Donourou^{12*}, OSSONON Diby Benjamin²³, Ana C. Tavares³

1 : Laboratoire de Chimie Physique, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Felix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire

2 : Université Peleforo Gon Coulibaly, UFR Sciences Biologiques, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

3 : Institut National de la Recherche Scientifique – Énergie Matériaux et Télécommunications 1650, boul. Lionel-Boulet Varennes (Québec) J3X 1P7 Canada

*Auteur correspondant : ddonourou@upgc.edu.ci

Résumé :

La création d'une économie circulaire en Côte d'Ivoire dans le secteur agricole apparaît comme une nécessité afin d'augmenter les revenus de toute la chaîne de valeurs mais aussi lutter contre la pollution due aux déchets agricoles. Les systèmes de stockage d'énergie en particulier les supercondensateurs sont des composants électroniques possédant des propriétés inédites [1] et dans lesquels les déchets agricoles tels que les coques de coco qui sont d'excellents précurseurs de charbon [2] peuvent trouver leurs applications comme matériaux d'électrodes [3]. Dans ce travail, un matériau composite de charbon actif à base de coques de coco et de graphène a été utilisé comme matériau d'électrode. L'étude de ses propriétés électrochimiques par voltamétrie cyclique dans un montage à trois électrodes a donné d'excellents résultats pour le CS-CA 50 (rapport de masse charbon coco/graphène : 50/50) avec des voltammogrammes quasi rectangulaires synonyme d'un comportement double couche électrochimique, une capacité spécifique de 117 F/g à 20 mV s⁻¹, et une capacité de rétention de 95% après 10 000 cycles. Ces performances électrochimiques font du charbon de coques de coco un bon matériau d'électrode pour supercondensateur

Mots clés : électrode ; supercondensateur ; stockage d'énergie ; matériau composite

Electrochemical study of a supercapacitor electrode based on coconut shell activated carbon

Abstract :

The creation of a circular economy in the agricultural sector in Côte d'Ivoire appears to be a necessity in order to increase income throughout the value chain and also to combat pollution caused by agricultural waste. Energy storage systems, in particular supercapacitors, are electronic components with novel properties [1] and in which agricultural waste such as coconut husks, which are excellent coal precursors [2] can be used as electrode materials [3]. In this work, an activated carbon composite material based on coconut shells and graphene was used as an electrode material. The study of its electrochemical properties by cyclic voltametry in a three-electrode setup gave excellent results for CS-CA 50 (char/graphene mass ratio: 50/50) with quasi-rectangular voltammograms synonymous with electrochemical double-layer behaviour, a specific capacitance of 117 F/g at 20 mV s⁻¹, and a retention capacity of 95% after 10,000 cycles. These electrochemical performances make coconut shell charcoal a good electrode material for supercapacitors.

Keywords: electrode; supercapacitor; energy storage; composite material

1. Introduction

Les supercondensateurs qui sont des dispositifs à cheval entre les batteries et les condensateurs électriques suscitent l'intérêt du fait de leurs excellentes propriétés dues au stockage de l'énergie selon un mécanisme soit capacitif grâce à l'accumulation des charges ou ions à la surface des électrodes, soit faradique selon des réactions redox rapides. Grâce à ce mécanisme, les supercondensateurs peuvent stocker et délivrer des densités de puissance sur de courtes durées en se déchargeant et se rechargeant rapidement sur un nombre illimité de cycles. Grâce à leur faible coût et leur surface élevée par rapport aux autres matériaux carbonés, le charbon actif est le principal matériau utilisé pour la confection des électrodes des supercondensateurs à double couche [4] avec une capacité spécifique de 50 – 150 F/g dans les électrolytes organiques et 100 – 200 F/g dans les électrolytes aqueux. Les coques de coco constituent de potentiels précurseurs de charbon actif donc susceptibles d'être utilisés comme matériaux d'électrodes pour supercondensateurs. Les coques de noix de coco qui font l'objet de notre étude sont selon la littérature d'excellents précurseurs de charbon actif [5] et donc de matériau d'électrodes [3]. En effet, comparé aux autres déchets issus de la biomasse, leur charbon actif possède des caractéristiques supérieures en terme de surface spécifique, de porosité et de conductivité [2]. Plusieurs travaux de la communauté scientifique confirment le potentiel de ces coques. Parmi celles-ci, nous pouvons citer celle de Ramos et al. (2021) qui porte sur la conception de dispositifs de stockage à base de charbon actif de coques de coco et d'un matériau composite de charbon actif de coques de coco et d'oxyde de nickel. La caractérisation électrochimique des électrodes ainsi réalisées donne à partir d'un montage à trois électrodes dans une solution aqueuse de KOH 1 M utilisée comme électrolyte deux mécanismes de stockage de charge : l'électrode à base de charbon actif de coques de coco suit un mécanisme de stockage de supercondensateur avec des capacités spécifiques allant jusqu'à 142 F.g⁻¹ à 6 mA.g⁻¹. Quant à l'électrode composite de charbon actif et oxyde de nickel, elle suit un

mécanisme de stockage de batterie à cause des réactions redox réversibles de NiO avec des capacités allant jusqu'à $19 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ à $7 \text{ mA} \cdot \text{g}^{-1}$ [6]. L'étude rapportée par Sasono et al. (2023) a porté sur la conception d'un supercondensateur avec une électrode composite à base de nanofibre de charbon actif dérivé de coques de noix de coco, d'alcool polyvinylique et d'un tensioactif anionique. Il en ressort que le mélange de 15 % d'alcool, 25 % de nanofibre et un tensioactif anionique permet d'avoir une grande surface d'électrode de $250,46 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ et l'étude électrochimique effectuée à l'aide de la Voltamétrie cyclique donne une capacité spécifique de $186,5 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ [7]. Fahmi et al. (2020) rapportent que le carbone avec une surface élevée et possédant une structure poreuse peut servir de matériau d'électrode pour supercondensateur car susceptible de fournir une grande double couche électrique. Pour cela, ils ont préparé des matériaux poreux de type graphène ayant une grande surface à partir de charbon actif de noix de coco par activation via KOH suivie d'une oxydation à l'aide de la méthode modifiée de Hummer. Cette méthode permet d'augmenter la surface du charbon de coques de noix de coco traité de manière significative d'environ $189,97 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ à $642,45 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ avec un diamètre de pores d'environ 5 nm. La capacité spécifique a ainsi augmenté significativement, jusqu'à 46 fois passant de $3,22$ à $148,20 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ faisant du matériau de type graphène poreux préparé à partir de charbon de coques de noix de coco, un matériau prometteur pour une utilisation comme matériau d'électrode pour supercondensateur [8]. Selon Zhao et al. (2022) qui rapportent une méthode efficace et facile pour préparer des carbones poreux par activation de KOH en une étape à partir de charbon de coque de noix de coco, la porosité hiérarchique du carbone a une influence sur la résistance au transport des ions et la surface accessible aux ions, ce qui contribue à des performances électrochimiques exceptionnelles [9].

Il s'agira dans cette étude de préparer une électrode composite de charbon actif de coques de coco et de graphène et d'étudier ses caractéristiques électrochimiques.

2. Matériel et méthodes

Trois électrodes de travail ont été préparées selon des proportions que nous avons prédéfinies de charbon actif : graphène exfolié (EG) : PVDF (PolyFluorure de Vinylidène agissant comme liant) à savoir : 80 : 0 :20 ; 67,5 :22,5 :10 et 45 :45 :10. Ainsi une encre a été préparée en ajoutant quelques gouttes de N-Méthyl-2-Pyrrolydone (NMP) au mélange charbon actif, graphène, PVDF suivi d'une sonication dans un bain ultrason pour favoriser la dispersion. Après l'obtention de l'encre, celle-ci est déposée sur 1 cm^2 de mousse de nickel pour servir d'électrode de travail. Ces électrodes ont été ensuite séchées sous vide à une température de 80°C toute une nuit puis utilisées pour effectuer nos mesures électrochimiques. Pour nos tests, les trois électrodes de travail du charbon actif de coco ont été nommées respectivement : CS-AC 100 ; CS-AC 75 et CS-AC 50. La détermination des caractéristiques électrochimiques de nos électrodes a été possible grâce à des tests électrochimiques de Voltamétrie cyclique (CV) réalisés à l'aide du montage à trois électrodes de la figure 1. Ce montage comprend : une électrode au calomel saturé (ECS) comme référence dont le rôle est le contrôle des potentiels imposés à l'électrode de travail, une contre électrode en platine permettant d'éviter les réactions redox à l'électrode de référence, l'électrode de travail composé du matériau à caractériser et un électrolyte aqueux NaOH 2M. Ce dispositif a été relié à un potentiostat à interface électrochimique S140 (Solartron Instruments) couplé au logiciel DC Corroware (Scribner Associates, version 2.8d) pour l'acquisition des données.

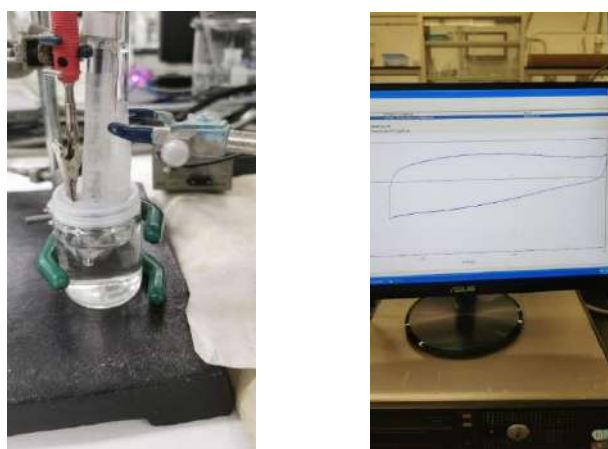


Figure 1 : Montage à 3 électrodes et logiciel d'acquisition de données

3. Résultats et discussion

3.1 Voltamétrie cyclique des électrodes de travail

La performance électrochimique des électrodes de travail a été évaluée par des tests de voltammétrie cyclique (Cyclic Voltammetry (CV) en anglais). Les courbes CV de la figure 2 obtenues à la vitesse de balayage de 50 mV.s^{-1} dans KOH 2M pour une gamme de potentiel allant de -1,15 à 0 V nous permettent d'observer des voltammogrammes presque rectangulaires pour les deux électrodes composites (CS-AC 75 et CS-AC 50) synonyme d'un comportement capacitif à double couche pour nos matériaux composites. Ceux-ci présentent également une réponse en courant plus élevée que celle du charbon actif seul CS-AC 100. Cette différence de réponse entre le charbon actif seul (CS-AC) et les matériaux composites (CS-AC@EG) pourrait s'expliquer par le fait que dans l'électrolyte le matériau CS-AC est très résistif rendant ses sites moins accessibles aux ions d'où une densité d'énergie faible. Cependant, l'apport du graphène qui est un matériau très conducteur améliore la conductivité électrique du matériau composite favorisant ainsi l'accès des ions de l'électrolyte aux sites d'adsorption ce qui fait de nos composites des matériaux possédant une densité d'énergie plus élevée. De même en comparant les voltammogrammes de nos matériaux composites, on observe que le voltammogramme du composite CS-AC 50 apparaît quasi rectangulaire que celui du voltammogramme du composite CS-AC 75 signe d'une capacité spécifique légèrement plus élevée d'où le choix de l'électrode CS-AC 50 pour la suite de nos tests.

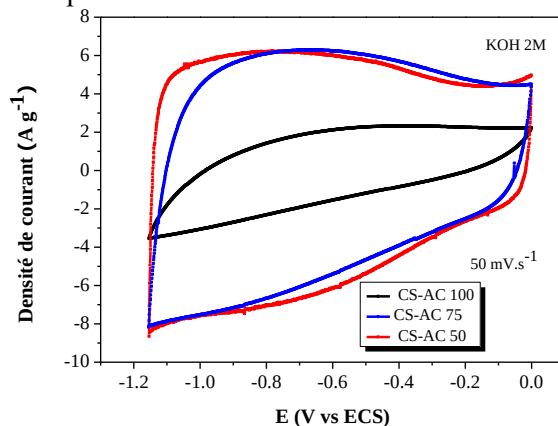


Figure 2 : voltammogrammes cycliques du charbon actif de coques de coco (noir) et des composites

3.2 Vitesse de balayage des matériaux composites

Les voltammogrammes cycliques de la figure 3 de l'électrode CS-AC 50 enregistrés à différentes vitesses de balayage montrent que la densité de courant augmente progressivement avec la vitesse de balayage. De même, les voltammogrammes gardent leur forme rectangulaire même à des vitesses de balayage plus élevées mettant ainsi en exergue selon Ossoin et al. (2021) la faible résistance de contact dans les électrodes, un processus rapide de charge-décharge dans l'électrolyte et le bon comportement capacitif de nos matériaux composites [10]

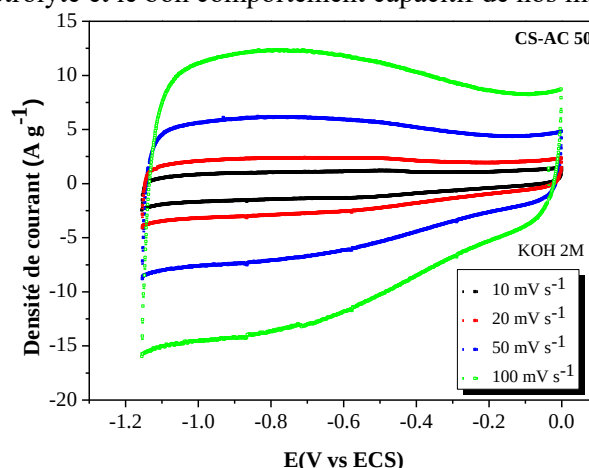


Figure 3 : voltammogrammes cycliques de l'électrode CS-AC 50 enregistrés à différentes vitesses de balayage

3.3 Capacités spécifiques

La variation de la capacité spécifique de la figures 3 montre que la capacité spécifique de chaque matériau composite augmente progressivement avec la vitesse de balayage jusqu'à 20 mV.s^{-1} puis diminue pour des vitesses de balayage plus élevées. L'augmentation de la capacité spécifique lorsque la vitesse de balayage est faible peut

s'expliquer par une grande accessibilité des sites d'adsorption aux ions issus de l'électrolyte car toute la surface interne et externe de l'électrode est accessible aux ions d'où une capacité plus élevée et donc un stockage d'énergie plus important[10]. Quant à la diminution de la capacité spécifique observée lorsque la vitesse de balayage augmente, elle serait due au fait que la vitesse élevée entrave l'accès des ions à la surface intérieure ainsi seule la surface externe de l'électrode est accessible aux ions d'où une capacité spécifique plus faible et donc un stockage d'énergie moins important [10]

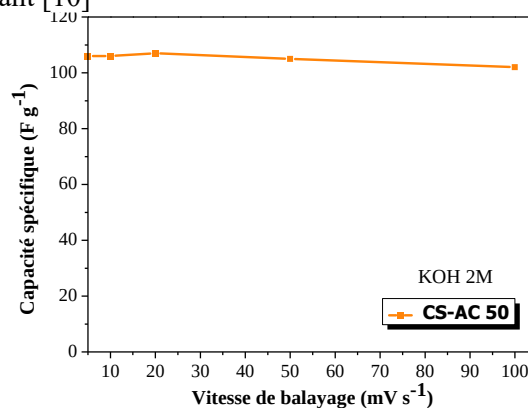


Figure 3 : capacité spécifique du matériau CS-AC 50 en fonction de la vitesse de balayage.

3.4 Capacité de rétention en fonction du nombre de cycles

L'étude de la stabilité cyclique de notre matériau composite à la vitesse de balayage de 50 mV s⁻¹ illustrée à la figure 4 montre une diminution de 5% de la capacité spécifique après 10 000 cycles. La conservation de 95% de la capacité initiale nous permet d'affirmer que l'électrode possède une bonne stabilité cyclique signe d'une bonne durabilité du matériau composite d'électrode.

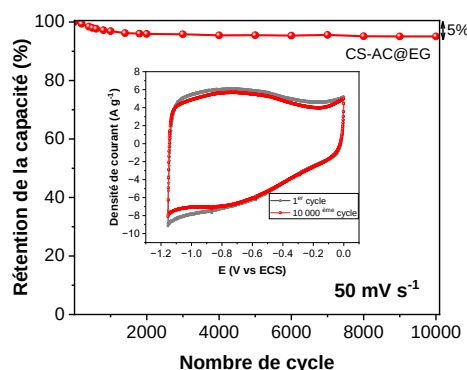


Figure 4 : capacité de rétention du matériau CS-AC 50 en fonction du nombre de cycles jusqu'à 10 000 cycles.

4. Conclusion

L'étude électrochimique par voltamétrie cyclique d'une électrode composite de charbon actif de coques de coco et graphène a montré un comportement pseudo-capacitif de notre électrode. La capacité de rétention de 95% de cette électrode après 10 000 cycles marque la durabilité de notre matériau composite. Au final, il apparaît que le mélange de charbon actif de coques de coco et le graphène constitue un excellent matériau composite d'électrode de supercondensateur.

5. Références bibliographiques

- [1] M. P. Down, C. W. Foster, X. Ji, and C. E. Banks, "Pencil drawn paper based supercapacitors," *RSC Adv.*, vol. 6, no. 84, pp. 81130–81141, 2016.
- [2] K. Mensah-Darkwa, C. Zequine, P. K. Kahol, and R. K. Gupta, "Supercapacitor energy storage device using biowastes: A sustainable approach to green energy," *Sustain.*, vol. 11, no. 2, 2019.
- [3] A. Jain and S. K. Tripathi, "Effect of nano-filler on the performance of multiwalled carbon nanotubes based electrochemical double layer capacitors," *J. Renew. Sustain. Energy*, vol. 6, no. 1, 2014.
- [4] Z. S. Iro, C. Subramani, and S. S. Dash, "A brief review on electrode materials for supercapacitor," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 11, no. 12, pp. 10628–10643, 2016.
- [5] V. Dhyani and T. Bhaskar, "A comprehensive review on the pyrolysis of lignocellulosic biomass," *Renew.*

- Energy*, vol. 129, pp. 695–716, 2018.
- [6] M. Olán Ramos, E. Del Angel Meraz, J. M. Rojo, D. E. Pacheco-Catalán, M. A. Pantoja Castro, and R. S. Mora Ortiz, “Activated carbons from coconut shell and NiO-based composites for energy storage systems,” *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 32, no. 4, pp. 4872–4884, 2021.
 - [7] S. R. A. Sasono, M. F. Rois, W. Widiyastuti, T. Nurtono, and H. Setyawan, “Nanofiber-enrich dispersed activated carbon derived from coconut shell for supercapacitor material,” *Results Eng.*, vol. 18, no. March, p. 101070, 2023.
 - [8] F. Fahmi, N. A. A. Dewayanti, W. Widiyastuti, and H. Setyawan, “Preparation of porous graphene-like material from coconut shell charcoals for supercapacitors,” *Cogent Eng.*, vol. 7, no. 1, 2020.
 - [9] Y. Zhao, Y. Wang, Y. Liu, and H. Wang, “Preparation of hierarchical porous carbon through one-step KOH activation of coconut shell biomass for high-performance supercapacitor,” *Res. Sq.*, pp. 1–22, 2022.
 - [10] B. D. Ossnonon and A. C. Tavares, “Innovative approach for the synthesis of graphene / MnO₂ nanocomposites and their electrochemical behavior,” no. February, pp. 1–12, 2021.

Typologie des sources potentielles de contamination des produits maraichers par les métaux lourds

Souleymane DAMBE^{1*}, Sanata TRAORE², Sékou sala GUINDO¹, Kélétigui DIALLO², Mamou Rachel NIAKATE², Aliou Dadda Maiga¹

¹ Institut d'Economie Rurale (IER) Bamako, MALI

² Faculté des Sciences et Techniques- Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (FST-USTTB), Bamako, MALI.

^{1*} Courriel de l'auteur de correspondance : solodab@yahoo.fr

Résumé :

L'application du compost et d'autres fertilisants organiques comme amendements des cultures expose les produits à la contamination par les métaux lourds.

Cette étude vise l'identification des substrats organiques susceptibles d'affecter la qualité des produits du maraichage.

Nous avons procédé au listing, à l'échantillonnage et à l'analyse chimique au laboratoire, des fertilisants organiques utilisés et des produits phares sur chacun des sites.

Ces substrats sont : le fumier avicole, le fumier de ferme, les ordures ménagères, la sciure de bois et les produits maraichers de grande production dans la zone sélectionnée.

Les concentrations mesurées en éléments métalliques sont très variables en fonction des substrats. Elles varient de la limite de détection pour l'As à plus de 22,337 mg/kg de potassium (K), des éléments comme le Cd et le plomb (Pb) dans le fumier avicole, le fumier de ferme et dans la sciure de bois.

La forte concentration en cadmium des produits maraichers serait imputable aux fertilisants organiques comme le fumier de ferme avicole (14,43 ppm), et la sciure de bois (19,80 ppm) utilisés par les maraichers.

Une étude de corrélation entre la teneur des fertilisants et celle décelée dans les produits permettra de mieux argumenter nos résultats.

Mots Clés : Fertilisants ; maraichage ; contamination ; métaux lourds

Abstract :

The application of compost and other organic fertilizers as crop amendments exposes products to heavy metal contamination. The objective of this study is to contribute to the identification of organic substrates likely to affect the quality of vegetable crops products. We carried out the listing, sampling and chemical analysis in the laboratory of the organic fertilizers used and large production products on each of the sites. The study focused on poultry droppings, farm manure, household waste, sawdust and large-scale market garden products in the selected area. The concentrations measured in metallic elements vary greatly depending on the substrates. They vary from the detection limit for As to more than 22,337 mg/kg for potassium (K) in poultry droppings. Elements such as Cd and lead (Pb) have also been detected in poultry droppings, farm manure and sawdust. The high concentration of cadmium in products would be attributable to organic fertilizers such as poultry droppings (14.43 ppm), and sawdust (19.80 ppm) used on certain production sites. A correlation study between the content of fertilizers and that detected in products will allow us to better argue our results.

Keywords : Fertilizers ; market gardening ; contamination ; heavy metals.

9. Introduction (Times New Roman 11 normal)

Les dynamiques actuelles de l'urbanisation en Afrique sub-saharienne posent d'importants défis en matière d'alimentation et de sécurité alimentaire des populations.

L'agriculture constitue la principale source d'approvisionnement en légumes pour la population urbaine et péri-urbaine. Elle contribue fortement au revenu des ménages des paysans et renforce aussi la sécurité alimentaire [1].

Les produits maraichers occupent une place de choix dans l'obtention d'un régime alimentaire sain et équilibré [2]. Des études ont montré que la consommation de différents types de légumes peut prévenir de manière significative les maladies cardiaques chroniques et certains types de cancers, en particulier les cancers du tractus gastro-intestinal [3].

Malheureusement, en dehors de cet aspect positif, le maraichage, s'il n'est pas géré et pratiqué correctement, comporte des risques pour la santé et l'environnement à travers le transfert de maladies par des agents pathogènes (exemples de maladies diarrhéiques) la contamination des cultures et des sols par les métaux lourds et les pesticides [4].

La pollution des légumes par les éléments métalliques est élevée et les risques sur la santé des consommateurs sont grands selon [5]. Les causes de cette pollution sont d'origine anthropique d'après les études menées par [6],

Fort de ce constat, la réflexion sur la fonction alimentaire de l'agriculture urbaine et périurbaine (AUP) trouve toute sa pertinence et de nombreux travaux ont été consacrés à l'analyse de la fonction alimentaire de l'AUP [7]. Par contre, peu de recherches ont été menées sur la biocontamination des produits maraichers par les métaux lourds au niveau de l'agriculture urbaine et périurbaine.

Les métaux lourds sont considérés comme l'une des préoccupations environnementales les plus importantes en raison de leur toxicité et de leur accumulation dans les tissus des organismes vivants qui, même à de faibles concentrations, peuvent mettre en danger la santé humaine [8]. L'existence de métaux lourds dans les chaînes alimentaires et leur concentration critique peuvent avoir des effets métaboliques et physiologiques néfastes sur le corps humain [9]. Il est donc impératif d'identifier les sources et le mécanisme de contamination des produits consommés au niveau des grandes villes.

L'objectif général de cette étude est d'évaluer la qualité des produits maraichers urbain et périurbain de la ville de Bamako en vue de contribuer à la sécurité sanitaire des aliments.

Objectifs spécifiques

- Identifier les principales sources de contamination des produits maraichers par les métaux lourds ;
- Déterminer le niveau de contamination des produits maraichers ;
- Expliquer le mécanisme de contamination des produits maraichers par les métaux lourds.

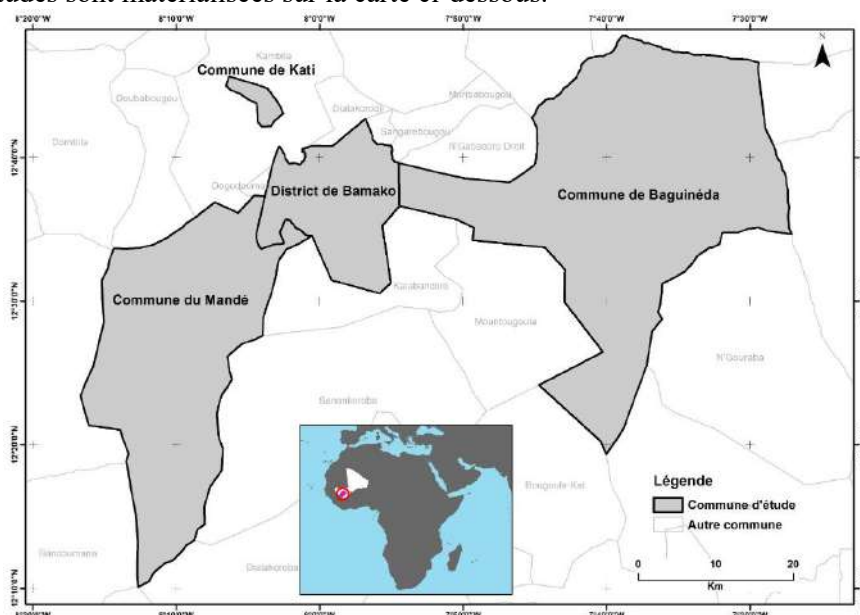
10. Matériel et méthodes

Cette première année a été marquée par la prise de contact avec les services d'encadrement des maraichers, deux campagnes d'échantillonnage et des analyses au laboratoire.

Les zones d'études étaient :

- Le district de Bamako : 5 quartiers (constituant la zone urbaine)
- Le périurbain : 3 communes rurales aux alentours de la capitale

Les zones d'études sont matérialisées sur la carte ci-dessous.



Diagnostic des sources potentielles de contamination des cultures maraichères urbains et périurbains de Bamako par les métaux lourds

Echantillonnage des sols, eaux, des intrants et produits maraichers

Les prélèvements d'échantillons ont porté sur les eaux d'arrosage, les sols maraichers, les produits maraichers et les intrants utilisés (fumures organiques) dans les zones où le maraîchage est fortement pratiqué.

Dans la zone périurbaine les sites de prélèvement étaient Kati, Baguinéda et Samanko. Par contre dans le district de Bamako, les sites de prélèvement étaient : le Champ hippique, la Zone aéroportuaire, Sotuba (cour de San Zou), Sans fil, et Torokorobougou ; soit au total 09 sites d'échantillonnage.

Les échantillonnages ont été effectués en deux (02) périodes (janvier et septembre).

Sur chaque site d'échantillonnage, 03 échantillons respectivement de sol, d'eau et de compost sont prélevés, soit 72 échantillons. En ce qui concerne les produits maraîchers, 05 des spéculations les plus consommées sont concernées par zone, soit 40 échantillons. En somme, 112 échantillons par campagne totalisant 224 échantillons par an ont été prélevés.

Les échantillons d'eau (01 litre) sont prélevés et mis dans des flacons en polyéthylène préalablement rincés avec l'eau d'arrosage.

Pour le sol et la fumure organique, 500 g d'échantillon sont prélevés. Le prélèvement de l'échantillon de sol est fait sur une profondeur de 0-20 cm. Selon la méthode AFIS, un échantillon composite est mis dans un sachet stérile et étiqueté.

Concernant les produits maraîchers, le choix des 05 échantillons portait sur ceux qui sont beaucoup consommés par la population en fonction de la période : Tomate, concombre, poivron, gombo, oignon, betteraves, carotte, laitue, choux, céleri, persil, etc. L'échantillonnage est fait délicatement à la main ou à l'aide d'un sécateur. L'échantillon prélevé est mis dans des sachets stériles au frais. Ils sont lavés et rincés à l'eau distillée pour éviter toute contamination. Tous les échantillons sont ensuite séchés à la température ambiante avant d'être broyés.

Les échantillons de sols de chaque point de prélèvement sont également séchés à la température ambiante avant d'être broyés et tamisés avec un tamis de 2 mm avant l'analyse.

Les principaux paramètres déterminés sont : la granulométrie (sédimentométrie), le pH (par la méthode potentiométrique dans une suspension de terre), le carbone organique (selon la méthode Anne modifiée), l'azote total (selon Kjeldahl), le phosphore assimilable (selon Bray II), la capacité d'échange cationique et les bases échangeables par la méthode d'acétate d'ammonium.

Pour les produits maraîchers, 2 mg du matériel végétal séché seront traités par 15 mL d'acide nitrique (65%), 5 mL d'acide fluorhydrique (40 %) et 1 mL de peroxyde d'hydrogène. Après chauffage pendant 4 h à 120°C, on ajoute 10 mL d'acide nitrique (65%).

Le dosage des métaux lourds est alors effectué sur les échantillons minéralisés par spectrophotométrie d'absorption atomique au laboratoire. Les métaux lourds recherchés sont entre autres : Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Mn et Zn.

Au terme des analyses, (Eau, Sol, Plante, Fertilisants organiques) une étude de corrélation est entamée afin de nous aider dans l'identification des sources probables de contamination.

11. Résultats et discussion

La teneur en métaux lourds des sols, des engrais, des eaux d'irrigation et des cultures maraîchères dans la zone urbaine et périurbaine de Bamako a été déterminée sur l'ensemble des échantillons prélevés.

3.1. Caractérisation des sols des parcelles maraîchères

3.1. 1. Classe texturale et pH des sols

Les prélèvements de sols effectués à l'horizon 0-20 cm dans les parcelles maraîchères ont montré que les sols ont une texture variable en fonction des localités. Ils sont Limoneux sableux (LS), Limoneux argileux, Sableux Limoneux, Limoneux argilo sableux (LAS), sablo limoneux (SL) et Limoneux (L). Les pH sont favorables dans l'ensemble à l'assimilation des éléments nutritifs à l'exception d'un site où le pH est inférieur à 5,5 présentant des risques de toxicité de l'Al, le Fe et du Mn.

Tableau I : Granulométrie des sols

Zone	Échantillons	pH eau	Classe Texturale
PERIURBAINE	SOL	6,50	LS
			SL
			LA
			L
			LAS
URBAINE		6,00	SL
			LS
			L
			L

La légende : LS = Limono-Sableux, SL = Sablo6limoneux, LA= Limono-argileux, L=Limoneux, LAS = Limono-argilo-sableux,

3.2. Teneur en métaux lourds des sols (mg/kg) :

Les teneurs en métaux lourds dans les sols figurent dans le tableau II ci-dessous. Les concentrations varient de 0,00 mg/kg pour le Cu à plus de 14951,40 pour le Fe dans la zone périurbaine et de 0,67 mg/kg pour As à 19509,71 mg/kg pour le Fe dans la zone urbaine.

Tableau II : Teneur en métaux lourds dans le sol en fonction des zones (mg/kg)

Métaux lourds	Normes	Zone	
		Périurbaine	Urbaine
		Moyenne	Moyenne
Chrome	750 a	40,25	92,87
Manganèse	5*	25,34	104,18
Fer	4,5*	14951,4	19509,71
Cuivre	50	0	1,21
Zinc	155	13,75	121,97
Arsenic	25	0,61	0,67
Plomb	200	4,06	28,26

*= norme malienne, a=norme canadienne

3.3. Teneur en métaux lourds des engrais organiques (mg/kg)

En ce qui concerne les engrais organiques apportés sur les cultures maraîchères, les analyses ont porté sur la fiente de volaille, le fumier, les ordures ménagères et la sciure de bois. Les concentrations mesurées sont très variables en fonction des types. Elles vont de la limite de détection pour l'As à plus de 22337 mg/kg pour le K dans la fiente de volaille. Des éléments comme le Cd et le Pb ont été détectés dans la fiente de volaille, le fumier et dans la sciure de bois (tableau III).

Tableau III : Teneur en métaux lourds des engrais organiques mg/kg

Métaux lourds	Norme AFNOR 2018	Fiente de volaille	Fumier	Ordures ménagères	Sciure de bois
Chrome	330	29,88	43,06	37,41	0,00
Manganèse	19,8*	272,15	101,19	214,28	0,00
Fer	182*	5025,34	10720,62	11131,46	559,13
Cuivre	300	21,97	1,39	0,00	0,00
Zinc	600	358,50	156,08	111,68	0,00
Arsenic	18	ND		0,00	ND
Cadmium	3	14,43	9,65	0,00	19,80
Plomb	180	0,00	4,75	0,00	ND

3.4. Teneur en métaux lourds des produits maraîchers

Il ressort de nos analyses que tous les produits maraîchers faisant objet de cette étude sont contaminés par le cadmium et ont des taux supérieurs à la norme requise (0,05-0,2 mg/kg).

En zone urbaine et péri-urbaine.

Tableau IV : Teneur des produits maraîchers de la zone péri-urbaine

Cultures	zone périurbaine		
	Zn	Cd	Pb
Normes OMS	27_150	0,05_0,2	5_10
Aubergine importé	5,91	17,67	ND
Aubergine locale	2,33	16,25	ND
Betterave	45,39	11,64	0,5
Carotte	19,15	14,32	ND
Chou	7,38	21,54	ND
Fraise	0	19,18	ND
Laitue	17,26	11,27	0
Navet	16,65	17,83	0,67
Oignon	16,85	15,22	ND
Poivron	0	15,29	ND
Pomme de terre	0	15,16	ND
Tomate	16,99	17,17	ND

Tableau IV : Teneur des produits maraichers de la zone urbaine

Cultures	zone urbaine de Bamako			
	Zn	As	Cd	Pb
Normes OMS	27_150	1-1,17	0,05_0,2	5_10
Betterave	222,02	ND	14,85	0,33
Carotte	62,64	ND	17,24	ND
Céleri	116,22	ND	17,73	0,5
Concombre	128,5	ND	15,84	ND
Feuille	20,32	ND	10,14	ND
Feuille oignon	58,82	ND	16,58	ND
Feuille patate	33,46	ND	18,58	ND
Feuille ail	79,77	ND	16,71	ND
Fraise	55,14	0	16,93	0
Laitue	123,16	0,8	17,62	0,2
Menthe	86,23	0,67	17,64	0,33
Navet	42,16	ND	13,77	0,5
Poivron	27,68	ND	16,98	ND
Radis	29,22	ND	13,76	0,5
Tomate	19,46	ND	17,75	ND

Dans la zone urbaine, en plus du cadmium, les produits tels que la betterave, le céleri, le concombre et la laitue ont des teneurs en Zn supérieures à la norme requise

12. Conclusion et perspectives

4.1 Conclusion

Sols sont de type varié quelque soit le site, ils ont une teneur en métaux lourds non inquiétante en dehors du fer et du manganèse. Ces sols ont également un pH optimal qui rend disponible la grande majorité des éléments nutritifs pour les plantes.

Les frétilants généralement utilisés sur ces parcelles sont tous contaminé au cadmium.

Quant aux produits maraichers, ils sont tous contaminés au cadmium et a teneur dépassant la norme requise (0,05 -0,2 mg/kg).

Il ressort des résultats que presque toutes les cultures maraichères sont contaminées par le Cd à des doses qui dépassent la norme OMS requise.

Les sources potentielles de contamination majeure seraient le fumier des fermes avicoles (mélange de fiente de volaille et de reste d'aliment surtout) et la sciure de bois.

4.2 Les perspectives :

Cette étude sera élargie à d'autres sites de grande production maraichère découverte à l'intérieur du pays,

Identifier le mécanisme de contamination des produits maraichers de façon générale.

13. Références bibliographiques

- [1] Gnandi, et al. 2008. « Bioaccumulation de Certains Éléments Métalliques dans Les Produits Maraichers Cultivés Sur Les Sols Urbains Le Long de l'autoroute Lomé- Aného, Sud Togo ». *Acta Botanica Gallica* 155 (3): 415-26. <https://doi.org/10.1080/12538078.2008.10516121>.
- [2] Shagal et al., 2012, « Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Phyllanthus pentandrus* methanol extract ».
- [3] Lawal et Audu, 2011 ; Temple et al., 2012 cité par Ngumbu et al., 2017. « Assessment of Lead and Cadmium Residues in Assorted Vegetables Collected from Markets in Monrovia, Liberia»Volume 3(Issue 3): pages 54-58
- [4] K Gnandi, K Tozo, AP Etorh, H Abi, K Agbeko... - *Acta Botanica* ..., 2008 «Bioaccumulation de certains éléments métalliques dans les produits maraichers cultivés sur les sols urbains le long de l'autoroute Lomé-Aného, Sud Togo»

- [5] Miquel et al. 2001 « Epidemiology and Molecular Pathology of Gallbladder Cancer»
- [6] Nguelieu et al.; 2017 « Evaluation des risques de contamination en éléments traces métalliques (Pb, Cd, Zn) des sites maraîchers urbains de Yaoundé (Cameroun) » matheo.uliege.be
- [7] Cantoreggi et al.; 2018 « Agriculture urbaine et périurbaine (AUP) et économie des ménages agri-urbains à Dakar (Sénégal) »International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, researchgate.net
- [8] Sharma et al., 2006 « Bioreactor studies on the endophytic fungus *Entrophospora infrequens* for the production of an anticancer alkaloid camptothecin »
- [9] Rowland et McKinstry, 2006 «Assessment of heavy metals residue in edible vegetables distributed in Shiraz, Iran» Journal of food Journal of food quality.

Etude préliminaire de la préparation des bionanomatériaux à partir de polymères issus de biomasses agricoles

Fato Tano Patrice^{1*}, Kacou Charles Kinimo², Koffi Pierre Dit Adama N’Goran³

Université Peleforo GON COULIBALY, UFR Sciences Biologiques, Département de Mathématiques Physique Chimie, BP 1328
Korhogo, Cote d'Ivoire

Résumé

La cellulose, par sa disponibilité abondante, est la plus utilisée en tant que biopolymère naturel, en raison de son applicabilité et ses propriétés remarquables à savoir sa résistance spécifique et sa rigidité élevées [1-2]. Dans cette étude, la cellulose émanant de l'écorce de riz a été extraite par le procédé Kraft [3]. Ainsi, un taux de 28% de cellulose dans la balle de riz fut recueilli. Les propriétés physiques et chimiques de la cellulose obtenue furent caractérisées par la diffraction des rayons X (DRX), la microscopie électronique à balayage (MEB) et l'infrarouge à transformé de Fourier (IRTF). Les résultats issus de la DRX et l'IRTF montrent effectivement la présence de la cellulose. Les images engendrées par la MEB dénotent une agglutination de particules sphériques non uniformes trouées.

Les futurs usages de la cellulose préparée seront entre autres de la transformer en nanoparticules, l'utiliser comme agent de support d'autres nanomatériaux et adsorbent pour l'élimination de polluants dans les eaux usées.

Mots clés : Cellulose ; Ecorce de riz ; Polymère ; Procédé Kraft.

Preliminary study of the preparation of bionanomaterials from polymers derived from agricultural biomass

Abstract

Cellulose, owing to its abundant availability, represents the most used as a natural biopolymer, thanks to its applicability and remarkable properties, namely high specific strength and rigidity [1-2]. In this study, cellulose arising from rice husk was extracted via the Kraft process [3]. Thus, a rate of 28% of cellulose in the rice husk was collected. The physical and chemical properties of the obtained cellulose were characterized by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and Fourier transform infrared (FTIR). The results from XRD and FTIR effectively showed the presence of cellulose. Additionally, the images generated by the SEM denoted non-uniform spherical particles with holes. Further uses of the prepared cellulose will include transforming it into nanoparticles, using it as a support agent for other nanomaterials, and as an adsorbent for the removal of pollutants in wastewater.

Keywords: Cellulose, Rice husk, Polymer, Kraft process

1. INTRODUCTION

Le riz est la principale céréale consommée dans le monde entier, et plus de 50 % des habitants de la planète l'utilisent comme élément principal de leur alimentation [4]. Selon l'Organisation des États-Unis pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), la production mondiale de riz devrait atteindre 523,9 millions de tonnes en 2023/2024 [5]. Le son de riz représente l'un des résidus agricoles importants formés lors du processus de décortication du riz en tant que sous-produit [6]. À cet égard, une grande quantité de sons de riz générés est engendrée et devient un souci major pour les populations quant à son stockage. Le son de riz ou coque est reconnu comme la couverture extérieure dure du grain de riz, qui protège le grain de riz pendant sa croissance. Sa nature lignocellulosique le rend très résistant et donc indigeste pour l'homme [2]. En fait, il s'agit d'un déchet agricole, qui peut être considéré comme un problème environnemental grave. En effet, le moyen le plus simple et le plus facile pour les agriculteurs de se débarrasser de ces déchets est de les brûler à l'air libre, créant ainsi une pollution environnementale indésirable et pouvant même déclencher des problèmes respiratoires. Cependant, son utilisation efficace pourrait être très intéressante, notamment en les transformant pour être utilisés comme agents de dépollution environnementale à moindre coût, par exemple. La composition chimique de l'écorce de riz est évaluée comme suit [4,7]: 60% de cellulose et hémicellulose, 20% de lignine et 15% de silice. À cet effet, la teneur élevée en cellulose provenant de l'enveloppe de riz, surtout que le riz est l'un des aliments les plus répandus, et les résidus de cultures agricoles peuvent être utilisés comme source abondante de cellulose.

La cellulose, en raison de sa disponibilité abondante, est un biopolymère polyvalent naturel et économique, connu comme une substance respectueuse de l'environnement, biocompatible et non toxique [1,8]. De plus, la cellulose peut être isolée de différentes plantes, parce qu'elle constitue la principale composante de la paroi cellulaire végétale avec l'hémicellulose et la lignine ainsi que les biofilms donnés par certaines bactéries [4, 9,10]. En outre, étant un polymère naturel, il est utilisé pour produire des papiers et des textiles ainsi que pour modifier la carbonylméthylcellulose sujette aux additifs dans les produits alimentaires [11]. De cette manière, l'exploration de nouvelles voies d'isolement de cellulose à partir des déchets agricoles autres que des plantes a suscité un

énorme intérêt en tant que matériaux économiques et environnementaux de la part des chercheurs. Afin d'obtenir une meilleure valorisation des déchets biosourcés, l'utilisation de déchets agricoles tels que le son de riz [12,13], la bagasse de la canne à sucre [14,15], les épluchures d'ananas [16], les baies d'açai [17], l'huile de palme [18] et des déchets alimentaires des restaurants [19] comme source de cellulose a considérablement pris de l'ampleur. De plus, la cellulose issue de la biomasse offre une ressource durable, renouvelable et peu coûteuse avec diverses applications telles que l'emballage alimentaire [9,20], le système de libération contrôlée de médicaments [21], le système électronique [22] et le pansement des entailles [16].

Comme on le sait, l'extraction est définie comme le transfert de tout composant de son état primaire notamment liquide ou solide vers une autre phase, autrement dit la séparation du composé d'une matrice [12,23]. Ce phénomène peut se retrouver sous plusieurs formes telles que le reflux thermique, l'isolement liquide-liquide, l'extraction acido-basique et l'extraction par ébullition dans l'eau. En ce qui concerne l'isolement cellulosique de l'écorce de riz, trois étapes générales sont nécessaires dans la tendance suivante : l'hydrolyse (pré-blanchiment) qui consiste premièrement à traiter les échantillons d'enveloppe de riz par une solution acide afin d'ouvrir la matrice, ensuite la seconde étape qui concerne la préparation desdits échantillons pour les rendre en pâte. L'ultime étape consiste à blanchir la pâte obtenue (cellulose extraite) par l'entremise des solutions telles que l'hypochlorite de sodium, le peroxyde d'hydrogène et l'acide acétique.

Dans cette étude, l'extraction de la cellulose pure de la balle de riz local ivoirien a été réalisée par le procédé Kraft modifié simple et reproductible. La méthode consiste à faire bouillir un mélange de son de riz et d'hydroxyde de sodium sous agitation continue, puis à blanchir le rétentat après filtration à l'aide d'hypochlorite de sodium combiné à de l'acide acétique. La cellulose extraite a été caractérisée par la DRX pour étudier sa cristallinité. La morphologie de surface a également été explorée par la MEB. Finalement, l'IRTF a été utilisé pour examiner sa composition chimique. Ainsi, les données expérimentales ont montré que cette étude non seulement valorise les sous-produits agricoles mais ouvre également de nouvelles voies pour l'utilisation durable des ressources naturelles dans divers domaines industriels. De même, ce travail explore les défis, les opportunités et les implications de l'extraction de la cellulose de riz dans le cadre d'une économie circulaire et durable.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Des échantillons de son de riz ont été obtenus dans un moulin à riz de la SODEPRA, un quartier de la ville de Korhogo, ville située au nord de la Côte d'Ivoire (9°25'0.001" N 5° 37'0.001" W). Les échantillons ont tout d'abord été retirés de tout objet gênant (pierres, riz, fer, etc.). Ensuite, ils ont été conservés dans des sacs plastiques et transférés au laboratoire. Une fois arrivé en salle d'expérience, l'échantillon de son de riz a tout d'abord été lavé plusieurs fois à l'eau de robinet, puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer la poussière et les résidus organiques. Les réactifs chimiques de qualité analytique, notamment l'hydroxyde de sodium (NaOH), l'acide acétique (CH₃COOH) et l'hypochlorite de sodium (NaClO) ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich. Le papier filtre (Miljex Millipore) ayant la taille de pores de 47 mm a été acheté chez Sigma-Aldrich. Le spectre infrarouge transformé de Fourier (IRTF) des échantillons de son de riz a été enregistré en utilisant un spectromètre, Agilent 630, avec le nombre d'onde entre 400 et 4000 cm⁻¹. Des analyses par diffraction des rayons X (DRX) ont été réalisées par un diffractomètre aux rayons X, CBG EMMA, monochromatique de goniomètre Cu alpha lambda (1.54027nm). L'imagerie de l'échantillon de cellulose a été obtenue à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB) de marque HIROX. L'eau de rinçage utilisée tout au long cette expérience est de l'eau distillée.

2.2. Extraction de la cellulose à partir de l'écorce de riz

Le protocole d'extraction de la cellulose issue de l'enveloppe de riz a été produit et modifié à partir de celui d'Aguayo et al. [3]. En bref, 10 g d'enveloppe de riz séchée ont été trempés dans 200 mL d'une solution de NaOH à 18 % et chauffés à 70 °C pendant 2 h sous agitation continue. Le produit brun foncé contenant l'enveloppe de riz en forme de pâte a été obtenu et refroidi. Ensuite, il a été filtré et lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée. La cellulose du rétentat est blanchie par de l'hypochlorite de sodium avec un ajout de 2 mL d'acide acétique à 80 °C pendant 5 min sous agitation continue. Le mélange obtenu est ensuite filtré et lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée. Ainsi, la cellulose pure blanchie a été séchée dans une étuve pendant une nuit à 60 °C. Enfin, le pourcentage de la cellulose est obtenu sur la base de la masse de la coque de riz séchée et a été évalué à 28%. Il a été calculé suivant l'équation :

$$\%Cellulose = \frac{\text{masse de cellulose pure séchée}}{\text{masse de son de riz séché}} \times 100$$

3. Résultat et Discussions

3.1. Caractérisation de la cellulose extraite du son de riz par la diffraction des rayons X

La figure 1 montre le diagramme de diffraction DRX de la cellulose extraite de son de riz. Comme on peut le voir, quatre pics significatifs d'intensités caractéristiques ont été trouvés et localisés à $14,3^\circ$, $24,9^\circ$, $26,7^\circ$ et $35,8^\circ$, qui correspondent respectivement aux plans (100), (110), (002) et (040) de cellulose [24,25]. Dans ce diffractogramme DRX, aucun autre pic significatif n'a été révélé. Cette observation indique alors que des composants non cellulodiques ne sont pas présents, c'est-à-dire que toutes les lignines et hémicelluloses ont été complètement éliminées, de sorte qu'une cellulose pure ait été obtenue [2,26,18].

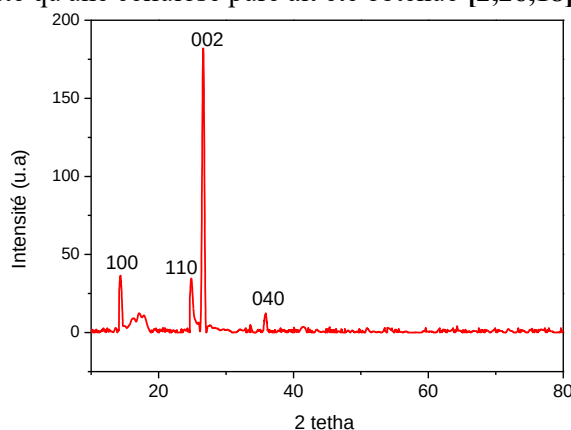


Figure 1 : Spectre DRX de la cellulose extraite de la coque de riz

3.2. Caractérisation de la cellulose extraite du son de riz par analyse de surface

La morphologie de la cellulose extraite des échantillons de la coque de riz a été examinée au microscope électronique à balayage (MEB). La figure 2 représente les photographies de morphologie de surface de la cellulose extraite de l'enveloppe de riz présentant une structure fascinante et complexe. Elle a révélé la texture et la porosité de la cellulose émanant des échantillons de l'enveloppe de riz. En effet, cette analyse indique une agglomération de différents pores à l'intérieur de la cellulose mais sous forme de cluster (Figure 2a). Cette observation se voit plus clairement sur la photographie agrandie de l'échantillon (Figure 2b). De plus, la superposition de ces pores suggère une organisation ordonnée et régulière de la cellulose, qui est la principale composante des parois cellulaires végétales [23]. Les trous visibles pourraient correspondre aux pores à travers lesquels les substances peuvent être échangées, contribuant ainsi à la perméabilité et à d'autres propriétés fonctionnelles de la cellulose.

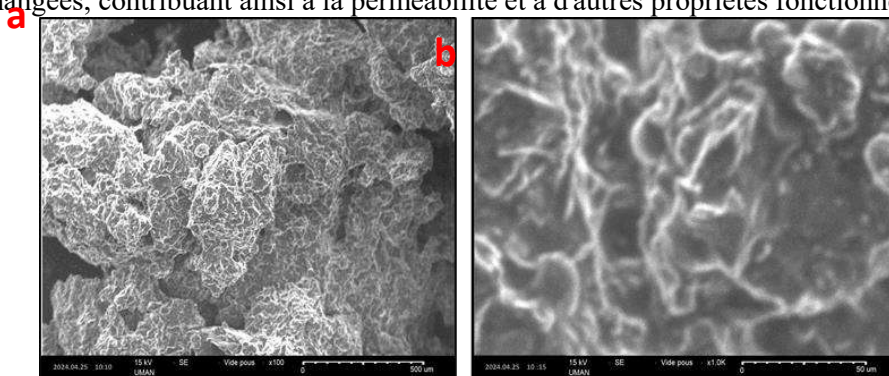


Figure 2 : Image MEB de la cellulose extraite de la coque de riz (a) et celle sous la forme agrandie (b)

3.3. Caractérisation de la cellulose extraite du son de riz par infrarouge à transformé de Fourier

La structure chimique de la cellulose extraite de l'écorce de riz a été explorée par IRTF et est présentée à la figure 3. Divers pics sont observables et attribuables aux vibrations de la cellulose dans ce spectre. Ainsi, les bandes d'absorption à 890 , 1031 et 1159 cm^{-1} correspondent à la vibration d'étirement C-H et C-O présents dans la composition du composé cellulodique [27]. Les pics à 1313 et 1376 cm^{-1} sont attribués à la vibration d'étirement $\delta(\text{CH})$. La bande située à 1427 cm^{-1} quant à elle est assignée à la vibration $\delta(\text{CH}_2)$. Le pic à 1619 cm^{-1} est lié à la vibration $\delta(\text{OH})$. Le signal localisé à 2105 cm^{-1} appartient à la combinaison des vibrations d'étirement O-H et C-H [28]. Le pic d'absorption à 2323 cm^{-1} est attribué aux fréquences des groupes d'étirement et de déformation C-H des polysaccharides [29, 30]. Les larges bandes observées à 2886 et 3305 cm^{-1} font référence aux fréquences

de courbure $\nu(\text{CH}_2)$ et $\nu(\text{OH})$ [25]. Il convient de noter l'absence de pics dans la région d'absorption de 1 500 à 1 600 cm^{-1} , qui est attribuée au groupe ester des groupes féruliques de la bande de lignine ou au composé aromatique des groupes ester acétyl et uronique de l'hémicellulose [18]. Par conséquent, les résultats indiquent l'obtention de cellulose pure provenant de l'enveloppe de riz avec l'élimination réussie de l'hémicellulose et de la lignine.

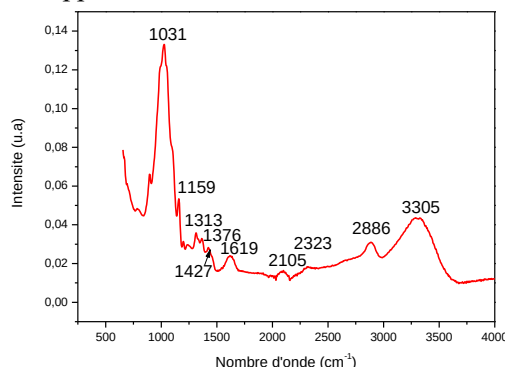


Figure 3 : Spectre Infrarouge à transformé de Fourier de la cellulose issue de l'enveloppe de riz

4. Conclusion

En résumé, de la cellulose pure provenant de l'enveloppe de riz local de la Côte d'Ivoire a été obtenue avec succès grâce à la méthode de blanchiment à la soude, c'est-à-dire un processus comprenant un milieu alcalin associé au phénomène de blanchiment. Les propriétés physiques et chimiques de la cellulose obtenue ont été déterminées par analyse DRX, IRTF et MEB. Ces techniques de caractérisation de contrôle ont permis de valider qu'une cellulose pure a été extraite sans aucune impureté. Par conséquent, ces travaux pourraient contribuer à fournir de la cellulose issue de la biomasse, notamment de son de riz, qui puisse être utilisée comme matière première peu coûteuse pour la fabrication de biopolymères industriels. En outre, l'extraction de la cellulose à partir l'échantillon de l'enveloppe du riz représente une avancée prometteuse dans la valorisation des ressources agricoles et dans la quête de solutions durables.

5. Références bibliographiques

- [1] Sjahro, N. ; Yunus, R. ; Abdullah, L. C. Rashid, S. A.; Asis, A. J.; Akhlisah, Z. N. (2021). Recent advances in the application of cellulose derivatives for removal of contaminants from aquatic environments. *Cellulose*, 28, 7521–7557.
- [2] Basu, H.; Iyer, S. S.; Mahadevan, A.; Pimple, M. V.; Singhal, R. K. (2019). Humic acid coated cellulose derived from rice husk: A novel biosorbent for the removal of Ni and Cr. *Journal of Water Process Engineering*, 32, 100892.
- [3] Aguayo, M. G.; Pérez, A. F.; Reyes, G.; Oviedo, C.; Gacitúa, W.; Gonzalez, R.; Uyarte, O. (2018). Isolation and Characterization of Cellulose Nanocrystals from Rejected Fibers Originated in the Kraft Pulp Process. *Polymers*, 10, 1145.
- [4] Al-Mofty S. E.; Elghazawy, N. H.; Azzazy, H. M. E. (2023). A one-step facile process for extraction of cellulose from rice husk and its use for mechanical reinforcement of dental glass ionomer cement. *RSC Sustainability*, 1, 1743-1750.
- [5] FAO Rice Price. <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/rice/fao-rice-price-update/>
- [6] Samsalee, N.; Meerasri, J.; Sothornvit, R. (2023). Rice husk nanocellulose: Extraction by high-pressure homogenization, chemical treatments and characterization. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6, 100353.
- [7] Korotkova, T. G.; Ksandopulo, S. J.; Donenko, A. P.; Bushumov, S. A.; Danilchenko, A. S. (2016). Physical Properties and Chemical Composition of the Rice Husk and Dust. *Oriental Journal of Chemistry*, 32, 3213-3219.
- [8] Ali, A.; Haq, I. U.; Akhtar, J.; Sher, M.; Ahmed, N.; Zia, M. Synthesis of Ag-NPs impregnated cellulose composite material: its possible role in wound healing and photocatalysis. (2017). *IET Nanobiotechnology*, 11, 477-484.
- [9] Aridia, A. S.; Linga, C. N.; Ishak, N. A.; Yusof, N. N. M.; Ahmed, M. F. M.; Yusof, Y. A. (2020). Structural FTIR analysis of cellulose functional groups isolated from *Leucaena leucocephala* pods using different bleaching agents. *agriRxiv*, 1-14.
- [10] Umesh, M.; Santhosh, A. S.; Thazeem, B.; Shanmugam, S.; Pugazhendhi, A. (2022). Extraction, characterization, and fabrication of cellulose biopolymer sheets from *Pistia stratiotes* as a biodegradable coating material: A unique strategy for the conversion of invasive weeds into value-added products. *Research Square*, 1-24.
- [11] Aurelia, C.; Murdiati, A.; Supriyanto; Ningrum, A. (2019). Effect of Sodium Hydroxide and Sodium Hypochlorite on the Physicochemical Characteristics of Jack Bean Skin (*Canavalia ensiformis*). *Pakistan Journal of Nutrition*, 18, 193-200.
- [12] Chopra, L.; Manikanika. (2022). Extraction of cellulosic fibers from the natural resources: A short review. *Materials Today: Proceedings*, 48, 1265-1270.
- [13] Rosa, S. M. L.; Rehman, N.; de Miranda, M. I G.; Nachtigall, S. M. B.; Bica, C. I.D. (2012). Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1131-1138.

- [14] Melesse, G. T.; Hone, F. G.; Mekonnen, M. A. (2022). Extraction of Cellulose from Sugarcane Bagasse Optimization and Characterization. *Advances in Materials Science and Engineering*, 10 pages.
- [15] Casanova, F.; Freixo, R.; Pereira, C. F.; Ribeiro, A. B.; Costa, E. M.; Pintado, M. E.; Ramos, Ó. L. (2023). Comparative Study of Green and Traditional Routes for Cellulose Extraction from a Sugarcane *By-Product*, 15, 1251.
- [16] Putro, P. A.; Sumardi, T.; Sulaeman, A. S.; Roza, L.; Ramza, H.; Anugrah, D. S. B. (2023). Synthesizing Cellulose and Its Derivatives from Pineapple Peel: A Systematic Literature Review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13, 575.
- [17] Linan, L. Z.; Cidreira, A. C. M.; da Rocha, C. Q.; de Menezes, F. F.; Rocha, G. J. M.; Paiva, A. E M. (2021). Utilization of Acai Berry Residual Biomass for Extraction of Lignocellulosic Byproducts. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6, 323-337.
- [18] Al-Rajabia, M. M.; Haan, T. Y. (2022). Green Extraction Method of Cellulose Fibers from Oil Palm Empty Fruit Bunches. *Jurnal Kejuruteraan*, 34, 851-860.
- [19] Garnett, M. T.; Kumar, H. K. S.; Beckingham, B. S.; Alexander, S. L. M. (2024). Extraction of Cellulose from Restaurant Food waste. *RSC Sustainability*, 2, 170-178.
- [20] Vu, A. N.; Nguyen, L. H.; Tran, H. C. V.; Yoshimura, K.; Tran, T. D.; Le, H. V.; Nguyen, N. U. T. (2024). Cellulose nanocrystals extracted from rice husk using the formic/peroxyformic acid process: isolation and structural characterization. *RSC Advances*, 14, 2048-2060.
- [21] Magalhães, S.; Fernandes, C.; Pedrosa, J. F. S.; Alves, L.; Medronho, B.; Ferreira, P. J. T.; Rasteiro, M. G. (2023). Eco-Friendly Methods for Extraction and Modification of Cellulose: *An Overview*. *Polymers*, 15, 3138.
- [22] Zhao, D.; Zhu, Y.; Cheng, W.; Chen, W.; Wu, Y.; Yu, H. (2020). Cellulose-Based Flexible Functional Materials for Emerging Intelligent Electronics. *Advanced Materials*, 2000619.
- [23] Roy, S.; Rhim, J. W. Fabrication of cellulose nanofiber-based functional color indicator film incorporated with shikonin extracted from *Lithospermum erythrorhizon* root. (2021). *Food Hydrocolloids*, 114, 106566.
- [24] Wahlstrom, N.; Edlund, U.; Pavia, H.; Toth, G.; Jaworski, A.; Pell, A. J.; Choong, F. X.; Shirani, H.; Nilsson, K. P. R.; Dahlfors, A. R. (2020). Cellulose from the green macroalgae *Ulva lactuca*: isolation, characterization, optotracing, and production of cellulose nanofibrils. *Cellulose*, 27, 3707–3725.
- [25] Battegazzore, D.; Bocchini, S.; Alongi, J.; Frache, A.; Marino, F. (2014). Cellulose extracted from rice husk as filler for poly (lactic acid): preparation and characterization. *Cellulose*, 21, 1813-1821.
- [26] Tosi, M. M.; Assis, O. B.G.; Silva, N. C.; Esposto, B. S.; Martins, M. A.; Blácido, D. R. T. (2017). Chemical treatment and characterization of soybean straw and soybean protein isolate/straw composite films. *Carbohydrate Polymers*, 157, 512-5280.
- [27] Alemdar, A.; Sain, M. (2008). Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. *Composites Science and Technology*, 68, 557-565.
- [28] Wójciak, A.; Kasprzyk, H.; Sikorska, E.; Krawczyk, A.; Sikorski, M.; Birczyńska, A. W. (2014). FT-Raman, FT-infrared and NIR spectroscopic characterization of oxygen-delignified kraft pulp treated with hydrogen peroxide under acidic and alkaline conditions. *Vibrational Spectroscopy*, 71, 62-69.
- [29] He, W.; Hu, H. (2013). Prediction of hot-water-soluble extractive, pentosan and cellulose content of various wood species using FT-NIR spectroscopy. *Bioresource technology*, 140, 299-305.
- [30] Li, X.; Sun, C.; Zhou, B.; He, Y. (2015). Determination of hemicellulose, cellulose and lignin in moso bamboo by near infrared spectroscopy. *Scientific reports*, 5(1), 17210.

Valorisation des bouteilles en verre dans la fabrication des Briques Comprimées en Terre (BTC) cuites

Talardja DIADI¹, Youssouf SAWADOGO¹, Brahim SORGHOU¹, Lamine ZERBO¹, Mohamed SEYNOU¹

Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouaga 03, Burkina Faso

Résumé :

Les matériaux utilisés dans la construction sont généralement énergétivores, non écologiques et inadaptés aux conditions climatiques [1,2]. La présente étude vise à élaborer des matériaux de construction de qualité à partir des latérites et des déchets disponibles [3] notamment la poudre de verre de bouteilles. Pour se faire, nous avons caractérisé une latérite et la poudre de verre, formulé des mélanges latérite-poudre de verre et caractérisé les éprouvettes obtenues. Ainsi, la caractérisation indique que la latérite contient une quantité importante de kaolinite (64%) et de muscovite (11%). La poudre de verre est composée principalement d'une phase vitreuse sous forme de silice amorphe et de quartz. Les éprouvettes obtenues (Briques de Terre Comprimées (BTC) cuites à 750°C) ont présenté de meilleures résistances mécaniques de 10,25 MPa et 11,70 MPa respectivement pour les éprouvettes contenant 20 et 25% de poudre de verre. Les performances thermiques ont révélé que les éprouvettes amendées à 25% ont un meilleur confort thermique (conductivité = 0,51 W.m⁻¹K⁻¹ et diffusivité = 0,22 mm²/s) par rapport aux témoins. Les résultats obtenus montrent que la poudre de verre pourrait contribuer à améliorer la qualité des briques de construction. Nous allons donc étendre cette étude à des argiles utilisées en construction. .

Mots Clés : *matériaux de construction, Briques de Terre Comprimées (BTC) cuites, latérite, poudre de verre.*

Abstract :

Building materials generally consume a lot of energy, are not environmentally friendly and are unsuited to climatic conditions [1,2]. The aim of the present study is to develop quality construction materials from laterite and available waste materials [3], in particular bottle glass powder. To do this, we characterised a laterite and the glass powder, formulated laterite-glass powder mixtures and characterised the specimens obtained. Characterisation showed that laterite contains a significant amount of kaolinite (64%) and muscovite (11%). The glass powder is mainly composed of a vitreous phase in the form of amorphous silica and quartz. The specimens obtained (Compressed Earth Bricks (CEB) fired at 750°C) showed better mechanical strengths of 10.25 MPa and 11.70 MPa respectively for specimens containing 20 and 25% glass powder. Thermal performance revealed that the specimens amended to 25% had better thermal comfort (conductivity = 0.51 W.m⁻¹K⁻¹ and diffusivity = 0.22 mm²/s) than the controls. The results obtained show that glass powder could contribute to improving the quality of building bricks. We will therefore extend this study to clays used in construction.

Keywords : *building materials, fired compressed earth bricks, laterite, glass powder.*

14. Introduction

Le Burkina Faso dispose de nombreuses ressources en matières premières argileuses et latéritiques, largement utilisées dans la construction [1]. Cependant, l'architecture en terre souffre de problème de durabilité, poussant les populations vers des constructions modernes, énergétivore et non écologique [1, 2]. Pour recentrer l'utilisation de la terre dans la construction, des alternatives ont été explorées, telles que le recyclage des déchets agricoles pour fabriquer des briques poreuses et légères, visant une meilleure isolation thermique [3, 4]. Plusieurs études montrent que les performances mécaniques des Blocs de Terre Comprimées (BTC) peuvent être améliorées par des liants végétaux et des additifs issus des déchets agricoles [5]. Ces additifs, comme les fibres de kenafs, de bambous, de cocotiers et les balles de riz, réduisent la conductivité et la diffusivité thermique tout en augmentant les propriétés mécaniques des briques, en raison de leur composition chimique, microstructure et taille de particule [6, 7].

Notre étude vise à développer des alternatives pour produire des matériaux de construction performants et écologiques. La valorisation des déchets de bouteilles en verre est explorée comme solution intéressante. Ces déchets, accessibles et peu coûteux, possèdent un faible point de fusion (environ 700°C). Bien que le verre représente environ 11% du marché mondial de l'emballage et soit largement utilisé dans l'industrie agroalimentaire [8], son utilisation comme additif dans la production des briques reste peu étudié [9, 10]. La valorisation des bouteilles en verre pourrait offrir des avantages environnementaux et économiques.

Notre étude se concentre sur l'analyse physico-chimique et minéralogique des matières premières pour évaluer leur utilisation dans la formulation de matériaux de construction en terre, ainsi que sur l'évaluation des propriétés physico-mécaniques et thermiques des échantillons élaborés.

15. Matériel et méthodes

Deux matières premières font l'objet de notre étude. Il s'agit de la latérite (**figure 1**) et de la poudre de verre de bouteilles (**figure 2**). La latérite a été prélevé à Houndé situé à l'Ouest du Burkina Faso. La poudre de verre a été obtenue à partir des bouteilles en verre collectés dans la ville de Ouagadougou.

Ces deux matières premières ont été débarrassées de leurs impuretés, séchés, concassés, broyés à une granulométrie bien déterminée puis tamisés avant toutes caractérisations.

Plusieurs méthodes ont été utilisés pour caractérisés les matières premières. On peut citer entre autres l'analyse chimique par fluorescence des rayons X (XFR), Spectrométrie infrarouge (IR), la diffraction des rayons X (DRX), les limites d'Atterberg,...

Les éprouvettes ont été formulés suivants le schéma représenté par la **figure 3**. Ces éprouvettes ont été soumis à certaines caractérisations comme la perte au feu des éprouvettes, la densité apparente, l'absorption d'eau, la résistance en compression, la conductivité thermique et la diffusivité thermique.



Figure 1 : La latérite **Figure 2 :** photo des bouteilles en verre et de la poudre de bouteilles en verre

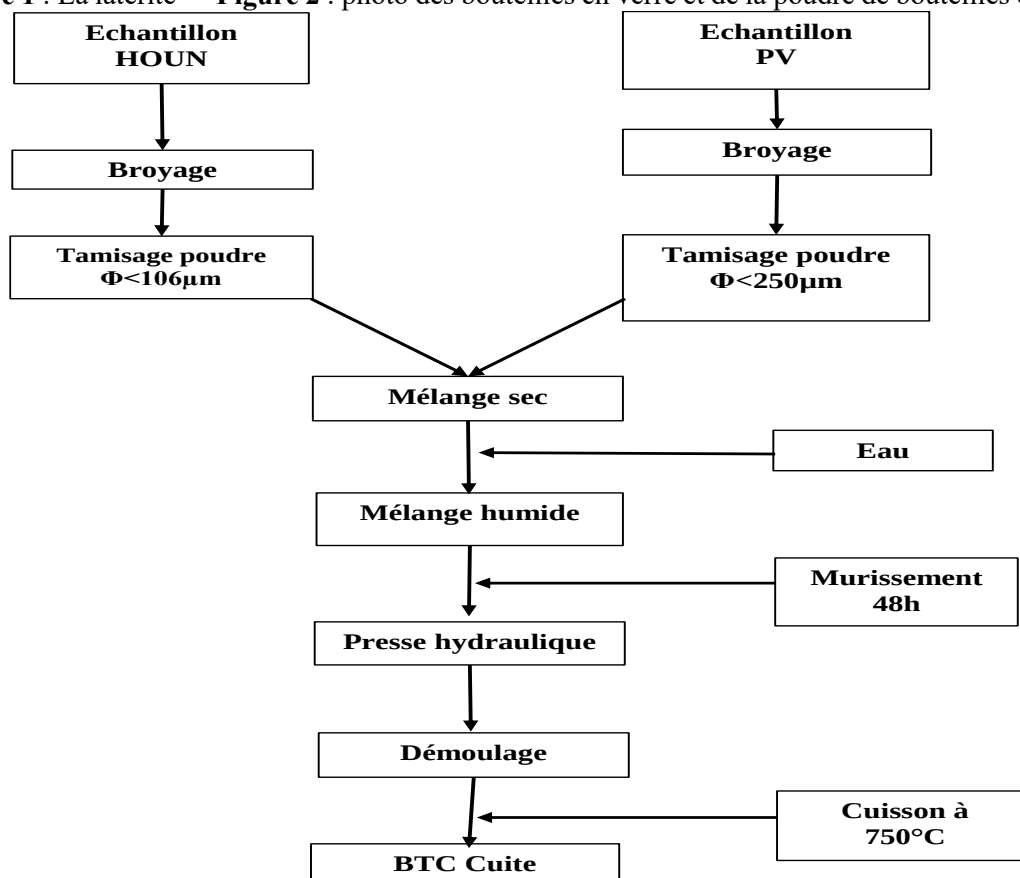


Figure 3 : schéma simplifié du procédé d'élaboration des briques
(HOUN : latérite ; PV : Poudre de Verre)

16. Résultats et discussion

3.1. Caractérisations des matières premières

Les résultats de la chimie montrent que latérite (**tableau I**) contient la silice (39,52 %) et l'alumine (29,71 %) comme oxydes majeurs dans l'échantillon, et une quantité non négligeable en oxyde de potassium (1,32%). La poudre de verre de bouteilles (**tableau II**) est constituée principalement de silice (72,5%).

Tableau I : composition chimique élémentaire de la latérite

Compos	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	PF	Total
Taux (%)	39,52	29,71	18,23	0,03	0,05	0,12	1,32	10,81	99,79

Tableau II : composition chimique élémentaire de la poudre de verre

Compos	SiO ₂	Na ₂ O	CaO	MgO	Al ₂ O ₃	K ₂ O	Fe ₂ O ₃	PF	Total
Taux (%)	72,5	13,0	9,3	3,0	1,5	0,3	0,1	-	99,70

Le spectre infra-rouge (**figure 4**) de la latérite montre certaines bandes caractéristiques liées à certaines vibrations des liaisons telles que Al-OH, Si-O, Si-O-Si, Fe-OH. Ces bandes de vibrations prédisent la présence respectivement des phases telles que la kaolinite et/ou la muscovite, le quartz et la goéthite et/ou l'hématite [11]. Quant au spectre de la poudre de verre (**figure 5**), on observe deux principales bandes caractéristiques Si-O et Si-O-Si, qui permet de prédire le quartz comme phase principale de l'échantillon [11, 12].

L'analyse de la DRX (**figure 6 et 7**) montre que les phases contenues dans la latérite sont la kaolinite, la muscovite, l'hématite et goéthite, et que la poudre de verre contient de la silice amorphe ou de quartz.

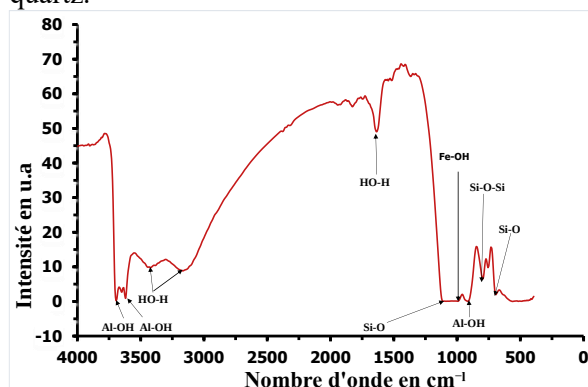


Figure 4 : spectre IR de la latérite

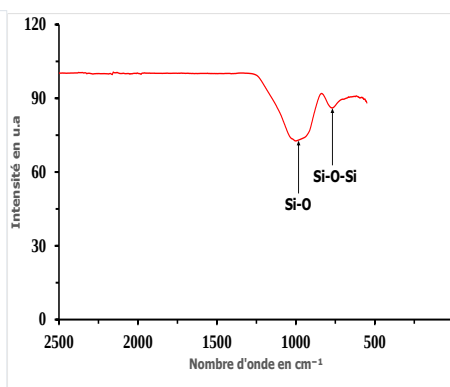


Figure 5 : spectre IR de la poudre de verre

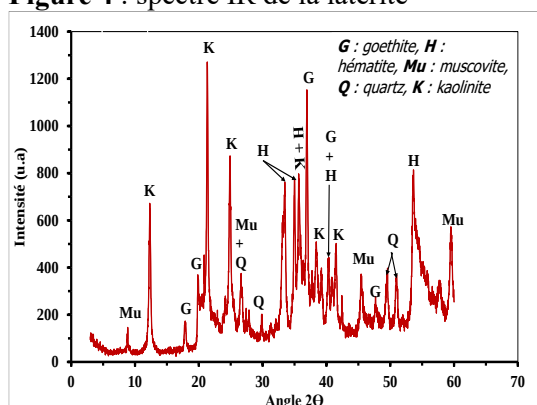


Figure 6 : diffractogramme de la latérite

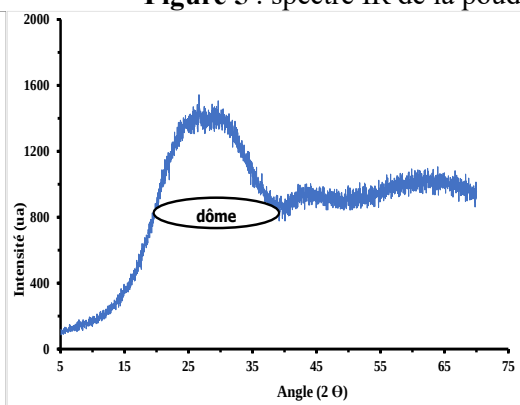


Figure 7 : diffractogramme de la poudre de verre

3.2. Caractérisations des éprouvettes

Les éprouvettes élaborées ont été soumises aux différents tests comme la densité apparente, l'absorption d'eau, la résistance à la compression, la conductivité et la diffusivité thermique.

Selon la norme NF EN 771-1 (2011), les résultats des densités des éprouvettes sont supérieurs à la valeur moyenne requise (densité ≥ 1,7) [6] pour les terres cuites. La courbe de la densité (**figure 8**)

est décroissante dans son ensemble. La substitution de la latérite (densité 2,72) par la poudre de verre moins dense (densité au voisinage de 2,50) justifie la réduction de la densité des éprouvettes.

La **figure 9** présente les variations du pourcentage d'absorption d'eau en fonction du pourcentage de la poudre de verre. Il ressort de cette figure que l'absorption d'eau accuse une diminution avec l'augmentation de la quantité de poudre de verre dans les éprouvettes. Cela s'explique par la fusion du verre qui ferme les pores des éprouvettes, les permettant d'absorber moins d'eau. Nous pouvons donc prétendre que l'incorporation de la poudre de verre ferme les pores lorsque le matériau formulé est porté à la température de fusion du verre, avec pour conséquence la faible absorption d'eau.

La **figure 10** représente les variations de la résistance mécanique à la compression des éprouvettes en fonction du pourcentage de la poudre de verre. Les éprouvettes présentent des résistances mécaniques nettement très élevées. L'addition du verre à la latérite améliore la résistance à la compression des briques. La résistance à la compression maximale (11,70 MPa) est atteinte avec 25% de poudre de verre, comparé à 7,94 MPa pour les éprouvettes témoins. Cette amélioration de la résistance peut être justifiée par la bonne cohésion entre la phase argileuse et la poudre de verre d'une part. D'autre part, par la température de cuisson qui favorise la consolidation des éprouvettes. Au-delà de 25 % de poudre verre, la diminution de la résistance peut être justifiée par un excès de poudre de verre dans le matériau, empêchant une interaction efficace entre la poudre de verre et le squelette granulaire.

La conductivité thermique et la diffusivité thermique ont été évaluées avec les éprouvettes présentant une meilleure résistance mécanique et les éprouvettes témoins. Les résultats de l'analyse montrent que les éprouvettes amendées à 25% de poudre de verre ont une conductivité thermique de $0,51 \text{ W.m}^{-1}\text{K}^{-1}$ et une diffusivité de $0,22 \text{ mm}^2/\text{s}$. Quant aux éprouvettes témoins, ils ont une conductivité thermique de $0,44 \text{ W.m}^{-1}\text{K}^{-1}$ et une diffusivité thermique de $0,33 \text{ mm}^2/\text{s}$.

La conductivité thermique a connu une légère augmentation (soit une augmentation de 15,9%) avec l'incorporation de 25% de verre dans les éprouvettes. Ceci peut s'expliquer par la présence du verre fondu dans le matériau, créant ainsi une structure non poreuse. Celle-ci diminue l'isolation thermique en augmentant la conductivité, ce qui signifie que la chaleur pénètre plus facilement dans le matériau. La faible diffusivité thermique des éprouvettes contenant 25% de verre montre que ces éprouvettes ont une longue durée de déphasage thermique, celle-ci leur confère une faible inertie thermique. Par conséquent, la durée de propagation de la chaleur dans les matériaux amendés est plus importante par rapport aux échantillons témoins. Les matériaux contenant 25% de verre assureront alors une meilleure isolation thermique que les matériaux témoins.

Les résultats de la conductivité thermique et de la diffusivité thermique traduisent que les éprouvettes amendées avec 25% de verre présentent un même confort thermique qu'un adobe et sont utilisables dans la construction.

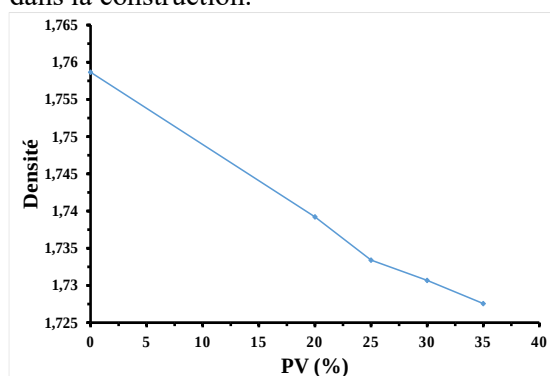


Figure 8 : Densité des éprouvettes
(PV : Poudre de Verre)

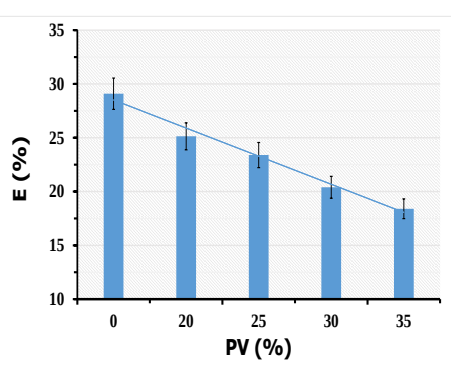


Figure 9 : Absorption d'eau des éprouvettes
(PV : Poudre de Verre)

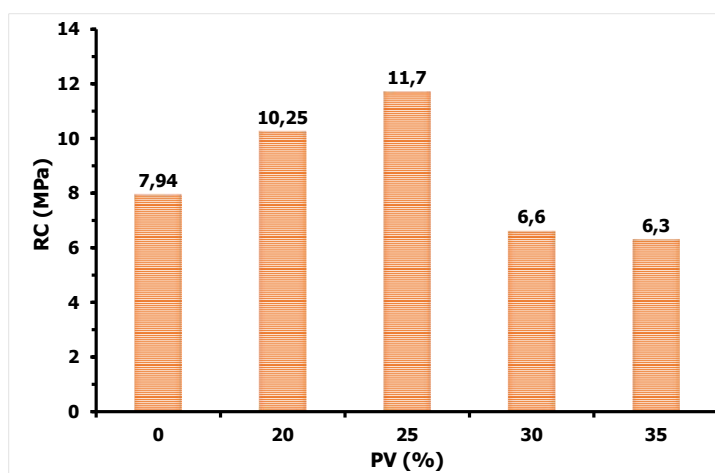


Figure10 : Résistance mécanique des éprouvettes en fonction du taux de PV
(RC : Résistance à la compression, PV : Poudre de Verre)

4. Conclusion

Le présent travail a consisté à valoriser une latérite dans la production des briques de terre comprimées (BTC) cuites en associant la poudre de bouteilles en verre comme additif. Pour y parvenir, nous avons d'abord procédé à une caractérisation des matières premières par le couplage de plusieurs techniques d'analyse. Les analyses physiques, chimiques, minéralogiques et thermiques de la latérite ont indiqué qu'elle est composée d'une importante phase argileuse (la kaonilite et la muscovite), associée à des phases non argileuses (le quartz, la goethite et l'hématite). La caractérisation de la poudre de verre a montré qu'elle est composée principalement d'une phase vitreuse sous forme de silice amorphe ou de quartz. Les éprouvettes élaborées ont été soumises à des tests de densité apparente, d'absorption d'eau, de résistance mécanique et de caractéristiques thermo-physiques. Les résultats de ces tests ont montré une réduction considérable de la densité apparente et de l'absorption d'eau avec l'augmentation de la quantité de la poudre de verre dans les éprouvettes. Les valeurs de résistance mécaniques des différentes éprouvettes (BTC) cuites sont supérieures à la valeur minimale requise (4MPa) pour une construction à niveau simple. Cependant, les éprouvettes contenant 20 et 25% de poudre de verre présentent les meilleures résistances mécaniques respectivement de 10,25 et 11,70 MPa. Les performances thermiques ont été évaluées uniquement pour les éprouvettes témoins et celles amendées à 25%. En assimilant la conductivité thermique et la diffusivité thermique, nous pouvons estimer que les briques amendées à 25% ont un meilleur confort thermique par rapport aux témoins à cause de leur faible diffusivité thermique. L'ensemble de ces résultats permet de mettre en exergue la possibilité de la valorisation des déchets de bouteilles en verre et de la latérite dans la construction. La latérite et la poudre de bouteilles en verre peuvent être utilisées pour la production des briques de terre comprimée (BTC) cuites à faible température pouvant atteindre 750 °C.

En perspectives, nous envisageons à la suite de nos travaux :

- étudier le comportement à l'érosion (effet de la pluie) et au vieillissement des BTC cuites,
- évaluer la résistance à la flexion aux trois points,
- évaluer l'effet des attaques chimiques et du choc thermique.
-

5. Bibliographie :

- [1]. Y. MILLOGO, « Étude géotechnique, chimique et minéralogique de matières premières et latéritique du Burkina Faso améliorées aux liants hydrauliques : application au génie civil (bâtiment et route) », Thèse de Doctorat Unique de de l'Université de Ouagadougou (Burkina Faso), 2008.
- [2]. B. SORGHO, « Caractérisation et valorisation de quelques argiles du Burkina Faso : application au traitement des eaux et aux géomatériaux de construction », Thèse de Doctorat Unique de l'Université Joseph KI-ZERBO (Burkina Faso), 2013.
- [3]. Z. P. Bernadin BOHI, « Caractérisation des sols latéritiques utilisés en construction routière : Le cas de la région de l'AGNEBY (Cote d'Ivoire), » Thèse de Doctorat Unique, de l'École Nationale des ponts et chaussées (France), 2008.

- [4]. I. M. SOULEY, « Caractérisation et valorisation des matériaux latéritiques utilisés en constructions routières au Niger », Thèse de Doctorat Unique de l'Université de Bordeaux, (France), 2016.
- [5]. Dieudonné ABESSOLO, Achille Bernard BIWOLE, Didier FOKWA, Bernard Morino GANOU KOUNGANG et Bernard NYOUMA YEBGA, « Effets de la longueur et de la teneur des fibres de bambou sur les propriétés physicomécaniques et hygroscopiques des blocs de terre comprimée utilisés dans la construction », Afrique SCIENCE 16(3) (2020) 161 - 171.
- [6]. N. SORY, « Formulation et étude des propriétés de blocs de terre comprimée (BTC) à base d'une argile locale et de coques d'arachide. », Thèse de Doctorat Unique de l'Université Joseph KI-ZERBO (Burkina Faso), 2022.
- [7]. S. DJADOUF et al, « Etude de l'influence des ajouts (gringnon d'olive et foin) sur les caractéristiques physico-mécaniques de la brique en terre cuite », Commun. Sci. Technol., no 9. Janvier 2011, p 1 à 7.
- [8]. G. S. G. MILOHIN, « Valorisation de rebuts de bouteilles en verre et des cendres de bois dans la fabrication de briques en argile cuite », Thèse de Doctorat Unique en cotutelle des Universités de Lorraine (France) et d'Abomey-Calavi (Bénin), 2019.
- [9]. J. C. Lehmann, « Formulation du verre et produits verriers », Tech. Ing. Matér. Verres Céramiques, vol. V1, 2010, p. 18.
- [10]. Mourad Behim, Tahar Ali Boucetta, « Valorisation du verre à bouteille comme addition fine dans les bétons autoplaçants », Déchets Sciences et Techniques, no 65, Novembre 2013, p. 20-28.
- [11]. R. D. OUEDRAOGO, « Adsorption de l'arsenic en milieu aqueux par une latérite naturelle du Burkina Faso. », Master de Chimie de l'Université Joseph KI-ZERBO (Burkina Faso), 2017.
- [12]. M. SAWADOGO, « Formulation de briques réfractaires à partir d'argiles locales du Burkina Faso. », Thèse de Doctorat Unique de l'Université Joseph KI-ZERBO (Burkina Faso), 2017.

Impact du rayonnement ultraviolet sur la structure du graphène

Tamboura Mamadou ^{1,2*}, Gosteva Ekaterina Aleksadrovna ², Chichkov Maxim Vladimirovitch², Mikhailova Anna Mikhailovna ¹, Tamboura Moussa¹

1-Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)

2-National University of Science and Technology MISIS

Résumé : L'utilisation des polymères à l'extérieur est confrontée à des défis, notamment leur dégradation sous l'effet des rayons ultraviolets (UV). Des recherches ont révélé que l'intégration du graphène dans la structure des polymères peut atténuer les effets de la photo-dégradation. De plus, le graphène présente des propriétés conductrices qui le rendent utile dans l'électronique. Cependant, les UV peuvent potentiellement affecter la structure du graphène en raison de sa composition chimique.

Notre étude se concentre sur l'identification des défauts potentiels induits par les UV dans la structure du graphène et leur impact sur l'environnement électronique. Nous avons synthétisé du graphène sur un substrat en cuivre à l'aide de la méthode CVD, puis transféré sur un substrat en silicium. L'échantillon a été exposé à des rayonnements UV sur différentes durées. Les modifications de la structure ont été analysées à l'aide d'un spectromètre Raman, et la conductivité surfacique a été mesurée.

Les résultats obtenus ont permis de déterminer les défauts induits par les UV et leur impact sur la conductivité du graphène. Cette étude contribue à une meilleure compréhension des effets des UV sur le graphène et à l'exploration de ses applications potentielles dans l'électronique.

Mots-clés : UV, graphène, défaut, conductivité

Impact of ultraviolet radiation on graphene structure

Abstract The use of polymers outdoors faces challenges, including their degradation under the effects of ultraviolet (UV) rays. Research has shown that incorporating graphene into the structure of polymers can mitigate the effects of photo-degradation. Furthermore, the conductive properties of graphene make it useful in electronics. However, UV rays can potentially affect the structure of graphene due to its chemical composition.

Our study focuses on identifying potential defects induced by UV rays in the structure of graphene and their impact on the electronic environment. We synthesized graphene on a copper substrate using the CVD method, then transferred it to a silicon substrate. The sample was exposed to UV radiation over different durations. Structural modifications were analysed using a Raman spectrometer, and surface conductivity was measured.

The results obtained allowed us to determine the defects induced by UV rays and their impact on conductivity. This study contributes to a better understanding of the effects of UV rays on graphene and explores its potential applications in electronics.

Keywords: UV Radiation, defect, graphene, conductivity

1. Introduction

L'essor des polymères a permis leur utilisation dans tous les domaines du quotidien. Toutefois leur utilisation des polymères à l'extérieur est confrontée à des défis, notamment leur dégradation sous l'effet des rayons ultraviolets (UV). Plusieurs approches pour ralentir cette dégradation existent. L'une des approches moderne consiste à intégrer le graphène à la structure des polymères [1].

L'ajout du graphène aux polymères permet d'améliorer une multitude propriété et leur confère des propriétés conductrices qui le rendent utile dans l'électronique[2]. Cependant, les UV peuvent potentiellement affecter la structure du graphène en raison de sa composition chimique[3]. Cette dégradation peut avoir un impact sur les propriétés qu'il confère et limite son utilisation dans l'électronique à l'extérieur.

Les dégradations sur la structure du graphène peut conduire à sa fonctionnalisation [4] et à l'apparition des défauts structurel. Notre étude s'intéresse donc à la nature de ce type de défaut pouvant être induit par les rayonnements UV.

2. Matériel et méthodes

Le graphène a été synthétisé par dépôt de vapeur chimique à partir de l'acétylène sur un substrat en cuivre. Un échantillon du graphène ainsi sur le substrat en cuivre a été exposée à un rayonnement UV pendant 72h.

Une couche de poly butyle méthacrylate (PBMA) a été déposée à la surface du graphène et le substrat de cuivre a été dissout à l'aide d'une solution de persulfate d'ammonium de 0,1 mol/L. Un échantillon du graphène sur le substrat en poly butyle méthacrylate a été exposée à un rayonnement UV pendant 72h.

Le graphène a été transféré sur un substrat en silicium à l'aide du en poly butyle méthacrylate qui a ensuite été dissout à l'aide d'une solution d'acétone. Un échantillon du graphène sur le substrat en silicium a été exposée à un rayonnement UV pendant 72h.

Des nanoparticules de graphènes obtenu dans le commerce ont été incorporer au poly butyle méthacrylate dans les proportions de 17% en masse. L'échantillon ainsi obtenue a été exposée à un rayonnement UV pendant 168h. Tous les échantillons ont été analysés à l'aide de la spectroscopie Raman. La nature des défauts a été estimé conformément à la relation entre l'intensité des pics D et G. Les conductivités à la surface des échantillons sur des substrat en polymère ont été mesurées.

3. Résultats et discussion

La figure 1 (a) montre la structure du graphène sur un substrat en cuivre déposé par dépôt de vapeur chimique (CVD). L'intensité du pic 2D montre que le graphène est multicouche et la faible intensité du pic D la faible densité de défauts. Ces défauts sont dû aux conditions de synthèses. Une augmentation de l'intensité du pic D et l'apparition du pic D' au bout de 72h indique une augmentation du nombre défauts. Le rapport des intensités D/D' indique qu'il s'agit de défauts d'empilement ($ID/ID' = 2,45 < 3,5$). L'augmentation du pic 2D montre une diminution du nombre de couche, ce qui confirme les résultats des travaux [3] qui ont observé une destruction d'une monocouche après une exposition d'une heure.

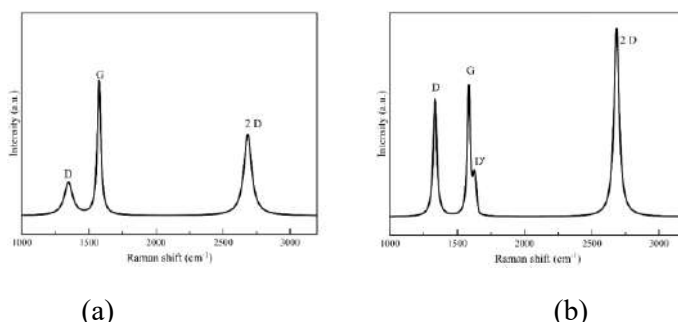


Figure 1: Spectres Raman du graphène sur un substrat en cuivre avant une exposition au rayonnement UV (a) et après une exposition au rayonnement UV pendant 72h (b)

La figure 2 (a) présente le spectre Raman du PBMA et la figure 2(b) sa dégradation au bout de 72 h d'exposition au rayonnement UV. Cette dégradation est observable par l'apparition d'un pic à 1647cm^{-1} . La figure 2(c) présente le spectre Raman du graphène à la surface du polymère. Compte tenu de l'intensité des pics du polymère l'étude de sa dégradation est problématique. Nous pouvons juste juger de sa présence par l'apparition d'un pic à 1583cm^{-1} . La figure 2(d) présente une dégradation similaire à celle de la figure 2(b) mais son intensité est diminuée. Cela s'explique par la présence du graphène à la surface du polymère.

Compte tenu de la difficulté à juger de la dégradation du graphène grâce à la spectroscopie Raman, la dégradation a été observée grâce à la conductivité à la surface. Avant l'exposition la conductivité à la surface était de $271\text{ K}\Omega/\square$ et est passée à $1,8\text{ M}\Omega/\square$ ce qui montre une certaine dégradation du graphène.

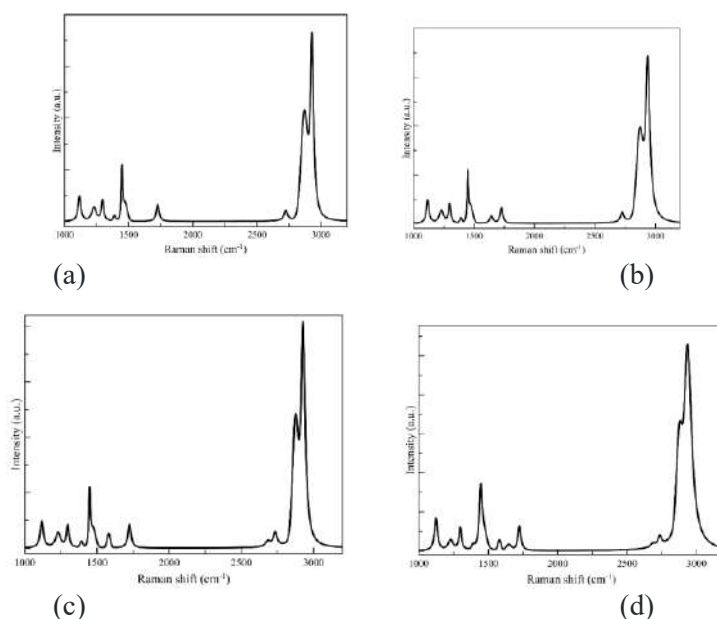


Figure 2: Spectres Raman PBMA avant une exposition au rayonnement UV (a) et après une exposition au rayonnement UV pendant 72h (b), Spectres Raman du graphène sur un substrat en PBMA avant une exposition au rayonnement UV (c) et après une exposition au rayonnement UV pendant 72h (d)

La figure 3(a) montre la structure des nanoparticules du graphène dans une matrice en PMBA. Dans ce cas précis les pics sont caractéristiques du graphène avec un nombre de couche élevé. Au bout de 168h aucun changement significatif n'a été observé sur la structure du graphène (figure 3b).

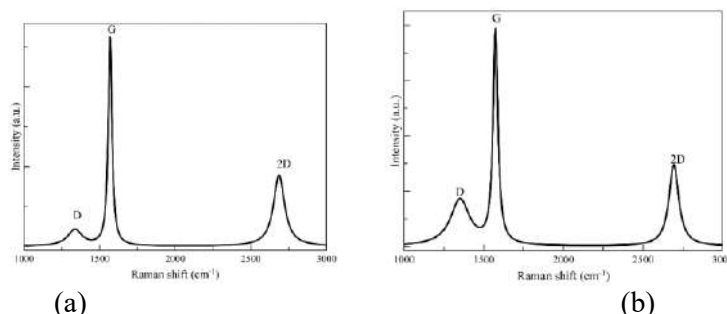


Figure 3: Spectres Raman du graphène dans une matrice en PBMA avant une exposition au rayonnement UV (a) et après une exposition au rayonnement UV pendant 168h (b)

Avant l'exposition la conductivité à la surface était de 237 $\Omega/\square$ et est passée à 341 $\Omega/\square$ ce qui montre une certaine dégradation du graphène

La figure 4(a) montre la structure du graphène sur un substrat en silicium après le transfert. Une augmentation de l'intensité du pic D et l'apparition du pic D' au bout de 72h indique une augmentation du nombre défauts. Le rapport des intensités D/D' indique qu'il s'agit de défauts du au passage des carbone sp² en carbone sp³ ($ID/ID'=23,59 > 17$). La diminution du pic 2D montre un transformation tendant vers la structure du graphite.

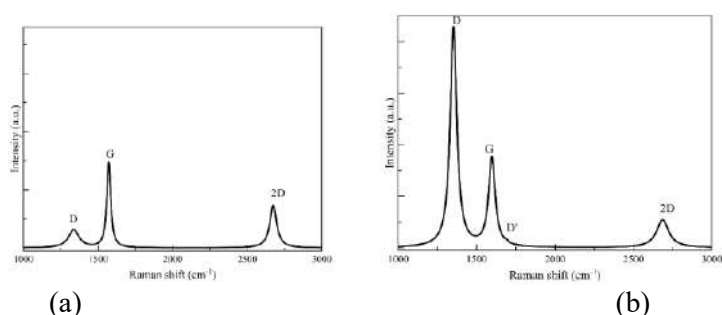


Figure 4: Spectres Raman du graphène sur un substrat en silicium avant une exposition au rayonnement UV (a) et après une exposition au rayonnement UV pendant 72h (b)

4. Conclusion

La dégradation du graphène dû à l'exposition aux UV dépend fortement de la nature du substrat et du nombre de couche. La dégradation du graphène multicouche et sur des substrats en polymère est limitée et permet son utilisation en extérieur. De plus l'ajout du graphène réduit la photo dégradation.

5. Bibliographie:

- [1] S. Karimi *et al.*, « A Review on Graphene's Light Stabilizing Effects for Reduced Photodegradation of Polymers », *Crystals*, vol. 11, n° 1, p. 3, déc. 2020, doi: 10.3390/cryst11010003.
- [2] Z. Wang *et al.*, « A Review of Graphene-Based Materials/Polymer Composite Aerogels », *Polymers*, vol. 15, n° 8, p. 1888, avr. 2023, doi: 10.3390/polym15081888.
- [3] A. V. Emelianov, D. Kireev, D. D. Levin, et I. I. Bobrinetskiy, « The effect of ultraviolet light on structural properties of exfoliated and CVD graphene », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 109, n° 17, p. 173101, oct. 2016, doi: 10.1063/1.4965975.
- [4] M. D. Bhatt, H. Kim, et G. Kim, « Various defects in graphene: a review », *RSC Adv.*, vol. 12, n° 33, p. 21520-21547, 2022, doi: 10.1039/D2RA01436J.

Apport des déchets minéraux (bouteilles en verre) dans la formulation d'une porcelaine

Joël Samba^{1*}, Youssouf Sawadogo¹, Moussa Ouedraogo^{1,2}, Moustapha Sawadogo¹, Brahim Sorgho¹, Mohamed Seynou¹, Philippe Blanchart³, Lamine Zerbo¹

¹Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux, équipe physico-chimie et Technologie des matériaux UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

²Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST), Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

³Institute of Research for Ceramic - IRCER, European Ceramic Centre (CEC), 87068 Limoges, France

Résumé : La multiplication des industries de transformation et de production conduit davantage à la prolifération des déchets non biodégradables. Les sachets plastiques et les bouteilles en verre non recyclés ont généralement des durées de vie très élevées constituant ainsi un danger pour notre environnement [1]. Les bouteilles en verre minéral possèdent cependant des propriétés de fondants et pourraient être réutilisées dans les céramiques. L'objectif de cette étude est d'incorporer de la poudre de verres minéraux comme fondant dans la fabrication des porcelaines. Ainsi, de l'argile kaolinique, du sable du Burkina Faso et de la poudre de verre ont été utilisés comme matières premières dans la formulation de matériaux porcelaniques. Six nuances de matériaux ont été formulées puis cuites à des températures allant de 1140°C à 1300°C avec un palier de 2 heures. Des caractéristiques physico-chimiques et minéralogiques des éprouvettes ont été évaluées puis comparées à celle des porcelaines industrielles [2]. Conformément aux données de la littérature [3], la nuance contenant 20% de poudre de verre (P20) cuite à 1220°C présente les meilleures caractéristiques : un retrait de 13% ; une perte de masse de 4% ; absorption d'eau de 0,2% ; une porosité de 0,4% et une densité 2,1.

Mots clés : déchets minéraux, environnement ; porcelaine ; valorisation.

Contribution of mineral waste (glass bottles) to porcelain formulation

Summary : The proliferation of processing and production industries is leading further to the proliferation of non-biodegradable waste. Non-recycled plastic bags and glass bottles generally have very long lifespans, thus posing a danger to our environment. Mineral glass bottles, however, have fondant properties and could be reused in ceramics. The objective of this study is to incorporate mineral glass powder as a flux in the manufacture of porcelains. Thus, kaolinitic clay, sand from Burkina Faso and glass powder have been used as raw materials in the formulation of porcelanic materials. Six (6) grades of material were formulated and then fired at temperatures ranging from 1140°C to 1300°C with a 2-hour step. The physico-chemical and mineralogical characteristics of the specimens were evaluated and then compared with those of industrial porcelain. According to data from the literature, the grade containing 20% glass powder (P20) baked at 1220°C has the best characteristics: a shrinkage of 13%; a 4% loss of mass; 0.2% water absorption; a porosity of 0.4% and a density of 2.1.

Keywords: mineral waste, environment; porcelain; valorization.

1. Introduction

Le développement des différents pays du monde passe impérativement par la sainteté de son environnement. Cependant, cet environnement est menacé avec la montée des industries qui produisent en quantité les objets de plusieurs ordres. Selon un rapport de la banque mondiale (2018), la production mondiale de déchets augmentera de 70% d'ici 2050 [4]. Sous l'effet de l'urbanisation rapide et de la croissance démographique, la quantité de déchets produits chaque année dans le monde devrait grimper à 3,4 milliards de tonne au cours des trois prochaines décennies, contre 2,01 milliards de tonne en 2016 [4]. Malheureusement dans les pays à faible revenu, une bonne partie de ces déchets ne sont pas recyclés soit plus de 93% [5]. Les déchets de verre font partie de cette masse qui se retrouvera dans les décharges à ciel ouverts. Avec une durée de vie estimée à environ 4000 ans [6], les déchets de verre constitueraient une grande menace environnementale pour l'humanité. Ce qui force la réflexion afin de trouver une solution générale à ces déchets.

Les matériaux céramiques notamment les porcelaines sont indispensables dans le quotidien de l'espèce humaine. Pour sa beauté, sa durabilité, et bien plus encore sa résistance aux taches, sa résistance aux chocs qu'elle soit thermique ou mécanique ; la porcelaine étend son utilisation dans plusieurs domaines. Les arts de la table (vaisselle) ; le sanitaire (prothèse dentaire) ; les porcelaines de laboratoire (lavabo) sont entre autres des domaines d'utilisation que l'on peut citer. Bien que ces matériaux soient utilisés en quantité, ils demeurent toujours importés dans un bon nombre de pays en voie de développement. Cela est lié à plusieurs faits. D'abord, la température de cuisson relativement élevée constitue une barrière compte tenu du problème énergétique que rencontre ces

différents pays. Ensuite la spécificité de matières premières que nécessite ce type de céramique rend encore plus complexe son élaboration dans ces pays. Dans l'optique de trouver une solution, des chercheurs se sont investis pour la cause. Notamment Y. Sawadogo et al. ont produits des porcelaines à températures relativement basses à partir de matières premières locales du Burkina Faso [2]. Martin et al. en 2017 dans un projet dénommé « sanister » ont pu réduire la température de cuisson des porcelaines de jusqu'à 1170°C en substituant le quartz et le feldspath industriel par un mélange de déchet de verre, des granites et des morceaux de céramique brisée cuite [3]. Les déchets de verre ont joué un rôle essentiel grâce à ses propriétés fondante qu'ils possèdent. De ce fait, le domaine de la porcelaine et de la céramique en générale pourrait être une orientation à la résolution du problème environnemental lié à ces déchets de verre. Le Burkina Faso comme la plupart des pays de la sous-région, n'est pas en marge de ces problèmes précités. L'objectif de ce travail est donc de valoriser les déchets minéraux (bouteille en verre) dans la fabrication des matériaux céramiques : cas de la porcelaine. Spécifiquement, il s'agira de collecter les déchets de verre, les caractériser puis formuler des éprouvettes en associant à ces verres de l'argile locale de caractéristiques connues. Les éprouvettes formulées et frittées seront caractérisées à partir de techniques physico-chimiques et minéralogiques.

1. Matières premières et méthodes expérimentales

1.1. Matières premières

Les deux matières premières argileuses sont référencées SA et PEG. Ces argiles utilisées comme matières premières de base dans ce travail proviennent respectivement de la région du Centre-Nord et du haut bassin du Burkina Faso de coordonnées géographiques 13,23° de Latitude Nord et 1,54° Longitude Ouest pour SA et 4°4' Longitude Ouest ; 11°7' Latitude Nord pour PEG. Le sable (SAB) utilisé comme dégraissant a été prélevé à borodougou dans la région des hauts bassins aux coordonnées géographiques 11°10' Latitude Nord, 4°17' Longitude Ouest. La poudre de verre (PV) qui possède à la fois des propriétés fondantes et dégraissantes est collectée dans la ville de Ouagadougou. Les matières premières argileuses et SAB ont déjà fait l'objet de caractérisation dans des travaux antérieurs [2,7]. Rappelons ici quelques résultats de leur caractérisation, notamment les caractéristiques chimique et minéralogique.

La composition chimique élémentaire de SA ; PEG et SAB sont consignées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1. : Composition chimique élémentaire de SA, PEG, PV en % massique.

Oxydes (%)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	CaO	K ₂ O	MgO	Na ₂ O	TiO ₂	Fe ₂ O ₃	PF*	Total
SAB	69,09	20,55	<LD	1,45	0,12	0,49	0,95	0,85	6,40	99,60
PEG	66,01	22,31	0,38	5,15	0,13	2,02	0,02	0,99	2,96	100,11
Sable	86,67	9,82	0,13	0,07	0,05	0,16	0,3	0,1	2,70	100
PV	74	1	5	-	4	15	-	-	-	99

La silice et l'alumine sont les oxydes majeurs dans les quatre échantillons. Le rapport massique SiO₂/Al₂O₃ de SA est d'environ 3,36. Cette valeur est supérieure à celle des kaolins purs qui est de 1,18 environ [8]. Ce rapport suggère la présence de silice libre et d'autres minéraux argileux. On note aussi des teneurs relativement élevées de K₂O et Na₂O dans PEG qui indiqueraient respectivement la présence de phase micacée (illite) et feldspathique. Ce qui expliquerait l'utilisation de PEG comme fondant dans des travaux de formulation des porcelaines. La poudre de verre (PV) présente une quantité importante en Na₂O, d'où sa capacité d'être utilisée comme substituant des fondants commerciaux ou naturel (PEG) dans la production des céramiques en générale et des porcelaines en particulier.

Le bilan minéralogique indique que SA est composé majoritairement de 45% de quartz (SiO₂), 40% de kaolinite (Al₂Si₂O₅(OH)₄), et 13% d'illite ((K,H₃O)Al₂Si₃AlO₁₀(OH)₂) [9].

La kaolinite et le quartz sont des minéraux couramment employés pour la production de matériaux silico-alumineux. La kaolinite limite le fluage étendu à température élevée et le quartz permet aux pièces crues d'avoir de bonnes tenues mécaniques tout en améliorant le séchage [10]. Il permet également de limiter le retrait lors du frittage et participe à une certaine température à la formation de la mullite [9]. Ces paramètres pourraient se voir améliorés à cause de l'utilisation de sable qui est constitué pratiquement de quartz uniquement.

Le diffractogramme de la poudre de verre indique qu'elle est constituée pratiquement de phase amorphe. Le spectre infrarouge (**figure 1**) de la poudre verre révèle des bandes de vibration attribuable à la liaison Si-O de la silice amorphe. Cette phase amorphe, en plus des éléments fondants révélés par les compositions chimiques accentueraient la quantité en fondant dans la poudre de verre.

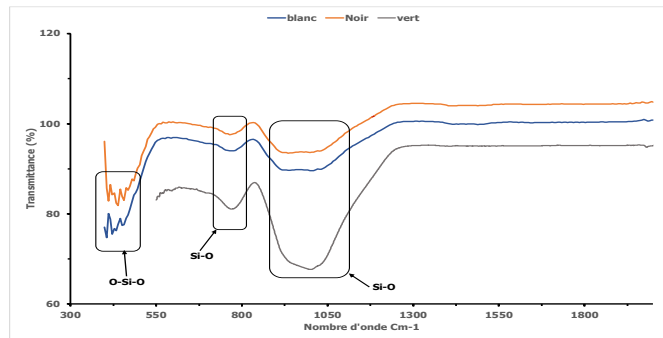


Figure 1. : Spectre infra-rouge de trois types de verre

1.1. Elaboration des éprouvettes

Dans les décharges, les bouteilles ont fait l'objet de tries puis lavées et concassées avant d'être broyées. Les matières argileuses également ont été concassées puis broyées. Le sable utilisé est un sable fin donc l'étape du concassage a été écartée. Chaque matière première est broyée à l'aide d'un tourne jarre à une granulométrie inférieure ou égale à 100µm. Les nuances ont été formulés selon le **tableau 2**.

Tableau 2 : composition du mélange des différentes nuances formulées

Nuances (%)	P ₀	P ₅	P ₁₀	P ₁₅	P ₂₀	P ₂₅
SA	50	50	50	50	50	50
SAB	25	25	25	25	25	25
PEG	25	20	15	10	5	0
PV	0	5	10	15	20	25
Eau	50					

1.2. Techniques de caractérisation physico-chimique

Les propriétés physico-chimiques qui feront l'objet d'études dans ce travail sont entre autres le retrait linéaire, la perte de masse, l'absorption d'eau, la porosité et la densité. Au cours de la cuisson, les matières premières argileuses se rétrécissent où se dilatent et cela est dû aux changements structuraux et chimiques que subissent les différentes phases minérales. L'essai consiste à évaluer les changements dimensionnels d'une éprouvette à la fin de sa cuisson à une température donnée à l'aide d'un pied à coulisse avant et après cuisson. Le retrait à la cuisson est calculé par la formule donnée par l'**équation 1**.

Ces propriétés sont évaluées respectivement selon les relations suivantes [2]

$$R(\%) = \frac{L_v - L_c}{L_v} \times 100 \quad \text{Equation 1.}$$

Avec R le retrait mesuré, L_v la longueur mesurée après séchage à une température de 105°C donnée et L_c la longueur de l'éprouvette après cuisson

$$PF(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad \text{Equation 2.}$$

m_1 : la masse de l'échantillon séché à 105 °C avant cuisson, m_2 : la masse de l'échantillon après cuisson. $E(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m_2} \times 100$ **Equation 3.**

$$n = \frac{V_v}{V_t} \times 100 \quad \text{Equation 4.}$$

V_v est le volume des vides et V_t le volume total. Le volume total est directement mesuré et le volume des vides est calculé selon $V_v = V_t - V_s$ avec V_s le volume solide :

$$V_s = \frac{M_t}{\rho_s(1 + W)} \quad \text{Equation 5.}$$

Où M_t est la masse totale, ρ_s est la densité des particules solides et w la teneur en eau.

$(s+p)$ est la masse de l'échantillon enrobé de paraffine dans l'eau, m_{s+p} est la masse de l'échantillon enrobé de paraffine dans l'air, ρ_p la masse volumique de la paraffine (880 kg. m⁻³), m_s la masse de l'échantillon.

3. Résultats et Discussion

3.1. Retrait linéaire et perte de masse

Les résultats du retrait linéaire sont observables sur le diagramme de la **figure 4**. Le témoin, ainsi que les autres formulations présentent des retraits inférieurs à 15%. Ces retraits sont généralement compris entre 1,25% et 14,5% en fonction de la teneur en poudre de verre et de la température. Le retrait linéaire croît de façon générale avec la température et également avec la teneur en poudre de verre.

Sur la **figure 5** les résultats de la perte de masse des différentes éprouvettes en fonction de la température et de la teneur en poudre de verre sont exprimés. La référence P_0 élaborée (la porcelaine industrielle) présente une perte de masse de 4,25% à la température de 1300°C conformément à la littérature. La perte de masse croît avec la température pour des faibles teneurs en poudre de verre. A partir de 10% de poudre de verre l'évolution de la perte devient descendante à partir de 1220°C. Cependant, on observe une légère décroissance généralisée de cette perte sur toutes les éprouvettes avec l'augmentation de la teneur en poudre de verre.

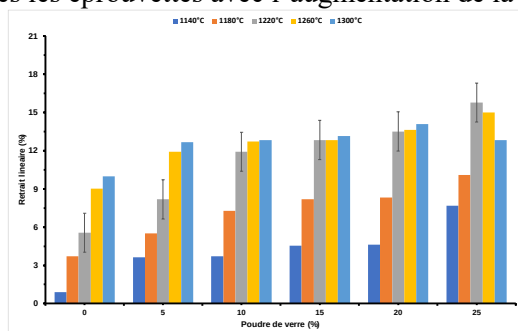


Figure 4 : Evolution du retrait en fonction de la température et la teneur en poudre de verre

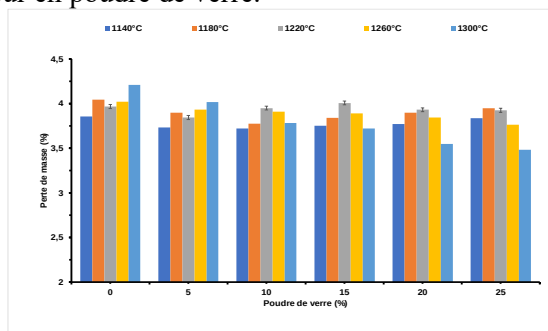


Figure 5 : Evolution de la perte de masse en fonction de la température et la teneur en poudre de verre

3.1. Absorption d'eau des éprouvettes

La **figure 6** présente l'évolution de l'absorption d'eau en fonction de la température et de la teneur en poudre de verre. L'absorption d'eau permet d'avoir une idée sur la porosité ouverte (accessible à l'eau). En effet, Une diminution du volume des pores ouverts entraîne une diminution de la quantité d'eau que le matériau peut absorber. A partir de 20% de poudre de verre, les éprouvettes cuites à des températures supérieure ou égale à 1220°C présentent des absorptions inférieures à 0,5% (valeur requise selon la littérature pour les porcelaines standards).

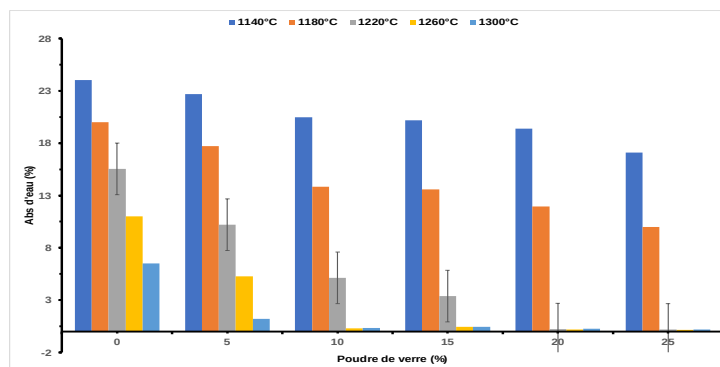


Figure 6. : Evolution de la perte de masse en fonction de la température et la teneur en poudre de verre

3.1. Densité et porosité

L'évolution de la densité et de la porosité des éprouvettes en fonction des teneurs en PV sont présentées respectivement sur les **figures 7 et 8**. Nous constatons à partir de l'évolution des courbes que la densité des éprouvettes croît lorsque le pourcentage de PV augmente tandis que la courbe de porosité décroît lorsque le pourcentage en PV augmente et cela est constaté pour toutes les températures. A 1220°C, Les densités obtenues pour 20% et 25% de PV sont relativement grande qui sont respectivement 2,25 et 2,2. A ces mêmes teneurs (20% et 25%), la porosité décroît respectivement de 25 à 0,3% et de 23 à 0,1%.

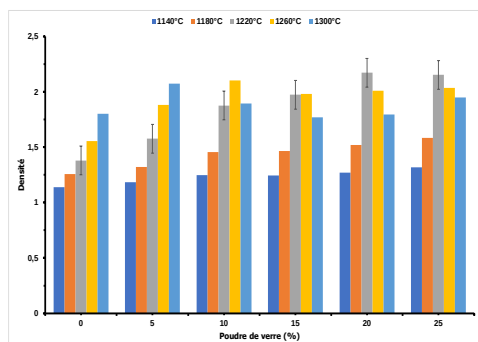


Figure 7 : Evolution de la densité en fonction de la température et la teneur en poudre de verre

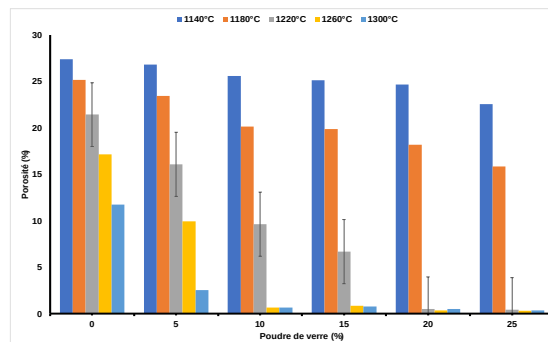


Figure 8 : Evolution de la porosité en fonction de la température et la teneur en poudre de verre.

La composition chimique de PV contient des éléments fondants tels que Na ; Ca; et K sous forme d'oxyde et principalement de l'oxyde de sodium. De par leurs propriétés de fondant, ils donnent à la poudre de verre une qualité de fondant dans les différentes formulations. La composition chimique et le diffractogramme de PV qui ont révélées respectivement la présence en majorité de la silice et de phase amorphe confirmeraient que la silice est une silice amorphe et donc également une phase fondante. Ces oxydes affectent donc les paramètres de frittage ; c'est à dire le taux de densification, le point d'eutectique et le taux de cristallisation. Parmi les matières argileuses utilisées, SA est constitué de phase kaolinite, quartz et illite. L'échantillon SA est riche en alumine et donc donnerait une propriété réfractaire aux matériaux. La silice libérée par le quartz sous forme libre ou liée jouerait le rôle de dégraissant assurant ainsi la résistance du matériau a la formulation.

A partir de 20% de poudre de verre, les éprouvettes cuites à des températures supérieure ou égale à 1220°C présentent des absorptions inférieures à 0,5% (valeur requise par la littérature pour les porcelaines). La baisse drastique de l'absorption d'eau et de la porosité serait la conséquence de la fusion de la poudre de verre. Cette fusion produit une phase liquide qui se vitrifie par la suite. Cette vitrification réduit le rétrécissement (en accord avec les résultats du retrait linéaire) et la porosité du matériau. Une augmentation de la poudre de verre entraine davantage une grande formation de la phase liquide. Cela est également valable pour une augmentation de la température ; en effet, en plus de la poudre de verre, la phase argileuse subit également cette transformation augmentant davantage la phase liquide et donc par ricoché diminue la porosité et l'absorption d'eau.

Bien avant l'utilisation de la poudre de verre (P_0), la densité croie avec la température. À des températures de cuisson des porcelaine industrielles ($T \geq 1260^\circ\text{C}$) ; précisément 1260°C et 1300°C, les densités sont respectivement 1,8 et 2,1. La plage de la valeur requise dans la littérature étant (2,2-2,5) ; ces matériaux sont très proches et donc relativement conformes. Cette croissance est dû à l'élimination de la porosité ouverte au fur et à mesure du chauffage. Cette élimination de la porosité s'explique par la formation de phases liquides lors du frittage au-dessus de 1050 °C, favorisant le processus de densification. Ces phases bouchent les pores interconnectés et rendent de plus en plus dense le matériau. A partir de 1220 °C les densités sont de plus en plus élevées allant de 1,4 à 1,8. A 1300 °C, la porosité est sensiblement égale à zéro et la densité apparente du matériau est d'environ 1,8 et donc valable pour une porcelaine. Au cours du frittage jusqu'à 1260 °C, les échantillons présentent une cristallisation et une densification. La densification est due à la formation du flux visqueux à partir des éléments fondants des matières premières.

L'ajout de la poudre de verre entraine également une croissance de la densité. Elle augmente de façon rapide avec la température et la teneur de la poudre de verre. La densité de l'éprouvette cuite à 1220°C passe de 1,6 pour 5% de poudre de verre à 2,2 pour 20% de poudre de verre. Ces résultats montrent l'impact majeur de la poudre de verre sur l'évolution de la densité. Cela pourrait s'expliquer par la production du flux visqueux en grande quantité par la poudre de verre et à des températures relativement basses. Ce flux vient occuper les pores et les vides entre les particules. Ce résultat est donc en accord avec ceux de la porosité et l'absorption d'eau.

3. Conclusion

Au regard des résultats obtenue, la poudre de verre contribue favorablement à l'élaboration de céramiques en porcelaine avec les matières premières du Burkina Faso à des températures relativement faibles. En effet, la nuance P₂₀ (20% de poudre de verre) cuite à 1220°C présente un retrait de 13% ; une perte de masse de 4% ; absorption d'eau de 0,2% ; une porosité de 0,4% et une densité 2,1. Toutes ces valeurs sont conformes à la littérature. Bien que d'autres tests soient attendu pour une confirmation, cette nuance pourrait servir à la formulation des porcelaines.

Reference bibliographique

- [1] V. Porto; A. de Araújo; M. Cavalcanti; C. Morais *Mater. Sci. Forum* 2014, 775–776, 619–624.
- [2] Y. Sawadogo, L. Zebro, M. Sawadogo, M. Seynou, M. Gomina *Results in Materials* 2020.
- [3] Sanitser : An Innovative sanitaryware body, formulated with waste glass and recycled materials. *Ceramica* 2017.
- [4] What a waste 2.0 2018,.
- [5] *futurea-sciences.com*, 2018.
- [6] *conservation-nature.fr*, 2020.
- [7] M. Sawadogo Formulation de briques réfractaires à partir d'argiles locales du Burkina Faso, Joseph KI-ZERBO, 2017.
- [8] Y. Sawadogo Formulation, élaboration et caractérisation de porcelaine à base de matières premières minérales du Burkina Faso, Joseph KI-ZERBO, 2020.
- [9] M. Sawadogo, I. Sanou, Y. Dah, B. Traoré, Y. Sawadogo, D. Samaké, C. Dembelé, L. Zerbo, M. Seynou *Société Ouest-Africaine de Chimie* 2021, 50–56.
- [10] M. Sawadogo, M. Seynou, L. Zerbo, B. Sorgho, A. Yameogo, Y. Millogo, R. Ouedraogo *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 2016, 1–10.

Les transitions de monocristal à monocristal : canaux ioniques avec les éthers couronnes et les trihalogénures alcalins.

Cyrille Dagri Assouma¹, Aurelien Crochet², Yvens Chérémond², Berned Giese², Katharina M. Fromm²

¹ UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire

² Département de Chimie, Université de Fribourg, Fribourg, Suisse.

Auteur de correspondance : cyrille.dagri@yahoo.fr

Résumé :

Le flux des ions à travers les membranes cellulaires est régulé par des protéines membranaires complexes appelées canaux ioniques. En raison de leur implication dans plusieurs maladies et de leurs utilisations potentielles dans les biocapteurs [1], Ces protéines ont fait l'objet d'une attention considérable. Nous montrons maintenant la génération de systèmes de canaux unidimensionnels (1D) basés sur des ligands d'éther couronne qui effectuent le transport de cations alcalins par analogie avec les canaux ioniques en biologie [1] et les canaux organiques synthétiques dans les membranes [2–5]. Le composé **1a** " $[K_4(DB [18]C6)_8(H_2O)_8(I_3)_4]_n$ " (Figure 1) a été obtenu à partir de la réaction de KI_3 avec le dibenzo- [18] -couronne-6 (DB [18]C6) et sa structure cristalline a été étudiée par DRX. Il cristallise sous forme d'aiguilles rouge-brun foncées dans le groupe d'espace monoclinique $P2$ ($n^\circ 3$) avec deux molécules par unité cellulaire. Dans ce composé **1a**, le ligand macrocyclique DB [18]C6 s'arrange à construire trois canaux dans lesquels des molécules d'eau ou des ions potassium sont empilés sur des polymères linéaires. Les contre ions I_3^- , forment également des chaînes et remplissent les espaces entre les empilements parallèles des éthers couronnes. Des composés **1b** et **1c**, iso-structuraux au composé **1a**, aussi cristallisés dans le groupe d'espace $P2$, ont également été respectivement obtenus à partir des ions hétérotrihalogénures Br_2I^- et BrI_2^- . Le composé **1a** possède des propriétés conductrices intéressantes et servent aussi de canal de l'eau et/ou de potassium.

L'énergie d'activation durant le transport des cations a été déterminée.

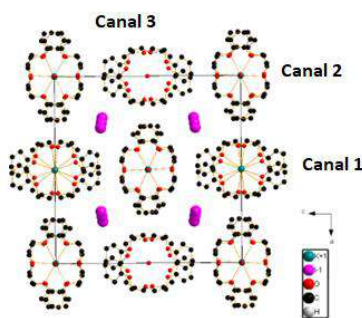


Figure1 Vue de l'unité cellulaire du composé **1a**, au travers des canaux le long de l'axe b.

Mots clés : monocristal ; canaux ioniques ; éthers couronnes ; DRX ; aiguilles rouge-brun foncées.

Single crystal to single crystal transitions: Ionic Channels with crown ethers and alkali trihalides

Abstract:

The flow of ion across cell membranes is regulated by complex membranes proteins coined ion channels. Because of their involvement in several diseases and their potential uses in biosensors [1], these proteins have attracted considerable attention. we now show the generation of one-dimensional (1D) channel systems based on crown ether ligands which perform alkali cation transport in analogy to ion channels in biology [1] and synthetic organic channels in membranes [2–5]. Compound **1a** " $[K_4(DB [18]C6)_8(H_2O)_8(I_3)_4]_n$ " (Figure 1) was obtained from the reaction of KI_3 with dibenzo- [18]-crown-6 (DB [18]C6) and its crystal structure was investigated by XRD analysis. It crystallizes as dark red-brown needles in the monoclinic space group $P2$ (no.3) with two molecules per unit cell. In this compound **1a**, the macro cyclic ligand DB [18]C6 arranges to build three channels in which either water molecules or potassium ions are stacked to linear polymers. The counter ions I_3^- , also form chains and fill in the spaces left between the parallel stacks of crow ethers. Compounds isostructural to **1a** which also crystallized in the space group $P2$, **1b** and **1c**, were also obtained with the heterotrihalide ions Br_2I^- and BrI_2^- , respectively. Compound **1a** has interesting conductive properties and serves as a channel for water and/or potassium. The activation energy during cation transport was determined.

Keywords : Single crystal ; Ionic channels ; crown ethers ; XRD ; dark red-brown needs, activation energy

Figure 1. View of the unit cell of compound **1a**, onto the channels along the b-axis.

1. Introduction

Les réactions dans les monocristaux d'assemblages supramoléculaires sont le plus souvent associées à la rupture des cristaux en matériaux polycristallins ou amorphe [1]. Les rares exemples dans lesquels la monocristallinité est maintenue en composés supramoléculaires pendant la réaction sont basés sur la sorption et la désorption des molécules impliquées dans des charpentes ou composés métal -organiques (CMOs)[2] tridimensionnels (3D) ou dans les processus de photodimérisation des polymères de coordination [3]. Les réactions d'échange d'ions, telles que rapportées, par exemple, pour les zéolithes [4] et les polycristallins COFs [2] souvent incomplets sont déterminés par des méthodes telles que la spectroscopie d'absorption atomique et la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie [5]. Alors que les COFs (3D) sont comparés aux zéolithes [4], une génération de systèmes de canaux unidimensionnels (1D) sont basés sur des ligands d'éther couronne qui effectuent le transport des cations alcalins par analogie avec les canaux ioniques en biologie [6] et les canaux organiques synthétiques dans les membranes [7]. Des complexes d'éther couronne avec des ions de métaux alcalins ont été décrits [7]. Cependant le nombre de composés dans lesquels ce type de ligand s'assemble en empilements (1D) est extrêmement limité [8]. Dans la présente étude, nous avons utilisé des anions trihalogénures de type X_3 , X_2Y et XY_2 avec ($X=I$, $Y=Br$) comme piliers structurels, qui induisent l'empilement de molécules de dibenzo [18] couronne-6 (DB[18]C6).

2. Matériel et Méthodes

2.2.1 Matériel

2.2.2 Réactifs et solvants

Dibenzo- [18]-crown-6 (DB [18]C6) est un ligand polyéther cyclique avec deux groupes phényles opposées l'une à l'autre (schéma 1). Sa structure n'est pas plane et les plans moyens des groupes phényles forment un angle de 150°. Cela a été confirmé par les calculs théoriques pour être une conformation stable de ce ligand [9].

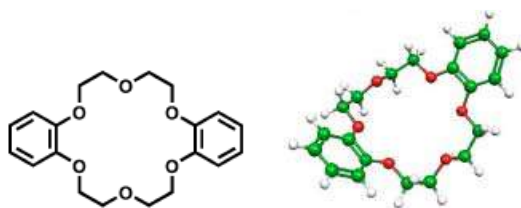


Schéma1 : Schéma et représentation de DB18C6.

Les réactifs, le (DB [18]C6), le di-iode (I_2), di-brome (Br_2), l'iodure de potassium (KI), Bromure de potassium (KBr) ont été achetés chez ACROS et directement utilisés sans autre purification. Le tetrahydrofurane (THF) est un produit issu de VWR utilisé sans purification. L'eau utilisée comme solvant provient d'un déminéralisateur.

2.2.3 Appareillage

Les analyses ont été réalisées au laboratoire de chimie à l'Université de Fribourg en suisse.

Les spectres IR ont été collectés avec Shimadzu FTIR-8400S équipé d'un Système de porte doré RTA (réflexion totale atténuée). Les fréquences sont données en cm^{-1} . Les abréviations utilisées sont : s (fort), m (moyen) et w (faible).

Les analyses RMN-1H ont été réalisées avec un spectromètre Bruker Advance 360 MHz, à 298 K. Les analyses RMN-13C ont été effectuées avec un spectromètre Bruker Advance 500 MHz, à 298 K. Les déformations chimiques sont données en ppm par rapport à CDCl_3 comme étalon interne ou au DMSO. Les abréviations utilisées sont : s (singulet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet).

Données cristallographiques :

Les intensités de réflexion ont été réalisées par un diffractomètre STOE IPDS II avec un rayonnement monochromatique de graphite $\text{Mo K}\alpha$, $\lambda = 71073 \text{ \AA}$. Les structures des monocristaux ont été résolues par les méthodes directes et affinées par la matrice complète des moindres carrés sur F^2 avec SHELX-99.

2.2.4 Protocole expérimental

0,133 g (0,37 mmol) de dibenzo-18-couronne-6 ont été dissouts dans 20 mL de THF dans un bécher. On y ajoute 20 mL d'une solution aqueuse de $(\text{KI} + \text{I}_2)$ de concentration 0,01 M. Le bécher est ensuite fermé avec du parafilm et l'ensemble est exposé à la température de la salle pendant plusieurs jours. Après évaporation du solvant, des cristaux de composé **1a** en forme d'aiguilles de couleur brun foncé ont été isolés et utilisés pour les analyses. Le rendement est d'environ 90% par rapport à l'iode.

Dans les mêmes conditions expérimentales, avec le dibenzo-18-couronne-6 et des solutions aqueuses de $(\text{KI} + \text{Br}_2)$ et $(\text{KBr} + \text{I}_2)$ des cristaux respectifs de composés **1b** et **1c** en forme d'aiguilles de couleur brun foncé ont été aussi isolés.

3. Résultats et discussion

3.1 Analyse du composé 1a

Les analyses de RMN et de l'IR du composé **1a** donnent les résultats suivants :

RMN-1H : (CDCl_3 , 360 MHz) : δ (ppm) 6.94 (ArH), 6.89 (ArH), 4.98 (nH_2O), 4.16 (md, CH_2), 1.54 (H_2O).

IR cm^{-1} : 3649 (s), 2900(vs), 2724 (m), 2669 (m), 1592 (m), 1455 (s), 1376 (s), 1254 (m), 1217 (m), 1127 (m), 1069(sh), 951 (sh), 722 (m)

Les résultats des analyses de RMN et de l'IR des composés **1b** et **1c** sont quasiment identiques à celles de **1a**.

Ces différents résultats traduisent la présence de l'eau, des groupements aromatiques et de méthyls dans ces différents composés.

3.2 Structure des composés 1

La structure d'un composé monocristallin est obtenue en exploitant les points d'impact après la diffraction du rayon X sur ce composé.

Ainsi, le composé **1a**, de formule chimique $[\text{K}_4(\text{DB}[18]\text{C}6)_8(\text{H}_2\text{O})_8(\text{I}_3)_4]_n$, cristallise dans le système monoclinique *P*2 avec les paramètres de la maille : $a = 21.9132(9) \text{ \AA}$, $b = 9.3473(3) \text{ \AA}$, $c = 21.9139(9) \text{ \AA}$, $\beta = 90.067(2)^\circ$, $V = 4488.6(3) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, $R1(\%) = 6.43$. Avec V le volume de la maille et Z le nombre de molécules par unité cellulaire. La figure 3.1 représente l'unité cellulaire du composé **1a**.

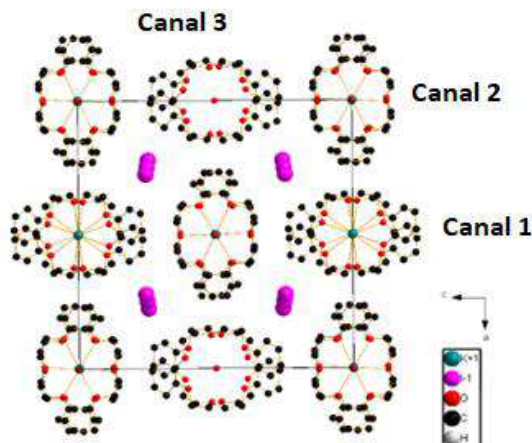


Figure 3.1 Vue de l'unité cellulaire du composé **1a**, au travers des canaux selon l'axe b.

Le ligand macrocyclique DB [18]C6 s'arrange à former trois canaux dans lesquels des molécules d'eau ou des ions potassium sont empilés sur des polymères linéaires. Les contre ions I_3^- , forment également des chaînes et remplissent les espaces entre les empilements parallèles des éthers couronnes (figure 3.1). Dans la figure 3.2, sont présentés les trois canaux ioniques C1, C2 et C3 des trois composés **1a**, **1b** et **1c** directement synthétisés. Les canaux de type C1 (figure 3.2) sont remplis de molécules d'eau et des ions K^+ linéairement disposés et alternés, ces derniers étant placés dans la cavité du ligand de l'éther couronne. Dans les canaux de type C2, chaque seconde molécule d'éther couronne reste vide, tandis que la première est remplie d'un ion K^+ , auquel deux molécules d'eau sont coordonnées en position axiale. Un troisième type de canal, C3, contient des unités vides de DB[18]C6 avec des molécules d'eau entre les deux (Figure 3.2, à gauche). Dans l'unité cellulaire, l'orientation des groupes phényles des ligands DB[18]C6 est opposée dans les deux canaux de type C2. Des empilements antiparallèles, tanto « vers le haut » tanto « vers le bas », sont également observées pour les canaux C1 et C3. Les molécules d'éther couronne des canaux C2 sont parfaitement empilées par rapport aux groupes phényles, tandis que dans les canaux C1 et C3, les cycles aromatiques sont décalés d'environ 20° . Les composés **1b** de formule chimique $[K_4(DB[18]C6)_8(H_2O)_8(BrI_2)_4]_n$ de contre ions BrI_2^- , et **1c** de formule chimique $[K_4(DB[18]C6)_8(H_2O)_8(BrI_2)_4]_n$ de contre ion BrI_2^- , iso-structurales au composé **1a** cristallisent aussi dans le système monoclinique *P2*.

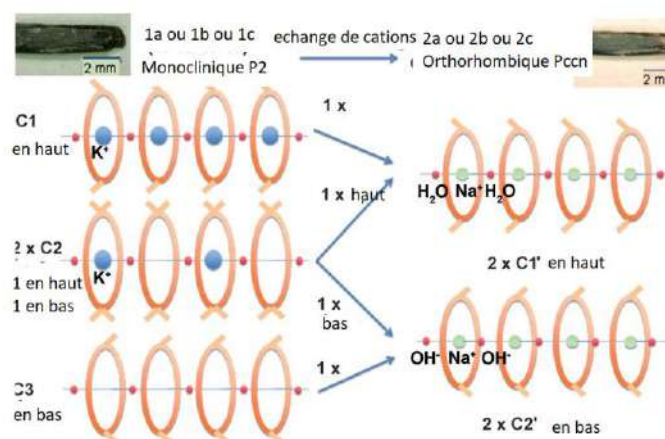


Figure 3.2 Vue schématique des trois canaux des composés **1a** (**1b**, **1c**) avec indication de l'orientation des groupes phényles (gauche), avec les différentes transformations en composés **2a** (**2b**, **2c**) (droite)

Dans ces trois composés, les ions tri-halogénures sont tous quasiment linéaires mais légèrement décalés de 12° par rapport à l'axe b de sorte que l'interaction entre le troisième halogénure d'un anion peut former une liaison halogène avec le premier atome du tri-halogénure suivant [10].

3.3 Transformation du monocrystal 1 au monocrystal 2

Des monocristaux des composés **1a**, **1b** et **1c** de dimensions 0,37 cm x 0,1 cm x 0,1 cm sont plongés dans une solution de NaOH de concentration 1M durant 24h. L'apparence physique de ces composés restent inchangée. Soigneusement lavés et remesurés par diffraction des rayons X, ces composés cristallisent dans le système orthorhombique *Pccn* avec presque tous les paramètres non modifiés de l'unité cellulaire. Ceci est possible car l'angle β des **composés 1** est très proche des 90° requis pour un système orthorhombique, permettant une transition en douceur monocrystal à monocrystal. Les nouveaux composés **2** obtenus ont pour formules chimiques $[\text{Na}_2(\text{DB}[18]\text{C}_6)_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})\text{I}_3]_n$ (**2a**), $[\text{Na}_2(\text{DB}[18]\text{C}_6)_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})\text{Br}_2\text{I}]_n$ (**2b**), $[\text{Na}_2(\text{DB}[18]\text{C}_6)_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})\text{BrI}_2]_n$ (**2c**) (figure 3.2) [11]. Les structures ces composés **2** contiennent deux canaux à différents remplissages, à savoir une chaîne alternée de molécules d'eau et d'ions Na^+ en C1', et une chaîne alternée d'ions HO^- et Na^+ en C2', comme le corroborent les longueurs de liaison suivantes : en C2' : Na1-O7 2.17(2)Å, Na1-O7' 2.51(2) Å ; en C1' : Na2-O8 2.37(2) Å, Na2-O8' 2.31(2) Å. Les deux types de canaux sont antiparallèles l'un à l'autre. Il est donc probable que les canaux C1 et C2 parallèles à C1 des composé 1 produisent les deux canaux de type C1' dans les composés **2**, tandis que C3 et les canaux C2 parallèles à C3 donnent les canaux C2' (figure 3.2).

3.4 Etude cinétique de transports des ions sodium

Dans tous les composés **1**, des ellipsoïdes thermiques allongés pour les cations et les molécules d'eau le long de la direction du canal indiquent des mobilités possibles des ions et de l'eau. Nous avons mesuré les vitesses de réaction et les énergies d'activation du processus d'échange d'ions des composés **1a**, **1b**, **1c**

2a, **2b**, **2c**. Le dispositif expérimental pour l'étude cinétique des d'échange d'ions de la réaction de **1** $\longrightarrow$ **2** dans nos matériaux monocristallins est présenté par la figure 3.3. Le transport des cations Na^+ du compartiment (a) au compartiment (b) a été étudié à deux températures, 296 K et 323 K, sur environ 7 h par des mesures de conductivité à l'aide du conductimètre (c). De plus, les concentrations des ions Na^+ dans le compartiment (b) sont déterminées par spectrométrie à émission optique plasma à couplage inductif (ICP-OES).

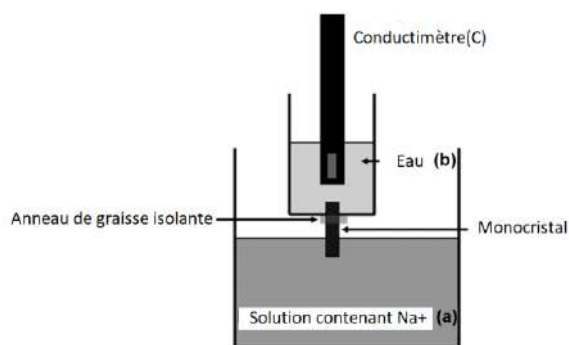


Figure 3.3 Dispositif utilisé pour mesurer la conductivité des ions Na^+

Après analyse, le transport des ions monovalents dans les monocristaux **1** est considéré comme une cinétique pseudo-d'ordre zéro car la concentration d'ions sodium dans le compartiment (a) est extrêmement élevée, tandis que celle dans le compartiment (b) n'augmente que jusqu'à une valeur relativement faible (figure 3.3).

Les monocristaux ne se sont pas dissouts ; leur forme et leur taille sont restés intactes pendant les mesures de transport. La détermination des constantes de vitesse k à deux températures (k_1 et k_2) a permis de calculer l'énergie

d'activation E_a par la loi d'Arrhenius [Équation (1)], où R est la constante de gaz, E_a est l'énergie d'activation nécessaire au transport des ions, ou A est une constante.

$$k = e^{\frac{-E_a}{RT}} \text{ Ou } \ln k = \frac{-E_a}{RT} + \ln A \quad (1)$$

La figure 3.4 représente l'évolution de la concentration en ions sodium dans le compartiment (b) aux températures de 296 K et 323 K du composé **1b**. La conductivité augmente linéairement avec le temps, ce qui est en accord avec la loi cinétique d'ordre zéro.

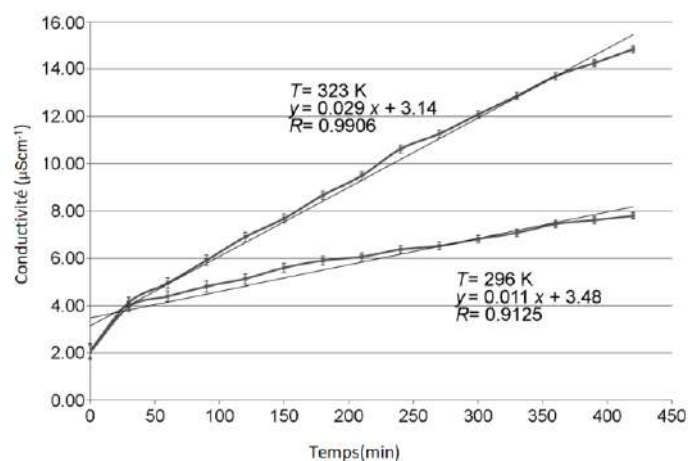


Figure 3.4 : Mesure de la conductivité des ions Na^+ dans le monocristal **1b** à 296 K et 323 K

La conductivité ionique à 323 K croît plus vite que celle de 296 K. À partir de la représentation graphique de la conductivité en fonction du temps, les constantes de vitesse ($k_1 = 1,8 \pm 0,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à 296 K et ($k_2 = 4,8 \pm 0,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à 323 K ont été déterminées pour le composé **1b**. Cela conduit à un rapport k_2/k_1 de $2,6 \pm 0,4$. Pour le composé **1a**, la valeur du rapport k_2/k_1 est de $2,4 \pm 0,9$. La valeur de l'énergie d'activation est de $(27 \pm 0,9) \text{ kJ mol}^{-1}$. La valeur de l'enthalpie d'activation est légèrement supérieure à celle des matériaux conducteurs supramoléculaires ($10\text{-}24 \text{ kJ mol}^{-1}$) [12]. Ceci traduit que le rapide transport des ions sodium à travers le monocristal du composé **1** est en accord avec les faibles constantes de complexation de Na^+ ($\log K = 1,16$) et de K^+ ($\log K = 1,67$) [13] pour les monomères DB[18]C6 dans l'eau utilisée comme solvant. Nous interprétons les échanges d'ions de la réaction 1 → 2 comme un processus de glissement/saut des ions à travers les canaux des monocristaux avec une barrière de faible énergie entre les sites cationiques individuels à l'intérieur des canaux du réseau cristallin. Il est intéressant de noter que le transport des ions Na^+ à travers les canaux de K^+ du monocristal des composés **1** est beaucoup plus rapide que le transport des ions K^+ à travers les canaux de Na^+ du monocristal des composés **2**. Cela peut s'expliquer par le fait que dans les composés **1**, trois types de canaux différents sont présents dans l'unité cellulaire, dont l'un ne contient pas de cations et qui peut, dans la première étape, lier les ions sodium du côté où le monocristal est immergé dans le NaOH.

4. conclusion

Les ions trihalogénures sont utilisés comme piliers structuraux pour assembler trois canaux supramoléculaires des composés monocristallins **1** basés sur le DB[18]C6 et remplis différemment de molécules d'eau et des ions K^+ . Ces monocristaux de type **1** contenant des ions K^+ ont un sous-réseau robuste d'empilements d'éther-couronne pour l'échange de Na^+ . Immergés dans une solution d'hydroxyde de sodium les composés **1** subissent une transformation de leurs structures cristallines. Des monocristaux de types **2** sont ainsi formés avec deux canaux ioniques. Une chaîne alternée de molécules d'eau et d'ions Na^+ en $\text{C1}'$, et une chaîne alternée d'ions HO^- et Na^+ en $\text{C2}'$. Des expériences cinétiques à différentes températures montrent que ces cristaux supramoléculaires sont d'excellentes conductrices d'ions. En perspectives, ces matériaux pourraient être utilisés comme tamis moléculaires, dans les catalyses électrochimiques et dans le traitement des eaux usées.

5. Bibliographie

- [1] a) G. J. Halder, C. J. Kepert, *Aust. J. Chem.* 2006, 59, 597 – 604 ; b) S. Takahashi, H. Miura, H. Kasai, S. Okada, H. Oikawa, H. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 10944 – 10945.
- [2] a) H. J. Park, D.-W. Lim, W. S. Yang, T.-R. Oh, M. P. Suh, *Chem. Eur. J.* 2011, 17, 7251 – 7260 ; b) M.-S. Chen, M. Chen, S. Takamizawa, T. Okamura, J. Fan, W.-Y. Sun, *Chem. Commun.* 2011, 47, 3787 – 3789 ; c) T. Jacobs, J.-A. Gertenbach, D. Das, L. J. Barbour, *Aust. J. Chem.* 2010, 63, 573 – 577 ; d) S. M. Mobin, A. K. Srivastava, P. Mathur, G. K. Lahiri, *Dalton Trans.* 2010, 39, 1447 – 1449.
- [3] a) D. Liu, Z.-G. Ren, H.-X. Li, J.-P. Lang, N.-Y. Li, B. F. Abrahams, *Angew. Chem.* 2010, 122, 4877 – 4880 ; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 4767 – 4770 ; b) Q. Chu, D. C. Swenson, L. R. MacGillivray, *Angew. Chem.* 2005, 117, 3635 – 3638 ; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 3569 – 3572 ; c) J. B. Benedict, P. Coppens, *J. Phys. Chem. A* 2009, 113, 3116 – 3120.
- [4] G. Ferey in *From Zeolites to Porous MOF Materials* (Eds: R. Xu, Z. Gao, J. Chen, W. Yan), Elsevier, Amsterdam, 2007, 66 – 84.
- [5] a) W.-G. Lu, L. Jiang, X.-L. Feng, T.-B. Lu, *Inorg. Chem.* 2009, 48, 6997 – 6999 ; b) J. An, N. L. Rosi, *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 5578 – 5579 ; c) G. Calleja, J. A. Botas, M. Sanchez-Sanchez, M. G. Orcajo, *Int. J. Hydrogen Energy* 2010, 35, 9916 – 9923 ; d) S. Liu, J. Li, F. Luo, *Inorg. Chem. Commun.* 2010, 13, 870 – 872.
- [6] a) “Biological Membrane Ion Channels -Dynamics, Structure and Applications” : *Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering* (Eds.: S.-H. Chung, O. S. Anderson, V. V. Krishnamurthy), Springer, Berlin, 2007, DOI: 10.1007/0-387-68919-2.
- [7] b) J. K.W. Chui, T. M. Fyles, *Chem. Soc. Rev.* 2012, 41, 148 – 175 ; c) S. Matile, A. Vargas Jentzsch, J. Montenegro, A. Fin, *Chem. Soc. Rev.* 2011, 40, 2453 – 2474 ; d) G. W. Gokel, N. Berkey, *New J. Chem.* 2009, 33, 947 – 963 ; e) P.-L. Boudreaault, N. Voyer, *Org. Biomol. Chem.* 2007, 5, 1459 – 1465.
- [8] a) R. D. Bergougnant, K. M. Fromm, *Solid State Sci.* 2007, 9, 580 – 587, and references therein; b) K. M. Fromm, E. D. Gueneau, H. Goesmann, C. G. Bochet, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 2003, 629, 597 – 600 ; c) R. D. Bergougnant, A. Y. Robin, K. M. Fromm, *Cryst. Growth Des.* 2005, 36, 4548 – 4550
- [9] M. Dułak, R. Bergougnant, K. M. Fromm, H. R. Hagemann, A. Y. Robin, and T. A. Wesolowski, *Spectrochim. Acta A*, (2006), 64 A (2), 532-548.
- [10] P. Metrangolo, G. Resnati, *Chem. Eur. J.* 2001, 7, 2511 – 2519.
- [11] a) R. P. Townsend in *Introduction to Zeolite Science and Practice* (Eds.: H. van Bekkum, E. M. Flanigen, J. C. Jansen), Elsevier, Amsterdam, 1991, pp. 359 – 391; b) R. M. Barrer, R. F. Bartholomew, L. V. C. Rees, *J. Phys. Chem. Solids* 1963, 24, 51 – 62 ; c) M. Barrer, L. V. C. Rees, *J. Phys. Chem. Solids* 1964, 25, 1035 – 1038 ; d) S. C. Duffy, L. V. C. Rees, *J. Chromatogr.* 1974, 102, 149 – 153
- [12] a) T. Okura, M. Saimaru, H. Monma, K. Yamasita, *Solid State Ionics* 2009, 180, 537 – 540; b) A. L. Despotuli, A. V. Andreeva, B. Rambabu, *Ionics* 2005, 11, 306 – 314.
- [13] R. M. Izatt, J. S. Bradshaw, S. A. Nielsen, J. D. Lamb, J. J. Christensen, D. Sen, *Chem. Rev.* 1985, 85, 271 – 339.

Potentialités pouzzolaniques de la poudre de verre et de la silice fine du quartz

Saada Zoungana¹, Issiaka Sanou¹, Moussa Ouedraogo¹, Halidou Bamogo¹, Mohamed Seynou², Younoussa Millogo¹

¹ Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Unité de recherche en Physico-Chimie et Technologie des Matériaux (UFR/SEA), Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

² Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux (LC2M), équipe de physico-chimie et de Technologie des matériaux UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

Résumé : L'objectif de ce présent travail est d'étudier les potentialités pouzzolaniques de la poudre de verre et de la silice fine du quartz. Pour ce faire, le verre et la silice du quartz ont été finement broyés à 45 µm puis caractérisés par diverses techniques (XRF, DRX et IR). A la suite de la caractérisation, leur activité pouzzolanique a été évaluée à travers les tests de Frattini, de la saturation à la chaux et l'indice d'activité déterminé après 28 jours de cure. Les résultats de la caractérisation ont montré que le verre est constitué essentiellement de silice amorphe alors que le quartz est formé de silice bien cristallisée. Les résultats des tests de pouzzolanité attribuent de bonnes performances pouzzolaniques à la poudre de verre qui fixe plus de 90% de chaux en solution et développe un indice pouzzolanique de 93%. La poudre de quartz par contre n'a guère d'aptitude pouzzolanique à l'issue du test de Frattini. Elle fixe moins de 60% de chaux en solution et délivre un indice pouzzolanique de moins de 75%. La nature amorphe du verre explique son activité accrue. De ce fait, le verre usé finement broyé est une pouzzolane utilisable comme supplément du ciment.

Mots clés : poudre de verre, quartz, activité pouzzolanique et indice d'activité

Pozzolan potential of glass powder and fine quartz silica

Abstract: The aim of the present work is to investigate the pozzolanic potential of glass powder and fine quartz silica. To this end, glass and quartz silica were finely ground to 45 µm and then characterized by various techniques (XRF, XRD and IR). Following characterization, their pozzolanic activity was assessed using Frattini tests, lime saturation and the activity index determined after 28 days curing. The results of the characterization showed that glass consists essentially of amorphous silica, whereas quartz consists of well-crystallized silica. Pozzolanicity test results attributed good pozzolanic performance to glass powder, which fixed over 90% of lime in solution and developed a pozzolanic index of 93%. Quartz powder, on the other hand, shows little pozzolanic aptitude in the Frattini test. It binds less than 60% lime in solution and delivers a pozzolanic index of less than 75%. The amorphous nature of glass explains its increased activity. As a result, finely ground waste glass is a pozzolan that can be used as a cement supplement.

Keywords: Glass powder, quartz, pozzolanic activity and activity index

1. Introduction

La question du réchauffement climatique liée aux émissions de gaz à effets de serre constitue un défi majeur pour l'ensemble des habitants de la planète. Les activités humaines rejettent en effet entre 20 à 25 milliards de tonne de CO₂ par an [1]. La production du ciment, un matériau nécessaire et de grandes consommations y contribue à près de 7 %. Cela du fait que le processus émet environ 900 kg de CO₂ et consomme 4,9 GJ d'énergie pour chaque tonne de ciment produite [2,3]. Également, les produits cimentaires sont sujets à des problèmes de durabilité et cela est dû aux expansions délétères causées par les réactions alcali-silice, leurs perméabilités aux ions chlorures et les attaques aux sulfates [3]. Au Burkina Faso, à ces défis s'ajoutent les honoraires liés aux importations, aux transports, la cherté de l'énergie ainsi que la pollution due aux poussières. L'emploi des pouzzolanes comme le métakaolin et la poudre de verre en supplément au ciment constitue une alternative avantageuse car disponible localement et moins énergivore. En effet les pouzzolanes sont des matériaux capables de fixer la portlandite des matrices cimentaires en présence d'eau pour donner de nouveaux minéraux liants tels que les silicates et aluminates de calcium hydraté (CSH, CAH) ce qui augmente la durabilité et la résistance des produits formés [4,5]. Par ailleurs, l'efficacité d'une pouzzolane dépend de sa réactivité. C'est ainsi ce présent travail vise à évaluer les potentialités pouzzolaniques de silice fine du quartz et de la poudre de verre.

2. Matières premières, méthodes et procédure expérimentale

2.1. Les matières premières

Deux matières de base feront l'objet de cette étude : le sable et le verre usé.

Le sable est débarrassé des débris végétaux et autres particules non quartzeuses par lavage successif jusqu'à obtenir un surnageant limpide. Après séchage, le sable a été finement broyé dans un broyeur électrique à boulet. La poudre obtenue a une finesse (refus au tamis 45 µm) moyenne de 4 %.

La poudre de verre est obtenue selon le même procédé que la poudre de silice. Le verre usé étant récolté dans les décharges (figure 1).

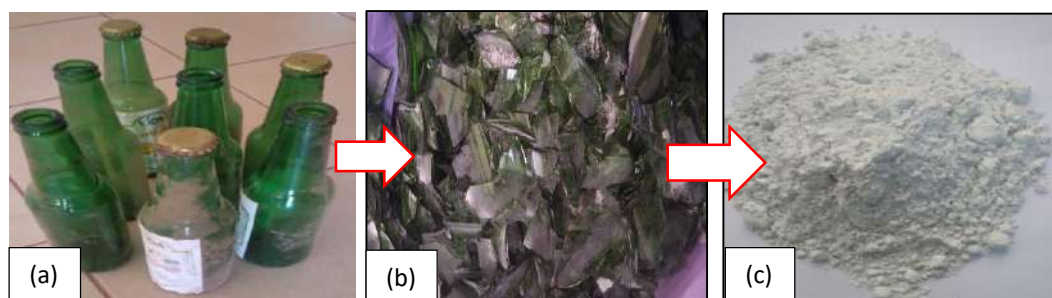


Figure 19:Obtention de la poudre de verre : (a) verres usés ; (b) morceaux de verre après lavage et (c) la poudre de verre résultant du broyage

2.2 Techniques de caractérisation.

La composition chimique a été déterminée à l'aide d'un fluorimètre x à dispersion d'énergie (EDXRF) de type **x-supreme8000** doté d'une anticathode en Ag et un générateur de rayons x qui fonctionne dans une plage de tension de 4000 à 50 000 Kv. La composition minéralogique a été analysée par diffraction des rayons X (XRD). L'échantillon a été placé dans un porte-échantillon en aluminium et l'analyse a été effectuée avec un diffractomètre RIGAKU équipé d'une anticathode en cuivre et d'un rayonnement Cu-Ka ($\lambda=1,54059 \text{ \AA}$). Les spectres infrarouges à transformée de Fourier (FTIR) ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre **Agilent** qui analyse dans la région spectrale de $500-4000 \text{ cm}^{-1}$.

2.3. Test de pouzzolanité

2.3.1. Test de saturation à la chaux

Le test de la saturation à la chaux consiste à mettre en contact 1g du matériau avec 75ml des solutions de chaux saturées pendant 1, 3, 7 et 28 jours. Ensuite, la teneur de chaux contenue dans chaque filtrat est dosée par fluorescence X à dispersion d'énergie (EDXRF) de type **x-supreme8000**. Pour se faire, le filtrat est légèrement acidifié pour prévenir la formation de précipité avant l'analyse. La solution est mise dans un portoir et retenue par un film plastique transparent aux rayons X. Le mode opératoire est décrit par la figure 2. L'intensité du rayonnement X fluorescé par les cations calcium permet de donner sa teneur dans la solution à partir de la courbe étalon préétablie (**figure 3**).

Le taux de fixation de chaux constitue le rapport entre la quantité d'oxyde de calcium fixée par la pouzzolane et celle disponible dans la solution de chaux saturée. Le test de saturation donne également des indications sur la cinétique de réaction pouzzolanique.

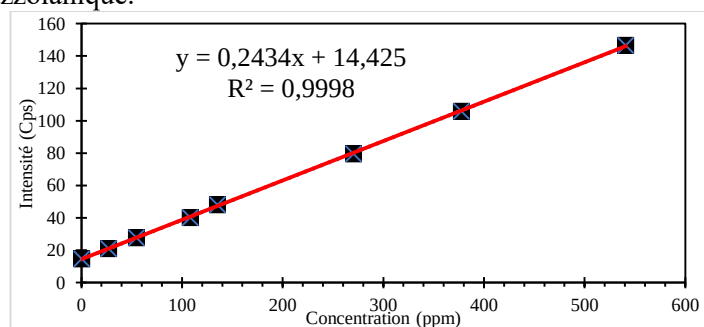


Figure 20: Courbe étalon : titrage de Ca^{2+} par XRF

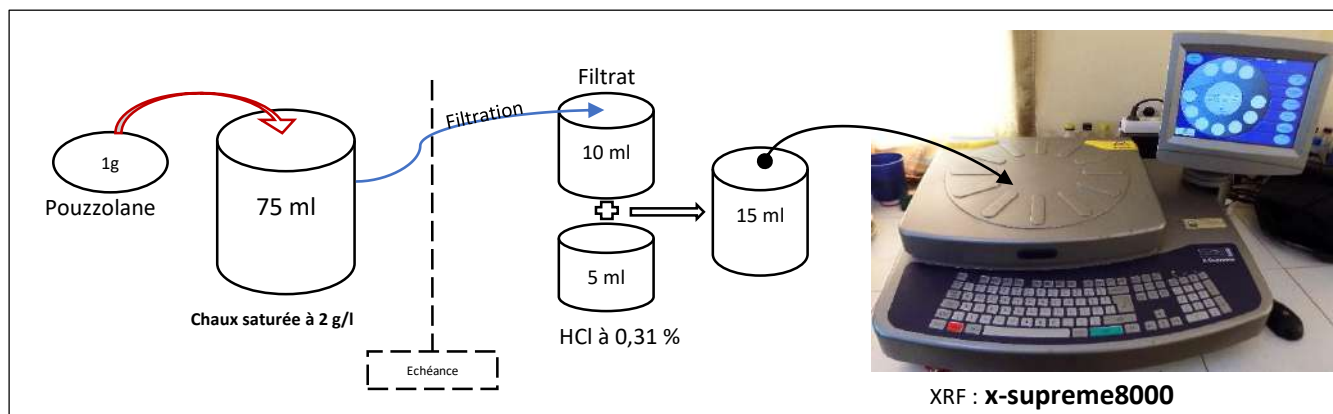


Figure 21: Mode opératoire du test de saturation à la chaux.

2.3.2. Essai de Frattini

Ce test consiste à préparer un mélange contenant 20% de matériau test, 80% de ciment et 100 ml d'eau distillée. Ce mélange est conservé à 40 °C pendant 8 jours. A l'échéance, la solution est filtrée puis les teneurs en ions Ca^{2+} et OH^- sont déterminées. Ces données exprimées en mmol.L^{-1} constituent les coordonnées du matériau dans un repère bidimensionnel ayant en abscisse la $[\text{OH}^-]$ et en ordonnée la $[\text{CaO}]$. L'emplacement du point du matériau test par rapport à la courbe de solubilité de portlandite permet de qualifier celui-ci de pouzzolane ou non. En effet, lorsque ces coordonnées le place en dessous de la courbe de solubilité de la portlandite, le matériau est déclaré pouzzolane. Mais s'il se positionne au-dessus de cette courbe, le matériau est reconnu non pouzzolane[5].

2.3.3. Essais mécaniques : indice pouzzolanique

L'expression de l'indice d'activité, notée « Ip », est donnée par la **relation 1** suivante [6] :

$$I_p (\%) = \frac{R}{R_{\text{réf}}} \times 100$$

Relation 1

Avec, R la résistance mécanique en compression de l'éprouvette test contenant de la pouzzolane en remplacement du ciment. $R_{\text{réf}}$ est la résistance mécanique à la compression du mortier ne contenant que du ciment.

Les essais de compression sont effectués conformément à la norme NF EN 196-5 [7] sur des éprouvettes prismatiques $4 \times 4 \times 16 \text{ cm}^3$ standards formulées suivant la norme NF-P- 15-403 [8]. La **figure 4** présente les étapes clés du test mécanique.

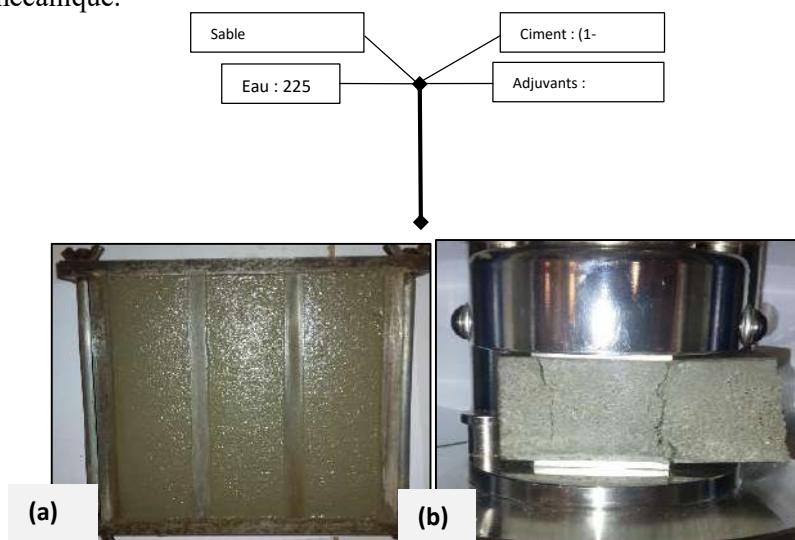


Figure 22: Test mécaniques : (a) formulation (moulage) ; (b) essais mécaniques à la compression

3. Résultats et discussions

3.1. Caractérisation des matières premières

3.1.1. Analyse chimique par XRF

L'analyse chimique par XRF des pouzzolanes (**tableau 1**) indique que la poudre de verre est principalement composée de silice (80,35 %), d'oxyde de calcium (12,43 %) et d'oxyde de sodium (3,58 %). D'autres oxydes sont présents en plus petites quantités. En outre, la composante réactive équivalente ($\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_2\text{O}_3 = 81$) dépasse le seuil de 70 % considéré par la norme comme la limite minimale pour une activité pouzzolanique du matériau [9].

Tableau 5: composition chimique des échantillons

	Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	Total
Poudre de verre	(%)	76,77	1,17	0,48	1,65	11,15	10,28	0,40	101,9

3.1.2. La diffraction des rayons X

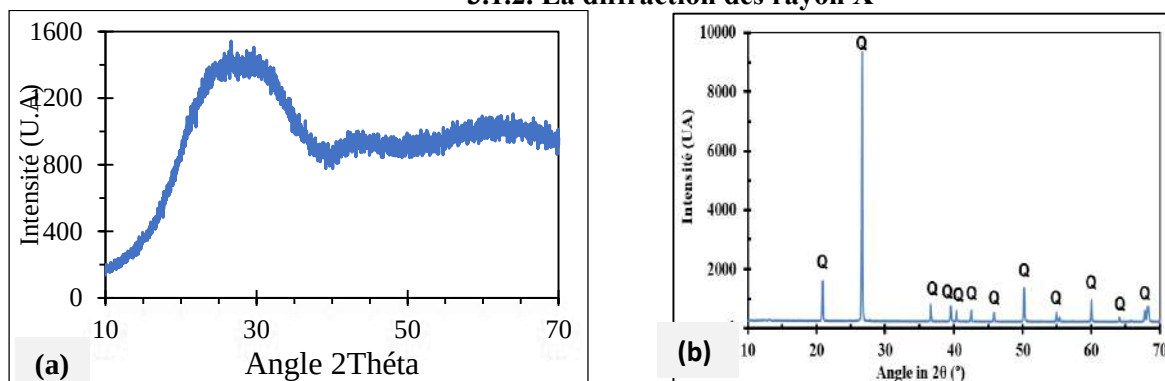


Figure 23 : Diffractogramme : (a) poudre de verre, (b) silice fine du quartz

Le **figure 5a** illustre le diffractogramme de la poudre de verre. Notamment, aucune cristallisation n'a été observée dans ce diagramme, ce qui indique une structure typiquement amorphe de la poudre de verre. En outre, un large pic entre 20° et 35° , caractéristique d'un verre silicaté à structure amorphe [10], a été observé. Cependant, le diffractogramme de la silice fine du quartz (**figure 5b**) montre des pics bien résolus attribué au quartz (Q). Ainsi, la silice fine du qartz est cristalline.

3.1.3. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

L'analyse de la poudre de verre par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est illustrée par la **figure 6**. Les principales bandes de transmittance de la poudre de verre sont observées à 767, 962 cm^{-1} . En effet, le pic intense à 962 cm^{-1} indique la présence de groupes Si-O-Si et l'étirement Si-O de Si-OH. Le pic à 767 cm^{-1} est associé à l'étirement symétrique Si-O de SiO_2 [9,11]. Le spectre FTIR de la poudre de verre confirme la présence des principales les bandes vibratoires caractéristiques du SiO_2 amorphe [9]. Le spectre de la silice fine du quartz présente des bandes de vibration à 693, 775, 793, 1054 et 1063 cm^{-1} . Ces bandes de vibration correspondent à celles du quartz [12]. Ainsi le sable est constitué principalement de silice cristalline (quartz).

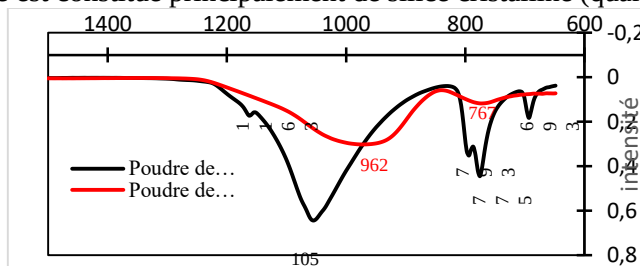


Figure 24: Spectres infrarouges de la poudre de verre et la silice fine du quartz

3.2. Activité pouzzolanique

3.2.1. Essai de Frattini

Les résultats sont illustrés dans la **figure 7**. Il apparaît clair que la poudre de verre est une pouzzolane contrairement à la silice fine du quartz qui, comme la référence (100% ciment) se situent au-dessus de la courbe de solubilité de la portlandite n'ont guère d'aptitude pouzzolanique.

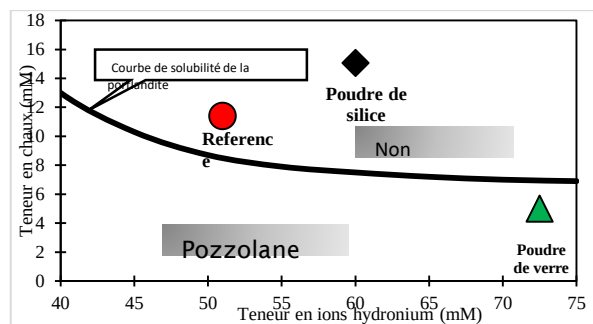


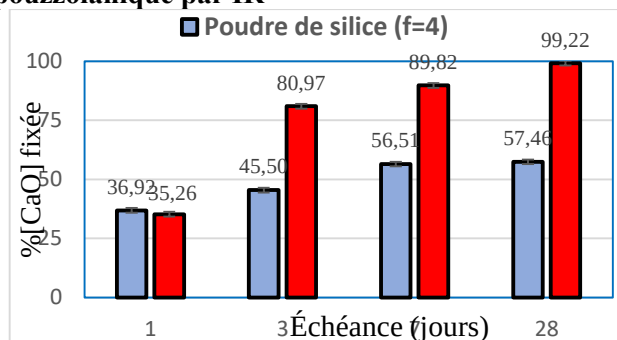
Figure 25: Illustration des résultats du test de Frattini

3.2.2. Test de saturation à la chaux

Les résultats obtenus sont illustrés par la **figure 8**. Notamment, le premier jour du test la poudre de verre fixe 35,26 % contre 36,92% de taux fixation pour la poudre de silice. Ensuite on note une augmentation rapide de chaux fixée par la poudre de verre. Ce taux dépasse 80 % à 3 jours d'échéance et la quasi-totalité de la chaux en solution est fixée après 28 jours de mise en contact. Cela démontre un grand pouvoir de fixation de chaux par la poudre de verre et présage d'une réaction pouzzolanique prononcée. Cependant, le taux de fixation de la poudre de silice augmente faiblement. Elle fixe moins de 60% de chaux libre après 28 jours de test. Il s'ensuit donc que la silice cristalline bien que fine réagit faiblement avec la chaux.

Figure 26: résultats du test de saturation à la chaux

3.2.3. Suivre de la réaction pouzzolanique par IR



Afin de mieux cerner la réactivité pouzzolanique, les spectres IR des résidus du test de saturation à la chaux ont été enregistrés (**figure 9**). Ces spectres ont été superposés à ceux de l'échantillon brute et de la portlandite dans le but de mettre en évidence les phénomènes nouveaux. Cela a permis d'observer un fort rétrécissement de la large bande de silice amorphe à 962 cm^{-1} et la quasi-disparition de la bande de vibration à 767 cm^{-1} (**figure 9a**). Cela témoigne d'une consommation de la poudre de verre au profit de la réaction pouzzolanique.

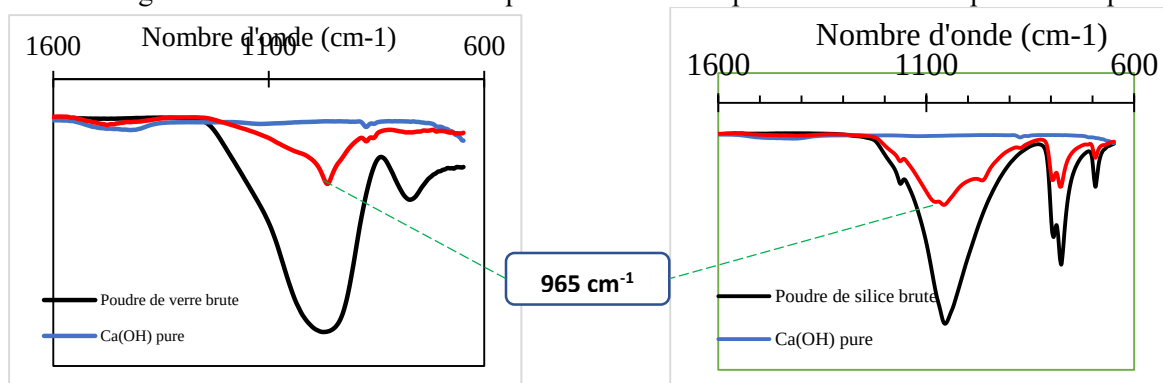


Figure 27: Les spectre infrarouge des résidus de test de saturation à la chaux superposé à ceux des matériaux bruts : (a) poudre de quartz, (b) poudre de verre.

Sur le spectre des résidus la poudre de silice quartzreuse (**figure 9b**), apparaît une nouvelle bande de vibration qui témoigne d'une réaction chaux- silice donnant naissance à de nouvelles liaisons. Cette bande de vibration observable à 962 cm^{-1} peut être attribuer aux silicates de calcium hydratés (CSH) [13]. Ainsi, il semble que la

poudre fine de quartz est capable d'une réaction pouzzolanique. En effet, *Alexander* a observé que les matières siliceuses telles que le quartz deviennent réactives lorsqu'elles sont finement broyées[14]. Lors du broyage prolongé, une couche perturbée réactive se forme à la surface des particules minérale [15].

3.2.4. Indice pouzzolanique.

Les résultats de l'indice pouzzolanique (I_p) sont illustrés par la **figure 10**.

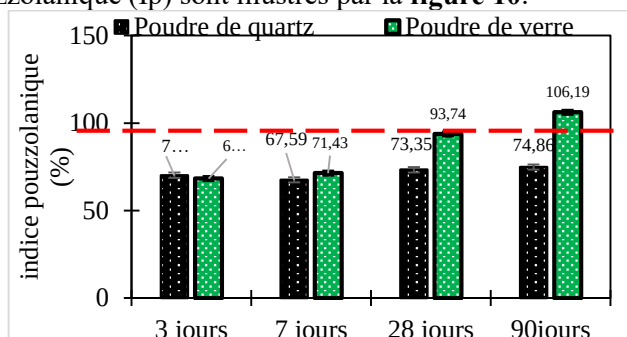


Figure 28: Indice pouzzolanique des échantillons

A trois jours de cure, la poudre de quartz accélère l'hydratation du ciment ce qui conduit un I_p de 70,2% dépassant celui de poudre de verre de 2%. Par la suite on observe une baisse de l'Indice pouzzolanique qui sera dû à l'effet de dilution du quartz et certainement à la très faible réactivité pouzzolanique de la silice fine de quartz. La poudre de verre quant à elle développe un indice pouzzolanique qui augmente continuellement au cours du temps. Ce fait peut être attribué à l'effet conjugué des réactions pouzzolaniques et de l'effet filler des particules de verre. De par la réaction pouzzolanique, la silice amorphe du verre réagit avec la portlandite produite lors de l'hydratation du ciment pour donner de nouveau CSH qui apporte de la résistance. L'effet filler est le remplissage des vides laissés par l'agencement des grains de sable. Cela densifie et rend compacte le mortier. Les mortiers contenant de la poudre de verre ont développé un indice d'activité de 93,74% à 28 jours d'âge. Ainsi, selon la norme ASTM C-618, le verre finement broyé peut servir de pouzzolane dans la construction car il présente un indice pouzzolanique supérieur à la valeur minimale de 75% fixée par la norme[16].

3.2.5. Optimisation du dosage en poudre de verre et poudre de silice

L'optimisation à consister à formuler des mortiers contenant 5 à 30% d'additif avec un pas de variation de 5%. Le suivi de l'évolution de l'indice pouzzolanique à 28 jours (**figure 11**) en fonction de la teneur de l'ajout a permis de repérer les teneurs optimales des ajouts.

Ainsi, la poudre de verre semble développer un effet optimal à une teneur de 15% en masse du ciment dans la formulation. Pour la poudre de quartz, à 10% son effet semble meilleur.

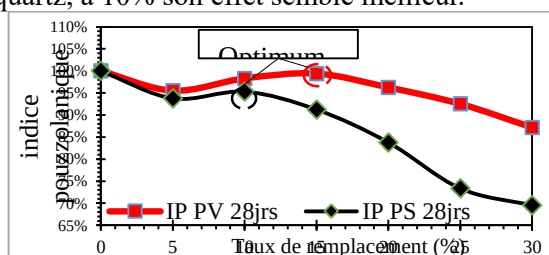


Figure 29: Evolution de l'indice pouzzolanique en fonction du taux de remplacement

4. Conclusion

Ce travail a consisté à évaluer les potentialités pouzzolaniques de la poudre de verre et de la silice fine du quartz à dessin de leur emploi dans la construction en remplacement partiel au ciment conventionnel. A cette fin, du verres usés et du sable ont été pulvérisés puis caractérisés et leurs activités pouzzolaniques ont été étudiées. La caractérisation chimique et minéralogique a montré que la poudre de verre se constitue principalement de la silice amorphe alors que la silice fine du quartz est cristalline. Les tests de pouzzolanité attribuent de bonne performance pouzzolanique à la poudre de verre contrairement à la poudre de quartz. La nature amorphe de la silice du verre confère à la poudre de verre une activité pouzzolanique intéressante pour la construction selon les normes en vigueur. L'optimisation a permis de repérer une teneur optimale de 15 % de la poudre verre dans le

ciment. A titre de perspective, il sera pertinent de suivre l'expansion du ciment mélangé à la poudre de verre du fait des risques de réaction alcali-silice à cause de la forte teneur de celle-ci en alcalins réactifs.

Références bibliographiques

- [1] Claude Grasland. Essai de Représentation Cartographique Des Émissions de Gaz Carbonique Dans Le Monde Vers 1995 - Problèmes Cartographiques et Enjeux Politiques. Réalités Industrielles. Annales Des Mines, 2001, Fev., Pp.79-87. <halshs-00000818>.
- [2] Seynou, M.; Millogo, Y.; Zerbo, L.; Sanou, I.; Ganon, F.; Ouedraogo, R.; Kaboré, K. Production and Characterization of Pozzolan with Raw Clay from Burkina Faso. *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* **2016**, 04 (03), 195–209. <https://doi.org/10.4236/jmmce.2016.43018>.
- [3] Millogo, Y. Etude Géotechnique, Chimique et Minéralogique de Matières Premières Argileuse et Latéritique Du Burkina Faso Améliorées Aux Liants Hydrauliques: Application Au Génie Civil (Bâtiment et Route). *Univ. Ouagadougou Th Doct Chim. Minérale* **2008**, 142.
- [4] Chakchouk, A.; Trifi, L.; Samet, B.; Bouaziz, S. Formulation of Blended Cement: Effect of Process Variables on Clay Pozzolan Activity. *Constr. Build. Mater.* **2009**, 23 (3), 1365–1373. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2008.07.015>.
- [5] Sanou I. :« Influence Du Mélange Ciment-Pouzzolane Sur Quelques Propriétés Physiques et Mécaniques Des Adobes » ; Thèse de Doctorat de l'Université Ouaga I Pr Joseph KI ZERBO (2017).
- [6] Bouamrane, A.; ELOuazzani, D. C.; Barna, L. T.; Mansouri, K. Valorization of paper mill sludge as a partial replacement of Portland cement in mortar: the impact of incineration conditions on the strength of mortars. *J Mater Env. Sci* 5 2 2014 605-614 10.
- [7] AFNOR (Association Française de Normalisation): Norme NF EN 196-5(Méthodes d'essais Des Ciments – Partie 5 : Essai de Pouzzolanité Des Ciments Pouzzolaniques), 1987.
- [8] NF P15-403 : “Sable Normal et Mortier Normal” AFNOR-Paris (1996);
- [9] Kameche, Z. el-Abidine; Djelil, M.; Dahmani, B. Effects of Incorporating Silica Glass Powder as a Supplementary Cementitious Material on Selected Properties of Portland Cement Mortar. *J. Build. Eng.* **2023**, 78, 107550. <https://doi.org/10.1016/j.jobte.2023.107550>.
- [10] Chen, J.; Zeng, L.; Chen, X.; Liao, T.; Zheng, J. Preparation and Characterization of Bioactive Glass Tablets and Evaluation of Bioactivity and Cytotoxicity in Vitro. *Bioact. Mater.* **2018**, 3 (3), 315–321. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.11.004>.
- [11] Ming, N. C.; Putra Jaya, R.; Awang, H.; Siaw Ing, N. L.; Mohd Hasan, M. R.; Al-Saffar, Z. H. Performance of Glass Powder as Bitumen Modifier in Hot Mix Asphalt. *Phys. Chem. Earth Parts ABC* **2022**, 128, 103263. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2022.103263>.
- [12] Vahur, S.; Teearu, A.; Peets, P.; Joosu, L.; Leito, I. ATR-FT-IR Spectral Collection of Conservation Materials in the Extended Region of 4000-80 Cm⁻¹. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, 408 (13), 3373–3379. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9411-5>.
- [13] Iranfar, S.; Karbala, M. M.; Shakiba, M.; Shahsavari, M. H. Effects of Type and Distribution of Clay Minerals on the Physico-Chemical and Geomechanical Properties of Engineered Porous Rocks. *Sci. Rep.* **2023**, 13 (1), 5837. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33103-4>.
- [14] Alexander, K. Reactivity of Ultrafine Powders Produced from Siliceous Rocks; Journal Proceedings, 1960; Vol. 57, pp 557–570. <https://doi.org/10.14359/8036>.
- [15] Shi, C. An Overview on the Activation of Reactivity of Napozzolanstural. *Can. J. Civ. Eng.* **2001**, 28, 9. <https://doi.org/10.1139/l01-041>.
- [16] Norme, ASTM Standard, C 618 Standard Specification for Coal Fly Ash and Raw or Calcined Natural Pozzolan for Use in Concrete, West Conshohocken, PA : Annual Book of ASTM Standards, ASTM International (2008).
- [17] Aliabdo, A. A.; Abd Elmoaty, A. E. M.; Aboshama, A. Y. Utilization of waste glass powder in the production of cement and concrete. *Constr. Build. Mater.* **2016**, 124, 866–877. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2016.08.016>.

Etude électrochimique d'une électrode de supercondensateur à base de charbon actif de coques de coco

KOUTOUAN Djako Oscar Eric¹, DIABATE Donourou^{12*}, OSSONON Diby Benjamin²³, Ana C. Tavares³

1 : Laboratoire de Chimie Physique, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Felix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire

2 : Université Peleforo Gon Coulibaly, UFR Sciences Biologiques, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

3 : Institut National de la Recherche Scientifique – Énergie Matériaux et Télécommunications 1650, boul. Lionel-Boulet Varennes (Québec) J3X 1P7 Canada

*Auteur correspondant : ddonourou@upgc.edu.ci

Résumé :

La création d'une économie circulaire en Côte d'Ivoire dans le secteur agricole apparaît comme une nécessité afin d'augmenter les revenus de toute la chaîne de valeurs mais aussi lutter contre la pollution due aux déchets agricoles. Les systèmes de stockage d'énergie en particulier les supercondensateurs sont des composants électroniques possédant des propriétés inédites [1] et dans lesquels les déchets agricoles tels que les coques de coco qui sont d'excellents précurseurs de charbon [2] peuvent trouver leurs applications comme matériaux d'électrodes [3]. Dans ce travail, un matériau composite de charbon actif à base de coques de coco et de graphène a été utilisé comme matériau d'électrode. L'étude de ses propriétés électrochimiques par voltamétrie cyclique dans un montage à trois électrodes a donné d'excellents résultats pour le CS-CA 50 (rapport de masse charbon coco/graphène : 50/50) avec des voltammogrammes quasi rectangulaires synonyme d'un comportement double couche électrochimique, une capacité spécifique de 117 F/g à 20 mV s⁻¹, et une capacité de rétention de 95% après 10 000 cycles. Ces performances électrochimiques font du charbon de coques de coco un bon matériau d'électrode pour supercondensateur

Mots clés : électrode ; supercondensateur ; stockage d'énergie ; matériau composite

Electrochemical study of a supercapacitor electrode based on coconut shell activated carbon

Abstract :

The creation of a circular economy in the agricultural sector in Côte d'Ivoire appears to be a necessity in order to increase income throughout the value chain and also to combat pollution caused by agricultural waste. Energy storage systems, in particular supercapacitors, are electronic components with novel properties [1] and in which agricultural waste such as coconut husks, which are excellent coal precursors [2] can be used as electrode materials [3]. In this work, an activated carbon composite material based on coconut shells and graphene was used as an electrode material. The study of its electrochemical properties by cyclic voltametry in a three-electrode setup gave excellent results for CS-CA 50 (char/graphene mass ratio: 50/50) with quasi-rectangular voltammograms synonymous with electrochemical double-layer behaviour, a specific capacitance of 117 F/g at 20 mV s⁻¹, and a retention capacity of 95% after 10,000 cycles. These electrochemical performances make coconut shell charcoal a good electrode material for supercapacitors.

Keywords: electrode; supercapacitor; energy storage; composite material

1. Introduction

Les supercondensateurs qui sont des dispositifs à cheval entre les batteries et les condensateurs électriques suscitent l'intérêt du fait de leurs excellentes propriétés dues au stockage de l'énergie selon un mécanisme soit capacitif grâce à l'accumulation des charges ou ions à la surface des électrodes, soit faradique selon des réactions redox rapides. Grâce à ce mécanisme, les supercondensateurs peuvent stocker et délivrer des densités de puissance sur de courtes durées en se déchargeant et se rechargeant rapidement sur un nombre illimité de cycles. Grâce à leur faible coût et leur surface élevée par rapport aux autres matériaux carbonés, le charbon actif est le principal matériau utilisé pour la confection des électrodes des supercondensateurs à double couche [4] avec une capacité spécifique de 50 – 150 F/g dans les électrolytes organiques et 100 – 200 F/g dans les électrolytes aqueux. Les coques de coco constituent de potentiels précurseurs de charbon actif donc susceptibles d'être utilisés comme matériaux d'électrodes pour supercondensateurs. Les coques de noix de coco qui font l'objet de notre étude sont selon la littérature d'excellents précurseurs de charbon actif [5] et donc de matériau d'électrodes [3]. En effet, comparé aux autres déchets issus de la biomasse, leur charbon actif possède des caractéristiques supérieures en terme de surface spécifique, de porosité et de conductivité [2]. Plusieurs travaux de la communauté scientifique confirment le potentiel de ces coques. Parmi celles-ci, nous pouvons citer celle de Ramos et al. (2021) qui porte sur la conception de dispositifs de stockage à base de charbon actif de coques de coco et d'un matériau composite de charbon actif de coques de coco et d'oxyde de nickel. La caractérisation électrochimique des électrodes ainsi réalisées donne à partir d'un montage à trois électrodes dans une solution aqueuse de KOH 1 M utilisée comme électrolyte deux mécanismes de stockage de charge : l'électrode à base de charbon actif de coques de coco suit un mécanisme de stockage de supercondensateur avec des capacités spécifiques allant jusqu'à

142 $F.g^{-1}$ à 6 $mA.g^{-1}$. Quant à l'électrode composite de charbon actif et oxyde de nickel, elle suit un mécanisme de stockage de batterie à cause des réactions redox réversibles de NiO avec des capacités allant jusqu'à 19 $F.g^{-1}$ à 7 $mA.g^{-1}$ [6]. L'étude rapportée par Sasono et al. (2023) a porté sur la conception d'un supercondensateur avec une électrode composite à base de nanofibre de charbon actif dérivé de coques de noix de coco, d'alcool polyvinylique et d'un tensioactif anionique. Il en ressort que le mélange de 15 % d'alcool, 25 % de nanofibre et un tensioactif anionique permet d'avoir une grande surface d'électrode de 250,46 $m^2.g^{-1}$ et l'étude électrochimique effectuée à l'aide de la Voltamétrie cyclique donne une capacité spécifique de 186,5 $F.g^{-1}$ [7]. Fahmi et al. (2020) rapportent que le carbone avec une surface élevée et possédant une structure poreuse peut servir de matériau d'électrode pour supercondensateur car susceptible de fournir une grande double couche électrique. Pour cela, ils ont préparé des matériaux poreux de type graphène ayant une grande surface à partir de charbon actif de noix de coco par activation via KOH suivie d'une oxydation à l'aide de la méthode modifiée de Hummer. Cette méthode permet d'augmenter la surface du charbon de coques de noix de coco traité de manière significative d'environ 189,97 $m^2.g^{-1}$ à 642,45 $m^2.g^{-1}$ avec un diamètre de pores d'environ 5 nm. La capacité spécifique a ainsi augmenté significativement, jusqu'à 46 fois passant de 3,22 à 148,20 $F.g^{-1}$ faisant du matériau de type graphène poreux préparé à partir de charbon de coques de noix de coco, un matériau prometteur pour une utilisation comme matériau d'électrode pour supercondensateur [8]. Selon Zhao et al. (2022) qui rapportent une méthode efficace et facile pour préparer des carbones poreux par activation de KOH en une étape à partir de charbon de coque de noix de coco, la porosité hiérarchique du carbone a une influence sur la résistance au transport des ions et la surface accessible aux ions, ce qui contribue à des performances électrochimiques exceptionnelles [9].

Il s'agira dans cette étude de préparer une électrode composite de charbon actif de coques de coco et de graphène et d'étudier ses caractéristiques électrochimiques.

2. Matériel et méthodes

Trois électrodes de travail ont été préparées selon des proportions que nous avons prédéfinies de charbon actif : graphène exfolié (EG) : PVDF (PolyFluorure de Vinylidène agissant comme liant) à savoir : 80 : 0 :20 ; 67,5 :22,5 :10 et 45 :45 :10. Ainsi une encre a été préparée en ajoutant quelques gouttes de N-Méthyl-2-Pyrrolydone (NMP) au mélange charbon actif, graphène, PVDF suivi d'une sonication dans un bain ultrason pour favoriser la dispersion. Après l'obtention de l'encre, celle-ci est déposée sur 1 cm^2 de mousse de nickel pour servir d'électrode de travail. Ces électrodes ont été ensuite séchées sous vide à une température de 80°C toute une nuit puis utilisées pour effectuer nos mesures électrochimiques. Pour nos tests, les trois électrodes de travail du charbon actif de coco ont été nommées respectivement : CS-AC 100 ; CS-AC 75 et CS-AC 50. La détermination des caractéristiques électrochimiques de nos électrodes a été possible grâce à des tests électrochimiques de Voltamétrie cyclique (CV) réalisés à l'aide du montage à trois électrodes de la figure 1. Ce montage comprend : une électrode au calomel saturé (ECS) comme référence dont le rôle est le contrôle des potentiels imposés à l'électrode de travail, une contre électrode en platine permettant d'éviter les réactions redox à l'électrode de référence, l'électrode de travail composé du matériau à caractériser et un électrolyte aqueux NaOH 2M. Ce dispositif a été relié à un potentiostat à interface électrochimique S140 (Solartron Instruments) couplé au logiciel DC Corroware (Scribner Associates, version 2.8d) pour l'acquisition des données.

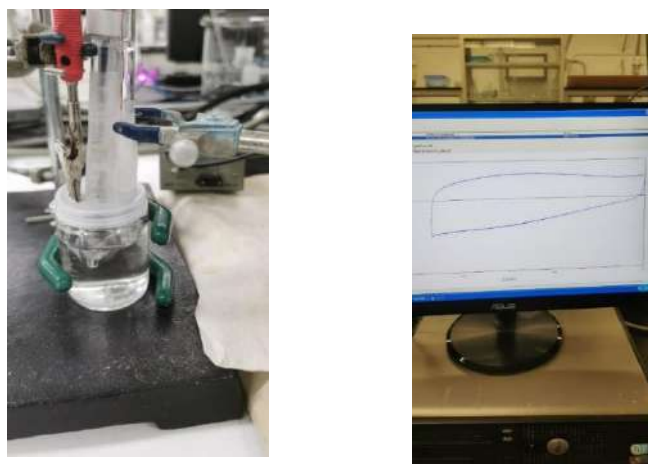


Figure 1 : Montage à 3 électrodes et logiciel d'acquisition de données

3. Résultats et discussion

3.1 Voltamétrie cyclique des électrodes de travail

La performance électrochimique des électrodes de travail a été évaluée par des tests de voltammétrie cyclique (Cyclic Voltammetry (CV) en anglais). Les courbes CV de la figure 2 obtenues à la vitesse de balayage de 50 mV.s^{-1} dans KOH 2M pour une gamme de potentiel allant de -1,15 à 0 V nous permettent d'observer des voltammogrammes presque rectangulaires pour les deux électrodes composites (CS-AC 75 et CS-AC 50) synonyme d'un comportement capacitif à double couche pour nos matériaux composites. Ceux-ci présentent également une réponse en courant plus élevée que celle du charbon actif seul CS-AC 100. Cette différence de réponse entre le charbon actif seul (CS-AC) et les matériaux composites (CS-AC@EG) pourrait s'expliquer par le fait que dans l'électrolyte le matériau CS-AC est très résistif rendant ses sites moins accessibles aux ions d'où une densité d'énergie faible. Cependant, l'apport du graphène qui est un matériau très conducteur améliore la conductivité électrique du matériau composite favorisant ainsi l'accès des ions de l'électrolyte aux sites d'adsorption ce qui fait de nos composites des matériaux possédant une densité d'énergie plus élevée. De même en comparant les voltammogrammes de nos matériaux composites, on observe que le voltammogramme du composite CS-AC 50 apparaît quasi rectangulaire que celui du voltammogramme du composite CS-AC 75 signe d'une capacité spécifique légèrement plus élevée d'où le choix de l'électrode CS-AC 50 pour la suite de nos tests.

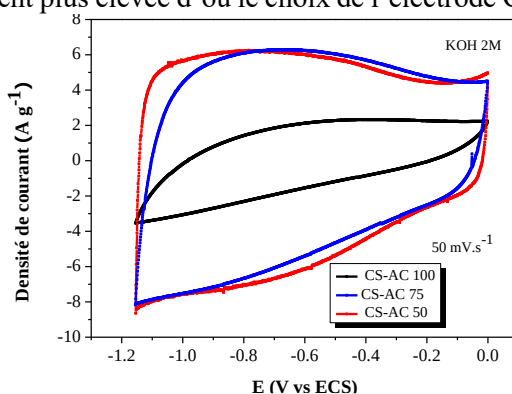


Figure 2 : voltammogrammes cycliques du charbon actif de coques de coco (noir) et des composites

3.2 Vitesse de balayage des matériaux composites

Les voltammogrammes cycliques de la figure 3 de l'électrode CS-AC 50 enregistrés à différentes vitesses de balayage montrent que la densité de courant augmente progressivement avec la vitesse de balayage. De même, les voltammogrammes gardent leur forme rectangulaire même à des vitesses de balayage plus élevées mettant ainsi en exergue selon Ossouon et al. (2021) la faible résistance de contact dans les électrodes, un processus rapide de charge-décharge dans l'électrolyte et le bon comportement capacitif de nos matériaux composites [10]

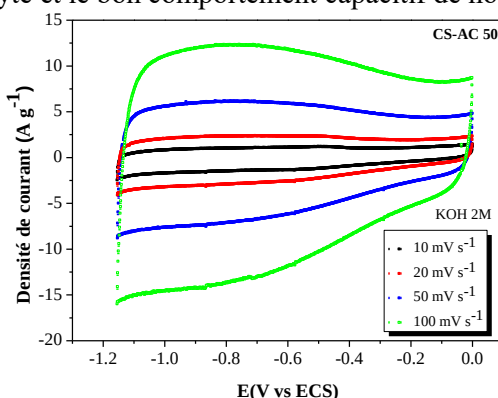


Figure 3 : voltammogrammes cycliques de l'électrode CS-AC 50 enregistrés à différentes vitesses de balayage

3.3 Capacités spécifiques

La variation de la capacité spécifique de la figures 3 montre que la capacité spécifique de chaque matériau composite augmente progressivement avec la vitesse de balayage jusqu'à 20 mV.s^{-1} puis diminue pour des vitesses de balayage plus élevées. L'augmentation de la capacité spécifique lorsque la vitesse de balayage est faible peut s'expliquer par une grande accessibilité des sites d'adsorption aux ions issus de l'électrolyte car toute la surface interne et externe de l'électrode est accessible aux ions d'où une capacité plus élevée et donc un stockage d'énergie

plus important[10]. Quant à la diminution de la capacité spécifique observée lorsque la vitesse de balayage augmente, elle serait due au fait que la vitesse élevée entrave l'accès des ions à la surface intérieure ainsi seule la surface externe de l'électrode est accessible aux ions d'où une capacité spécifique plus faible et donc un stockage d'énergie moins important [10]

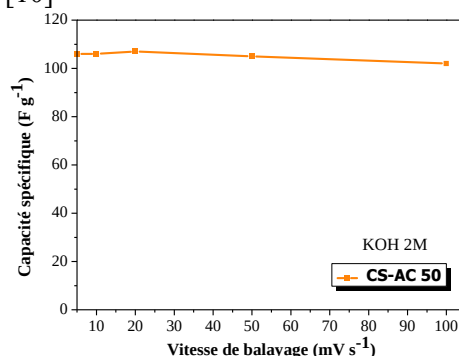


Figure 3 : capacité spécifique du matériau CS-AC 50 en fonction de la vitesse de balayage.

3.4 Capacité de rétention en fonction du nombre de cycles

L'étude de la stabilité cyclique de notre matériau composite à la vitesse de balayage de 50 mV s⁻¹ illustrée à la figure 4 montre une diminution de 5% de la capacité spécifique après 10 000 cycles. La conservation de 95% de la capacité initiale nous permet d'affirmer que l'électrode possède une bonne stabilité cyclique signe d'une bonne durabilité du matériau composite d'électrode.

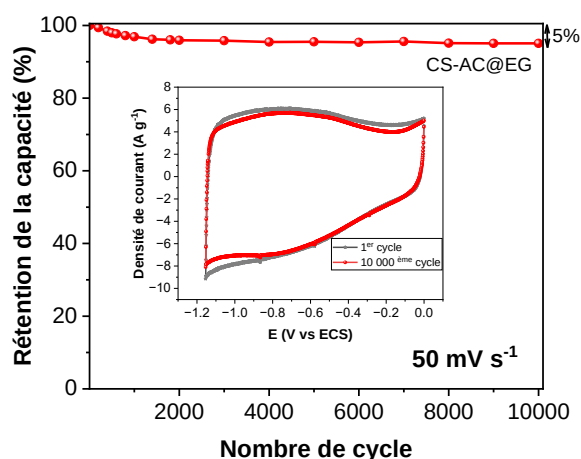


Figure 4 : capacité de rétention du matériau CS-AC 50 en fonction du nombre de cycles jusqu'à 10 000 cycles.

4. Conclusion

L'étude électrochimique par voltamétrie cyclique d'une électrode composite de charbon actif de coques de coco et graphène a montré un comportement pseudo-capacitif de notre électrode. La capacité de rétention de 95% de cette électrode après 10 000 cycles marque la durabilité de notre matériau composite. Au final, il apparaît que le mélange de charbon actif de coques de coco et le graphène constitue un excellent matériau composite d'électrode de supercondensateur.

5. Références bibliographiques

- [1] M. P. Down, C. W. Foster, X. Ji, and C. E. Banks, "Pencil drawn paper based supercapacitors," *RSC Adv.*, vol. 6, no. 84, pp. 81130–81141, 2016.
- [2] K. Mensah-Darkwa, C. Zequine, P. K. Kahol, and R. K. Gupta, "Supercapacitor energy storage device using biowastes: A sustainable approach to green energy," *Sustain.*, vol. 11, no. 2, 2019.
- [3] A. Jain and S. K. Tripathi, "Effect of nano-filler on the performance of multiwalled carbon nanotubes based electrochemical double layer capacitors," *J. Renew. Sustain. Energy*, vol. 6, no. 1, 2014.
- [4] Z. S. Iro, C. Subramani, and S. S. Dash, "A brief review on electrode materials for supercapacitor," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 11, no. 12, pp. 10628–10643, 2016.
- [5] V. Dhyan and T. Bhaskar, "A comprehensive review on the pyrolysis of lignocellulosic biomass," *Renew. Energy*, vol. 129, pp. 695–716, 2018.

- [6] M. Olán Ramos, E. Del Angel Meraz, J. M. Rojo, D. E. Pacheco-Catalán, M. A. Pantoja Castro, and R. S. Mora Ortiz, "Activated carbons from coconut shell and NiO-based composites for energy storage systems," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 32, no. 4, pp. 4872–4884, 2021.
- [7] S. R. A. Sasono, M. F. Rois, W. Widiyastuti, T. Nurtono, and H. Setyawan, "Nanofiber-enrich dispersed activated carbon derived from coconut shell for supercapacitor material," *Results Eng.*, vol. 18, no. March, p. 101070, 2023.
- [8] F. Fahmi, N. A. A. Dewayanti, W. Widiyastuti, and H. Setyawan, "Preparation of porous graphene-like material from coconut shell charcoals for supercapacitors," *Cogent Eng.*, vol. 7, no. 1, 2020.
- [9] Y. Zhao, Y. Wang, Y. Liu, and H. Wang, "Preparation of hierarchical porous carbon through one-step KOH activation of coconut shell biomass for high-performance supercapacitor," *Res. Sq.*, pp. 1–22, 2022.
- [10] B. D. Ossnonon and A. C. Tavares, "Innovative approach for the synthesis of graphene / MnO₂ nanocomposites and their electrochemical behavior," no. February, pp. 1–12, 2021.

Etude de l'influence de quelques cations métalliques sur l'adsorption des phosphates par des matériaux argileux de Côte d'Ivoire

AKE Aké Pierre* ; COULIBALY Vamoussa ; SEI Joseph; OYETOLA Samuel

Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière - Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan-Cocody, Côte d'Ivoire
Auteur correspondant : meake@yahoo.fr

Résumé

L'eutrophisation des plans d'eau résultant des rejets d'eaux usées industrielles et domestiques, constitue un problème environnement majeur. Plusieurs études ont révélé que l'eutrophisation peut être traitée en agissant surtout sur le phosphore qui est considéré comme facteur limitant. Ainsi, l'objectif de ce travail est d'examiner la capacité des matériaux argileux de Côte d'Ivoire à réaliser la déphosphatation. Les argiles étudiées ont été prélevées dans différentes localités de la Côte d'Ivoire. Leurs caractéristiques minéralogiques, texturales et physico-chimiques ont été déterminées. Les fractions argileuses des échantillons ont été recueillies par la sédimentation puis elles ont été traitées aux cations Na^+ et Mg^{2+} . Ces argiles homoioniques ont été mises en contact avec des solutions synthétiques de phosphates contenant des quantités croissantes en cations Na^+ , Mg^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} . Les résultats ont révélé que la présence des ions Na^+ , Mg^{2+} et Zn^{2+} en solution, améliore l'adsorption des phosphates. Lorsque la teneur en cuivre est inférieure à la norme maximale admise dont la valeur est 0,5 mg/L, l'adsorption des phosphates est aussi améliorée mais au delà de cette norme, l'adsorption des phosphates semble être défavorisée. En perspective, la déphosphatation des eaux naturelles par les argiles naturelles et modifiées est envisagée.

Mots clés : Adsorption ; Phosphate ; Argile ; rendement.

Abstract

The eutrophication of water bodies resulting from discharges of industrial and domestic wastewater constitutes a major environmental problem. Several studies have revealed that eutrophication can be treated by acting mainly on phosphorus, which is considered as limiting factor. Thus, the objective of this work is to examine the capacity of clay materials from Côte d'Ivoire to realize phosphate removal. The clays samples were taken from different localities of Côte d'Ivoire. Their mineralogical, textural and physicochemical characteristics were determined. The clay fractions of the samples were collected by sedimentation method and then treated with Na^+ and Mg^{2+} cations. These homoionic clays were introduced into synthetic phosphate solutions containing increasing contents of Na^+ , Mg^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} cations. The results revealed that the presence of Na^+ , Mg^{2+} and Zn^{2+} ions in solution, enhances phosphate adsorption efficiency. When the copper content is lower than the maximum accepted standard whose value is 0.5 mg/L, phosphate's adsorption efficiency is also enhanced but beyond this standard, the adsorption of phosphate seems to be disadvantaged. In perspective, the phosphate removal from natural waters using natural and modified clays is envisaged.

Keywords : Adsorption ; Phosphate ; Clay ; efficiency.

1. Introduction

Les diverses activités exercées par l'homme sur le milieu naturel dégradent considérablement la qualité de l'environnement et engendrent d'importantes quantités d'eaux usées qui sont le plus souvent chargées de matières organiques et d'éléments nutritifs (phosphore et azote, en particulier) nécessaires à la croissance des plantes [1]. Ces eaux usées qui sont rejetées dans la nature souvent sans traitement adéquat, provoquent un déséquilibre des écosystèmes aquatiques et l'eutrophisation des plans d'eau [2][3]. L'eutrophisation qui est marquée par l'apparition des algues, des macrophytes, etc. sur les plans d'eau, constitue un problème environnement majeur [3]. Pour résoudre ce problème de pollution, diverses méthodes curatives et préventives sont appliquées pour restaurer les plans d'eau. Mais on assiste souvent à la réapparition des plantes aquatiques aussitôt à la suite de leurs éliminations lorsque certaines méthodes curatives sont mises en œuvre. Des études liées à la lutte préventive, ont révélé que l'eutrophisation peut être traitée en agissant surtout sur le phosphore qui est considéré comme facteur limitant [1][2]. Pour cette lutte, diverses méthodes et techniques de séparation des phosphates des solutions aqueuses ont été développées [1][4][5]. Cependant, la déphosphatation (élimination du phosphore) des eaux se fait généralement par la précipitation de cette espèce chimique à l'aide de produits chimiques (sels de calcium, de fer ou d'aluminium) qui sont chers. D'où la recherche d'alternative aux produits chimiques. Ainsi, l'adsorption qui utilise des supports à base de matériaux naturels ou synthétiques à moindre coût et respectant l'environnement comme les charbons actifs, les zéolithes, les argiles et certains matériaux recyclés ou issus de la biomasse [4], a été développée. De plus, les ions magnésium Mg^{2+} , sodium Na^+ , calcium Ca^{2+} , chlorure Cl^- , cuivre II Cu^{2+} , zinc Zn^{2+} , sulfate SO_4^{2-} , carbonate HCO_3^- , etc. souvent présents dans les eaux usées ou les eaux de consommation pourraient influencer ou non l'élimination des phosphates qui y sont contenus. Ainsi, l'objectif de ce travail est

d'examiner la capacité des matériaux argileux de Côte d'Ivoire à réaliser la déphosphatation des solutions aqueuses contenant des ions de natures différentes.

Pour cela, trois échantillons d'argile des sols de Côte d'Ivoire ont été choisis. Leurs fractions argileuses traitées au sodium et au magnésium ont servi pour les essais. Les essais ont été réalisés sur des solutions synthétiques de phosphates dissous dans l'eau distillée contenant des teneurs croissantes d'ions Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} et Cu^{2+} sous les conditions opératoires déterminées au préalable [4][6].

2. Matériels et méthodes

2.1. Origine des matériaux étudiés

Les échantillons d'argile utilisés dans la présente étude, sont notés respectivement ANY, KAT 2 et KOR [4][7]. Ils ont été prélevés dans différentes régions de la Côte d'Ivoire et séchés à l'ombre pendant plusieurs jours. Après le séchage, leurs caractéristiques minéralogiques, texturales et physico-chimiques ont été déterminées par différentes techniques. L'argile ANY a été prélevée dans la localité d'Anyama (5°31'29 Nord et 4°03'14 Ouest) dans le District Autonome d'Abidjan, au sud de la Côte d'Ivoire. Quant à l'argile KAT 2, elle a été prélevée dans la localité de Katiola (8°08'22 Nord et 5°37'42 Ouest) située au centre-nord de la Côte d'Ivoire. Concernant l'argile KOR, elle a été prélevée dans la localité de Korhogo (9°27'28 Nord et 5°37'46 Ouest) située au nord de la Côte d'Ivoire. La figure 1 présente les images des échantillons d'argile à l'état naturel.



Figure 1 : Images des échantillons d'argile ANY (a) ; KAT2 (b) et KOR (c) [4][7]

Ce sont les fractions argileuses de ces échantillons, recueillies par la sédimentation et traitées aux cations Na^+ et Mg^{2+} , qui ont été utilisées comme adsorbants des phosphates. Ces argiles modifiées sont au nombre de six (6) et notées ANY-Na, ANY-Mg, KAT 2-Na, KAT 2-Mg, KOR-Na et KOR-Mg.

2.2. Réaction d'adsorption

La méthode expérimentale utilisée est la technique en réacteur fermé (système batch). Pour chaque expérience, une quantité d'argile modifiée (40 mg) est mise au contact d'une solution synthétique de phosphate à 5 mg/L contenant des quantités variables de cations métalliques que sont Na^+ , Mg^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} . La solution synthétique a été préparée en diluant 100 fois une solution mère, elle-même obtenue par dissolution de 0,358 g de dihydrogénophosphate de potassium dans 500 mL d'eau distillée (solution à 500 mg/L en PO_4^{3-}). Le dihydrogénophosphate de potassium KH_2PO_4 solide, de masse molaire 136,08 g/mol, a été fourni par Merck.

Le mélange argile/solution synthétique, de pH 6,6 est agité pendant 2 heures à la température ambiante (30°C). Au terme de l'agitation, le mélange est centrifugé durant 30 minutes à 4500 rpm et le surnageant est prélevé pour le dosage au spectrophotomètre à la longueur d'onde 880 nm en vue de déterminer la concentration résiduelle en phosphate. Une courbe d'étalonnage préalablement tracée a servi de référence. Le rendement d'élimination des phosphates (R) a été déterminé en utilisant l'expression suivante :

$$R = \frac{100.(C_0 - C_e)}{C_0} \quad (\text{eq.1})$$

Où C_0 est la concentration initiale de la solution de phosphate (mg/L), C_e est la concentration de la solution de phosphate à l'équilibre (mg/L), V est le volume de la solution (L) et m est masse d'argile utilisée (g).

Au préalable, l'influence du temps de contact, de la masse d'argile, du pH du milieu, de la température et de la concentration initiale en phosphate a été étudiée en vue de déterminer les conditions opératoires de la réaction d'adsorption [4][6]. Ce sont ces conditions (temps de contact = 2 heures,

pH = 6,6, masse d'argile = 40 mg, température = 30°C, concentration initiale en phosphate $C_0 = 5$ mg/L) qui ont été appliquées aux expériences.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractéristiques minéralogiques, texturales et physico-chimiques des échantillons d'argile

Quelques caractéristiques physico-chimiques des échantillons d'argile à l'état naturel sont portées dans le tableau I.

Tableau I : Caractéristiques minéralogiques et physico-chimiques des échantillons d'argile à l'état naturel [4][7]

Echantillon	ANY	KAT 2	KOR

Composition minéralogique	Chlorite (23,54 %) ;	Kaolinite (22,35 %) ;	Kaolinite (49,71 %) ;
	Illite (21,44 %) ;	Illite (15 %) ;	Illite (2,80 %) ;
	Smectite (12,54 %) ;	Smectite (20,90 %) ;	Goethite (9,14 %) ;
	Goethite (8,44 %) ;	Quartz (17,14 %) ;	Quartz (10,93 %) ;
	Quartz (25,69 %) ;	Rutile (1,00 %)	Rutile (1,52 %)
	Rutile (1,00 %)		
Surface spécifique (m²/g)	40,17	40,61	40,45
Diamètre des 90 % de particules (µm)	29,25	41,00	20,30
Diamètre moyen (µm)	8,25	10,50	< 1,39
Fraction argileuse de diamètre < 2 µm (%)	22	36	67

Les résultats du tableau révèlent que les échantillons étudiés ont une composition minéralogique différente. Ils possèdent une surface spécifique relativement importante (valeur > 40 m²/g). La surface spécifique de l'échantillon KOR (40,45 m²/g) est légèrement supérieure aux surfaces spécifiques des kaolinites pures qui sont comprises entre 10 à 30 m²/g [8][9]. La surface spécifique importante de l'argile KOR pourrait être liée à sa teneur en composés de fer. En effet, les travaux de [10] concernant le rôle des oxydes de fer sur les propriétés d'adsorption de la kaolinite et ceux de [11] concernant le rôle du fer du kaolin sur la formation de la mullite, ont montré que les composés de fer contribuent fortement à l'augmentation de la surface spécifique des argiles. Par ailleurs, l'analyse granulométrique a révélé que l'échantillon KOR est constitué de particules ayant un diamètre moyen plus petit que celui des échantillons ANY et KAT 2, et contient plus de fraction argileuse de diamètre < 2 µm. En plus de la présence des composés de fer, la taille des particules d'argile pourrait aussi être un paramètre à prendre en compte pour justifier la surface spécifique importante. Cette observation a été précédemment faite par [12]. Les surfaces spécifiques relativement importantes des échantillons pourraient s'expliquer aussi à travers la petite taille des particules d'argile ; ce qui est en accord avec les travaux de [13] qui ont révélé que plus les particules d'un sol sont petites, plus sa surface spécifique est importante. Les échantillons étudiés sont aussi caractérisés par la finesse de leurs particules.

3.2. Adsorption des phosphates en présence des ions Na⁺, Mg²⁺, Cu²⁺ et Zn²⁺

3.2.1. Etude de l'effet de l'ajout des ions Na⁺ et Mg²⁺

L'étude de l'effet de l'ajout (addition supplémentaire) des ions Na⁺ et Mg²⁺ à la solution synthétique de phosphate, est représentée sur les figures 2 et 3.

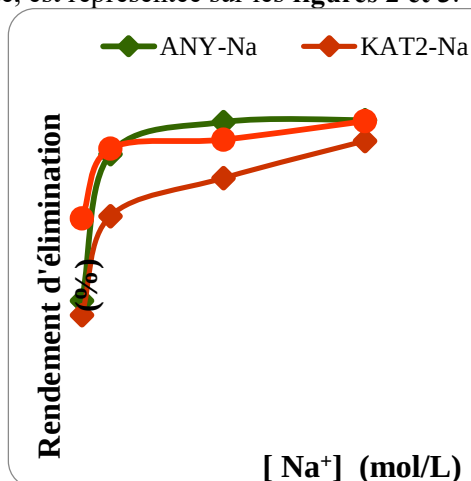


Figure 2 : Effet de l'ajout des ions Na⁺ sur le rendement de déphosphatation : cas des échantillons sodiques

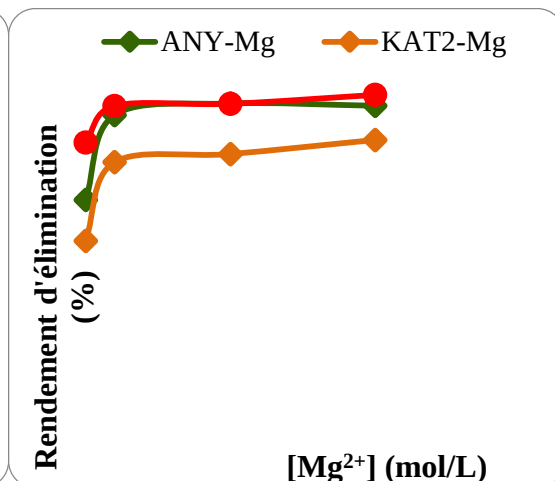


Figure 3 : Effet de l'ajout des ions Mg²⁺ sur le rendement de déphosphatation : cas des échantillons magnésiens

Les courbes des figures 2 et 3 présentent deux phases. La première phase où les teneurs des ions Na⁺ et Mg²⁺ en solution sont inférieures 0,01 mol.L⁻¹, le rendement de déphosphatation augmente fortement avec la teneur des ions ajoutés et atteint 58,32 % pour KAT2-Na, 77,18 % pour ANY-Na, 78,82% pour KOR-Na, 77 % pour KAT2-

Mg, 92,01 % pour ANY-Mg et 94,89 % pour KOR-Mg. Concernant la seconde phase où les teneurs des ions Na^+ et Mg^{2+} sont supérieures à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, les courbes des échantillons ANY-Na, KOR-Na, ANY-Mg, KAT2-Mg et KOR-Mg montrent une très faible augmentation du rendement de déphosphatation marquée par les pseudo-paliers observés. Par contre, la courbe de l'échantillon KAT2-Na montre que la déphosphatation se poursuit de façon modérée. Son rendement d'élimination atteint 81,17 % lorsque $[\text{Na}^+]$ vaut $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.

3.2.2. Etude de l'effet de l'ajout des ions Zn^{2+}

L'étude de l'effet de la présence des ions Zn^{2+} en solution sur l'adsorption du phosphate, est représentée sur les figures 4.

Les courbes des figures 4 relatives à l'étude de l'influence des ions Zn^{2+} en solution sur le rendement de déphosphatation, présentent aussi deux phases. La première phase où $[\text{Zn}^{2+}] < 0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, le rendement de déphosphatation augmente fortement avec la concentration des ions Zn^{2+} en solution et atteint 69,55 % pour KOR-Na, 71,87 % pour KAT2-Na, 72,19 % pour ANY-Na, 53,26 % pour ANY-Mg, 65,74 % pour KAT2-Mg et 76,93 % pour KOR-Mg. Concernant la seconde phase où $[\text{Zn}^{2+}] > 0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, la courbe de l'échantillon KOR-Na montre une très faible augmentation du rendement de déphosphatation à travers l'observation de pseudo-palier. Dans cette partie, les courbes des échantillons ANY-Na, KAT2-Na, KAT2-Mg et KOR-Mg présentent une baisse du rendement de déphosphatation d'environ 5 % pour ANY-Na, 11 % pour KOR-Mg, 14 % pour KAT2-Na et 15 % pour KAT2-Mg.

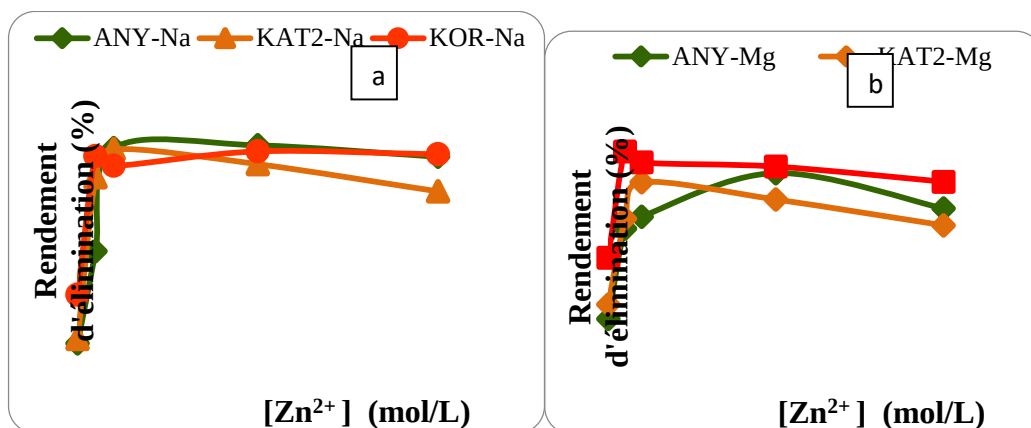


Figure 4 : Effet des ions Zn^{2+} en solution sur le rendement de déphosphatation. a) cas des échantillons sodiques ; b) cas des échantillons magnésiens

Quant à l'échantillon ANY-Mg, sa courbe montre une augmentation du rendement d'élimination des phosphates jusqu'à $[\text{Zn}^{2+}] = 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ où le rendement d'élimination atteint son maximum. Au-delà de $[\text{Zn}^{2+}] = 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, la courbe de l'échantillon ANY-Mg présente une baisse du rendement d'élimination des phosphates.

3.2.3. Etude de l'effet de l'ajout des ions Cu^{2+}

L'étude de l'effet de la présence des ions Cu^{2+} en solution sur l'adsorption des phosphates, est représentée sur les figures 5.

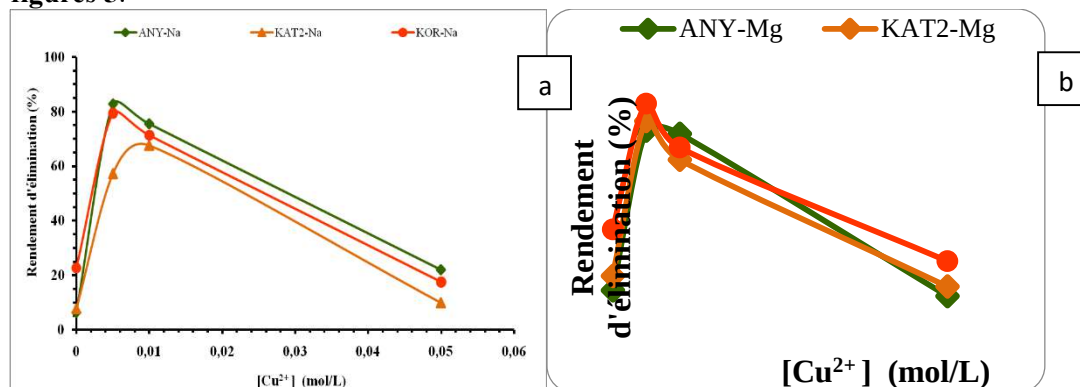


Figure 5 : Effet des ions Cu^{2+} en solution sur le rendement de déphosphatation. a) cas des échantillons sodiques ; b) cas des échantillons magnésiens

Les courbes des **figures 5** relatives à l'étude de l'influence des ions Cu^{2+} sur le rendement de déphosphatation, présentent également deux phases. La première phase où $[\text{Cu}^{2+}] < 5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, il est observé une augmentation du rendement de déphosphatation avec la concentration des ions Cu^{2+} en solution. L'élimination des phosphates atteint son maximum vers $[\text{Cu}^{2+}] = 5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ avec un rendement d'environ 67,56 % pour KAT2-Na, 79,50 % pour KOR-Na, 82,75 % pour ANY-Na, 74,44 % pour ANY-Mg, 77,93 % pour KAT2-Mg et 84,28 % pour KOR-Mg. Concernant la seconde phase où $[\text{Cu}^{2+}] > 5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, une forte baisse du rendement de déphosphatation se produit pour tous les échantillons. Lorsque la concentration des ions Cu^{2+} vaut $5.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, le rendement d'élimination des phosphates est d'environ 9,84 % pour KAT2-Na, 17,50 % pour KOR-Na, 21,96 % pour ANY-Na, 14,15 % pour ANY-Mg, 17,61 % pour KAT2-Mg et 26,88 % pour KOR-Mg.

3.2.4. Etude de l'effet de l'ajout simultané d'ions Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} et Cu^{2+}

L'étude de l'effet de la présence simultanée d'ions Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} et Cu^{2+} en solution sur l'adsorption des phosphates, est représentée sur les **figures 6**.

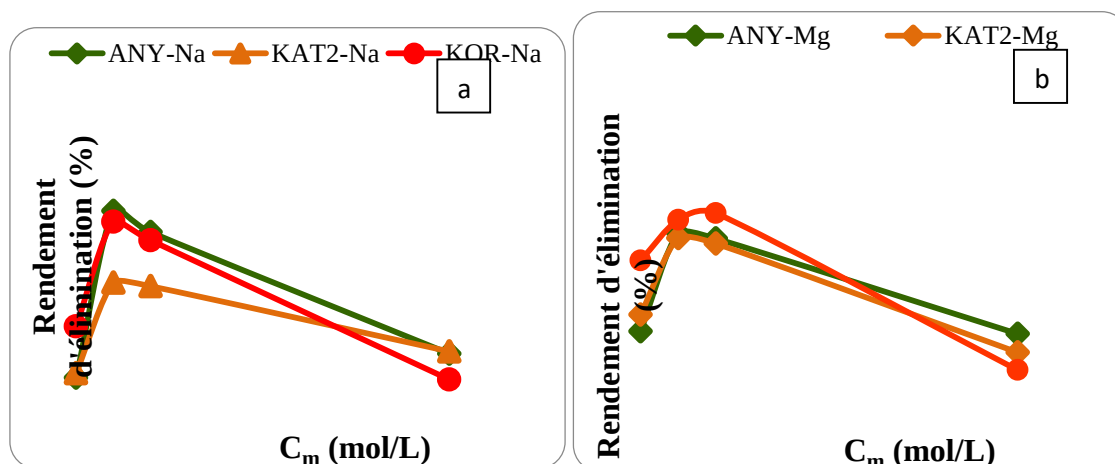


Figure 6 : Effet de la présence simultanée des ions Cu^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ et Mg^{2+} en solution sur l'adsorption. a) cas des échantillons sodiques ; b) cas des échantillons magnésiens

Les courbes des **figures 6** présentent les mêmes allures que celles des **figures 5**. Lorsque la concentration du mélange (C_m) est inférieure à $5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, le rendement d'élimination des phosphates augmente avec la concentration des cations ajoutés. L'élimination des phosphates atteint son maximum vers $5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ avec un rendement d'environ 36,65 % pour KAT2-Na, 56,15 % pour KOR-Na, 59,64 % pour ANY-Na, 45,53 % pour KAT2-Mg et 47,02 % pour ANY-Mg. Pour l'échantillon KOR-Mg, le maximum d'élimination des phosphates est obtenu vers $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ avec un rendement de 51,19 %. Puis, au-delà de la concentration $C_m = 5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, le rendement de déphosphatation diminue. Lorsque la concentration du mélange C_m vaut $5.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, le rendement d'élimination est d'environ 5,70 % pour KOR-Na, 13,98 % pour ANY-Na, 14,69 % pour KAT2-Na, 4,10 % pour KOR-Mg, 9,63 % pour KAT2-Mg et 15,47 % pour ANY-Mg.

Discussion

En se référant aux résultats des expériences, la phase de forte augmentation du rendement d'élimination des phosphates lorsque les concentrations des ions ajoutés à la solution, sont inférieures à 5.10^{-3} et $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, montre que la présence de certains ions en solution phosphorée est favorable à la déphosphatation. La déphosphatation serait facilitée par ces ions. En effet, la fixation de ces ions par l'argile semble accroître la quantité de charges positives de la surface adsorbante en diminuant le caractère négatif du potentiel de surface ; ce qui a pour effet d'augmenter l'intensité de l'attraction électrostatique de la surface adsorbante sur les anions phosphate. Cette observation a été précédemment faite par [14] et [15]. Ainsi, la présence des ions Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} en solution phosphorée semble contribuer à l'amélioration de la capacité d'adsorption sans gêner l'interaction argile-phosphate. Il en est de même lorsque la teneur en cuivre en solution, est inférieure à la dose maximale admise qui est de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ [16]. Une telle observation a été précédemment faite par [17] et [18] en utilisant respectivement des argiles riches en kaolinite et des matériaux mésoporeux à base de silice pour adsorber les phosphates. Ces auteurs ont remarqué que la présence des ions Na^+ et Mg^{2+} d'une part, et d'autre part, les ions Cl^- et Ca^{2+} en solution ne gênait pas la réaction d'adsorption des phosphates. Cependant, une solution phosphorée dans laquelle la teneur en cuivre est largement supérieure à la dose maximale admise ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$), l'élimination des phosphates

par l'argile semble être défavorisée. L'interaction entre l'argile et le cuivre semble être plus importante par rapport à l'interaction argile-phosphate. La présence du cuivre dans de telles solutions pourrait avoir un effet antagoniste sur l'adsorption des phosphates. En effet, le cuivre en solution a réduit considérablement l'élimination des phosphates. Cette baisse pourrait s'expliquer par le fait que, les ions Cu^{2+} introduits en excès, rentreraient en compétition avec les anions phosphates dans l'occupation des sites actifs disponibles en excluant certains phosphates du processus d'une part, et d'autre part, les argiles ont la capacité d'adsorber certains ions et de les fixer sous forme échangeable ultérieurement [19] ; ce qui suggère qu'un relargage plus ou moins important des phosphates adsorbés se produit en solution. D'où la baisse du rendement de déphosphatation. L'adsorption préférentielle du cuivre peut être justifiée par les travaux de [20] portant sur l'adsorption du cuivre Cu(II) en solution par l'argile brute et activée. Ces auteurs ont révélé que les supports argileux sont de bons adsorbants pour le cuivre en solution.

4. Conclusion

Ce travail avait pour objectif d'examiner la capacité des matériaux argileux de Côte d'Ivoire à réaliser la déphosphatation des solutions aqueuses contenant des ions de natures différentes. Pour cela, trois échantillons d'argile des sols de Côte d'Ivoire ont été choisis et des solutions synthétiques de phosphates contenant des teneurs croissantes d'ions Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} et Cu^{2+} . Ce sont les fractions argileuses des échantillons traitées aux cations Na^+ et Mg^{2+} qui ont été utilisées pour les essais. Les résultats des expériences ont révélé que la présence des ions Na^+ , Mg^{2+} et Zn^{2+} en solution, améliore l'adsorption des phosphates. Il en est de même lorsque la teneur en cuivre en solution est inférieure à la dose maximale admise. Par contre, l'élimination des phosphates par les argiles semble être défavorisée dans des solutions phosphorées contenant du cuivre dont la teneur est supérieure à cette dose. Ce travail, bien qu'ayant donné une réponse utile doit être complété. Ainsi, il est envisagé :

- l'étude de l'adsorption sur des eaux naturelles chargées en phosphore pour vérifier s'il y a similarité des résultats et même étendre cette étude à éléments traces métalliques comme Pb, Hg, Cd, As, etc. ;
- l'étude de la déphosphatation des solutions aqueuses avec des argiles naturelles pour vérifier si la modification des argiles améliore ses performances ;
- l'étude de la désorption des phosphates afin de régénérer les surfaces des argiles et valoriser les boues comme fertilisants dans le domaine agricole.

5. Bibliographie

- [1]. Deronzier, G. et Choubert, J. M. Traitement de phosphore dans des petites stations d'épuration à boue activée, Comparaisons techniques et économiques des voies de traitement biologique et physico-chimique. Edition CEMAGREF, Document technique FNDAE. (2004) 29 ; 49.
- [2]. Devidal, S., Rivard-Sirois, C., Pouet M-F. et Thomas O. Solutions curatives pour la restauration de lacs présentant des signes d'eutrophisation. Rapport interne, Observatoire de l'environnement et du développement durable, Université de Sherbrooke, 2007, Québec, Canada, pp. 51.
- [3]. Coulibaly S. L., Abattement des phosphates des eaux usées par adsorption sur des géomatériaux constitués de Latérite, grès et schistes ardoisiers. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine (France) et de l'Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire). 2014, 213p.
- [4]. Ake A. P., Etude des propriétés adsorbantes de quelques matériaux argileux de Côte d'Ivoire : Application à la déphosphatation des eaux. Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan-Cocody. 2022, 202p.
- [5]. Youcef, L. et Achour, S. Elimination des phosphates par des procédés physico-chimiques. Larhyss Journal. (2005) 04 ; 129-140.
- [6]. Pierre, A. A. ; Brice, K. A. ; Vamoussa, C. ; N'Dri, K. ; Joseph, S. and Samuel, E. O. Kinetic and Thermodynamic Study of the Dephosphation of Wastewater by Clay Materials from Côte d'Ivoire. Open Journal of Applied Sciences. (2021) 11 ; 1307-1323.
- [7]. Aké, A. P. ; Coulibaly, V. ; Kouamé, N. ; Kedi, A. B. ; Sei, J. and Oyetola, S. Study of the status of iron in clay materials from Côte d'Ivoire for their use as phosphate adsorbents. RAMReS Sciences des Structures et de la Matière. (2022) 6 (1) ; 63-90.
- [8]. Fabien H. Modélisation des diffractogrammes des minéraux argileux en assemblages complexes dans deux sols de climat tempéré, Implication minéralogique et pédologique. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers. 2008, 205p.
- [9]. Bentahar Y. Caractérisation physico-chimique des argiles marocaines: Application à l'adsorption de l'arsenic et des colorants cationiques en solution aqueuse. Thèse de Doctorat, Université Abdelmalek Essaadi de Tétouan et de l'université Nice Sophia Antipolis. 2016, 168 p.
- [10]. Sei, J. ; Jumas, J. C. ; Olivier-Fourcade, J. ; Quiquampoix, H. and Staunton, S. Role of iron oxides in the phosphate adsorption properties of kaolinites from the Ivory Coast. Clays and Clay Minerals. (2002) 50 (2) ; 217-222.

- [11]. Soro, N. ; Aldon, L. ; Olivier-Fourcade, J. ; Jumas, J. C. ; Laval, J. P. and Blanchart P. Role of iron in mullite formation from Kaolins by Mössbauer Spectroscopy and Rietveld Refinement. *Journal of American Ceramic Society*. (2003) 86 (1) ; 129-134.
- [12]. Konan K. L. Interactions entre des matériaux argileux et un milieu basique riche en calcium. Thèse de Doctorat, Université de Limoges. 2006, 144 p.
- [13]. Feller, C. ; Schouller, E. ; Thomas, F. ; Rouiller, J. and Herbillon, A. J. N₂-BET specific surface areas of some low activity clay soils and their relationships with secondary constituents and organic matter contents. *Soil Science*. (1992) 153 (4) ; 293-299.
- [14]. Soltner D. Les bases de la production végétale. Tome 1 : Le sol et son amélioration. 19^è édition, *Sciences et Techniques Agricoles*, (1992), *Sainte Gemmes sur Loire*.
- [15]. Dubus, I. La rétention du phosphore dans les sols: Principes d'étude, Modélisation, Mécanismes et Compartiments du sol impliqués. ORSTOM Nouméa, Documents Scientifiques et Techniques. (1997) 3 ; 76 p.
- [16]. Kedi, A. B. B. ; Kouassi, S. S. ; Coulibaly, V. et Sei, J. Elimination de polluants des déchets liquides d'une unité de production de sucre par des argiles naturelles de Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2021) 15 (2); 803-815.
- [17]. Sei J.,. Etude des matériaux de dimensionnalité réduite, Relation structures-propriétés dans des kaolinites naturelles de Cote d'Ivoire. Thèse de Doctorat, Université Montpellier II. 1998, 252p.
- [18]. Saad, R. ; Belkaemi, K. and Hamoudi, S. Adsorption of phosphate and nitrate anions on ammonium-functionalized MCM-48 : Effects of experimental conditions. *J. Colloid Interf. Sci.* (2007) 311 (2) ; 375-381.
- [19]. Achour, S et Youcef, L. Elimination du cadmium par adsorption sur bentonites sodique et calcique. *Larhyss Journal*. (2003) 02 ; 68-81.
- [20]. Djelloul, B. ; Driss, A. T. et Djillali, B., Adsorption du cuivre Cu(II) en solution par l'argile brute et activée de la région de Tiout-Naama sud-ouest algérien. *Revue science des matériaux, Laboratoire LARHYSS*. (2014) 02 ; 23-34.

Valorisation de cendre de balle de riz (CBR) de Côte d'Ivoire pour la réduction de l'utilisation du ciment dans la fabrication de blocs de terre comprimée (BTC)

GARBA LABO Mahaman Nazirou*1 ; YAO Kouassi Benjamin1

¹Laboratoire des Procédés Industriels et de Synthèse de l'Environnement et des Énergies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Felix Houphouët Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro, BP : 1093, Côte d'Ivoire

Résumé

La production de ciment est un défi majeur pour l'environnement [1]. Des solutions durables doivent être trouvées pour répondre aux besoins croissants en matériaux de construction tout en préservant les ressources naturelles [2], [3]. L'objectif de ce travail est de valoriser les cendres de balle de riz de Côte d'Ivoire afin de réduire l'utilisation du ciment dans la stabilisation des Blocs de Terre Comprimée. Les balles de riz ont été calcinées dans des conditions contrôlées. Les cendres obtenues ont été analysées par FRX, DRX, BET et test de saturation en chaux. Des essais de remplacement du ciment par des cendres ont également été réalisés. Les résultats ont montré que les cendres contenaient plus de 90 % de silice amorphe, avec une surface BET de 459,60 m²/g. Le test de saturation de la chaux a montré que la cendre est très réactive. Ces propriétés permettent d'utiliser cette cendre comme pouzzolane. Le test de durabilité à l'eau a montré qu'avec un remplacement du ciment de 60 %, le BTC reste pratiquement intact. Ceci a des implications majeures pour la gestion des déchets, la réduction des émissions de CO₂ et l'épuisement des ressources naturelles.

Mots clés : caractérisation ; cendre des balles de riz ; brique de terre comprimée.

Valorization of rice husk ash (RHA) from Côte d'Ivoire to reduce cement use in the manufacture of compressed earth blocks (CEB)

Abstract

Cement production is a major challenge for the environment [1]. Sustainable solutions must be found to meet the growing need for construction materials while preserving natural resources [2], [3]. The aim of this work is to valorize rice husk ash from Côte d'Ivoire to reduce the use of cement in the stabilization of compressed earth blocks. Rice husks were calcined under controlled conditions. The ash obtained was analyzed by FRX, DRX, BET and lime saturation tests. Tests to replace cement with ash were also carried out. The results showed that the ash contained over 90% amorphous silica, with a BET surface area of 459.60 m²/g. The lime saturation test showed that the ash is highly reactive. These properties enable the ash to be used as a pozzolan. The water durability test showed that with 60% cement replacement, the BTC remains virtually intact. This has major implications for waste management, the reduction of CO₂ emissions and the depletion of natural resources.

Keywords: characterization; rice husk ash; compressed earth brick.

1. Introduction

Les émissions excessives de dioxyde de carbone, l'un des principaux gaz à effet de serre, et l'énorme consommation d'énergie lors de la production de matériaux de construction sont des problèmes qui menacent le monde entier [4]. Le secteur de la construction représente environ 40 % des émissions totales de CO₂ et les matériaux de construction conventionnels sont considérés comme les principaux responsables [5]. Selon l'Agence internationale de l'énergie, environ 10 % de l'émission de CO₂ d'origine humaine provient uniquement de l'industrie de ciment [6]. Cette quantité devrait augmenter en raison de l'augmentation progressive de la population et du développement des infrastructures dans les pays développés et en développement [7].

Outre les impacts environnementaux du PC, d'autres limitations telles que la consommation importante d'énergie et l'utilisation excessive de matières premières naturelles non renouvelables ont soulevé de sérieuses inquiétudes quant à sa durabilité [8]. C'est pourquoi il existe une demande croissante des matériaux alternatifs à faibles émissions de carbone afin de remplacer partiellement ou totalement le PC. Selon plusieurs auteurs, l'utilisation des sous-produits industriels et agricoles tels que les cendres volantes, la fumée de silice, les cendres de biomasse agricoles dans les matériaux de construction pourrait être une solution [9], [10] [11], [12] [13]. Ses produits ont souvent des propriétés pouzzolaniques qui leur permettent de réagir avec les produits chimiques du ciment pour améliorer les propriétés mécaniques des matériaux [14].

La question de gestion des déchets s'inscrit donc parmi les plus grands défis à relever. La politique africaine relative à la gestion des déchets est de deux types : l'une consiste à interdire la production et la commercialisation de certains produits sources de pollution, tels le plastique, l'autre à mettre en place des projets de recyclage et de valorisation en produits à haute valeur ajoutés. Dans le domaine de la construction, il s'agit de développer des matériaux alternatifs à faible impact environnemental pour varier l'offre sur le marché [15]. Cependant, dans son septième rapport sur la situation économique en Côte d'Ivoire (juillet 2018), la Banque Mondiale a présenté une

image contrastée de la Côte d'Ivoire, qui connaît une croissance économique solide, mais fortement exposée au dérèglement climatique. C'est dans ce sens que ce travail est de valoriser les cendres de balle de riz de Côte d'Ivoire afin de réduire l'utilisation du ciment dans la stabilisation des Blocs de Terre Comprimée. Spécifiquement il s'agit de produire la cendre à partir des balles du riz, caractériser la cendre et remplacer une partie du ciment dans la stabilisation des BTC.

2. Matériel et méthode

2.1. Matériel et matière première

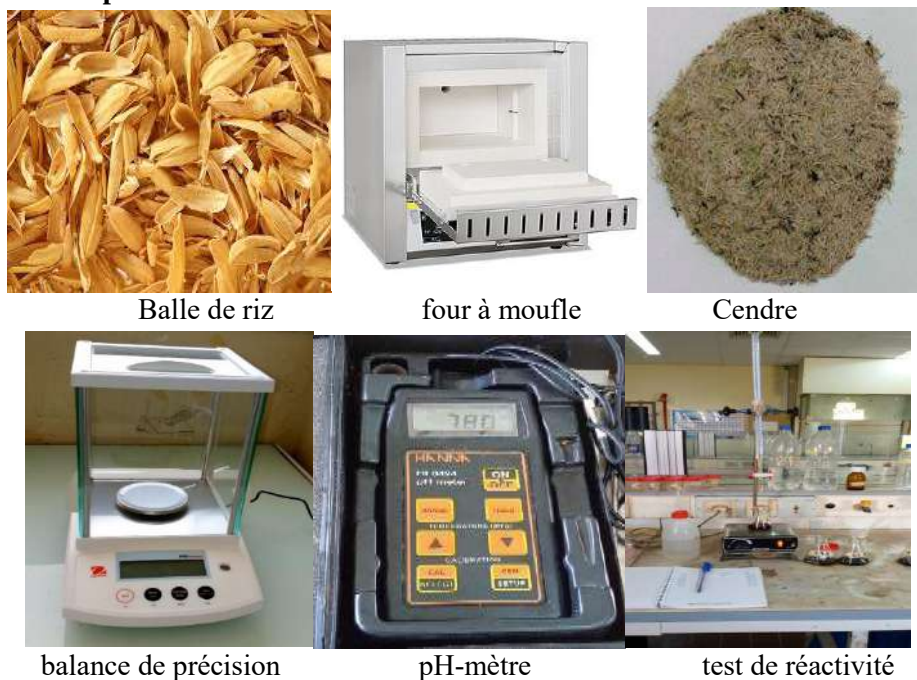


Figure 1 : images de la matière première et de matériel utilisé

2.2. Méthodes

2.2.1. Production de la cendre

La cendre a été produite à l'aide d'un four à moufle

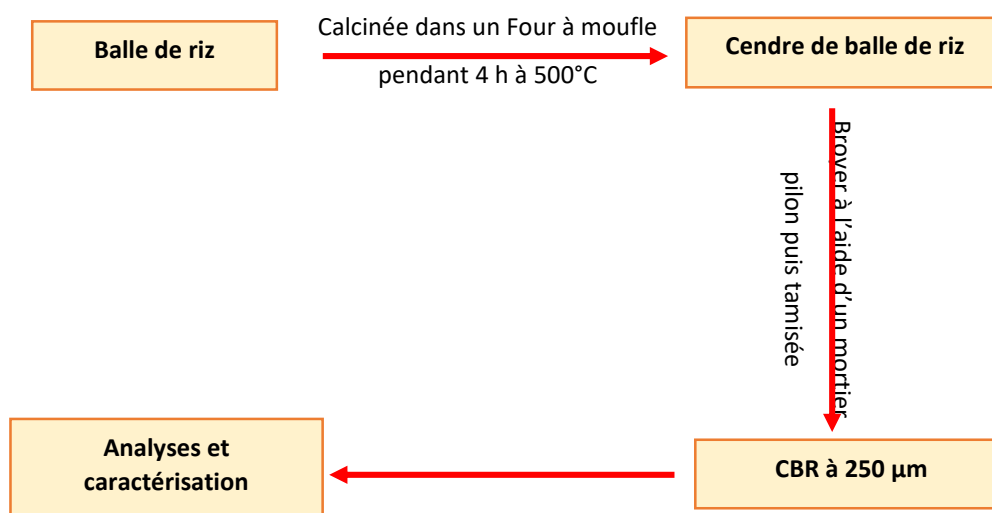


Figure 2 : processus de production de la cendre de balle de riz

2.2.2. Caractérisations

Quelques analyses immédiates ont été effectuées entre autres, le taux d'humidité, le taux de carbone organique, le taux de cendre ou de la matière minérale, la perte au feu.

La composition chimique a été analysée par spectrométrie de fluorescence aux rayons X (XRF). La caractérisation de la structure de la silice, amorphe ou cristalline a été réalisée par diffraction des rayons X (DRX). La

détermination de groupement fonctionnel a été réalisée par la spectrométrie infrarouge a transformée de Fourier (IRTF). L'évaluation de la perte de poids en fonction de la température des échantillons de la cendre a été réalisée par l'analyse thermogravimétrique et thermique différentielle (ATG/ATD).

2.2.3. Test de saturation à la chaux

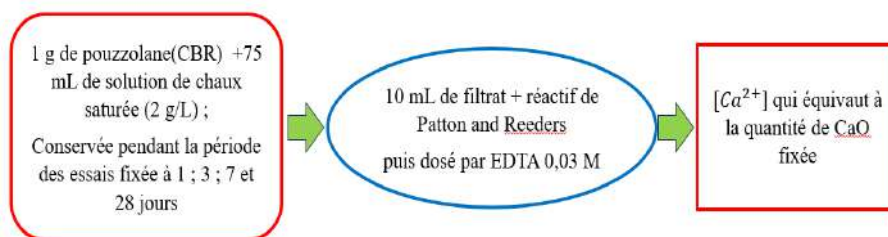


Figure 3 : Processus de test de saturation à la chaux

2.2.4. Formulation



3. Résultats et discussion

3.1. Analyse de la composition chimique de la cendre

Tableau 1 : composition chimique

CBR	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	CaO	K_2O	SO_3	P_2O_5	PF
%	94,06	1,15	0,18	1,21	2,27	0,45	0,44	0,56

Le tableau 1 donne la composition chimique en oxyde de la cendre de balle de riz. La cendre contient plus de 90 % de silice (SiO_2) avec quelques éléments en faible quantité. Selon la norme américaine ASTM C618, une cendre est acceptée dans les matériaux de construction lorsqu'elle remplit les conditions suivantes : la somme des oxydes de silice, d'alumine et du fer soit supérieure ou égale à 70 % et la perte au feu inférieure à 10 %. La cendre produite pourrait être utilisée en tant que pouzzolane naturelle [16].

3.2. Composition minéralogique

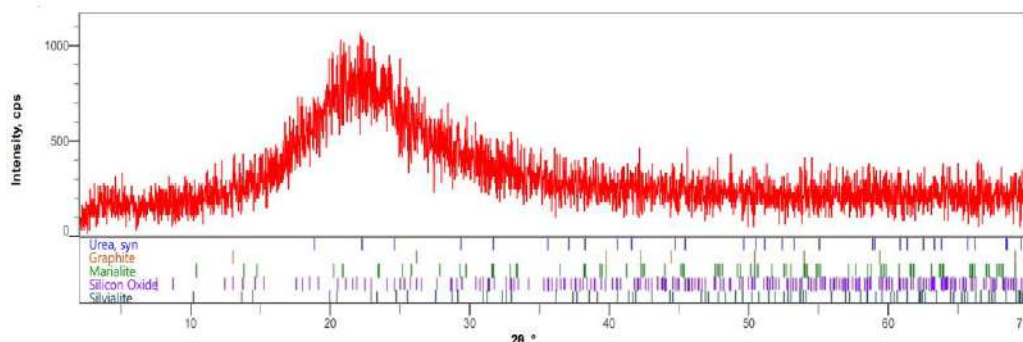


Figure 4 : composition minéralogique

L'analyse de la composition minéralogique de la cendre montre que la cendre la présence d'un halo (pic large centré) vers les 22° à 2θ entre 15 et 28 avec un maximum à environ 21,6) indique la présence d'un matériau totalement amorphe et essentiellement siliceux. D'après quelques auteurs une cendre amorphe est très réactive et pourrait être une excellente pouzzolane pour le remplacement partiel du ciment dans les matériaux de construction.

3.3. Réactivité pouzzolanique

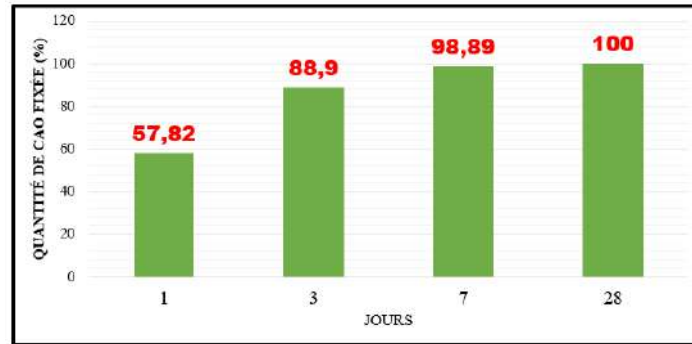


Figure 5 : résultat de test de saturation à la chaux

Le résultat de la figure 5 montre que la cendre de balle de riz produite possède une forte activité pouzzolanique avec une fixation de la chaux de pratiquement 100 % dès le septième jour. Cela pourrait être expliqué par la présence d'une grande quantité de silice amorphe ainsi le contrôle de temps et la température de calcination [17], [18].

3.4. Test d'absorption d'eau des BTC



Figure 6 : photographie de test d'absorption d'eau par immersion après 24

L'analyse de cette figure révèle une nette différence de comportement entre les BTC non stabilisées et stabilisées face à l'eau. En effet, la BTC non stabilisée (A1) se désagrége complètement après seulement 4 heures d'immersion, tandis que la BTC stabilisée au ciment demeure intacte même après 24 heures de contact avec l'eau. Pour les BTC où une partie du ciment a été remplacée par de la cendre (avec un intervalle de substitution de 20%), on observe une résistance à l'immersion totale dans l'eau jusqu'à un taux de remplacement de 60% (A5). Au-delà de 60% (A6), la BTC commence à se dégrader, comme le montre l'échantillon A6.

Ces résultats suggèrent que la substitution de 60% du ciment par de la cendre pourrait constituer une solution optimale pour obtenir des BTC résistantes à l'eau.

Références

- [1] V. Razafitrimo, G. Escadeillas, F. Cassagnabere, R. Randrianja, and E. Rakotomaria, "VALORISATION DES MATERIAUX NATURELS LOCAUX DANS LES CEMENTS/BETONS POUR UN DEVELOPPEMENT DURABLE," p. 25, 2021.
- [2] P. Kr. Pati and S. Kr. Sahu, "Innovative utilization of fly ash in concrete tiles for sustainable construction," *Mater. Today Proc.*, vol. 33, pp. 5301–5305, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.matpr.2020.02.971.
- [3] L. N. Silva, G. F. Rabelo, M. A. Pereira, and C. S. Fonseca, "Use of rice husk as a source of silica for the production of self-flowing refractory castables," *Ceram. Int.*, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.ceramint.2023.02.161.
- [4] S. S. Sam, N. Z. Habib, N. C. Aun, C. S. Yong, M. J. K. Bashir, and T. W. Ping, "Blended waste oil as alternative binder for the production of environmental friendly roofing tiles," *J. Prod. Plus Propre*, vol. 258, no. 120937, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.200.120937.
- [5] W. P. Teoh, Z. H. Noor, C. A. Ng, and Y. C. Swee, "Catalyzed waste engine oil as alternative binder of roofing tiles – Chemical analysis and optimization of parameters," *J. Clean. Prod.*, vol. 174, pp. 988–999, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.jclepro.2017.11.015.
- [6] W. Shen *et al.*, "Is magnesia cement low carbon? Life cycle carbon footprint comparing with Portland cement," *J. Clean. Prod.*, vol. 131, pp. 20–27, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.jclepro.2016.05.082.
- [7] M. C. G. Juenger, F. Winnefeld, J. L. Provis, and J. H. Ideker, "Advances in alternative cementitious binders," *Cem. Concr. Res.*, vol. 41, no. 12, pp. 1232–1243, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.cemconres.2010.11.012.

- [8] J. J. Biernacki *et al.*, “Cements in the 21st century: Challenges, perspectives, and opportunities,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 100, no. 7, pp. 2746–2773, 2017, doi: 10.1111/jace.14948.
- [9] O. J. Oyedepo, L. M. Olanitori, and S. P. Akande, “Performance of coconut shell ash and palm kernel shell ash as partial replacement for cement in concrete,” *J. Build. Mater. Struct.*, vol. 2, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2015, doi: 10.34118/jbms.v2i1.16.
- [10] G. Pennarasi, S. Soumya, and K. Gunasekaran, “Study for the relevance of coconut shell aggregate concrete paver blocks,” *Mater. Today Proc.*, vol. 14, pp. 368–378, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.matpr.2019.04.159.
- [11] L. C. de A. Mello, M. A. S. dos Anjos, M. V. V. A. de Sá, N. S. L. de Souza, and E. C. de Farias, “Effect of high temperatures on self-compacting concrete with high levels of sugarcane bagasse ash and metakaolin,” *Constr. Build. Mater.*, vol. 248, p. 118715, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2020.118715.
- [12] E. M. R. Fairbairn, B. B. Americano, G. C. Cordeiro, T. P. Paula, R. D. Toledo Filho, and M. M. Silvano, “Cement replacement by sugar cane bagasse ash: CO2 emissions reduction and potential for carbon credits,” *J. Environ. Manage.*, vol. 91, no. 9, pp. 1864–1871, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.jenvman.2010.04.008.
- [13] J. Kamau, A. Ahmed, P. Hirst, and J. Kangwa, “Suitability of Corncob Ash as a supplementary Cementitious Material,” *Int. J. Mater. Sci. Eng.*, vol. 4, no. 4, Art. no. 4, Dec. 2016, doi: 10.17706/ijmse.2016.4.4.215-228.
- [14] G. Mounika, R. Baskar, and J. Sri Kalyana Rama, “Rice husk ash as a potential supplementary cementitious material in concrete solution towards sustainable construction,” *Innov. Infrastruct. Solut.*, vol. 7, no. 1, p. 51, Oct. 2021, doi: 10.1007/s41062-021-00643-5.
- [15] T. L. RAHELIARIMANANA, “VALORISATION DES CENDRES DE BALLE DE RIZ POUR LA PRODUCTION DES LIANTS MINÉRAUX.” 2019.
- [16] D. G. Nair, A. Fraaij, A. A. K. Klaassen, and A. P. M. Kentgens, “A structural investigation relating to the pozzolanic activity of rice husk ashes,” *Cem. Concr. Res.*, vol. 38, no. 6, pp. 861–869, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.cemconres.2007.10.004.
- [17] F. Massazza, “10 - Pozzolana and Pozzolanic Cements,” in *Lea's Chemistry of Cement and Concrete (Fourth Edition)*, P. C. Hewlett, Ed., Oxford: Butterworth-Heinemann, 1998, pp. 471–635. doi: 10.1016/B978-075066256-7/50022-9.
- [18] R. Walker and S. Pavía, “Physical properties and reactivity of pozzolans, and their influence on the properties of lime–pozzolan pastes,” *Mater. Struct.*, vol. 44, no. 6, pp. 1139–1150, Jul. 2011, doi: 10.1617/s11527-010-9689-2.

Synthèse et caractérisation d'une électrode de diamant dopé au bore modifiée par des nanoparticules d'or

Kambiré Ollol¹, Alloko Kouamé Serge Pacome², Koffi Konan Sylvestre², Sadia Sahi Placide³, Berté Mohamed², Gnamba Corneil Quand-même², Kimou Kouakou Jocelin², Kouadio Kouakou Etienne², Ouattara Lassiné²

¹UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de constitution et réaction de la matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

³UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

*Corresponding Author E-mail: kambireollo@yahoo.fr

Résumé

L'électrode de diamant dopé au bore (DDB) est connue pour sa stabilité dans les milieux acides et basiques fortement concentrés. Cependant il est nécessaire d'améliorer ses propriétés électrochimiques pour diverses applications. Ainsi notre objectif est de modifier sa surface par des nanoparticules d'or afin d'augmenter ses propriétés analytiques. La synthèse de l'électrode de diamant dopé au bore modifiée par des nanoparticules d'or (Au-DDB) a été réalisée par électrodéposition (chronoampérométrie) en utilisant un processus de trois impulsions de nucléation et de croissance. La caractérisation des électrodes a été réalisée par des méthodes physiques et électrochimiques. Les résultats obtenus ont montré que la surface de Au-DDB contient des nanoparticules d'or de diamètres proches de 100 nm avec quelques agrégats de tailles supérieures à 100 nm. L'électrode Au-DDB possède un domaine d'électroactivité plus large que celui de DDB. La caractérisation avec le couple rédox Benzoquinone-hydroquinone a montré un caractère quasi-réversible de ces deux électrodes. Ces deux électrodes présentent des cinétiques différentes vis-à-vis des dégagements de dioxygène et de dihydrogène. Cette étude a révélé que Au-DDB a un caractère métallique plus accentué que le DDB. En perspective, nous envisageons déterminer les meilleures conditions de dépôt afin de réduire la taille des nanoparticules d'or.

Mots clés : Électrode ; diamant dopé au bore ; nanoparticule d'or.

Synthesis and characterization of a boron-doped diamond electrode modified with gold nanoparticles

Abstract

The boron-doped diamond electrode (DDB) is known for its stability in highly concentrated acidic and basic media. However, it is necessary to improve its electrochemical properties for various applications. Our aim is therefore to modify its surface with gold nanoparticles to enhance its analytical properties. The synthesis of the boron-doped diamond electrode modified with gold nanoparticles (Au-DDB) was carried out by electrodeposition (chronoamperometry) using a three-pulse nucleation and growth process. The electrodes were characterized by physical and electrochemical methods. The results showed that the Au-DDB surface contains gold nanoparticles with diameters close to 100 nm, with a few aggregates larger than 100 nm. The Au-DDB electrode has a wider range of electroactivity than DDB. Characterization with the Benzoquinone-hydroquinone redox couple demonstrated the quasi-reversible character of both electrodes. The two electrodes exhibit different kinetics with regard to dioxygen and dihydrogen evolution. This study revealed that Au-DDB has a more pronounced metallic character than DDB. Looking ahead, we plan to determine the best deposition conditions to reduce the size of gold nanoparticles.

Keywords: Electrode; boron-doped diamond; gold nanoparticle.

1. Introduction

Dans les pays en voie de développement les industries rejettent des polluants organiques et inorganiques dans l'environnement sans traitement. Le devenir environnemental de ces composés ainsi que leur impact sur les différents écosystèmes sont très dépendants de leurs interactions avec le milieu environnant [1]. Parmi ces contaminants, certains sont non biodégradable. De récentes études ont montrées que ces contaminants sont l'origine de diverses anomalies biologiques observées chez de nombreuses espèces animales et chez l'Homme [2]. Une prise de conscience générale est donc nécessaire afin de proposer des méthodes de traitement des eaux usées. Ainsi, des efforts considérables sont faits par la mise en place de nouvelles technologies en vue de la dépollution de ces eaux contaminées avant leur rejet dans le milieu naturel. La dépollution de ces usées peut être réalisée par différents procédés, incluant des traitements physico-chimiques et biologiques, qui sont actuellement bien maîtrisés à l'échelle du laboratoire et appliqués à grande échelle dans l'industrie [3]. Parmi ces méthodes les méthodes électrochimiques ont montré leur efficacité dans l'élimination des polluants non biodégradable [4]. Cependant, l'efficacité de cette méthode est liée à la nature de l'électrode utilisée [5-7]. Selon la littérature, l'électrode de diamant dopé au bore (DDB) possède des propriétés électrochimiques intéressantes. Elle est également stable dans les milieux acides et basiques fortement concentrés. Elle a déjà été utilisée à cet effet par Kouadio et al [8] au sein de notre laboratoire pour dégrader le paracétamol. Dans ce présent travail, la surface de

l'électrode de diamant dopé au bore sera modifiée par des nanoparticules d'or dans l'objectif d'améliorer la réponse électrochimique, notamment en raison de l'augmentation de la surface active et les propriétés intrinsèques de l'or dans la taille du nanomètre [9].

2. Matériel et méthodes

2.1. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans ce travail sont HAuCl_4 (LDP TORLAN), H_2SO_4 (Sigma-Aldrich), KClO_4 (Merck), NaOH (Panreac), $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ (Panreac) et $(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2)$ (Panreac).

2.2. Synthèse de l'électrode de diamant dopé au bore modifiée par des nanoparticules d'or (Au-DDB)

L'électrode Au-DDB a été obtenue par une électrodéposition (chronoampérométrie) avec un protocole qui comprend trois impulsions de nucléation et de croissance. Le mode de dépôt est le suivant :

- Le DDB a été traitée par voltammétrie dans H_2SO_4 (0,1 M) avec 20 cycles de balayage en potentiel dans une plage de potentiel allant de -1,17 à 2,53 V/ECS à 100 mV/s pour hydrater la surface de l'électrode ;

- Le dépôt électrochimique des nanoparticules d'or (AuNPs) sur DDB a été réalisé dans une solution de H_2SO_4 (0,1 M) contenant 0,5 M de HAuCl_4 . La synthèse des AuNPs a été faite par l'application de trois impulsions de nucléation et de croissance. Le potentiel et la durée des impulsions ont été sélectionnés pour induire une réduction rapide de l'or en évitant l'évolution de l'hydrogène et maintenir ainsi la terminaison de surface de l'électrode. Les impulsions de nucléation ont été réalisées à -0,7 V/ECS pendant 2 s suivies par des impulsions de croissance à 0 V/ECS de durée 150, 300 et 800 s pour la croissance finale [10].

2.3. Caractérisation physique des électrodes

Les électrodes ont été caractérisées à partir de la spectroscopie à énergie dispersive (EDS) et des microphotos effectuées au moyen de l'appareil de microscopie électronique à balayage (MEB).

2.4. Caractérisation électrochimique des électrodes

Un autolab potentiostat ECHOCHEMIE PGSTAT 20 connecté à un ordinateur et contrôlé par le logiciel GPES a été utilisé pour la caractérisation électrochimique. Une cellule conventionnelle à trois électrodes a été utilisée avec BDD ou Au-DDB comme électrodes de travail, un fil de platine enroulé comme contre électrode et une électrode au calomel saturé (ECS) comme électrode de référence.

3.1. Caractérisation physique des électrodes

3.1.1 Caractérisation des électrodes par microscopie électronique à Balayage (MEB)

La caractérisation de la morphologie des électrodes (DDB et Au-DDB) a été réalisée par MEB (Figure 1). DDB (Figure 1A) présente des cristaux poly disperses orientés aléatoirement de taille dans l'ordre de quelques micromètres dont les faces prédominantes sont cubiques et triangulaires. Elle montre en outre le caractère polycristallin du DDB avec des grains fortement collés les uns aux autres. Au-DDB (Figures 1B et 1C) présente une surface recouverte par des nanoparticules montrant ainsi que la surface du DDB a été modifiée par les nanoparticules d'or. Les figures 1B et 1C montrent une répartition uniforme des nanoparticules d'or quel que soit le grossissement de l'image avec une moyenne de diamètre autour de 100 nm avec quelques agrégats de tailles supérieures à 100 nm. Ces figures montrent que notre électrode est composée de cristaux de diamant dopé au bore sur lesquels se fixent des nanoparticules d'or car les cristaux de DDB sont observés au bas des nanoparticules d'or.

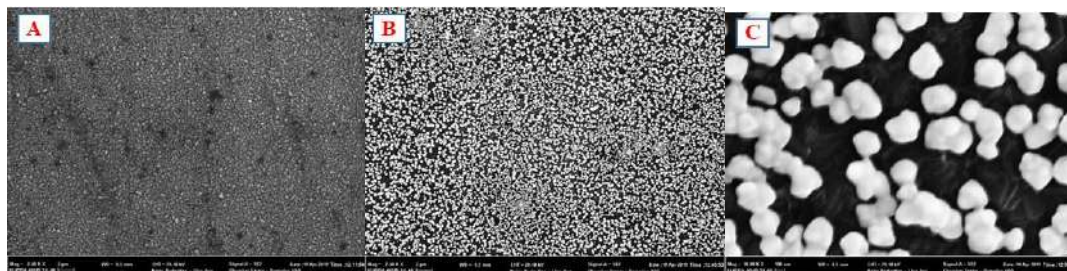


Figure 1 : photographies de la surface du DDB (A) et du Au-DDB (B et C)

3.1.2. Analyse par spectroscopie à énergie dispersive (EDS)

Les mesures EDS ont permis de déterminer la composition chimique de la surface des électrodes et les différentes proportions de ces éléments.

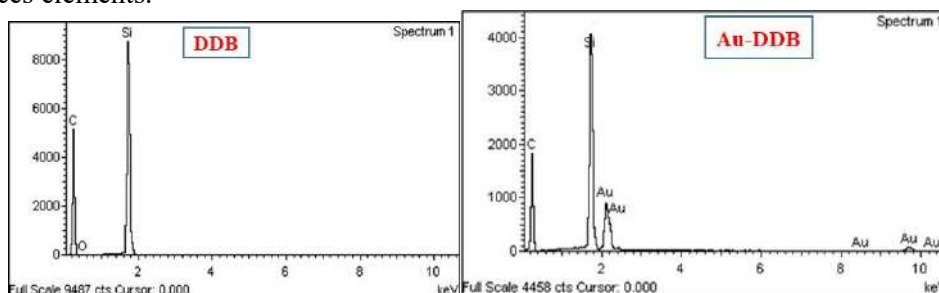


Figure 2 : Spectre EDS des électrodes DDB et Au-DDB

Le spectre de DDB (Figures 2) présente deux pics intenses à 0,1 KeV et 1,9 KeV qui caractérisent respectivement la présence de carbone et du silicium. On note également la présence d'atomes d'oxygène. Le spectre de Au-DDB présente des pics caractéristiques du carbone, du diamant et du silicium qui étaient présents sur le spectre de DDB. Plusieurs pics caractéristiques de l'or sur la surface de cette électrode ont été également observé. Cela confirme que la surface de DDB a été modifiée par des nanoparticules d'or.

3.2. Caractérisation électrochimique des électrodes

3.2.1. Etude du couple benzoquinone-hydroquinone

Les voltammogrammes de la Figure 3 ont été réalisés en présence d'une concentration équimolaire (40 mM) du couple redox Benzo-hydroquinone dans 0,1 M de KClO_4 . On note la présence des pics au sens aller et au sens retour du balayage en potentiel sur les deux électrodes qui sont respectivement les pics d'oxydation et de réduction du Benzoquinone et de l'hydroquinone. Le potentiel du pic d'oxydation de Au-DDB est inférieur à celui de DDB. Cependant celui de son pic de réduction est supérieur à celui de DDB. On note également que le transport des charges est plus rapide avec le Au-DDB que le DDB. Cela montre que Au-DDB a un caractère plus quasi métallique que le DDB.

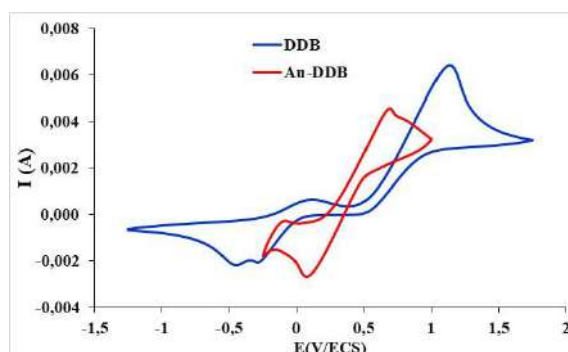


Figure 3 : Voltammogrammes cycliques de DDB et Au-DDB dans le couple redox benzoquinone-hydroquinone (40 mM) à 25 mV/s

Tableau I : Valeurs de $|I_{pa}/I_{pc}|$ et ΔE_p ($|E_{pa} - E_{pc}|$) pour 40 mM du couple redox Benzo-hydroquinone et pour des vitesses de balayage de 10 et 40 mV/s.

V (mV /s)	DDB		Au-DDB		rapport
	$ I_{pa}/I_{pc} $	ΔE_p (V)	$ I_{pa}/I_{pc} $	ΔE_p (V)	
10	3,990	1,103	3,571	0,682	
40	2,079	1,522	1,760	0,931	

courants de pic cathodique et anodique ($|I_{pa}/I_{pc}|$) et l'écart de potentiels entre le courant de pic anodique et cathodique ΔE_p ($|E_{pa} - E_{pc}|$) ont été déterminés pour 2 vitesses de balayage en potentiel. Les résultats sont consignés dans le tableau I. On note que ΔE_p est supérieur à 60 mV et $|I_{pa}/I_{pc}|$ est supérieur à un. Cela montre que le couple Benzo-hydroquinone a un comportement quasi réversible sur les électrodes DDB et Au-DDB [11].

3.2.2. Etude en milieu acide sulfurique

La figure 4 présente les voltammogrammes linéaires de DDB et Au-DDB en milieu acide sulfurique (0,1 M) à 25 mV/s. Celui de DDB présente trois régions. De -1,5 à -0,67 V/ECS, on observe une augmentation rapide du courant correspondant au dégagement de H_2 . Puis de -0,67 V/ECS à 1,82 V/ECS, on note une absence de réaction électrochimique traduit par un courant quasi nul. En effet, il n'y a eu aucune modification (pic caractéristique à

la formation d'une couche d'oxyde) de la surface de l'électrode dans la solution électrolytique. Cette zone est appelée le domaine d'électroactivité de l'électrode ou le domaine de stabilité de l'électrolyte support avec une fenêtre de potentiel de $\Delta E = 2,49$ V traduisant sa stabilité vis à vis de la corrosion acide. A partir de 1,82 V/ECS, nous observons une augmentation rapide du courant caractérisant la réaction de dégagement de O_2 .

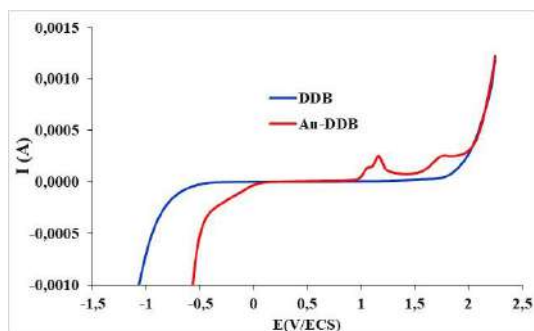


Figure 4 : Voltammogrammes linéaires de DDB et Au-DDB dans H_2SO_4 (0,1 M) à 25 mV/s

Le voltammogramme de Au-DDB présente des pics à 1,22 V/ECS, caractéristique de l'oxydation de l'or. Ces résultats montrent bien que la surface du DDB a été modifiée effectivement par l'or. Au-DDB aurait donc plus de surfaces actives que le DDB. A partir de 1,91 V/ECS, nous observons une augmentation rapide du courant correspondant au dégagement de O_2 . DDB dégage plus vite le O_2 que Au-DDB par contre il dégage moins vite le H_2 . En effet les dégagements de H_2 et de O_2 se font respectivement à -0,67 et 1,82 V/ECS pour le DDB ; -0,6 et 1,91 V/ECS pour le Au-DDB. Donc DDB est plus électrocatalytique pour le dégagement de O_2 que Au-DDB. Par contre, il l'est moins pour le dégagement de H_2 .

3.2.3. Etude en milieu neutre ($KClO_4$)

Les voltammogrammes enregistrés en milieu $KClO_4$ (0,1 M) avec les deux types d'électrodes sont présentés sur la Figure 5. Avec le DDB, nous avons le dégagement de H_2 de -1,5 à -0,2 V/ECS. Sur ce voltammogramme, nous observons aussi une évolution rapide du courant à partir de 1,6V/ECS. Le domaine d'électroactivité de l'électrode pris entre le potentiel de début de dégagement de H_2 et celui de O_2 vaut 3,1 V/ECS. Dans ce domaine, on observe un courant quasi nul suivi d'une vague d'oxydation (1,6 à 2,2 V/ECS) qui serait imputable à la présence d'impuretés ou d'une couche d'oxyde à la surface de l'électrode. En effet la présence de couche d'oxyde serait responsable d'une augmentation du courant ainsi que des transitions redox de surface. En plus, la formation d'oxyde de surface occasionnerait une diminution de la stabilité de l'électrode [12]. D'où l'électrode serait plus stable dans le domaine de potentiel allant de -0,2 à 1,6 V/ECS.

Nous observons avec Au-DDB, un dégagement de H_2 à partir de -1,8 V/ECS suivi d'un plateau de diffusion entre -1,8 et 0 V/ECS qui proviendrait de la réduction de l'oxygène dissous. Nous observons aussi de 0 à 1 V/ECS un domaine de courant quasiment nul suivi d'un pic à 1,2 V/ECS qui serait relatif à la formation de l'oxyde d'or. Cela atteste que la surface du DDB a été modifiée. Le dégagement de O_2 débute à 1,7 V/ECS caractérisé par une augmentation rapide du courant. Entre les zones de dégagement de O_2 et de H_2 , la fenêtre de potentiel est $\Delta E = 3,5$ V.

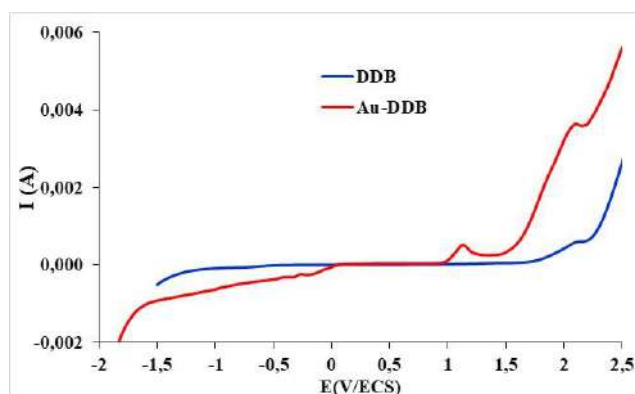


Figure 5 : Voltammogrammes linéaires de DDB et Au-DDB dans $KClO_4$ (0,1 M) à 25 mV/s

3.2.4. Etude en milieu basique (NaOH)

La Figure 6 présente les voltammogrammes linéaire de DDB et Au-DDB en milieu NaOH (0,1 M). Dans ce milieu, le domaine d'électroactivité du DDB vaut 1,31 V/ECS et s'étend de -0,72 à 0,59 V/ECS. Il présente en outre un courant quasi nul montrant ainsi sa stabilité vis-à-vis de la corrosion basique dans ce domaine. Le dégagement de H₂ débute à un potentiel de -0,72 V/ECS et celui de O₂ se fait à partir de 0,59 V/ECS.

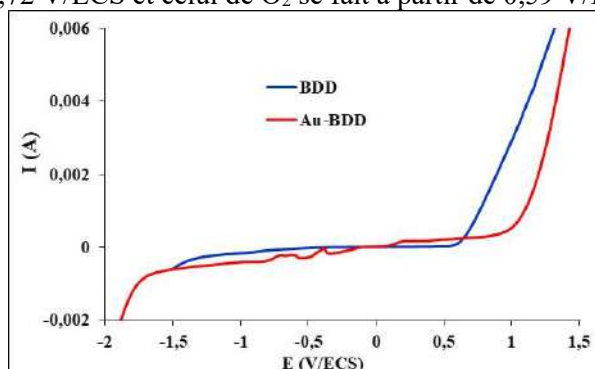


Figure 6: Voltammogrammes linéaires de DDB et Au-DDB dans NaOH (0,1 M) à 25 mV/s

Avec le voltammogramme linéaire de Au-DDB, l'on observe un dégagement de H₂ à -1,67 V/ECS suivi d'un plateau (-1,67 à -1,2 V/ECS) relatif à la réduction de l'oxygène dissous. Ce plateau est en amont d'une augmentation du courant (-1,2 à -0,7 V/ECS). C'est la zone de cinétique mixte. De -0,7 à 0,95 V/ECS, nous avons un domaine où le courant est quasi nul qui correspond au domaine de double couche. Il s'en suit une augmentation rapide du courant qui marque le début de dégagement de O₂ à 0,6 V/ECS. Le domaine de stabilité de l'électrolyte support vaut $\Delta E = 2,37$ V/ECS. Comparativement au DDB, Au-DDB dégage moins vite le O₂ en milieu basique. O₂ est produit à partir de 0,59 V/ECS avec DDB par contre avec Au-DDB la réaction de dégagement de O₂ débute à 0,98 V/ECS. L'électrode de Au-DDB serait plus capable à oxyder une diversité de composés organiques dans cette solution car son domaine d'électroactivité est plus large.

4. Conclusion

Au-DDB a été obtenue par modification de la surface du DDB par des nanoparticules d'or. Le dépôt des nanoparticules d'or sur la surface du DDB s'est fait par électrodéposition en utilisant la chronoampérométrie. La caractérisation physique des deux électrodes a confirmé la présence des nanoparticules d'or sur la surface de Au-DDB. Les mesures de caractérisation électrochimique menées dans divers électrolytes supports notamment le milieu Hydroquinone/ Benzoquinone ont permis de montrer que ces électrodes ont des propriétés quasi métalliques. Ces investigations montrent aussi que Au-DDB possède une cinétique de réaction plus élevée par rapport à DDB. Ces deux électrodes présentent des cinétiques différentes vis-à-vis des réactions de dégagements de dioxygène et de dihydrogène. Au-DDB possède un domaine d'électroactivité plus large que celui de DDB.

5. Références bibliographiques

- [1] Behera, B. et Reddy, V.R. Economic and Political Weekly (2002) 37(3); 257.
- [2] Dutta, S.; Adhikary, S.; Bhattacharya, S.; Roy, D.; Chatterjee, S.; Chakraborty, A.; Banerjee, D.; Ganguly, A.; Nanda, S. et Rajak, P. Journal of Environmental Management (2024) 353; 120103.
- [3] Kouadio, K.E.; Kambiré, O.; Koffi, K.S. et Ouattara, L. Journal of Electrochemical Science and Engineering (2021) 11(2); 71.
- [4] Kouakou, K.E. ; Pohan, L.A. ; Kambire, O. et Ouattara, L. RAMReS Sciences des Structures et de la Matière (2021) 4 ; 1.
- [5] Appia F.T.A., Gnamba C.Q.-M., Kambiré, O., Berté M., Sadia S.P., Sanogo I. et Ouattara L. Journal of Electrochemical Science and Technology (2016) 7(1): 82.
- [6] POHAN, L.A.G. ; KAMBIRÉ, O. ; BERTÉ, M. et OUATTARA, L. International Journal of Biological and Chemical Sciences (2020) 14(4) ; 1479.
- [7] Kimou, K.J.; Kambiré, O.; Koffi, K.S.; Kouadio, K.E.; Koné, S. et Ouattara, L. International Research Journal of Pure & Applied Chemistry (2021) 22 (11) ; 29.
- [8] Kouadio, K.E. ; Kambiré, O. ; Koffi, K.S. ; Kimou, K.J. ; Koné, S. et Ouattara, L. RAMReS Sciences des Structures et de la Matière (2021) 3 ; 1.
- [9] Wahyuni, W.T. ; Ivandini, T.A. ; Saepudin, E. et Einaga, Y. Anal. Biochem. (2016) 497 ; 68.
- [10] Kambiré, O. ; Alloko, K.S.P. ; Pohan, L.A.G. ; Koffi, K.S. et Ouattara, L. International Research Journal of Pure & Applied Chemistry, 22 (4) (2021) 23.
- [11] Pleskov, Y.V. Russian Journal of Electrochemistry (Translation of Electrochemical) (2002) 38; 1275.
- [12] Gnamba C. Q-M. Contribution à l'étude électrochimique de l'oxydation de produits pharmaceutiques sur l'électrode de diamant dopé au bore : application aux traitements des eaux usées du CHU de Treichville. Thèse Unique de Doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Cote d'Ivoire. 2017.

Impact de l'estimation des oxydes de potassium et des pyrophosphates sur les propriétés diélectriques des poussières

Tamboura Mamadou ^{1,2*}, Gosteva Ekaterina Aleksandrovna², Mikhailova Anna Mikhailovna ¹, Diawara Mohamed Lamine Ousseiny¹, Kayentao Dodo¹

1-Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)

2-National University of Science and Technology MISIS

**mamadoutamboura@yahoo.fr*

Résumé : La détermination de la constante diélectrique d'un mélange est essentielle pour comprendre ses propriétés électriques. Cette tâche est généralement réalisée en utilisant des modèles mathématiques qui tiennent compte des constantes diélectriques de chaque composant chimique et de leur volume occupé dans le mélange[1], [2]. Cependant, dans des études antérieures, les constantes diélectriques des oxydes de potassium (K_2O) et des pyrophosphates (P_2O_5) ont été omises, principalement en raison de leur faible probabilité de présence naturelle et de l'absence de données spécifiques dans la littérature.

Malgré cela, des recherches ont révélé l'importance de l'oxyde de potassium dans l'influence des constantes diélectriques des mélanges[3]. Ainsi, il est crucial d'intégrer ces deux composants dans les calculs théoriques des constantes diélectriques pour obtenir des résultats plus précis.

Des valeurs théoriques pour les constantes diélectriques des oxydes de potassium et des pyrophosphates ont été proposées, basées sur la formule de Clausius-Mossotti. Ces valeurs ont été comparées à celles obtenues par des mesures expérimentales sur des échantillons recueillis. Cette comparaison a permis de valider les modèles théoriques et d'améliorer la compréhension des interactions chimiques dans les mélanges.

Mots-clés : composition chimique, constante diélectrique, oxyde de potassium, pyrophosphates, calculs théoriques

Impact of estimating potassium oxides and pyrophosphates on the dielectric properties of dusts

Abstract Determining the dielectric constant of a mixture is crucial for understanding its electrical properties. This task is typically accomplished using mathematical models that consider the dielectric constants of each chemical component and their occupied volume in the mixture. However, in previous studies, the dielectric constants of potassium oxides (K_2O) and phosphorus pentoxide (P_2O_5) were neglected, primarily due to their low natural occurrence and the lack of specific data in the literature.

Despite this, research has highlighted the importance of potassium oxide in influencing the dielectric constants of mixtures. Therefore, it is essential to include these two components in theoretical calculations of dielectric constants for more accurate results.

Theoretical values for the dielectric constants of potassium oxides and phosphorus pentoxide have been proposed, based on the Clausius-Mossotti formula. These values were compared to those obtained by experimental measurements on collected samples. This comparison has allowed for the validation of theoretical models and improved the understanding of chemical interactions in mixtures.

Keywords: dust properties, chemical composition, dielectric constant, wet granulometry

6. Introduction

La détermination de la constante diélectrique d'un mélange est essentielle pour comprendre ses propriétés électriques. La constante diélectrique elle peut être relié à la composition chimique en utilisant des modèles mathématiques qui tiennent compte des constantes diélectriques de chaque composant chimique et de leur volume occupé dans le mélange[1], [2]. Dans les travaux de Sharif [1] solution de deux modèles sont utilisé pour prédire les constantes diélectriques des dépôts de poussières : le modèle de Looyenga [4] (équation 1) et le modèle des mélanges proposés par Neelakantaswamy et al. [5] (équation 2).

$$\varepsilon_m^{\frac{1}{3}} = \sum_{i=1}^n v_i \varepsilon_i^{\frac{1}{3}} \quad (1)$$

$$\varepsilon_m = \prod_{i=1}^n \varepsilon_i^{v_i} \quad (2)$$

Où ε_m est la constante diélectrique du dépôt, ε_i est la constante diélectrique de chaque composant et v_i le volume occupé par cette composante.

La spectroscopie de fluorescence des rayons X permet de déterminer la composition en oxydes métallique des échantillons de poussières. Cette méthode permet de déterminer la présence de plus de 80 éléments [6] et reste

assez limité pour les particules légères. Ainsi la détermination d'éléments tel que le carbone, l'oxygène et l'hydrogène s'avère être problématique. Des travaux récents ont montré que contrairement aux systèmes organiques, de nombreux systèmes inorganiques sont caractérisés par des constantes de Hamaker relativement élevées [7]. Compte tenu de la relation établie entre la constante de Hamaker et les constantes diélectriques, nous pouvons estimer que les constantes diélectriques des systèmes inorganiques sont plus élevées que celle des systèmes organiques. Cela permettrait éventuellement de minimiser l'impact des particules organiques sur la constante de Hamaker et dans la détermination de la constante diélectrique de nos particules.

L'analyse xrf nous montre également la présence d'oxyde de potassium et d'oxyde de phosphore. Les travaux [1] négligent la présence de ces oxydes compte tenu du fait qu'ils ne peuvent pas exister sous cette forme dans la nature. Ce résultat est dû à la présence de potassium et de phosphore dans les échantillons. La xrf est utilisée pour la détermination de ces éléments dans le sol aussi bien en agronomie[8] qu'en géologie[9] où ils jouent un rôle majeur. La xrf effectue une approximation de ces éléments et les présente sous la forme d'oxyde. Nous considérerons que cette forme est toutefois possible compte tenu de l'environnement en oxygène dû aux autres oxydes métalliques.

Les travaux [3] montrent que l'oxyde de potassium influence la constante diélectrique de son milieu qui le contient ce qui implique une nécessité de sa considération lors de l'estimation de la constante diélectrique d'un mélange. Compte tenu de l'absence dans la littérature d'une valeur pour cet oxyde, sa constante diélectrique a été déterminée grâce à la relation de Clausius–Mossotti (équation 3) qui établit une relation entre la constante diélectrique et la polarisabilité moléculaires d'un matériau.

$$\frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} = \frac{N\alpha}{3\varepsilon_0} \quad (3)$$

Où ε est la constante diélectrique du matériau, N le nombre de densité de la molécule, α la polarisabilité moléculaire. Une approche similaire a été appliquée au phosphore et les résultats ont été inscrits dans la table 2. Ainsi, il est crucial d'intégrer ces deux composants dans les calculs théoriques des constantes diélectriques pour obtenir des résultats plus précis.

7. Matériel et méthodes

Les échantillons de poussière ont été prélevés sur des installations photovoltaïques dans la zone sahélienne et soudano-sahélienne.

Le prélèvement a été effectué à l'aide de brosse métallique en absence d'eau. Pour obtenir une quantité suffisante de poussière à analyser, les prélèvements ont été effectués sur plusieurs jours. Les échantillons ont été conservés conformément l'ISO 14488 :2007 Échantillonnage et division des échantillons pour la caractérisation des propriétés particulières.

La composition minéralogique a été déterminée à l'aide de l'analyse XRF sur l'analyseur XRF Niton XL3t Gold+ au centre de mesure de la faculté des sciences et techniques de l'université des sciences et techniques de Bamako.

Pour la détermination directe de la constante diélectrique les particules de poussière ont été comprimées en un comprimé de 1mm d'épaisseur et 10 mm de diamètre. Le comprimé obtenu a été placé entre des électrodes circulaires en cuivre. La capacité du condensateur ainsi obtenu a été déterminée en tenant compte des effets de bord.

8. Résultats et discussion

3.2. Composition chimique

*La table I donne les résultats des pourcentages massiques des oxydes majoritaires. Certains résultats n'ont pas été considérés du fait qu'ils peuvent être dû à des bruits de fond.

Tableau I: Résultats de la XRF des échantillons

Elément	%
SiO ₂	51,64
Fe ₂ O ₃	11,97
CaO	11,2
K ₂ O	3,17
Al ₂ O ₃	14,61
P ₂ O ₅	0,879
TiO ₂	2,47

SO₃	0,755
MgO	0,838
Cr₂O₃	0,0294

Pour déterminer les constantes diélectriques selon les modèles de Looyenga et celui du mélange, les pourcentages massiques ont été convertis en pourcentages volumiques conformément aux travaux [1]. Une similitude avec certains éléments présents dans cette zone nous ont permis d'utiliser les valeurs des constantes diélectriques présents dans ces travaux. Pour les éléments propres à la région de notre étude, les valeur ont été obtenus à partir d'autres travaux[10], [11] ou d'un manuel de référence[12].

Tableau II : Dielectric constant of metal oxides

Elément	ϵ	Sources
Fe₂O₃	16,58	[1]
CaO	11,8	[10]
K₂O	1,38	
SO₃	3,6	[12]
SiO₂	4,43	[1]
Al₂O₃	12,66	[1]
MgO	9,65	[12]
Cr₂O₃	13,3	[13]
TiO₂	63,7	[11]
P₂O₅	2,17	

.Tableau III : dielectric constant of samples

Methods	Dielectric constant	Deviate %
Looyenga with K₂O and P₂O₅	6,5463	8,54%
Mixture with K₂O and P₂O₅	6,0478	0,97%
Looyenga without K₂O and P₂O₅	7,8904	23,85%
Mixture without K₂O and P₂O₅	7,3175	18,17%
Experimental data	5,9875	-

4. Conclusion

Les constantes diélectriques des mélanges calculés permettent de conclure que le modèle du mélange de Neelakantaswamy est plus adapté pour estimer les constantes diélectriques de la région. La déviation de moins de 1% entre la valeur en tenant compte des constantes diélectrique des oxydes de phosphore et de potassium obtenue par l'équation de Clausius-Mossotti permettent de réduire la marge d'erreur lors de cette estimation.

5. Bibliographie:

- [1] S. Sharif, « Chemical and mineral composition of dust and its effect on the dielectric constant », *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 33, n° 2, p. 353-359, mars 1995, doi: 10.1109/36.377935.
- [2] M. Tamboura et E. A. Gosteva, « Overview of Factors Affecting Dust Deposition on Photovoltaic Cells and Cleaning Methods », *Smart Grid Renew. Energy*, vol. 15, n° 01, p. 49-78, 2024, doi: 10.4236/sgre.2024.151004.
- [3] G. Srinivas, B. Ramesh, J. Siva Kumar, Md. Shareefuddin, M. N. Chary, et R. Sayanna, « Mixed alkali effect in the physical and optical properties of $x\text{K}_2\text{O}-(25-x)\text{Na}_2\text{O}-12.5\text{MgO}-12.5\text{BaO}-50\text{B}_2\text{O}_3$ glasses », *J. Taibah Univ. Sci.*, vol. 10, n° 3, p. 442-449, juill. 2016, doi: 10.1016/j.jtusc.2015.09.002.
- [4] H. Looyenga, « Dielectric constants of heterogeneous mixtures », *Physica*, vol. 31, n° 3, p. 401-406, mars 1965, doi: 10.1016/0031-8914(65)90045-5.
- [5] P. S. Neelakantaswamy, B. V. R. Chowdari, et A. Rajaratnam, « Estimation of permittivity of a compact crystal by dielectric measurements on its powder: A stochastic mixture model for the powder-dielectric », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 16, n° 9, p. 1785-1799, sept. 1983, doi: 10.1088/0022-3727/16/9/026.
- [6] I. P. Sverchkov, V. A. Matveeva, et M. A. Chukaeva, « Determination of carbon, oxygen, hydrogen and nitrogen content in coals using WDXRF scattering spectra », *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.*, vol. 207, p. 106738, sept. 2023, doi: 10.1016/j.sab.2023.106738.
- [7] L. Bergström, « Hamaker constants of inorganic materials », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 70, p. 125-169, juill. 1997, doi: 10.1016/S0001-8686(97)00003-1.
- [8] I. Ben Amar et al., « XRF online analyzer for measurements of P₂O₅ content in phosphate slurry », *Sci. Rep.*, vol. 13, n° 1, p. 17925, oct. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-45181-5.
- [9] M. Pilakouta, N. Kallithrakas-Kontos, et G. Nikolaou, « Determining the ⁴⁰K radioactivity in rocks using x-ray spectrometry », *Eur. J. Phys.*, vol. 38, n° 5, p. 055803, sept. 2017, doi: 10.1088/1361-6404/aa78ba.

- [10] E. L. Albuquerque et M. S. Vasconcelos, « Structural, electronics and optical properties of CaO », *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 100, n° 4, p. 042006, mars 2008, doi: 10.1088/1742-6596/100/4/042006.
- [11] A. Wypych *et al.*, « Dielectric Properties and Characterisation of Titanium Dioxide Obtained by Different Chemistry Methods », *J. Nanomater.*, vol. 2014, p. 1-9, 2014, doi: 10.1155/2014/124814.
- [12] W. M. Haynes, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. in CRC Handbook of Chemistry and Physics. CRC Press, 2014. [En ligne]. Disponible sur: <https://books.google.ru/books?id=bNDMBQAAQBAJ>
- [13] P. H. Fang et W. S. Brower, « Dielectric Constant of Cr₂O₃ Crystals », *Phys. Rev.*, vol. 129, n° 4, p. 1561-1561, févr. 1963, doi: 10.1103/PhysRev.129.1561.

Caractérisation de deux argiles de l'ouest de la Côte d'Ivoire en vue de les valoriser dans les ciments bas carbone

Manouan Wedjers Max Robin¹, Gouré Doubi Bi Irié Hervé², Kouakou Lébé Prisca Marie-Sandrine³, Koffi Atta Kouamé Brice¹, Kouamé Alfred Niamien³, Méité Namory³

¹UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Man, Côte d'Ivoire.

²UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de constitution et de réaction de la matière Université Felix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Résumé : Les matériaux à base de ciment sont les plus utilisés dans l'industrie du bâtiment à travers le monde [1]. Cependant, la fabrication du ciment nécessite une importante consommation d'énergie [2] et produit par conséquent une grande quantité de dioxyde de carbone [3]. Plusieurs études menées sur les argiles calcinées ont montré qu'elles peuvent agir comme pouzzolane ou comme ciment complémentaire [4]. Ce travail a été consacré à l'étude des propriétés physico-chimiques de deux sols argileux du District des Montagnes (Ouest de la Côte d'Ivoire) en vue de leur utilisation dans la fabrication de ciment bas carbone. Ces échantillons ont été caractérisés par plusieurs techniques expérimentales (la diffraction des rayons X, la spectroscopie infrarouge, la spectrométrie d'émission atomique à plasma inductif, l'analyse thermique différentielle et gravimétrie). Il ressort des différents résultats obtenus que les deux échantillons d'argiles contiennent principalement du quartz (52,91% et 51,72%), de la kaolinite (36,60% et 41,6%) et des phases associées, à savoir la goéthite et l'hématite (13,47% et 11,00%). Les résultats obtenus montrent que les échantillons étudiés appartiennent à la famille des kaolinites. Après calcination, ils pourraient avoir une bonne activité pouzzolanique et donc être utilisés dans la fabrication de ciments à faible teneur en carbone.

Mots clés : quartz, kaolinite, district des montagnes, ciments bas carbone

Characterisation of two clays from western Côte d'Ivoire with a view to their use in low-carbon cements

Abstract: Cement-based materials are the most widely used materials in the construction industry worldwide [1]. However, the manufacture of cement requires a great deal of energy [2] and consequently produces large quantities of carbon dioxide [3]. Several studies carried out on calcined clays have shown that they can act as pozzolans or as supplementary cementing materials [4]. This study focused on the physico-chemical properties of two clay soils from the District des Montagnes (western Côte d'Ivoire) with a view to their use in the manufacture of low-carbon cement. The samples were characterised using several experimental techniques (X-ray diffraction, infrared spectroscopy, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, differential thermal analysis and gravimetry). The results show that the two clay samples contain mainly quartz (52.91% and 51.72%), kaolinite (36.60% and 41.6%) and associated phases, namely goethite and haematite (13.47% and 11.00%). The results obtained show that the samples studied belong to the kaolinite family. After calcination, they could have good pozzolanic activity and therefore be used in the manufacture of low-carbon cements.

Keywords: quartz, kaolinite, mountain district, low-carbon cements.

1. Introduction

Les matériaux à base de ciment sont les plus utilisés dans l'industrie du bâtiment à travers le monde [1]. Cependant, la fabrication du ciment nécessite une importante consommation d'énergie [2] et produit par conséquent une grande quantité de dioxyde de carbone [3]. Ce gaz provient essentiellement de la décarbonatation du calcaire (CaCO_3) utilisé lors d'élaboration du clinker, principal constituant du ciment. Pour diminuer l'émission de CO_2 , il est judicieux d'utiliser des matériaux cimentaires alternatifs pour remplacer partiellement le clinker. L'utilisation d'argile calcinée apparaît aujourd'hui comme une solution alternative prometteuse, car ces matières premières sont relativement abondantes et disponibles dans de nombreuses régions du monde et particulièrement en Côte d'Ivoire. Elles sont obtenues par calcination (à des températures inférieures à 1000°C), un procédé qui consiste en une déshydroxylation, sans émission de CO_2 . Plusieurs études menées sur les argiles calcinées ont montré qu'elles peuvent agir comme pouzzolane ou comme ciment complémentaire [4]. Il a également été démontré qu'après calcination, le kaolin possède la meilleure activité pouzzolanique de tous les minéraux argileux [5]. Par conséquent, les ciments additionnés de kaolin calciné ou de métakaolin présentent de meilleures propriétés mécaniques et une meilleure durabilité [6, 7].

Le présent travail est consacré à la caractérisation physico-chimique de deux matières premières argileuses de la région de Man (ouest de la Côte d'Ivoire) en vue de leur utilisation dans des ciments à faible teneur en carbone. L'objectif est de déterminer la composition chimique et minéralogique de ces deux argiles.

2 Matériel et méthodes

2.1 Matériel

Les argiles qui font l'objet de cette étude, référencées ME1 et ME2, ont été prélevées dans le village de Delobly, situé dans le district des Montagnes, à l'ouest de la Côte d'Ivoire. Les coordonnées du site d'échantillonnage sont 6°52'13.2"N 7°24'07.5"W.

2.2 Méthodes

La composition chimique des deux matières premières argileuses a été déterminée par spectrométrie d'émission plasma (ICP-AES) à l'aide de l'appareil Anton Paar.

Les phases cristallines des différents échantillons ont été identifiées par diffraction des rayons X sur des préparations non orientées de poudre dont la taille des particules est inférieure à 100 µm. Les diffractogrammes ont été obtenus à l'aide du diffractomètre Bruker D8 ADVANCE puis traités à l'aide du logiciel EVA Brukers AXS.

Les résultats de l'analyse chimique combinés à ceux de la diffraction des rayons X ont permis d'évaluer la composition minéralogique semi-quantitative selon l'équation (1) :

$$T(a) = \sum M_i \times P_i(a) \quad (1)$$

Où, Ta = teneur (% d'oxyde) en élément a dans le matériau, Mi = teneur en minéral i dans le matériau et Pi = proportion de a dans le matériau i.

L'analyse thermique des échantillons (analyse thermique différentielle et thermogravimétrie ATD/ATG) a été enregistré simultanément à l'aide de l'appareil NETZSCHSTA, de la température ambiante à 1200°C, avec une vitesse de montée en température de 5°C/min.

Le spectromètre à transformée de Fourier de marque Perkin Elmer Spectrum 1000 a été utilisé pour réaliser les spectres infrarouges des échantillons.

La microstructure des argiles a été observée à l'aide d'un microscope électronique à balayage FEI Quanta FEG 450.

La distribution de la taille des particules des échantillons a été déterminée à l'aide d'un granulomètre laser Mastersizer 3000 (Malvern).

La surface spécifique des échantillons d'argile a été déterminée par la méthode BET (Brunauer-Emmet-Teller). Après dégazage des échantillons à 150°C pendant 16 heures, des mesures ont été effectuées à l'aide de l'appareil de type Micromeritics Flow Sorb II 2300.

3. Résultats et discussion

Les résultats de l'analyse chimique des deux argiles brutes sont présentés dans le tableau I.

Tableau I: Composition chimique (% massique)

Echantillons	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	K ₂ O	MgO	Na ₂ O	TiO ₂	SiO ₂ / Al ₂ O ₃
ME1	64,94	14,47	12,11	0,41	0,27	0,33	0,17	2,30	4,8
ME2	71,21	16,47	9,94	0	0,29	0	0,16	1,89	4,4

Les résultats obtenus montrent que ces argiles sont principalement composées de silice, d'alumine et d'oxyde de fer. Les teneurs élevées en silice et en alumine indiquent que ces argiles peuvent être classées dans le groupe des aluminosilicates [8]. Le rapport SiO₂/Al₂O₃, qui est un indicateur de la teneur en minéraux argileux d'un échantillon, est de 4,8 et 4,4 respectivement pour ME1 et ME2 au lieu de 1,1 pour la kaolinite pure [9]. Cette différence de valeur peut être expliquée par la présence de silice sous forme libre en quantités significatives dans les deux échantillons [10]. La teneur en oxyde de fer dans les deux argiles indique la présence d'oxy-hydroxydes, à savoir la goethite (α-FeOOH), la lépidocrocite (γ-FeOOH), et/ou d'oxydes tels que l'hématite (α-Fe₂O₃) et la maghémite (γ-Fe₂O₃) [11]. De faibles niveaux de K₂O et de Na₂O sont également observés.

La figure 1 montre les diffractogrammes de rayons X des argiles ME1 et ME2 obtenus sur une fraction de taille de grain inférieure ou égale à 100 µm. Les principales réflexions ont été indexées avec les phases cristallographiques kaolinite (Si₂Al₂O₅(OH)₄), quartz (SiO₂), goethite (FeOOH) et hématite (Fe₂O₃).

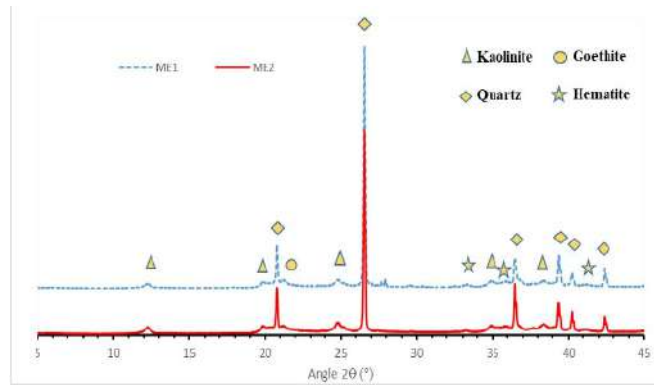


Figure 1 : Diffractogramme des rayons X des échantillons ME1 et ME2

Les thermogrammes ATD-ATG des deux échantillons présentés dans la figure 2 révèlent six phénomènes thermiques, dont quatre sont endothermiques et deux exothermiques.

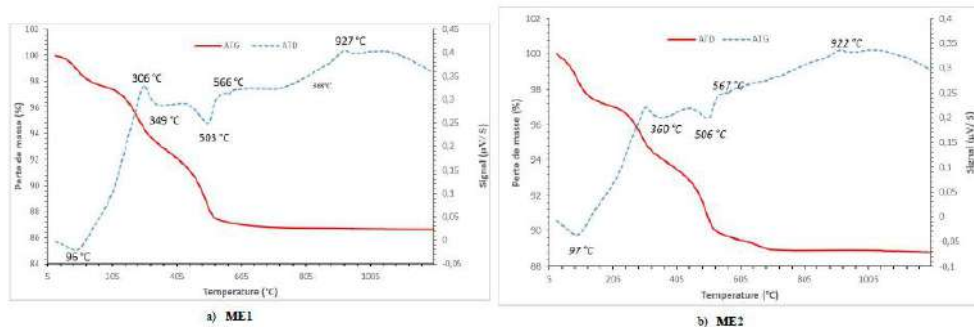
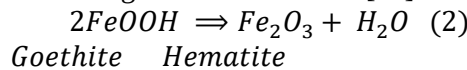


Figure 2 : Thermogramme ATD-ATG des échantillons ME1 et ME2

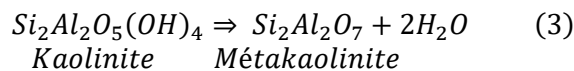
Le pic endothermique autour de 96°C avec une perte de masse d'environ 1,8% représente l'évaporation de l'eau hygroscopique adsorbée. Le départ de cette eau ne modifie pas la structure du matériau [12].

Vers 300°C, le pic exothermique observé reflète la combustion et/ou l'oxydation de la matière organique présente dans les échantillons.

Entre 345°C et 360°C, on observe un autre pic endothermique, associé à une perte de masse de l'ordre de 1,15%. Ce pic correspond à la transformation de la goethite en hématite [13] selon l'équation 2:

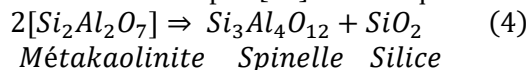


Le pic endothermique intense à environ 500°C avec une perte de masse comprise entre 3,44% et 3,50% caractérise la déshydroxylation de la kaolinite. La déshydroxylation est due au départ des hydroxyles de la structure de la kaolinite sous forme d'eau, conduisant à la formation de "métakaolin", qui a une structure désorganisée [14]. Cette réaction s'exprime selon l'équation 3:



Le pic endothermique à environ 566°C correspond à la transition allotropique du quartz ($\alpha \rightarrow \beta$).

Enfin, le pic exothermique sans perte de masse vers 900°C reflète la réorganisation structurale de la métakaolinite en une phase spinelle et la formation de silice amorphe [15] selon l'équation suivante 4:



Les résultats de l'analyse chimique combinés à ceux de la diffraction des rayons X ont été utilisés pour déterminer la composition minéralogique des échantillons. Les résultats sont consignés dans le tableau II ainsi que ceux des surfaces spécifiques.

Les résultats montrent que les deux échantillons sont riches en kaolinite et en quartz. On peut en déduire que le quartz est la source de silice libre, ce qui est en accord avec le calcul du rapport $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ effectué ci-dessus. La teneur élevée en quartz, qui favorise l'utilisation de ces matières premières dans la formulation d'écomatériaux (briques, tuiles, etc.), joue également le rôle de dégraissant de la kaolinite [16]. La teneur élevée en kaolinite est un avantage pour l'obtention du métakaolin. Par conséquent, ils pourraient être utilisés dans l'éco-ciment.

Tableau II: Composition minéralogique et surfaces spécifiques des échantillons ME1 et ME2

Composition minéralogique (%massique)

Echantillons	Kaolinite	Quartz	Phases associées (Goethite&Hematite)
ME1	36,60	52,91	13,47
ME2	41,67	51,72	11,60
Surfaces spécifiques (m²/g)			
ME1		34,78	
ME2		29,18	

La valeur de surface spécifique obtenue pour l'échantillon ME1 est comprise entre 10 et 30 m²/g, ce qui correspond à la fourchette de surface spécifique des argiles de type kaolinite [17], alors que celle de l'échantillon ME2 est légèrement supérieure à la limite supérieure de cette fourchette. Cette différence peut s'expliquer par la teneur en fer légèrement plus élevée dans ME2 que dans ME1 (Tableau I). En effet, selon certains auteurs [18-20], la surface spécifique des argiles kaolinitiques augmente avec la quantité de fer.

La figure 3 montre les spectres infrarouges des échantillons ME1 et ME2. Ceux-ci présentent globalement les mêmes bandes vibratoires.

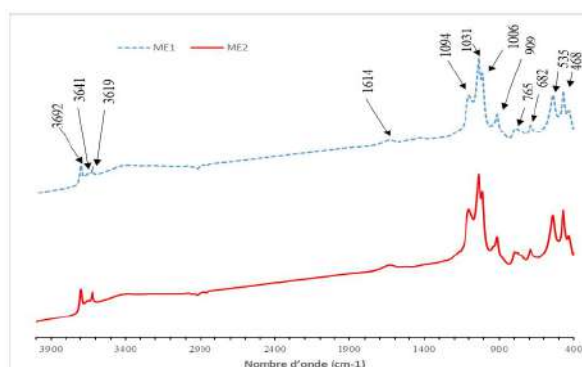


Figure 3: Spectres infrarouges des échantillons ME1 et ME2.

La présence de bandes dans la région de 3700 à 3600 cm⁻¹ confirme la présence de minéraux argileux dans nos deux échantillons. Elles correspondent aux vibrations d'élongation des liaisons OH de la kaolinite [21]. Les bandes d'absorption à 1097 et 1032 cm⁻¹ sont attribuées respectivement aux vibrations Si-O et Si-O-Si de la kaolinite [1]. L'absorption observée à proximité de 912 cm⁻¹ représente les vibrations d'étirement Al-OH de la kaolinite [22]. Les bandes autour de 779 et 536 cm⁻¹ sur les deux spectres sont attribuées aux liaisons Si-O-Al de la kaolinite [1]. La présence de quartz dans nos échantillons est indiquée par des bandes autour de 685 et 469 cm⁻¹ correspondant à l'allongement des liaisons Si-O-Si. La bande à 1610 cm⁻¹ est due à l'absorption d'eau hygroscopique [23]. Les courbes de distribution de la taille des particules pour les deux échantillons sont présentées à la figure 4. Celles-ci montrent la présence de trois populations dans nos échantillons, centrées sur 3, 9 et 39 microns. A partir des courbes granulométriques, il a été évalué pour chaque argile le diamètre maximum correspondant à un volume cumulé de 10% (d10), 50% (d50) et 90% (d90) du volume total des particules. Les valeurs obtenues sont indiquées dans le tableau III.

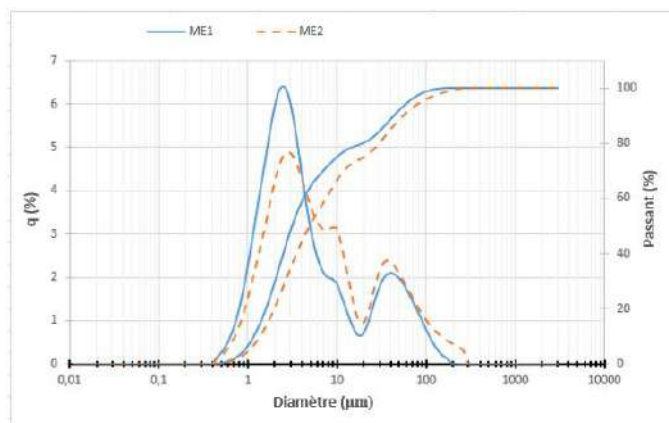


Figure 4: Courbes granulométriques des échantillons ME1 et ME2.

Tableau III : Valeurs des d10, d50 et d90

	Taille des particules (µm)		
	d10	d50	d90
ME1	1,15	3,12	43,50
ME2	1,35	4,90	55,03

L'analyse du tableau montre que nos échantillons sont caractérisés par des grains relativement fins, avec 90% des particules passant ayant un diamètre moyen inférieur à 56 microns et 50% ayant un diamètre moyen inférieur à 5 microns.

La figure 5 montre la microstructure de nos échantillons au microscope électronique à balayage (MEB), Elle montre une microstructure poreuse et une morphologie désordonnée, Cette dernière s'explique par la forte teneur en quartz de nos échantillons, qui peut cribler les plaquettes de kaolinite [24].

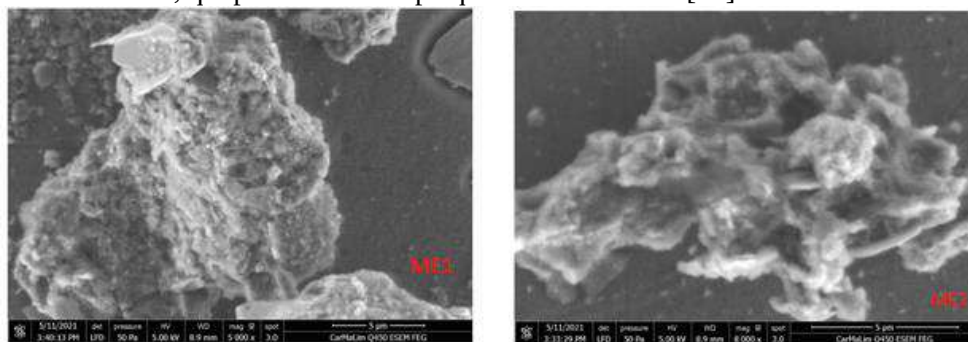


Figure 5: Images MEB des échantillons ME1 et ME2.

4. Conclusion

L'utilisation d'un matériau nécessite la connaissance de ses propriétés physico-chimiques. Nous avons donc entrepris de caractériser deux minéraux argileux de l'ouest de la Côte d'Ivoire en vue de leur utilisation dans des ciments à faible teneur en carbone. Les analyses minéralogiques et structurales ont montré que les échantillons contiennent de la kaolinite, du quartz, de la goéthite et de l'hématite. L'analyse granulométrique de nos échantillons a montré qu'ils étaient très fins. Les valeurs de surface spécifique obtenues confirment l'appartenance de nos échantillons à la famille des minéraux argileux de type kaolinite.

Au terme de notre étude, nous pouvons dire que les échantillons ME1 et ME2 appartiennent à la famille des kaolinites et, après calcination, pourraient avoir une bonne activité pouzzolanique en vue de substituer le clinker dans la fabrication de ciment à faible teneur en carbone.

Pour la suite de ce travail nous comptons :

- étudier les caractéristiques des échantillons calcinés ME1 et ME2 afin d'évaluer leur activité pouzzolanique ;
- produire des briques de terre comprimée (BTC) à partir de nos échantillons afin d'étudier leurs propriétés.

5. Bibliographie

- [1] Kouakou, L.P.M.S. ; Kouamé A.N. ; Gouré Doubi, B.I.H. ; Méité, N. ; Kangah, J.T. ; Zokou, E.P ; Konan, L.K. et Andji-Yapi, Y.J. (2022) Characterization of Two Clay Raw Materials from Côte d'Ivoire with a View to Enhancing Them in Eco-Construction, Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering 10, pp, 198-208.
- [2] Verma, Y. ; Mazumdar, B. et Ghosh, P. (2020) Dataset on the electrical energy consumption and its conservation in the cement manufacturing industry, Data in brief 28, 104967.
- [3] Zhang, J. ; Liu, G. ; Chen, B ; Song, Dan ; Qi, J. et Liu, X. (2014) Analysis of CO₂ Emission for the cement manufacturing with alternative raw materials : A LCA-based framework, Energy Procedia 61, pp 2541 – 2545.
- [4] Sabir, B.B.; Wild, S. et Bai, J. (2001) Metakaolin and calcined clays as pozzolans for concrete, A review, Cem, Concret Compos, vol 23, pp, 441-454.
- [5] Samet, B.; Chakchouk, A.; Mnif, T. et Tagnit-Hamou, A. (2007) Influence of mineralogical properties of Tunisian clays on the pozzolanic activity- Assessment by different methods, Adv, Cem, Res, vol 19 (2) 57-65.
- [6] Singh, M. et Garg M. (2006) Reactive pozzolana from Indian clays _ their use in cement mortars, Cem, Concr, Res, vol 36, 1903-1907.
- [7] Wild, S.; Khatib, J.M. et Jones, A. (1996) Relative strength, pozzolanic activity and cement hydration in superplasticised metakaolin concrete, Cem, Concr, Res, vols, 26, N° 10, 1537-1544.
- [8] Kouamé N.A. (2021) Stabilisation, par le ciment, de blocs de terre argileuse incorporant des tourteaux de karité, Thèse de Doctorat, Physico-Chimie des Matériaux Inorganiques, Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire), 143 p.
- [9] Yah, O.H. et Fripiat, J.J. (1979) Data handbook for clay minerals and other non-metallic minerals, Pergamon Press.

- [10] Sanou, I. (2017) Influence du mélange ciment-pouzzolane sur quelques propriétés physiques et mécaniques des adobes, Thèse de Doctorat, UFR-SEA, Université Ouaga I Pr Joseph KIZERBO (Burkina Faso), Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LCMM), 182 p.
- [11] Sei J., Jumas J, C., Olivier-Fourcade J., Quiquampoix H., et Staunton S, Role of Iron Oxid the Phosphate Adsorption Properties of Kaolinites from the Ivory Coast, *Clays and Clay minerals*, 50(2), 217– 222, 2020,
- [12] Gouré Doubi Bi Irie Hervé, Etude de la consolidation des matériaux « géomimétiques » à base d'argile latéritique : effet des acides et des phases ferriques, These de Doctorat, Université de Limoges, Limoges, 2013,
- [13] Farmer, V.C., *The layer silicates, In- the infrared spectra of minerals*, Mineralogical Society, London, 1974
- [14] Bellontom, G., A., Artioli, G., Clarks, M, *Kinetic study of the kaolinite-mullite reaction sequence part I : kaolinite dehydration*, *Phys, Chem, Miner*, 22: p, 207-214, 1995,
- [15] Hu, P, and Yang, H, Insight into the Physicochemical Aspects of Kaolins with Different Morphologies, *Applied Clay Science*, 74, 58-65, 2013
- [16] Laïbi, A.B., Gomina, M., Sorgho, B., Sagbo, E., Blanchart, P., Boutouil, M, and Sohounhloule, D.K, Caracterisation physico-chimique et geotechnique de deux sites argileux du Benin en vue de leur valorisation dans l'eco-construction, *International Journal of Biological and Chemical Science* , 11, 499-514, 2017,
- [17] Guyot, J., Mesure des surfaces spécifiques des argiles par adsorption, Vol, 20, Ann, Argon, p 359, 1969,
- [18] Sei, J., Etude de matériaux de dimensionnalité réduite, Relation structure-propriétés dans des kaolinites naturelles de Côte d'Ivoire, Thèse, Université de Montpellier II, 1998,
- [19] Soro, N, Influence des ions fer sur les transformations thermiques de la kaolinite, Thèse d'Université de Limoges, 2003,
- [20] Arias, M., Barral, M, T., Diaz-Fierros, F, Effects of iron and aluminium oxides on the colloidal and surface properties of kaolin, *Clays and Clay Minerals*, 43: p, 406-416, 1995,
- [21] de Almeida Azzi A., Osacký M., Uhlík P., Čaplovičová M., Zanardo A, & Madejová J, Characterization of clays from the Corumbataí formation used as raw material for ceramic industry in the Santa Gertrudes district, São Paulo, Brazil, *Applied Clay Science*, 132–133, 232–242, 2016,
- [22] Bich, C., Ambroise, J, and Pera, J, Influence of Degree of Dehydroxylation on the Pozzolanic Activity of Metakaolin, *Applied Clay Science* , 44, 194-200, 2009,
- [23] White, J,L, Interpretation of Infrared Spectra of Soil Minerals, *Soil Science* , 112, 22-31, 1971,
- [24] Konan, K,L, Interaction entre des matériaux argileux et un milieu basique riche en calcium, These de Doctorat, Université de Limoges, Limoges, 2006,

Perception paysanne de la contamination des produits maraichers par les métaux lourds

Sanata TRAORE*¹, Sékou Sala GUINDO², Souleymane DAMBE², Mamou Rachel NIAKATE¹, Kéléigui DIALLO¹, Aliou Dadda Maiga²

¹Université des Sciences, des Techniques et des technologies de Bamako (USTT-B), Mali

²Institut d'Economie Rurale (IER), Mali

*Email sanatraore248@gmail.com

Résumé

Le maraîchage en zone urbaine et péri-urbaine contribue à la diversification alimentaire et nutritionnelle de la population. Pour comprendre la perception des producteurs sur la contamination des cultures maraîchères par les métaux lourds que cette étude a été initiée. Un questionnaire a été soumis à 100 exploitants maraîchers en zone urbaine et périurbaine de Bamako. Les données collectées ont été analysées avec le logiciel SPSS. Les résultats ont montré que le maraîchage est surtout dominé par les hommes (plus de 80%) en milieu périurbain et urbain. L'âge moyen des maraîchers est de 50 ans avec plus de 20 ans d'expérience dans cette activité agricole. Les producteurs (30,90%) affirment que les produits maraîchers sont riches en éléments nutritifs, contiennent des vitamines et oligoéléments, améliorent la santé, assurent la diversification et l'autosuffisance alimentaire. L'enquête a également permis de savoir que l'utilisation des intrants permet d'augmenter le rendement ($\geq 40\%$), favorise la croissance des plantes, lutte contre les ennemis des cultures, augmente le revenu. Par ailleurs, 56,6% des producteurs enquêtés ont signalé une conservation difficile des produits maraîchers, 27,5% ont évoqué l'apparition de nouvelles maladies, la perte du goût des produits maraîchers suite à l'utilisation des intrants agricoles.

Mots clés : Cultures maraîchères ; métaux lourds ; sécurité alimentaire.

Abstract

Vegetable crops in urban and peri-urban areas is developing around African cities and contributes to food diversification and of the population. To understand the perception of producers on the contamination of vegetable crops by heavy metals, this study was initiated. A questionnaire was submitted to 100 market gardeners in urban and peri-urban areas of Bamako. The collected data were analyzed with SPSS software. The results of the surveys showed that the practice of market gardening is mainly dominated by men (more than 80%) in peri-urban and urban areas. The average age of market gardeners is 50 years old with more than 20 years of experience in this agricultural activity. Producers (30.90%) affirm that vegetable crops products are rich in nutrients, contain vitamins and trace elements, improve health, ensure diversification and food self-sufficiency. The survey also revealed that the use of inputs makes it possible to increase yield ($\geq 40\%$), promotes plant growth, fights against crop enemies, and increases income. Furthermore, 56.6% of the producers surveyed reported difficult conservation of market garden products, 27.5% mentioned the appearance of new diseases, the loss of taste of market garden products.

Keywords : Vegetable crops, heavy metals, food security

1. Introduction

La culture maraîchère urbaine et périurbaine se développe dans les grandes villes africaines. Cette agriculture constitue la principale source d'approvisionnement en légumes pour la population de la capitale. Elle contribue fortement au revenu des ménages des maraîchers et renforce aussi la sécurité alimentaire et nutritionnelle (Delagnes, 1978 ; Guiradoumbaye, 1985 cité par Gnandi et al. 2008). Malheureusement, en dehors de cet aspect positif, l'agriculture urbaine, si elle n'est pas gérée et pratiquée correctement, comporte des risques pour la santé et l'environnement tels que le transfert de maladies par des agents pathogènes (exemples de maladies diarrhéiques) et la contamination des cultures et des sols par les métaux lourds et les pesticides (Gnandi et al. 2008). La pollution des légumes par les éléments métalliques est élevée et les risques sur la santé des consommateurs sont grands selon Miquel et al. (2001). Les causes de cette pollution sont d'origine anthropique d'après les études menées par NGUELIEU, (2017).

La ville de Bamako au Mali a un taux de croissance annuel de 4,5% se classant au sixième rang des zones urbaines les plus en croissance au monde (Endres et Yang, 2013). L'urbanisation rapide entraîne des changements dans les relations sociales et les modes de vie et augmente la demande pour l'alimentation. Ainsi, le jardinage joue un rôle important dans l'amélioration du revenu et le statut socioéconomique des familles. La pollution des plantes cultivées par les métaux lourds a fait l'objet de nombreux rapports et études à travers le monde (Moustier et al., 2000 ; Verloo, 2003 ; Saad et al., 2006 cité par Gnandi et al. 2008) et constitue un problème majeur en écotoxicologie. Des études plus récentes effectuées par les chercheurs du Laboratoire de Microbiologie de Sols de la Faculté des Sciences et Techniques de Bamako ; de l'Agence Nationale de la Sécurité Sanitaire des Aliments (ANSSA) et de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) au Mali ont montré que niveau de contamination de la laitue et des autres produits maraîchers, par les coliformes totaux et fécaux, les salmonelles,

excède largement les niveaux de contamination acceptables. Le plomb a été détecté dans tous les produits maraîchers. Par contre, le cadmium n'a été retrouvé que dans les échantillons de choux. Malheureusement, aucune étude n'avait encore été conduite pour évaluer la teneur des éléments métalliques dans les légumes largement consommés par la population de Bamako (<http://www.jstm.org>).

L'objectif général de cette étude est d'impliquer les maraîchers dans le processus d'obtention de produits à moindre risque.

De façon spécifique, il s'agissait pour nous de :

- Décrire le système de production des produits maraîchers afin de mieux élucider la responsabilité de tous les intervenants ;
- Attirer l'attention des producteurs sur la nécessité de mettre sur le marché, des produits sains et à moindre risque.

2. Matériel et Méthode

La perception paysanne a été réalisée à l'aide d'un questionnaire auprès de 100 maraîchers dans les sites de productions. Cette enquête a été menée par une équipe pluridisciplinaire composée des chercheurs des différents Instituts de recherche (USTTB-FST et IER), des agents des services de développement, des organisations paysannes et des producteurs. La taille de l'échantillon a été déterminée en utilisant la méthode de proportion estimative de la population pour cette étude.

$$n = \frac{t^2 \cdot p(1 - p)}{e^2}$$

n = taille de l'échantillon attendu.

t = niveau de confiance déduit du taux de confiance (traditionnellement 1,96 pour un taux de confiance de 95%)

p = proportion estimative des maraîchers dans l'étude. Lorsque cette proportion est inconnue $p = 0,5$ a été retenue.

Pour notre étude, cette proportion a été estimée à 0,5. Cependant, pour une marge d'erreur $e = 0,05$, valeur traditionnellement retenue, la taille de l'échantillon serait estimée à 138 producteurs maraîchers. Cette valeur de la marge d'erreur a été arrondie à 0,06 soit 6% ou lieu de 5% pour une taille d'échantillon estimée à 96,04 producteurs avec un niveau de confiance de 95%. Cette valeur arrondie à 100 a constitué la taille finale de notre échantillon. Cette taille totale (100) pour l'ensemble de l'échantillon a été répartie entre les sites. Pour la sélection des maraîchers au niveau de chaque site, une méthode aléatoire ou probabiliste a été choisie pour permettre à tous les maraîchers des différents sites d'avoir la même chance d'être retenu lors de la constitution de l'échantillon. Ils ont été tirés de manière aléatoire à partir de leur numéro d'immatriculation au niveau des structures d'encadrement. Cette méthode probabiliste de l'échantillonnage a été complétée au besoin par la méthode du jugement (ou à priori) qui est une méthode non probabiliste basée sur le choix des répondants (maraîchers) sur la base de leur capacité à répondre aux questions ou de leur représentativité. Les données collectées ont porté sur les caractéristiques socioéconomiques des exploitants maraîchers, les saisons de maraîchage, les différentes spéculations, les intrants et les doses appliqués, l'accès à l'information agricole et la perception des maraîchers sur la contamination de leurs produits par les métaux lourds.

3. Résultats

3.1. Caractéristiques socio-économiques des maraîchers

Les résultats des enquêtes ont montré que la pratique du maraîchage est surtout dominée par les hommes (plus de 80%) en milieu périurbain et urbain (fig1) et l'âge moyen des maraîchers ne dépasse guère 50 ans avec plus de 20 ans dans cette activité agricole. Les superficies totales cultivées en milieu périurbain sont nettement supérieures à celles du milieu urbain (3,84 ha contre 0,36 ha), tableau1. En ce qui concerne le niveau d'instruction des maraîchers, il ressort des résultats que le nombre de maraîchers n'ayant pas été à l'école sont plus nombreux par rapport aux autres. Il est de 45 % en milieu urbain et 26,80% en milieu péri-urbain. Quant à leur participation à des formations, il a été observé que les maraîchers du péri-urbain (64,50 %) ont plus participé à des formations par rapport à ceux de la zone urbaine (35,50%).

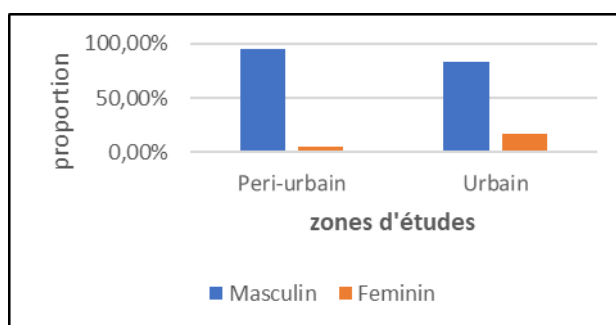


Figure1 : Répartition par sexe des maraichers dans les zones urbaines et périurbaines de Bamako

Tableau 6 : Caractéristiques socio-économiques des maraichers

Paramètres	Zones d'études	
	Périurbaine	Urbaine
Age du producteur (années)	45	50
Taille de la famille de l'exploitant (nombre de personnes)	21	12
Surface totale de l'exploitation (ha)	3,83	0,36
Nombre de parcelle possédé	2	2
Nombre années d'expérience (an)	24	20

3.2. Caractéristiques des parcelles maraichères et pratiques culturales

Les résultats des enquêtes montrent que les parcelles maraichères sont surtout situées dans les bas-fonds, les pentes et les terrains plats (fig2) et les producteurs préfèrent les parcelles proches des sources d'eau, d'accès faciles et ayant une bonne qualité de sol.

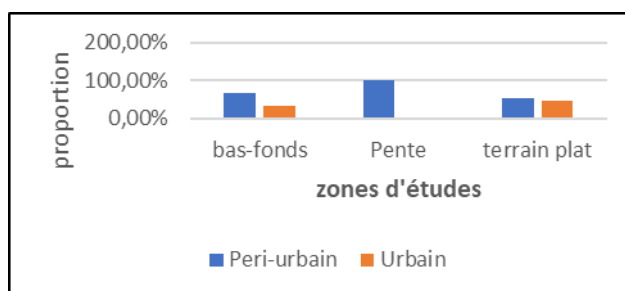


Figure 2 : Localisation des parcelles maraichères

Il existe une forte diversification des cultures maraichères dans la zone urbaine et périurbaine. Environ 20 espèces maraichères sont cultivées. Les principales cultures figurent dans le tableau2 ci-dessous en fonction des zones. Dans la zone péri-urbaine, les principales sont la tomate, la laitue, les choux et l'oignon. En zone urbaine, les principales cultures sont la laitue et les céleris. Le choix des producteurs par rapport à ces cultures maraichères est surtout lié à leur itinéraire technique facile à appliquer, la demande du marché, l'effet de mode et le faible niveau de vol. En ce qui concerne le mode d'acquisition des semences des cultures maraichères, les producteurs de la zone péri-urbaine l'obtiennent à partir d'autres producteurs, le marché, les boutiques d'intrants et l'autoproduction. Quant 'aux maraichers de la zone urbaine, ils obtiennent les semences par autoproduction, les boutiques d'intrants et le marché locale.

Tableau2 : principales cultures maraichères en fonction des zones urbaine et péri-urbaine de Bamako

Cultures	Péri-urbaine	Urbaine	Total
Tomate	22,80%	0,00%	13,00%
Céleris	0,00%	14,00%	6,00%
Poivron	1,80%	0,00%	1,00%
Courgette	1,80%	0,00%	1,00%
Carotte	3,50%	4,70%	4,00%
Betterave	3,50%	2,30%	3,00%
Piment	0,00%	7,00%	3,00%
Laitue	21,10%	58,10%	37,00%

Oignon	15,80%	4,70%	11,00%
Aubergine importée	1,80%	0,00%	1,00%
Chou	17,50%	0,00%	10,00%
Haricot	0,00%	0,00%	0,00%
Menthe	0,00%	0,00%	0,00%
Fraise	0,00%	4,70%	2,00%
Navet	0,00%	0,00%	0,00%
Concombre	3,50%	0,00%	2,00%
Patate	0,00%	2,30%	1,00%
Pomme de terre	7,00%	0,00%	4,00%
Autres	0,00%	2,30%	1,00%

Différents types d'engrais sont utilisés sur les cultures maraichères. Les engrais minéraux utilisés sont surtout le complexe (NPK) en zone péri-urbaine (64,3 %) et l'urée en zone urbaine (50 %) ainsi que le DAP. En ce qui concerne les engrais organiques, les principales portent sur le fumier de ferme et les ordures ménagères pour la zone péri-urbaine ; le fumier de ferme et l'engrais organique industriel profeba pour la zone urbaine. D'autres engrais tels que les bouses de vache, le compost, etc. sont utilisés (tableau3).

Tableau 7 : Tableau : Types d'engrais utilisé sur les cultures maraichères (%)

Type d'engrais utilisé	Zones d'études	
	Péri-urbaine	Urbaine
	N % colonne	N % colonne
Minéral		
Urée	16,1%	50,0%
DAP	19,6%	25,0%
Complexe (NPK)	64,3%	25,0%
Organique		
Fumier de ferme	20,8%	56,4%
Ordure ménagère/Bouses de vache	20,8%	2,6%
Compost	4,2%	2,6%
PROFEBA	16,7%	15,4%
Éléphant vert	10,4%	7,7%
Bouse de vache	18,8%	12,8%
Ordures ménagères	4,2%	2,6%
Ordures ménagères/Bouses de vache	4,2%	0,0%
Total	100,0%	100,0%

Les superficies cultivées en fonction des cultures maraichères sont très variables et dépassent rarement les 0, 5ha (tableau4). Les superficies élevées portent sur les choux, la pomme de terre, le poivron, le gombo, le navet, l'aubergine locale et la tomate. Les quantités d'engrais organique apportées sont relativement faibles pour la plupart des cultures maraichères par contre celles pour les engrais minéraux sont élevées (tableau4). Il est à noter que les quantités d'engrais apportées sur le haricot vert sont très élevées et dépassent largement les normes recommandées pour cette culture.

Tableau 8 : Superficie cultivée, quantité engrais minérale et organique appliquée sur les cultures maraichères

Cultures	Superficie cultivée (ha)	Quantité engrais minéral (kg/ha)	Quantité de engrais organique Kg/ha)
	Moyenne	Moyenne	Moyenne
Tomate	0,36	290,19	2379,83
Céleri	0,18	336,22	8409,11
Poivron	0,42	450,69	2083,33
Courgette	0,2	475,00	3775,00

Persil	0,18	541,67	4166,67
Carotte	0,24	342,46	3869,04
Betterave	0,27	263,33	3888,89
Gombo	0,42	315,48	2295,24
Piment	0,26	449,42	5615,38
Laitue	0,28	320,89	5146,54
Oignon	0,41	353,56	2303,44
Aubergine locale	0,38	410,34	3703,95
Aubergine importée	0,25	200,00	100,00
Chou	0,51	361,00	3179,14
Menthe	0,05	510,00	5250,00
Fraise	0,22	227,27	3068,18
Navet	0,38	252,63	2017,55
Concombre	0,27	351,85	2506,19
Patate	0,21	238,10	5952,38
Pomme de terre	0,44	407,68	5028,41
Haricot vert	0,13	1326,92	16153,85
Autres	0,25	110,00	4050,00

Différents types de pesticides sont utilisés par les producteurs avec des noms commerciaux différents mais qui indiquent souvent le même produit. Les plus utilisés sont lambda ou décis (deltaméthrine), Emacot (Emamectine benzoate 50g/kg), apron Star (difénoconazole + métalaxyl + thiamethoxam) et le Roundup (glyphosate). Les principales cultures sur lesquelles les pesticides sont utilisés sont surtout la laitue (29,3 %), la tomate (24,4%), les choux (17,1 %) et l'oignon (14,6%) pour la zone péri-urbaine et 67,6 %, 8,1 % pour respectivement la laitue, les fraises et le piment dans la zone urbaine. Les périodes d'application des pesticides sont les phases de plantation, de mise en place des pépinières, avant l'installation des cultures et avant la floraison des cultures.

Les résultats des enquêtes ont montré que les eaux utilisées par les maraîchers proviennent surtout des puits (69,10 %), des canaux d'irrigation (16,40 %) et des forages (9,10%) pour la zone périurbaine. Par contre, pour la zone urbaine, les eaux d'arrosage proviennent des puits (66,70 %), du fleuve (26,20 %) et des forages (7,10 %) et la fréquence d'arrosage est d'environ une fois par jour.

3.3. Perception des maraîchers sur l'utilisation des intrants agricoles

L'évaluation de la perception des producteurs sur la qualité nutritive des produits maraîchers montrent qu'ils sont riches en éléments nutritifs, contiennent des vitamines et oligoéléments, améliore la santé, assure la diversification et l'autosuffisance alimentaire (tableau 5). Ils ajoutent que l'utilisation des intrants permet d'augmenter le rendement, favorise la croissance des plantes, lutte contre les ennemis des cultures, augmente le revenu (fig3). Les cultures maraîchères assurent également l'autosuffisance alimentaire. Cependant malgré ces avantages, l'utilisation des intrants a des inconvénients qui portent sur la conservation difficile des produits maraîchers, les sources de maladies, la perte de goûts des produits maraîchers et la dégradation de l'environnement (fig4).

Tableau 5 : perception des maraîchers sur la qualité nutritive des produits maraîchers sur la nutrition et la santé des consommateurs (%)

Perceptions	Zone Périurbaine	Zone Urbaine
	N % colonne	N % colonne
Riches en éléments nutritifs	30,90%	33,30%
Améliore la santé	16,40%	23,80%
Diversifier l'alimentation	7,30%	7,10%
Facilite la digestion	0,00%	4,80%
Contient des vitamines et oligo-éléments	25,50%	9,50%
Protège l'organisme contre certaines maladies	3,60%	2,40%
Améliore le goût des aliments	9,10%	2,40%
Augmente le sang	1,80%	0,00%

Autosuffisance alimentaire	3,60%	16,70%
Sources de revenus	1,80%	0,00%
Total	100,00%	100,00%

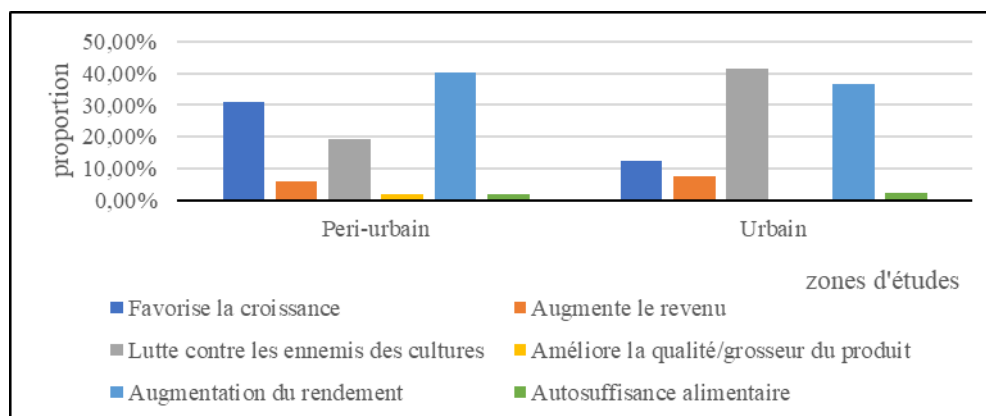


Figure 3 : Perception des maraichers sur les avantages de l'utilisation des intrants agricoles sur les produits maraichers

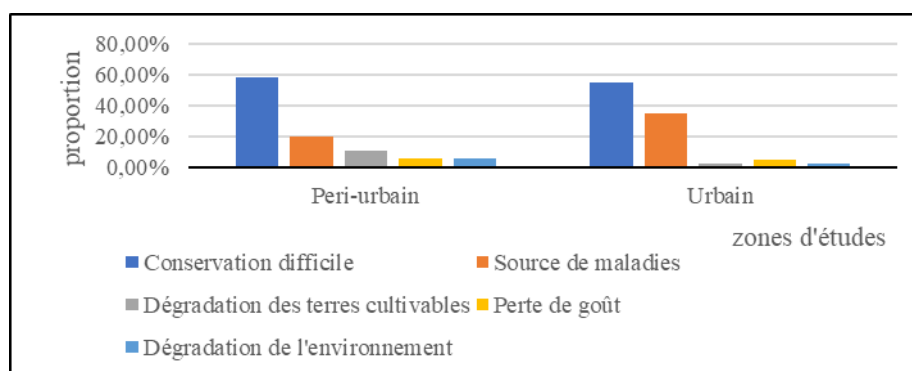


Figure 4 : Perception des maraichers sur les inconvénients de l'utilisation des intrants agricoles sur les produits maraichers

4. Conclusion

Les résultats obtenus ont montré que la pratique du maraichage est surtout dominée par les hommes en milieu périurbain et urbain. Les superficies totales cultivées en milieu périurbain sont nettement supérieures à celles du milieu urbain et l'âge moyen des maraichers ne dépasse guère 50 ans capitalisant environ 20 ans d'expérience dans cette activité agricole.

L'étude nous montre que les parcelles maraichères sont surtout situées dans les bas-fonds, sur les pentes et sur les terrains plats. Les producteurs préfèrent les parcelles proches des sources d'eau, d'accès facile et ayant une bonne valeur agricole. Le choix des producteurs par rapport aux cultures maraichères est surtout motivé par la facilité de son itinéraire technique, la demande du marché, l'effet de mode et le faible risque de vol.

Les engrais minéraux utilisés sont surtout le complexe (NPK) en zone péri-urbaine (64,3 %) et l'urée en zone urbaine (50 %). Les engrais organiques portent sur le fumier de ferme et les ordures ménagères pour la zone péri-urbaine et le fumier de ferme et l'engrais organique industriel profeba pour la zone urbaine. D'autres fertilisants tels que les bouses de vache, le compost, etc. sont utilisés.

Différents types de pesticides sont utilisés par les producteurs avec des noms de commerce différents pour désigner le même produit. L'évaluation de la perception des producteurs sur la qualité nutritive des produits maraichers a montré qu'ils sont riches en éléments nutritives, contiennent des vitamines et des oligoéléments, améliorent la santé, assurent la diversification et l'autosuffisance alimentaire. Ils ajoutent que l'utilisation des intrants permet d'augmenter le rendement, favorise la croissance des plantes, lutte contre les ennemis des cultures, augmente le revenu. Cependant l'utilisation des intrants a des inconvénients comme la conservation difficile des produits maraichers, les sources de maladies, la perte de goûts des produits maraichers et la dégradation de l'environnement.

5. Bibliographie

- [1] Gnandi, Kissao, Koffi Tozo, Aléodjrodo Patrick Etorh, Hazou Abi, Koffi Agbeko, Komi Amouzouvi, Gnon Baba, et al. 2008. « Bioaccumulation de Certains Éléments Métalliques Dans Les Produits Maraîchers Cultivés Sur Les Sols Urbains Le Long de l'autoroute Lomé- Aného, Sud Togo ». *Acta Botanica Gallica* 155 (3): 415-26. <https://doi.org/10.1080/12538078.2008.10516121>.
- [2] NGUELIEU, CHRISTIAN ROGER. 2017 « Evaluation des risques de contamination en métaux lourds (Pb, Cd, Zn) des sites maraîchers urbains de Yaoundé (Cameroun) », 59.
- [3] Endres, Theresa, et Ray-Yu Yang. 2013 « Vegetable Production and Consumption in Bamako, Mali »,
- [4] SAMAKE F, BABANA A H, YARO F K , CISSE D , TRAORE I, KANTE F , KONE S, DIALLO A, TOURE H, TOURE O, SAKO M, AG IKNANE A. 2011. Risques sanitaires liés à la consommation des produits maraîchers cultivés dans la zone urbaine et périurbaine de Bamako. MALI SANTE PUBLIQUE, TOME 1 N° 001, 27-31.
- [5] Endres et al. ; 2013. « Smoking-thrombolysis paradox: recanalization and reperfusion rates after intravenous tissue plasminogen activator in smokers with ischemic stroke »
- [6] Saad et al., 2006 « Bioaccumulation de certains éléments métalliques dans les produits maraîchers cultivés sur les sols urbains le long de l'autoroute Lomé- Aného, Sud Togo »

Réactivité de trois échantillons argileux consommés en Côte d'Ivoire dans les conditions digestives : biodisponibilité des éléments minéraux

COULIBALY Vamoussa ; KOUAME N'dri ; SEI Joseph; OYETOLA Samuel

Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière - Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan-Cocody, Côte d'Ivoire
Auteur correspondant : coulivaly_vamoussa@yahoo.fr

Résumé

Depuis des millénaires, les argiles sont utilisées dans de nombreux domaines ; en interne, pour les soins gastro-intestinaux, ou en externe, en dermatologie. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact de l'argile sur l'organisme lors de la digestion. A cet effet, une étude de la biodisponibilité des éléments provenant de minéraux argileux d'Anyama et de Bingerville (district d'Abidjan) ont été réalisés in vitro. Une simulation de la destruction d'une matrice solide dans le tractus gastro-intestinal humain a été entreprise. L'analyse de différents jus après digestion, a révélé la présence de nombreux éléments inorganiques essentiels à l'activité biologique. L'argile verte d'Anyama constitué de chlorite, d'illite et de smectite, a libéré plus d'éléments que ceux de Bingerville, la minéralogie de cette dernière étant dominée par la kaolinite. La concentration de certains ions (Al, Co, Ca, Cu, Fe, Zn, Pb, Si) a diminué au cours du passage de l'estomac (pH = 2,5) à celui de l'intestin grêle (pH $\approx$ 7). Une augmentation a été observée pour K, Ni et P. Le fer et le calcium dans cette série se distinguaient par leur disparition au stade de l'intestin grêle. En perspective, Il s'agira d'étudier l'aspect microbiologique, les propriétés bactéricides ; et l'effet physiologique in vivo sur des animaux de laboratoire (rats, souris...)

Mots clés : minéraux argileux, éléments trace, réactivité, biodisponibilité.

Abstract

For millennia, clays have been used in many areas; internally, for gastrointestinal care, or externally, in dermatology. The objective of this study was to evaluate the impact of clay on the body during digestion. To this end, a study of the bioavailability of elements from clay minerals from Anyama and Bingerville (Abidjan district) was carried out in vitro. A simulation of the destruction of a solid matrix in the human gastrointestinal tract was undertaken. The analysis of different juices after digestion revealed the presence of numerous inorganic elements essential to biological activity. The green clay of Anyama, made up of chlorite, illite and smectite, released more elements than those of Bingerville, the mineralogy of the latter being dominated by kaolinite. The concentration of certain ions (Al, Co, Ca, Cu, Fe, Zn, Pb, Si) decreased during the passage from the stomach (pH = 2.5) to that of the small intestine (pH $\approx$ 7). An increase was observed for K, Ni and P. Iron and calcium in this series were notable for their disappearance at the small intestine stage. In perspective, this will involve studying the microbiological aspect, the bactericidal properties; and the physiological effect in vivo on laboratory animals (rats, mice, etc.)

Keywords: clay minerals, trace elements, reactivity, bioavailability

6. Introduction

Les argiles sont des matériaux contenant de nombreux éléments qui peuvent être bénéfiques ou dangereux pour l'homme, selon leur biodisponibilité et leur impact sur les processus métaboliques. Depuis des millénaires, les argiles sont utilisées dans de nombreux domaines, sur tous les continents, en raison de leurs nombreuses propriétés. Certaines de ces propriétés (absorbantes, antiseptiques, antiacides, cicatrisantes...), leur confèrent de nombreuses fonctions thérapeutiques et cosmétiques. Elles sont utilisées en interne, principalement pour les soins gastro-intestinaux, ou en externe, principalement en dermatologie [1]. Ainsi, très présentes dans la pharmacopée des médecines naturelles ou traditionnelles, les argiles sont également utilisées en médecine "officielle" sous forme de spécialités pharmaceutiques (palygorskite, kaolinite ou silicate d'aluminium, montmorillonite, beidellite...). De plus, l'ingestion de terre ou géophagie, également appelée pica, est observée sur tous les continents [2,3]. Cependant, dans la nature, les argiles sont associées à des impuretés et contiennent des métaux lourds qui présentent un danger pour l'usage interne de l'homme. De plus, la géophagie peut contribuer à la parasitose intestinale [5] et aux carences minérales [6]. En Côte d'Ivoire comme ailleurs, certaines femmes enceintes ingèrent des argiles pour prévenir les nausées dues à l'hypersalivation, contre les douleurs ulcéreuses et aussi à cause de l'arôme qu'elles dégagent. Selon [7], l'ingestion d'argile serait un remède contre la diarrhée mais aussi contre les parasites intestinaux, puisque les particules ingérées protègent l'épithélium gastro-intestinal [8]. Pour contribuer à prévenir les risques liés à l'utilisation d'argiles sans aucun contrôle, une étude de la biodisponibilité des minéraux a été entreprise in vitro. Dans cette expérience, une simulation de la destruction d'une matrice solide dans le tractus gastro-intestinal humain a été réalisée sur trois échantillons d'argile de Côte d'Ivoire. Cette étude vise à prédire la nature et la teneur en éléments minéraux qui pourraient être mis à la disposition de l'organisme après digestion.

7. Matériels et méthodes

2.1 Matériaux

Les matériaux étudiés proviennent d'Anyama (N. 05°50' ; O. 04°05') et de Bingerville (N. 05°21' ; O. 03°54') (District d'Abidjan), situés respectivement au nord-est et au sud-est d'Abidjan. Ces localités se situent dans un bassin sédimentaire contenant des formations sableuses et argileuses [9]. L'échantillon d'Anyama (nommé AVA) a été prélevé sur le site d'exploitation et séché à l'air comme celui vendu sur le marché. Les échantillons de Bingerville (nommés LBF et LJFF) ont également été collectés sur le gisement selon la couleur et ont subi le même traitement thermique que le matériau commercialisé appelé "Lokpo". Ce traitement thermique consiste à fumer (chauffer) la matière pendant 3 à 5 jours dans un four construit en terre cuite et alimenté au bois. Cette opération donne souvent une odeur agréable au matériau argileux.



2.2 Méthodes

* Caractérisation physicochimique

Les surfaces spécifiques des échantillons ont été déterminées par la méthode BET en utilisant l'azote comme molécule sonde à 77 K.

Pour la mesure du pH, 4 g d'échantillon ont été placés dans 100 mL d'eau distillée. Après une heure d'agitation, le pH de l'échantillon est mesuré directement.

La mesure de la Capacité d'Échange de Cations (CEC) a été réalisée en déplaçant les cations échangeables par les ions cobalt hexaammonium $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ qui donnent des solutions oranges ($2,5 < \text{pH} < 5,5$). Cette méthode, simple et rapide, est très fiable car l'ion cobalt hexaammonium possède un pouvoir très élevé pour éloigner les cations échangeables des argiles [10]. L'ion cobalt hexaammonium dans le surnageant a ensuite été titré par colorimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UV 2100, et certains des ions déplacés (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} et Al^{3+}) ont été analysés par absorption atomique. L'analyse chimique des échantillons d'argile et des solutions de digestion a été réalisée à l'aide d'un quantomètre Perkin Elmer Elan 5000 équipé d'un ICP-MS à plasma selon la procédure décrite par [11].

* Solution d'extraction

La littérature révèle plusieurs protocoles d'extraction physiologiques in vitro [12;13].

Parmi celles-ci, une méthode modifiée basée sur celle de [14] a été utilisée, en raison de sa simplicité et du fait que la composition du liquide d'extraction est plus proche de celle du suc gastrique humain. Les étapes de l'estomac et de l'intestin grêle ont été prises en compte.

* Milieu modèle de l'estomac:

Un mélange de pepsine (1,25 g, Sigma Aldrich), de malate de sodium (0,50 g, Sigma Aldrich), de citrate de sodium (0,50 g), d'acide lactique (420 μL , Sigma Aldrich), d'acide acétique (500 μL) est complété pour obtenir un litre, avec de l'eau déminéralisée. Le pH est ajusté à 2,5 avec une solution concentrée d'acide chlorhydrique. Puis, dans une bouteille en polypropylène, un g d'argile a été mis en contact avec 100 mL de ce jus. Les flacons contenant le mélange (liquide gastrique simulé et l'échantillon) ont été placés sous agitation dans un bain régulé en température à 37°C.

Après une heure à 37°C, 25 mL ont été prélevés et filtrés sur un filtre en cellulose de 0,2 micromètres (Gelman) pour analyse. Ce filtrat est la phase de l'estomac.

* Milieu modèle de l'intestin grêle:

25 mL de la solution ont été ajoutés au contenu gastrique initial du flacon contenant le mélange pour maintenir le rapport solide/solution initiale. Les conditions ont ensuite été modifiées en ajoutant une solution saturée de bicarbonate de sodium pour ajuster le pH à 7. Ensuite, des sels biliaires (175 mg, Sigma Aldrich) et de la pancréatine (50 mg, Sigma Aldrich) ont été ajoutés. Les échantillons ont été placés dans un bain-marie agité. Après deux heures, 25 mL de surnageant ont été retirés et filtrés sur un filtre en cellulose de 0,2 μm . Cette collection est la phase de filtrat de l'intestin grêle. Les extraits collectés au cours des deux phases ont ensuite été analysés pour identifier et évaluer les proportions de différentes espèces ioniques pouvant traverser le corps.

Selon [15], le ratio de 1 g pour 100 mL permet de maintenir la stabilité du pH et nécessite 2 heures pour atteindre l'équilibre.

3.1 Caractéristiques des échantillons

3.1.1 Composition chimique des échantillons

L'échantillon d'Anyama est pauvre en Al_2O_3 et généralement plus riche que les échantillons de Bingerville en SiO_2 , Fe_2O_3 , MgO et K_2O [16;17]. La teneur en SiO_2 varie de 45,73 à 57,05 %, celle en Al_2O_3 , de 25,22 à 34,41 %, et des teneurs en état de traces de Fe_2O_3 , TiO_2 , Na_2O , K_2O et de MgO ont été détectées. L'échantillon LJFF a une concentration élevée d'oxyde de fer (26,02 %) et une concentration faible en oxyde de silice (42,71 %) et d'alumine (18,33 %).

Tableau 1: Chemical content in major elements in weight percent (n.d = not determined). [16;17]

Echantillon	Couleur	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	MnO	MgO	CaO	Na_2O	K_2O	TiO_2	P_2O_5	H_2O
AVA	verte	61,58	17,21	7,42	0,08	3,84	0,04	0,46	2,38	0,75	n.d	5,74
LBF	blanche	52,83	29,74	2,34	n.d	0,29	n.d	0,11	1,17	1,06	0,08	12,03
LJFF	Dark-yellow	42,71	18,33	26,02	n.d	0,14	n.d	0,05	0,63	0,87	0,12	11,69

Les éléments identifiés en état de traces représentent la majorité des métaux lourds, lanthanides et actinides. Les échantillons contiennent des autres métaux lourds (cobalt, cuivre, molybdène, zinc) [16; 17]

3.1.2 Caractéristiques minéralogiques et physico-chimiques

La surface totale est de 5,4 m^2/g pour l'échantillon d'Anyama, tandis que ceux de Bingerville varient de 35,7 à 43,0 m^2/g (Tableau 2). Ces valeurs sont en accord avec celles rapportées dans la littérature [18 ; 19]. De plus, le pH mesuré variait entre 4,6 et 5,4, reflétant l'acidité des échantillons. Les valeurs de CEC ont été déterminées à partir de l'adsorption de l'ion hexaammine cobalt (III) $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ et de la somme des cations libérés dans la solution. Ainsi, en l'absence d'autres phénomènes, les valeurs de CEC déduites des deux méthodes seraient proches les unes des autres.

Tableau 2 : Caractéristiques minéralogiques et physico-chimiques des échantillons [16;17]

Echantillon	Propriétés Physicochimiques		Composition Minéralogique (%)						
	pH	S_{BET} ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	Kaolinite	Illite	Chlorite	Smectite	Quartz	Goethite	Rutile
AVA	5,4	5,4	-	20,17	29,53	2,5	40,53	-	1,00
LBF	4,8	35,7	66,79	9,73	-	-	17,06	2,34	1,06
LJFF	4,8	43	41,86	5,28	-	-	20,67	26,02	1,00

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 3. Deux points sont à souligner :

-Dans la plupart des cas (sauf pour l'échantillon AVA), la CEC déterminée par adsorption de l'ion cobalt hexaammonium est supérieure à la somme des ions titrés dans la solution, ce qui laisse penser que, d'autres ions autre que ceux analysés assurent une partie significative de la compensation ionique (ex. Mn, Fe...)

-La compensation dans les échantillons LBF et LJFF, est principalement assurée par l'aluminium, alors que pour l'échantillon AVA, la CEC est supportée par Mg et Al. L'aluminium libéré pourrait être, en partie, attribué à la dissolution de l'hydroxyde d'aluminium mal cristallisé, comme l'ont remarqué [20] pour des argiles d'une zone voisine. La grande mobilité de l'aluminium indiquerait que le profil d'altération latéritique est en cours d'évolution.

Table 3: Capacité d'échange cationiques (CEC) expressed in meq/100g de solide

Echantillon	Na	K	Ca	Mg	Al	CEC, chimie	CEC, cobalt hexaammonium
AVA	0,08	0,27	0,73	3,55	2,63	7,26	7,06
LBF	0,06	0,17	0,24	0,24	5,86	6,57	9,66
LJFF	0,05	0,12	0,12	0,12	1,80	2,21	3,45

3.2. Réactivité dans les conditions digestives

De nombreux ions impliqués dans le métabolisme humain sont donnés dans le tableau 4. Les concentrations des différentes espèces chimiques extraites après les deux étapes de la digestion ont été déterminées (tableau 5).

Tableau 4 : Fonctions spécifiques des minéraux et oligo-éléments essentiels [21]

Element	Fonctions spécifiques
Ca	Aide à la contraction musculaire, la coagulation du sang et la transmission nerveuse; Essentiels pour développer et maintenir la santé des os et des dents. Permet de réduire les risques d'ostéoporose.
Mg	Active plus de 100 enzymes et aide les fonctions nerveuses et musculaires
K	Régule le rythme cardiaque, maintient l'équilibre hydrique et aide à la contraction des muscles
Fe	Indispensable pour la formation et la fonction des globules rouges, important pour le fonctionnement du cerveau
Cr	Aide au métabolisme du glucose et régule la glycémie, est un poison cytotoxique aigu sous sa forme hexavalente.
Co	Favorise la formation de globules rouges.
Cu	Favorise la formation de globules rouges et de tissu conjonctif ; agit comme un catalyseur pour stocker et libérer le fer pour aider à former l'hémoglobine ; contribue au fonctionnement du système nerveux central. Un excès peut être toxique et conduire à une stéatose en cas d'intoxication chronique.
P	Fonctionne avec le Ca pour développer et maintenir la solidité des os et des dents; améliore l'utilisation d'autres éléments nutritifs
Zn	Composante essentielle de plus de 200 enzymes impliquées dans la digestion, le métabolisme, la reproduction et la cicatrisation des plaies.
Si	Indispensable à la croissance osseuse normale et à la bonne santé de la peau.
Al	Cytotoxique et suspecté d'être impliqué dans la maladie d'Alzheimer.

Tableau 5 : Analyse chimique (mg/L) des solutions de digestion des deux étapes : estomac (pH = 2,5) et intestin grêle (pH = 7)

Echantillon	Digestion solutions	Element concentration, mg/L														
		Co	Cr	Cu	Ni	Pb	U	Zn	Al	Si	Fe	Mn	Mg	Ca	K	p
AVA	Estomac	0,18	0,06	0,79	0,04	0,01	-	0,34	5,20	0,71	1,60	0,18	6,66	8,65	6,08	5,66
	Intestin grêle	0,15	0,18	0,40	0,03	-	-	0,13	20,40	1,20	-	0,13	4,56	-	10,30	5,42
LBF	Estomac	0,01	0,04	0,12	-	-	-	0,14	8,40	1,06	0,50	0,01	1,31	2,52	5,40	3,60
	Intestin grêle	-	0,11	0,17	0,01	-	-	0,10	1,60	0,66	-	0,01	1,31	-	8,23	3,73
LJFF	Estomac	0,01	0,03	0,22	-	-	-	0,15	6,60	3,16	1,60	0,01	1,16	2,21	5,22	1,14
	Intestin grêle	-	-	0,18	0,01	-	0,01	0,09	1,55	1,50	-	-	-	-	7,43	3,62

3.2.1 Analyse des solutions de digestion de l'estomac

Dans le milieu gastrique, la digestion des argiles entraîne la libération de nombreux éléments minéraux dont la teneur varie d'une argile à l'autre. Ainsi, en général les éléments Al (5,2 à 8,4 mg/L), Si (0,71 à 3,16 mg/L), Fe (0,5 à 1,6 mg/L), Mg (1,2 - 6,7 mg/L), Ca (2,2 à 8,7 mg/L), K (5,2 à 6,1 mg/L) et P (1,1 à 5,7 mg/L) sont libérés en quantités importantes dans les solutions de la digestion gastrique, la teneur en d'autres éléments tels que le Cr (0,03 à 0,06 mg/L), Zn (0,15 à 0,34 mg/L) et Mn (0,01 à 0,18 mg/L) sont faibles. Les concentrations de Co, Ni, Pb et U sont pratiquement nulles. Ils peuvent être considérés comme non biodisponibles dans ce modèle d'environnement.

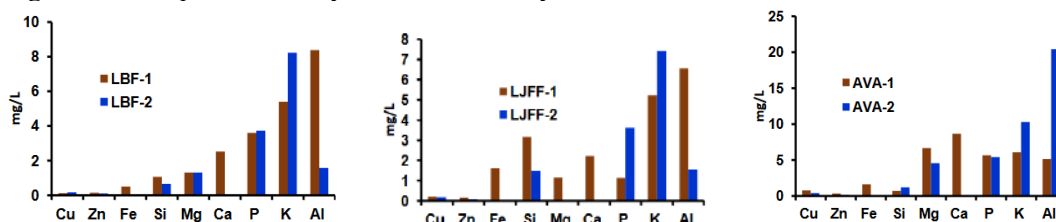
Les teneurs maximales observées pour les éléments Fe, Mn, Mg, Ca, K et P se trouvent dans l'échantillon d'anyama (AVA) dominé par la chlorite et l'illite. Pour les éléments Al, Si, Zn et Cu, les fortes teneurs sont observées dans les échantillons de Bingerville dominés par la kaolinite.

3.2.2 Analyse des solutions de digestion de l'intestin grêle

La digestion des argiles dans le suc de l'intestin grêle entraîne la libération d'Al (1,6 – 20,43 mg/L), Si (0,7 – 1,5 mg/L), Mg (0-4,6 mg/L), K (7,4-10,3 mg/L) et P (3,6-5,4 mg/L) et de faibles concentrations de Cu (0,2-0,4 mg/L) et Zn (0,09-0,13mg/L).

De plus, le bilan matière des deux étapes de digestion (figure 1) indique que les phénomènes de précipitation de Al, Si, Ca et Mg se produisent dans les solutions de digestion de l'intestin grêle de toutes les argiles de Bingerville.

Figure 1: Comparative study of bioavailability in the medium of stomach small intestine



Estomac; ■ intestin grêle ■

Par contre la quantité d'aluminium libérée par l'échantillon AVA est environ quatre fois supérieure à celle de la solution de digestion gastrique. De même, la concentration de Cr est trois fois plus élevée dans les solutions de digestion intestinale des échantillons AVA. Les réactions de précipitation concernent également le Ca dans l'échantillon AVA et le Fe dans toutes les argiles.

Co, Cr, Pb, U, Fe, Mn et Ca, dont les concentrations sont pratiquement nulles, peuvent être considérés comme non biodisponibles dans ce milieu.

Des niveaux élevés de Cu, Zn, Al, Mg, K et P sont observés dans l'échantillon AVA tandis que pour l'élément Si, le maximum est observé dans l'échantillon LJJF de Bingerville.

3.3.4 Discussion

Les extraits contiennent Cr, Cu, Fe, Zn (oligo-éléments), Ca, K, Mg, P (macroéléments) et d'autres ions tels que Pb, U qui, selon leur concentration pourraient constituer une source de nutriments ou de danger pour l'organisme. Des études réalisées *in vitro* [2;22] ont permis d'évaluer le largage dans le suc gastrointestinal de certains minéraux tels que Ca, Cu, Fe, Mg, Mn et Zn. De même, [23] au cours d'expériences *in vivo* réalisées sur des rats nourris avec des argiles, ont détecté des éléments toxiques dans l'urine et dans divers organes (rein, foie, cœur, cerveau). Ils ont déduit que la présence de ces éléments dans l'urine indiquait que le processus d'absorption s'était produit après l'ingestion d'argile, provoquant une augmentation progressive des métaux dans les urines et dans le sang.

La concentration des ions est en général plus élevée dans les extraits de l'estomac. Cette observation a été faite par de nombreux auteurs [24;25]; qui ont attribué ce phénomène à de multiples facteurs à savoir:

- l'effet de formation de complexe par la pancréatine / sels de la bile,
- la dimension des particules et la minéralogie, la cinétique de dissolution et le pH du milieu.

Selon [25], la dissolution des particules est maximale au niveau de l'estomac et représente ainsi la quantité maximale d'ions susceptibles d'être absorbée. Les ions sont donc plus largués en milieu stomacal que dans l'intestin grêle. Ce phénomène s'expliquerait par l'acidité du milieu stomacal qui est propice à la minéralisation. Le passage de l'estomac à l'intestin grêle s'accompagne d'une augmentation du pH qui tend vers la neutralité. Selon plusieurs auteurs [26], suite à l'augmentation du pH, il se produit des réactions de précipitation qui entraînent une baisse du taux de certains éléments solubilisés et disponibles pour l'absorption lors du passage au travers de l'épithélium intestinal. Ce phénomène est beaucoup marqué pour les éléments Fe et Ca dans le milieu modèle de l'intestin grêle. Selon des études antérieures [25;27], les cations sont plus affectés par l'élévation du pH au niveau de l'intestin grêle que les anions. En effet, en milieu neutre ou faiblement alcalin, il se forme selon les cas, de l'hydroxyde de fer ou de calcium, rendant les ions non disponibles. Une étude sur des échantillons d'argile (pH et CEC élevés) ont montré une rétention d'ions déjà disponibles dans le suc gastrointestinal [28]. Dans notre cas, les échantillons ont un faible pH et une faible CEC. Il est donc difficile de conclure sur la biodisponibilité de ces deux ions car d'autres facteurs tels que les conditions physiologiques de l'individu (âge, état à jeun, état nutritionnel) agissent sur le pH gastro-intestinal.

Cependant, la concentration de ces ions étant élevée dans le suc stomacal, leur accessibilité est élevée donc potentiellement biodisponibles car selon [29], les ions détectés dans le suc stomacal sont biodisponibles car potentiellement absorbables. Selon [29], le tractus gastro-intestinal humain se compose d'un certain nombre de compartiments où le sol ingéré subit une série de réactions dans lesquelles le temps, la composition du fluide et le pH de la réaction varient. Les ions Fe et Ca pourraient être biodisponibles si l'étape de l'intestin avait lieu à un pH inférieur à celui de l'expérience.

Les concentrations en Cu et Zn se distinguent de celles des autres oligoéléments; cela traduit le fait que ces deux ions sont plus biodisponibles que les autres dans les différents échantillons.

Les extraits d'AVA contiennent les concentrations les plus élevées des différentes espèces ioniques, ce qui peut s'expliquer par la composition minéralogique constituée principalement de chlorite et de smectite. En effet, par rapport à la kaolinite, la chlorite et les smectites se dissolvent plus facilement en milieu acide. La concentration de K allant de 5,7 à 6,7 mg/L est la plus élevée mais ne constitue pas un danger car inférieure à la limite de toxicité (12 mg/L - normes européennes) dans les eaux destinées à la consommation humaine.

L'hypothèse selon laquelle l'ingestion d'argile pourrait apporter des micronutriments a été également mise en évidence dans de nombreux travaux [2;22]. Toutefois, même si la géophagie entraîne le largage de nutriments potentiellement disponibles pour le corps, elle comporte également des risques.

Certains chercheurs [30] ont constaté chez cinq patients une hyperkaliémie (excès de potassium) due à une ingestion excessive d'argile. Par ailleurs, d'autres [31] ont montré que l'ingestion d'argile pouvait entraîner une réduction de l'absorption de nutriments déjà bio disponibles, en particulier les micronutriments tels que Fe, Cu et Zn. Un cas d'hypokaliémie a été signalé chez une femme enceinte suite à l'ingestion d'argile [32]. Des cas de carence en fer entraînés par la géophagie ont été signalés par différents travaux [33]. Les concentrations des différents éléments largués ne constituent pas de danger pour l'organisme car leur taux est en dessous des limites fixées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Les fortes teneurs en aluminium et en silicium observées dans les différents échantillons traduisent la libération de ces éléments à partir des couches octaédriques et tétraédriques après les attaques acides [34]. Cette forte teneur en aluminium peut constituer un danger car, selon [35], l'aluminium serait la cause de certaines maladies, telle que la maladie d'Alzheimer.

Cependant, l'aluminium libéré, passe dans l'intestin grêle où il peut: soit précipiter sous forme d'hydroxyde d'aluminium par action des sucs gastriques; soit se lier à des molécules organiques.

Dans le milieu modèle de l'intestin grêle, la diminution de la teneur en aluminium est due à l'augmentation du pH. En effet, l'augmentation du pH dans l'intestin selon des études antérieures réalisées sur des rats [36], entraîne la précipitation de l'aluminium dissout par les sécrétions pancréatiques et biliaires sous différentes formes telles que l'hydroxyde d'aluminium. La présence du silicium peut entraîner aussi, la formation d'aluminosilicates métastables qui sont ensuite éliminés dans les fèces; ce qui limiterait la toxicité de l'aluminium [37].

Lors d'une étude sur des rats nourris avec la kaolinite, [38], a observé l'absorption de l'aluminium dans l'intestin grêle. Selon [37], une partie de l'aluminium dissous, peut se lier aux molécules organiques du suc gastrique et devenir soluble. Ensuite, l'aluminium soluble est absorbable en petite quantité dans la paroi intestinale. L'aluminium ainsi absorbé, passe dans la circulation générale et se fixe à des protéines de transport comme la transferrine et l'albumine [36]. Cette fixation de l'aluminium conduit ainsi à l'anémie observée chez les individus pratiquant la géophagie [39].

Conclusion

Les surfaces spécifiques déterminées pour les échantillons de Bingerville (35,7; 43m²/g) sont suffisamment grandes, par conséquent, ces échantillons pourraient avoir une capacité d'adsorption élevée. Ils peuvent être utilisés dans le traitement des diarrhées ou des cas d'intoxications; au contraire, elles ne pourraient pas être associées à des médicaments car les argiles pourraient altérer leurs principes actifs. L'échantillon d'Anyama a une surface de 5 m²/g. La CEC des échantillons est comprise entre 3,45 et 10,96 meq/100g. La compensation est généralement assurée par l'aluminium, témoignant d'une grande mobilité de cet élément. La présence d'oxydes dans les échantillons influence la mobilité de certaines espèces ioniques. En complément, des études microbiologiques sont à entreprendre et il est nécessaire de réaliser un tamisage avant une utilisation interne pour extraire d'éventuelles particules grossières dont les grains de quartz. De plus, cette étude permet de prévoir la biodisponibilité potentielle de différents éléments. Les concentrations d'éléments rejetés par l'échantillon AVA sont supérieures à celles rejetées par les échantillons de Bingerville. Les niveaux sont relativement plus importants pour Al, Si, Fe, Mn, Mg, Ca, K et P. Dans les échantillons de Bingerville, les éléments libérés Co, Cu, Zn, Pb, Fe et Ca, ont une grande mobilité dans l'estomac et presque nul dans l'intestin grêle. Une augmentation du pH dans l'intestin grêle provoque la formation d'hydroxyde de fer et/ou de calcium ou une réadsorption d'éléments. Leur mobilité dépend fortement du pH du milieu. La mobilité des éléments toxiques tels que le Pb et l'U est très faible, ne dépassant pas un µg par gramme d'argile, l'ingestion de différents échantillons ne présente donc aucun danger.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Carretero M.I., 2002. Clay minerals and their beneficial effects upon human health: a review. *Applied Clay Science*, 21, 155 – 163
- [2] Johns T., Duquette D., 1991. Detoxification and mineral supplementation as functions of geophagy. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53, 448–456.

- [3]Abrahams P.W., Parsons J.A., 1996. Geophagy in the tropics: a literature review. *Geographical Journal* 162, 63–72.
- [5]Wong M., Bundy D., Golden M., 1991. The rate of ingestion of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* eggs in soil and its relationship to infection in two children's homes in Jamaica. *Transactions of the Royal Society for Tropical Medicine and Hygiene* 85, 89–91.
- [6]Horner, R., Lackey, C., Kolasa, K., 1991. Pica practices of pregnant women. *Journal of the American Dietetic Association* 91, 34–38.
- [7]Hunter J.M. 1973: Geophagy in Africa and in the United States: a culture-nutrition hypothesis. *Geogr. Rev.*, 63, 170–195.
- [8]Moré J., Bénazet F., Fioramonti J. and Droy-Lefaix M.-T. 1987. Effects of treatment with smectite on gastric and intestinal glycoproteins in the rat: A histochemical study. *Histochem. J.* 19, 665–670.
- [9]Taste J.P., Environnements sédimentaires et structuraux quaternaires du littoral du golfe de guinée (Côte d'Ivoire, Togo et Benin), Thèse de Doctorat (1979) n°621, Bordeaux I(France)
- [10]Morel R., 1957, *Thèse Doct. Scien.*, Paris, 200p
- [11]Carignan J., Hild P., Mevelle G., Morel J., Yeghicheyan D. (2001). Routine analysis of trace elements in geological samples using flow injection and low pressure on-line liquid chromatography coupled to ICP-MS. A study of geological reference materials BR, DR-N, UB-N AN-G and GH. *Geostandards and Geoanalytical Research*. 25, 187–198.
- [12]Cabral D.J., Small D.M., 1989. Physical chemistry of bile. In: Shultz, S.G. (Ed.), *Handbook of Physiology: The Gastrointestinal System III Section*. Waverly Press, Baltimore.
- [13]Tateo F., Summa V., Bonelli G. C., Bentivenga G., 2001. Mineralogy and geochemistry of herbalist's clays for internal use: simulation of the digestive process. *Applied Clay Science* 20, 97–109.
- [14]Cave M.R., Wragg J., Palumbo B., Klinck B.A., 2003. Measurement of the Bioaccessibility of Arsenic in UK Soils. Environment Agency, R&D Technical Report, P5-062/ TR02.
- [15]Abrahams P.W., Follansbee M.H., Hunt A., Smith B., Wragg J., Barry Smith, Joanna Wragg, 2006. Iron nutrition and possible lead toxicity: An appraisal of geophagy undertaken by pregnant women of UK Asian communities. *Applied Geochemistry*, 21, 98–108
- [16]Coulibaly V., Sei J., Oyetola S., Jdid E.A., Thomas F., Yvon J. (2013). Mineralogy and physicochemical properties of the green clay of Anyama (Côte d'Ivoire) used up for its healing properties. *European Journal of Science Research*, 99, (2), 261–270.
- [17]Coulibaly V., Sei J., Koffi K. L., Oyetola S., Jdid E.-A. and Thomas F. (2014) Mineralogical and Chemical Characteristics of Clays Consumed in the District of Abidjan (Côte D'Ivoire). *Materials Sciences and Applications*, 5, 1048–1059.
- [18]Guyot J., 1969. Mesure des surfaces spécifiques des argiles par adsorption. *Annales Agronomiques* 1969; 20: 33–359
- [19] Liétard O. 1977. Contribution à l'étude des propriétés physicochimiques cristallographiques et morphologiques des kaolins. Thèse d'état ès sciences physiques, INPL Nancy. 322 pp. and annexes.
- [20] Andji Y.Y.J, Abba-Touré A., Kra G. and Yvon J., 2009. Variability of clays from Gounioubé deposit (Ivory Coast). *Journal of Applied Sciences*, 9: 1238–1247.
- [21] Gomes C.S., Silva J.B. 2007. Minerals and clay minerals in medical geology, *Applied Clay Science* 36, 4–21
- [22] Smith, B., Rawlins, B.G., Cordeiro, M.J.A.R., Hutchins, M.G., Tiberindwa, J.V., Sserunjogi, L., Tomkins, A.M., 2000. The bioaccessibility of essential and potentially toxic trace elements in tropical soils from Mukono district, Uganda. *J. Geol. Soc.* 157, 885–891.
- [23]Mascolo N., Summa V., Tateo F., 2004. In vivo experimental data on the mobility of hazardous chemical elements from clays. *Applied Clay Science* 25, 23–28.
- [24]Wragg J., Cave M.R., 2003. In-vitro methods for the measurement of the oral bioaccessibility of selected metals and metalloids in soils: A critical review. Environment Agency, R&D Technical Report P5-062/TR/01.
- [25]Ruby M.V., Schoof R., Brattin W., Goldade M., Post G., Harnois M., Mosby D.E., Casteel S.W., Berti W., Carpenter M., Edwards D., Cragin D., Chappell W., 1999. Advances in evaluating the oral bioaccessibility of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environ Sci Technol* 33:3697–3705
- [26] Oomen A. G., J. Tolls, A. J. A. M. Sips, M. A. G. T. Van den Hoop, 2003. Lead Speciation in Artificial Human Digestive Fluid, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44, 107–115
- [27] Schroder Jackie L., Nicholas T. Basta, Jitao Si, 2003. In Vitro Gastrointestinal Method To Estimate Relative Bioavailable Cadmium in Contaminated Soil, *Environ. Sci. Technol.*, 37, 1365–1370
- [28] Hooda P.S., Henry C.J., Seyoum T.A., Armstrong L.D., Fowler M.B., 2002. The potential impact of soil ingestion on human mineral nutrition. *Environmental Geochemistry and Health* 24, 305–319.
- [29] Oomen AG, Hack A, Minekus M, Zeijdner E, Schoeters G, Verstraete W, Von de Wiele T, Wragg J, Rempelberg CJM, Sips AJAM, Wijnen JHV, 2002. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environ Sci Technol* 36:3326–3334
- [30] Gelfand MC, Zarate A, Knepsheild JH., 1975. A cause of life threatening hyperkalemia in patients with chronic renal failure. *J Am Med Assoc* ;234:738 –740.
- [31]Hooda P.S., Henry C.J.K., Seyoum T.A., L.D.M. Armstrong L.D.M., M.B. Fowler M.B., 2004. The potential impact of soil ingestion on human mineral nutrition. *Science of the Total Environment*, 333, 75– 87
- [32]Trivedi T.H., G.L. Daga, M.E. Yeolekar, 2005. Geophagia Leading to Hypokalemic Quadripareisis in A Postpartum Patient, *Journal of the Association of Physicians of India*, 53, 205–207
- [33] Minnich V., Okcuoglu A., Tarcon Y., Arcasoy A., Cin S., Yorukoglu O., Randa F., Demirag B., 1968. Pica in Turkey. II effect of clay upon iron absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* 21, 78–86.
- [34] Cabrera F., Talibudeen O. 1979. The release of aluminum from aluminosilicate minerals; II, Acid-base potentiometric titrations. *Clay. Clays and Clay Minerals*, 27, 113–118.
- [35]Roig J. L., Fuentes S., Colomina M. T., Vicens P. and Domingo J. L.. 2006. Aluminum, restraint stress and aging: Behavioral effects in rats after 1 and 2 years of aluminum exposure. *Toxicology* 218:112–124.
- [36]Cochran M., Goddard G., Ramm G., Ludwigson N., Mrshall J., Halliday J. 1993. Absorbed aluminium is found with two cytosolic protein fractions, other than ferritin, in the rats duodenum. *Gut*. 34: 643–646.
- [37]Powell J.J., Thompson R.P.H. 1993. The chemistry of aluminium in the gastrointestinal lumen and its uptake and absorption. *Proceedings of the Nutrition Society*, 52, 241–253.

- [38]Chaumande B., 2011. Apport des analyses protéomique et métallogprotéomique pour l'étude de la géophagie. Thèse de l'Université de Strasbourg, 241p
- [39]Geissler P.W., Mwaniki D., Thiongo F., Michaelsen K.F., Friis H., 1998. Geophagy as a risk factor for geohelminth infections: A longitudinal study among Kenyan primary school children. *Transactions of the Royal Society for Tropical Medicine and Hygiene*, 92, 7-11.

Caractérisation et évaluation de la réactivité pouzzolanique de deux argiles du Togo pour la substitution partielle du clinker de ciment

BABAKOUA Dilami ^{a, b *}, TCHEGUENI Sanonka ^a, FIATY Koffi ^b, CHARCOSSET Catherine ^b, KORIKO Moursalou ^a,
BAFAI Diyadola Dihéénane ^a, TCHANBEDJI Gado ^a

^a Laboratoire GTVD (Gestion, Traitement et Valorisation des Déchets), Université de Lomé, Faculté Des Sciences, 01 BP 1515 Lomé, Togo.

^b LAGEPP (Laboratoire d'Automatique, de Génie des Procédés et de Génie Pharmaceutique), Université Claude Bernard Lyon, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, Villeurbanne, France.

Auteur correspondant : dilamibabakoua@gmail.com

Résumé: L'industrie du ciment est responsable d'environ 7 % des émissions mondiales de CO₂, provenant principalement de la production de clinker [1]. Une solution prometteuse à cette problématique consiste à substituer le clinker par des matériaux alternatifs comme les argiles calcinées. Cette étude explore l'utilisation potentielle de deux argiles (A et B) du Togo comme substituts du clinker dans le ciment. Les deux argiles ont été calcinées à 700, 750, 800, 850 et 900°C pendant 2 h dans un four à moufle. Une caractérisation multi-approche (DRX, ATG et IRTF) a été effectuée sur les argiles brutes et calcinées. L'analyse thermogravimétrique ATG a permis de déterminer leur teneur en kaolinite, un facteur déterminant dans le choix des argiles à ce effet [2]. La réactivité pouzzolanique des argiles a été évaluée par mesure de leur consommation en Ca(OH)₂ dans un système cimentaire standard [3]. Les résultats ont révélé une teneur en kaolinite de 81,80±0,07 % dans l'argile A et de 18,53±0,04 % dans l'argile B ; avec une meilleure réactivité pouzzolanique à 900°C. Cette étude pourrait ainsi suggérer l'argile A comme un substitut potentiel du clinker pour la production de ciment à faible empreinte carbone.

Mots clés: Clinker; réactivité pouzzolanique; kaolinite

Abstract : Cement industry is responsible for about 7% of the worldwide CO₂ emissions, mainly attributed to clinker production [1]. A promising solution to this issue is to substitute clinker with alternative materials such as calcined clays. This study explores the potential use of two clays (A and B) from Togo as substitutes for clinker in cement. Both clays were calcined at 700, 750, 800, 850, and 900°C for 2 hours in a muffle furnace. Multi-approach characterization (XRD, TGA and FTIR) was performed on both raw and calcined clays. Thermogravimetric analysis (TGA) allowed for the determination of their kaolinite content, a critical factor in selecting clays for this purpose [2]. The pozzolanic reactivity of the clays was evaluated by measuring their consumption of Ca (OH)₂ in a standard cement system [3]. Results showed a kaolinite content of 81.80±0.07% in clay A and 18.53±0.04% in clay B, with enhanced pozzolanic reactivity at 900°C. This study thus suggests clay A as a potential substitute for clinker in low-carbon cement production.

Keywords: Clinker; pozzolanic reactivity; kaolinite

1. Introduction

Le clinker représente le principal constituant du ciment. Toutefois, sa production est à l'origine de la majorité des émissions carbonées de l'industrie cimentière, qui constitue une part non négligeable des émissions mondiales. Réduire le taux de clinker dans la composition du ciment par des matériaux pouzzolaniques comme les argiles calcinées représente une stratégie efficace pour faire baisser l'empreinte carbone de l'industrie du ciment. Les argiles kaoliniques en particulier, présentent un potentiel significatif en tant que matériaux pouzzolaniques [4]. Lorsqu'elles sont soumises à une calcination adéquate, elles se transforment en métakaolin, une phase amorphe plus réactive capable de réagir avec la portlandine Ca(OH)₂ libérer comme sous-produit lors de l'hydratation du ciment pour former des composés cimentaires secondaires qui améliorent les propriétés mécaniques et durabilité du ciment.

Cette étude se concentre sur la caractérisation et l'évaluation de la réactivité pouzzolanique de deux argiles du Togo, en vue de leur utilisation comme substituts partiels du clinker.

2. Matériel et méthodes

Les échantillons d'argile utilisés dans cette étude ont été prélevés sur deux sites argileux distincts du Togo. L'argile A a été collectée à Afagnan, une localité située dans la région sud du pays et l'argile B à Bandjeli, située dans la région nord du Togo. Après l'échantillonnage, les argiles brutes ont été broyées puis tamisées à 63 µm afin d'obtenir des poudres homogènes. Les échantillons tamisés ont ensuite été calcinés pendant 2h dans un four à moufle aux températures suivantes : 700°C, 750°C, 800°C, 850°C et 900°C. L'ensemble des échantillons (brutes et calcinés) ont ensuite été stockés à température ambiante jusqu'à analyse.

Trois méthodes de caractérisation ont été utilisées : la Diffraction des rayons X (DRX), l'analyse thermogravimétrie (ATG) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).

La DRX a été utilisée pour identifier les phases minérales présentes dans les argiles brutes et observer leur transformation après la calcination. Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un diffractomètre à poudre Bruker D8 Advance sous configuration Bragg-Brentano. L'analyse ATG a été réalisée sur les argiles brutes et calcinées afin d'étudier leur comportement thermique. La perte de masse entre 400°C et 600°C a permis de calculer leur teneur en kaolinite selon la méthode décrite par [5, 6]. Les analyses ont été conduites avec un analyseur thermique Netzsch TG 209 F1 Libra en chauffant les échantillons de 30°C à 1000°C avec une vitesse de chauffage de 10°C/min sous atmosphère d'azote. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) a été utilisée en complément pour identifier les groupes fonctionnels des espèces minérales argileuses et évaluer les changements chimiques induits par la calcination. Les échantillons ont été analysés avec un spectromètre IRTF Nicolet iS50 équipé d'un module ATR.

Après les différentes techniques de caractérisations effectuées sur les argiles brutes et calcinées, la réactivité pouzzolanique des échantillons de l'argile A a été évaluée par le test R3 [3] en préparant des mortiers standards contenant une quantité précise de portlandine. Les mortiers ont ensuite été analysés à l'ATG et la perte de masse entre 360°C et 460°C associée à la décomposition de la portlandine ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) a été utilisée pour calculer leur consommation en portlandine [7].

3. Résultats et discussions

3.1. Analyse par Diffraction des rayons x (DRX)

Les diffractogrammes de rayons x des argiles A et B sont présentés sur les figures 1 et 2. La kaolinite a été identifiée dans les deux argiles avec une présence majoritaire dans l'argile A. Il a été observé une diminution de cristallinité et de l'intensité des pics de kaolinite lors de la calcination ; indiquant ainsi sa transformation en une phase plus amorphe généralement associée au métakaolin [6].

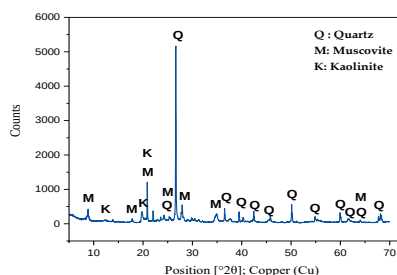


Figure 30. Diffractogramme de l'argile B

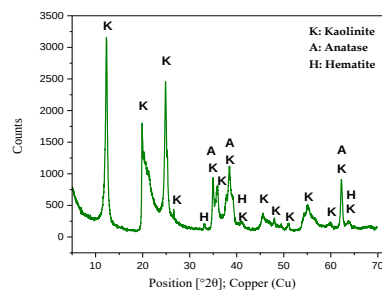


Figure 31. Diffractogramme de l'argile A.

3.2. Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les courbes ATG des deux argiles ont indiqué pour chacune une perte de masse caractéristique de la déshydroxylation de la kaolinite entre 400°C et 600°C (figures 3 et 4). Les calculs de la teneur en kaolinite réalisés à partir de cette perte de masse ont permis de confirmer les résultats de l'analyse DRX, en révélant une présence majoritaire de la kaolinite dans l'argile A. Les teneurs étaient de $81,80 \pm 0,07$ % pour l'argile A et de $18,53 \pm 0,04$ % pour l'argile B.

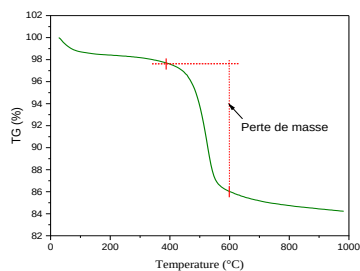


Figure 32. Courbe ATG de l'argile B.

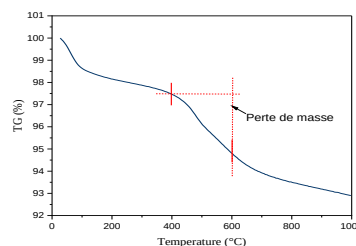


Figure 33. Courbe ATG de l'argile A.

3.3. Spectrométrie IRTF

Les spectres IRTF des échantillons d'argile brutes ont montré des bandes caractéristiques de la kaolinite, notamment celles à 3690 et 3620 associées aux vibrations des groupements hydroxyles OH [8, 9,10] . Après calcination, ces bandes disparaissent, indiquant ainsi la déshydroxylation de la kaolinite. Les figures 5 et 6 présentent les spectres IRTF des argiles A et B.

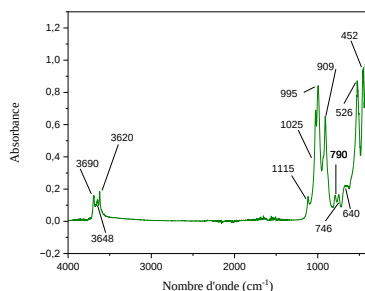


Figure 34. Spectre IR de l'argile A.

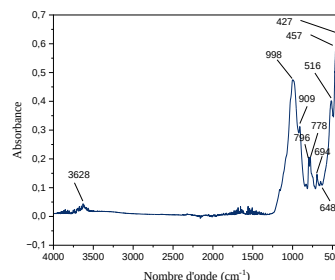


Figure 35. Spectre IR de l'argile B.

3.4. Réactivité pouzzolanique

Les résultats du test de réactivité réalisé sur l'argile A ont révélé une influence énorme de la calcination sur la réactivité de l'argile. La consommation en portlandine a considérablement augmenté après la calcination, démontrant ainsi l'amélioration de la réactivité pouzzolanique. Toutefois, la différence devient moins grande au-delà de 750°C avec un maximum à 900°C. La figure 7 montre cette influence de la température de calcination sur la réactivité de l'argile.

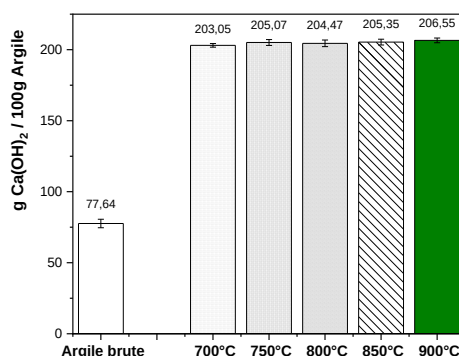


Figure 36. Influence de la température de calcination sur la réactivité de l'argile A.

4. Conclusion

Cette étude visait à explorer le potentiel de deux argiles du Togo en tant que substituts partiels du clinker dans la composition du ciment. Les analyses par DRX, ATG et IRTF ont montré que l'argile A contient une teneur en kaolinite significativement plus élevée ($81,80 \pm 0,07\%$) comparée à l'argile B ($18,53 \pm 0,04\%$). La calcination des argiles à différentes températures a révélé une transformation progressive de la kaolinite en métakaolinite, particulièrement marquée à partir de 700°C. Le test de réactivité pouzzolanique réalisé sur l'argile A a démontré une amélioration notable de la réactivité après calcination, avec un maximum observé à 900°C. Ces résultats suggèrent ainsi que l'argile A pourrait être un substitut efficace du clinker pour la production de ciment bas carbone. En perspective, il serait pertinent d'étudier la réactivité pouzzolanique de l'argile B également de compléter la caractérisation des matériaux par une analyse sur la composition chimique des argiles.

5. Bibliographie

- [1] Supriya, R. Chaudhury, U. Sharma, P. C. Thapliyal, et L. P. Singh, « Low-CO2 emission strategies to achieve net zero target in cement sector », *Journal of Cleaner Production*, vol. 417, p. 137466, sept. 2023, doi: 10.1016/j.jclepro.2023.137466.
- [2] V. D. Pinheiro, J. Alexandre, G. de C. Xavier, M. T. Marvila, S. N. Monteiro, et A. R. G. de Azevedo, « Methods for Evaluating Pozzolanic Reactivity in Calcined Clays: A Review », *Materials*, vol. 16, n° 13, p. 4778, juill. 2023, doi: 10.3390/ma16134778.

- [3] ASTM International, « Standard Test Methods for Measuring the Reactivity of Supplementary Cementitious Materials by Isothermal Calorimetry and Bound Water Measurements », ASTM International. doi: 10.1520/C1897-20.
- [4] K. L. Scrivener, V. M. John, et E. M. Gartner, « Eco-efficient cements: Potential economically viable solutions for a low-CO₂ cement-based materials industry », *Cement and Concrete Research*, vol. 114, p. 2-26, déc. 2018, doi: 10.1016/j.cemconres.2018.03.015.
- [5] K. Scrivener, R. Snellings, et B. Lothenbach, *A practical guide to microstructural analysis of cementitious materials*, vol. 540. 2016.
- [6] F. Avet et K. Scrivener, « Investigation of the calcined kaolinite content on the hydration of Limestone Calcined Clay Cement (LC3) », *Cement and Concrete Research*, vol. 107, p. 124-135, mai 2018, doi: 10.1016/j.cemconres.2018.02.016.
- [7] P. P. Sivakumar, S. Matthys, N. De Belie, et E. Gruyaert, « Reactivity Assessment of Modified Ferro Silicate Slag by R3 Method », *Applied Sciences*, vol. 11, n° 1, p. 366, janv. 2021, doi: 10.3390/app11010366.
- [8] M. Felhi, A. Tlili, M. E. Gaied, et M. Montacer, « Mineralogical study of kaolinitic clays from Sidi El Bader in the far north of Tunisia », *Applied Clay Science*, vol. 39, n° 3-4, p. 208-217, mai 2008, doi: 10.1016/j.clay.2007.06.004.
- [9] J. Klopogge, « The Kaolin Group: Hydroxyl Groups », in *Spectroscopic Methods in the Study of Kaolin Minerals and Their Modifications*, in Springer Mineralogy. , Cham: Springer International Publishing, 2019, p. 41-96. doi: 10.1007/978-3-030-02373-7_3.
- [10] A. Zhang, L. Kang, Y. Zhang, D. Ding, et Y. Zhang, « Thermal behaviors and kinetic analysis of two natural kaolinite samples selected from Qingshuihe region in Inner Mongolia in China », *J Therm Anal Calorim*, vol. 145, n° 6, p. 3281-3291, sept. 2021, doi: 10.1007/s10973-020-09869-4.

Optimisation de la production de panneaux de particules thermopressés sans ajout de liant à partir de cosses de cabosses de cacao : utilisation de la méthodologie de la surface de réponse

OUATTARA Leygnima Yaya¹, SANOU Ali¹, KOUASSI Esaïe Kouadio Appiah¹, YAO Kouassi Benjamin¹

¹UMRI 58, Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), INP-HB, BP 1093 Yamoussoukro (Côte d'Ivoire)
leygnima.ouattara18@inphb.ci

Résumé : Alors que l'industrie de la construction consomme plus de matières premières que tout autre secteur industriel, l'agriculture génère une grande quantité de déchets qui reste non valorisée. La filière du cacao produit plus de 6,5 millions de tonnes de cosses de cabosses de cacao (CCC), considérées comme un déchet. Cette étude vise à valoriser la CCC en panneaux de particules sans liant, par simple pressage à chaud à l'aide d'une presse hydraulique. L'analyse thermogravimétrique (ATG/ATD-DSC) a identifié la zone entre 160 et 200 °C comme idéale pour produire des agromatériaux. Une conception de *Dohelert* à deux facteurs (Température (160 à 200 °C) et pression (21 à 38 Mpa)) a été utilisée pour produire huit panneaux homogènes et parfaitement cohésifs de dimensions 70 x 70 mm² pressés en 4 min. Les propriétés d'immersion et la porosité dans le n-butanol ont été déterminées. Les conditions optimales étaient : température (166,94 °C), pression (28,13 Mpa), densité (1,29), absorption d'eau (142,22 %), gonflement (103,24) et porosité (5,41 %). La CCC représente une alternative écologiquement viable dans l'élaboration de panneaux. Les propriétés d'immersion pourraient être améliorées avec l'augmentation du temps de pressage.

Mots clés : Cosses de cabosses de cacao ; valorisation. Thermopressage ; panneaux de particules.

Optimizing the production of thermopressed particleboard from cocoa pods husks without adding binder : using response surface methodology

Abstract : While the construction industry consumes more raw materials than any other industrial sector, agriculture generates a large amount of waste that remains unused. The cocoa industry produces more than 6.5 million tonnes of cocoa pod pods (CCC), which are considered waste. This study aims to valorize the CCC in particle board without binder, by simple hot pressing using a hydraulic press. Thermogravimetric analysis (TGA/DTG-DSC) identified the zone between 160 and 200°C as ideal for producing agromaterials. A two-factor Dohelert design (Temperature (160 to 200 °C) and pressure (21 to 38 Mpa)) was used to produce eight homogeneous and perfectly cohesive panels of dimensions 70 x 70 mm² pressed in 4 min. Immersion properties and porosity in n-butanol were determined. The optimal conditions were: temperature (166.94°C), pressure (28.13 Mpa), density (1.29), water absorption (142.22%), swelling (103.24) and porosity (5.41%). The CCC represents an ecologically viable alternative in the elaboration of panels. Immersion properties could be improved with increasing pressing time.

Keywords : Cocoa pod husks; valuation. Thermopressing; particle board.

1. Introduction

Face aux problèmes de l'épuisement des ressources fossiles, l'utilisation de la biomasse résiduelle pour la conception de nouveaux matériaux (construction et emballage. etc.) et produits chimiques, apparaît comme une solution raisonnable [1]. En effet, les activités agro-industrielles génèrent d'énormes quantités de biomasses lignocellulosiques et la mauvaise élimination de celles-ci entraîne une pollution de l'environnement, des problèmes phytosanitaires et le gaspillage de précieuses ressources de biomasse [2]. En outre, compte tenu des tendances environnementales de productivités et de durabilités, l'utilisation de cette biomasse résiduelle comme matière première dans les bioprocédés, pourrait réduire les coûts de production de nombreux composants et matériaux à haute valeur ajoutée. Ceci permettrait de renforcer les concepts de bioéconomie et de bioraffinerie, qui gagnent de plus en plus en importance dans l'agro-industrie.

La Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial de cacao, avec une production annuelle de fèves estimée à 2,225 millions de tonnes en 2021 [3]. Cependant, au cours de la transformation primaire du cacao, une grande quantité de cosse de cabosses de cacao (CCC) (70 à 75 % en poids frais de fruit entier du cacao) est générée [4]. Soit, 5,192 à 6,675 millions de tonnes de CCC produites chaque année. Ceci nécessite donc une grande superficie pour leur élimination et constitue un défi de taille pour leur gestion. Ces cosses deviennent, une source potentielle d'agents pathogènes (*Phytophthora palmivora* et *p. Megakarya*), et entraînent des maladies telles que la gousse noire [5].

Les panneaux de particules sont une combinaison de matériaux fibreux lignocellulosiques et d'une matrice adhésive dans lesquels les composants gardent leur identité, ils ne se dissolvent pas ou ne se mélangent pas complètement [6]. Ils peuvent ainsi être considérés comme des biocomposites en plaque mono ou multi couches d'épaisseur variable fabriqués sous pression et chaleur, essentiellement à partir de particules constituées de

copeaux de bois ou d'autres déchets ligneux provenant du façonnage du bois et/ou d'autres matières fibreuses lignocellulosiques agricoles, avec ou sans apport de liant [6,7]. Les liants sont des substances minérales ou des réactifs chimiques qui sont introduits dans la formulation de panneaux pour améliorer leur présentation ou leurs propriétés physicochimiques ou pour augmenter la vitesse de prise des adhésifs. Ils jouent généralement le rôle de plastifiants et sont généralement la matière première la plus chère dans la fabrication de panneaux de particules. Les panneaux sans liant sont devenus ainsi, une cible importante d'essais pour une utilisation efficace des déchets de biomasse, en particulier dans les pays en développement où la population n'a pas ou possède peu de ressources en bois et pas d'industries chimiques adéquates, mais un excédent de résidus agricoles non valorisés. L'objectif de cette étude était de produire des panneaux de particules sans liant à partir de la cosse de cabosses de cacao en utilisant un réseau de Dohelert basé sur la température et la pression, puis d'évaluer l'effet de ces deux variables sur les propriétés hydriques des panneaux obtenus.

2. Matériel et méthodes

2.1. Prétraitement mécanique de la matière première

Le matériel végétal est constitué d'enveloppes et de poudre de cosse de cabosses de cacao (figure 1). Il est issu de la récolte de cacao dans la région de Soubré (sud-ouest de la Côte d'Ivoire).



Figure 1 : Cosses de cabosses de cacao brutes et poudre de cosses de cabosse de cacao à 250 μ m.

Les cabosses vides de cacao ont été lavées abondamment à l'eau plusieurs fois pour éliminer le mucilage résiduel, puis elles sont hachées grossièrement à l'aide d'un couteau en acier inoxydable. Elles sont coupées en petits morceaux puis séchées au soleil pendant 72 heures, puis exposées à une température de 60 °C pendant 24 heures, dans un séchoir à air chaud. Ces cosses sont broyées en particules plus fines avec un broyeur à marteaux de laboratoire (AR 108 B) puis tamisées à 250 μ m. Ensuite, la poudre obtenue est emballée dans des sachets en polyéthylène, à l'abri de l'humidité et stockée à température ambiante pour les analyses ultérieures et pour la formulation des panneaux de particules.

2.2. Caractérisation physico-chimique, biochimique et lignocellulosique de la poudre de cosse de cabosses de cacao

Le taux d'humidité est déterminé selon la norme française NF V 03-903. Les fibres brutes sont déterminées par la méthode de WEENDE [8]. L'extraction en continu par soxhlet, selon la norme NF EN ISO 659 a été utilisée pour la détermination de la teneur en lipide. Les extractibles ont été éliminés selon la procédure décrite par Poursat (2015) [9], en utilisant une extraction alternée éthanol-eau. La quantité de lignines insolubles dans l'acide sulfurique a été déterminée par gravimétrie suivant la procédure d'analyse en laboratoire (LAP) adoptée par le Laboratoire national des énergies renouvelables (NREL) [10], sans correction des cendre. L'holocellulose a été estimée selon la norme ASTM D 1104-56. La cellulose a été isolée de l'holocellulose après dissolution des hémicelluloses dans une solution alcaline diluée. Une masse de 2 g d'holocellulose séchée sont traités avec 30 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 17,5 % en masse et agités pendant 30 min à 20 °C. 50 mL d'eau distillée sont alors ajoutés, et le mélange est agité pendant 5 min [11]. La teneur en hémicellulose est obtenue en faisant la différence entre la teneur en celluloses et celle en holocelluloses.

2.3. Analyses thermiques de la poudre de la cosse de cabosses de cacao

2.3.1. Analyse par calorimétrie à balayage différentiel (DSC)

Les transitions thermiques de la CCC ont été mesurées en calorimétrie à balayage différentiel (DSC). L'analyse DSC est évaluée à l'aide d'un instrument de recherche DSC Q10. Des échantillons de 10 mg ont été placés dans un récipient en aluminium fermé, puis chauffés de 34,99 à 249,85 °C, avec une rampe de chauffage de 10 °C/min sous atmosphère d'azote. Le débit d'azote était de 50 mL/min.

2.3.2. Analyse thermogravimétrique/Thermogravimétrie dérivée (ATG/ATD)

La stabilité thermique de la cosse de cabosses de cacao a été évaluée par thermogravimétrie. Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un appareil ATG/ATD (*Thermogravimetric Analysis Differential Thermal Analysis*) Perkin Elmer Thermal Analysis sous flux d'air de 100 mL/min pour un intervalle de températures compris entre 30 et 950 °C avec une rampe de chauffage de 10 °C/min dans des creusets en aluminium. L'analyse

thermogravimétrie (ATG), la thermogravimétrie dérivée (ATD) et la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) ont permis de déterminer le profil thermique de la CCC.

2.4. Thermopressage de la poudre de cosse de cabosses de cacao

Elle consiste à presser à chaud la matière entre les deux plateaux d'une presse hydraulique, et ne nécessite pas nécessairement de pression élevée. Elle a permis de mettre en forme la matière première pour la fabrication de panneaux de particules. Une thermopresse hydraulique (PCH-30T) (Figure 2) a été utilisée pour produire les panneaux de particules.



Figure 2 : Thermopresse hydraulique (PCH-30T), moule utilisé et panneau de particules produit.

2.4.1. Optimisation des condition de thermopressage des panneaux de particules

Des panneaux homogènes de dimensions 70 x 70 mm² et de hauteurs variables, ont été produits, à l'aide de la presse hydraulique chauffée et munie d'un moule. Une conception de Dohelert a deux variables a été utilisée. Les variables étudiées et leurs plages de variation étaient : température du moule (X_1) (160 à 200 °C); pression (X_2) (21 à 39 MPa). Le tableau I présente les valeurs codées des variables étudiées.

Tableau I : variables codées et les niveaux réels utilisés dans le réseau de Dohelert.

Variables	Symbole codés	Niveaux codés et réels		
		-1	0	1
Température de pressage (°C)	X_1	160	180	200
Pression de pressage (Mpa)	X_2	21	30	39

Immédiatement après thermopressage, les panneaux obtenus ont été stabilisés dans une enceinte climatique (60 % HR, 25 °C) pendant 3 semaines, afin d'évaluer leurs propriétés hydriques [12]. Le logiciel NEMROD 2000 a été utilisé pour l'analyse statistique et le tracé des surfaces de réponses.

2.4.2. Absorption d'eau (W_{abs}) (%)

Les échantillons de dimensions 50 mm × 50 mm de masse sèche m_0 , ont été placés dans un tamis, préalablement pesé et l'ensemble est immergé dans une cuve contenant un volume d'eau distillée à 25 °C, pendant 24 heures [13]. Le tamis et son contenu a ensuite été pesé avec une balance analytique présentant une résolution de 0,001 g, après avoir essuyé l'excès d'eau à l'aide d'un papier absorbant.

$$W_{abs} = \frac{(m_{sat} - m_0)}{m_0} \quad (\text{Eq.1})$$

m_0 : masse de l'échantillon sec avant immersion dans l'eau (g) ; m_{sat} : masse de l'échantillon après 24 heures d'immersion (g) ; W_{abs} : Taux d'absorption d'eau (%).

2.4.3. Gonflement en épaisseur (G) (%)

Le gonflement en épaisseur a été déterminé selon la norme française NF EN 317. Des échantillons de dimensions 50 mm × 50 mm ont été immergés dans de l'eau distillée à 25 °C pendant 24 heures et leur épaisseur a été mesurée en quatre points, à mi-distance de chaque côté à 10 mm du bord avant et après trempage [14].

2.4.4. Densité et porosité au n-butanol des panneaux de particules

Les valeurs moyennes d'épaisseur et de longueur ont été enregistrées pour calculer le volume de l'échantillon, et les panneaux élaborés ont tous été pesés pour calculer leur densité. La porosité au n-butanol a été déterminé comme dans le cas de l'absorption d'eau en 2.4.2.

3. Résultats et discussion

3.1. Composition chimique de la cosse de cabosses de cacao

La composition chimique de la cosse de cabosses de cacao est donnée dans le tableau II.

Tableau II : Composition chimique de la CCC.

Composition (% ms)	biochimiques	Valeurs
Fibres brutes		48,51 ± 4,5
Protéines		05,44 ± 0,04
Lipides		09,01 ± 0,3
Extractibles		21,57 ± 1
Humidité		09,80 ± 1,5
Lignine		28,54 ± 3,07
Holocellulose		48,65 ± 5,7
Cellulose		31,68 ± 2,07
Hémicelluloses		16,97 ± 2,07

La valorisation d'une biomasse résiduelle en bioproduits ou en matériaux, nécessite de connaître sa composition complète. Les cosses de cabosses de cacao étudiées présentent de fortes teneurs en fibres brutes ($48,5 \pm 4,5\%$) et en lipides ($9,01 \pm 0,3\%$). Les valeurs obtenues dans la littérature sont largement inférieures à celles obtenues dans la présente étude [15,16]. Les teneurs en protéines sont de $5,44 \pm 0,5\%$. Cette présence de fibres et de protéines, pourrait faire de cette biomasse résiduelle, un composite naturel et sa formulation en panneaux de particules par thermo-pressage pourrait être envisageable [17]. En effet, les protéines et les hémicelluloses agissent comme liant et les fibres, comme charges renforçantes et assurer la cohésion de l'agromatériau. Le taux d'humidité obtenue au cours de cette étude est de $9,67 \pm 1,2\%$, inférieur à 13% . L'humidité agit comme plastifiant des protéines. En effet, les protéines, par la présence de fonctions polaires (amides) sont capables de lier les molécules d'eau par des liaisons hydrogène [18]. Cette matière première est donc appropriée pour produire des panneaux de particules, sans nécessité de séchage préalable, car l'humidité doit être maintenue à un maximum de 13% (ASTM-D1552-10). Une teneur élevée en lignines ($25,62\%$) et en composants extractibles (21%), similaire à celles rapportées [19] ($30,46\%$). En outre, de fortes valeurs en cellulose sont obtenues (31%), et elles se rapprochent de celle obtenue dans une étude [20]. Cependant, elles sont inférieures à celles rapportées dans une étude récente [21]. L'enchevêtrement des fibres lignocellulosiques joue également le rôle de renfort.

3.2. Données thermogravimétriques (ATG/ATD)

L'analyse des thermogrammes ATG/ATD sur la poudre de la cosse de cabosses de cacao présentée à la figure 3, montre l'existence de quatre (4) zones de dégradation du matériau.

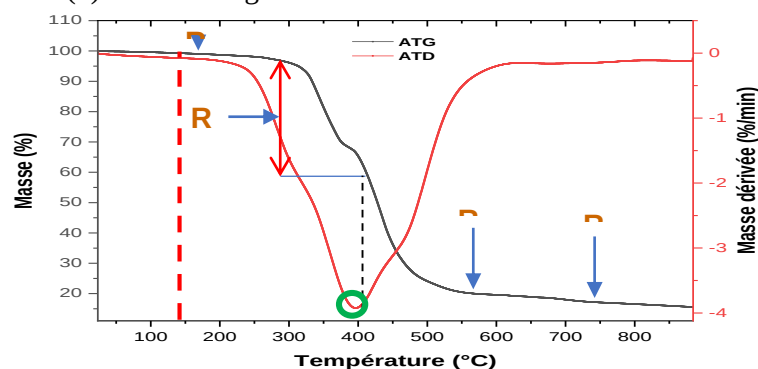


Figure 3 : Analyse thermogravimétrique (ATG/ATD) de la cosse de cabosses de cacao.

Dans la région 1 (30 et 150 °C), on observe une perte d'humidité et d'autres composés volatiles qui est estimée à environ 6 % au cours du profil de dégradation initial de l'analyse ATG. Ceci correspond à l'évaporation endothermique continue de l'eau de la cosse de cabosses de cacao. La région 2 (180 et 420 °C) correspond à une perte en composants volatils de 48 %, ce qui pourrait être attribué à la décomposition des hémicelluloses, de la cellulose et de la pectine. La région 3 peut correspondre à une perte de lignine et l'oxydation du carbone fixe sur les cosses des cabosses de cacao (20 %) qui se produit entre 420 et 650 °C. Enfin la région 4 (au-delà de 650 °C) est attribuée à la perte en cendre (9 %). Ce profil de dégradation des différentes composantes dans la CCC est

similaire à celui déjà rapporté [22]. En outre, la courbe ATD a montré le pic le plus important à 390 °C indiquant la dégradation maximale de la cellulose. La majeure partie du poids est perdue entre 250 et 550 °C.

3.3. Données calorimétriques à balayage différentiel (DSC)

La zone de température comprise entre 160 °C et 200 °C, ne présente pas de transition thermique importante (Figure 4).

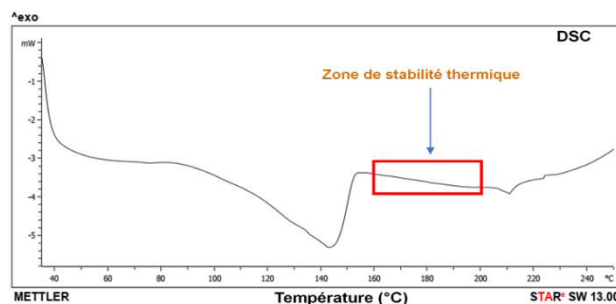


Figure 4 : Analyse calorimétrique à balayage différentiel (DSC) de la cosse de cabosses de cacao.

Ceci est due au départ de quelques constituants volatiles de faibles poids moléculaires. Cette zone correspond à la zone de stabilité du matériau. En effet, tous les composants structuraux de la cosse de cabosses de cacao sont encore présents et peuvent contribuer à la résistance des agromatériaux thermopressés qui en découleront. Ainsi, pour la formulation de panneaux thermo-compressés, le domaine de températures applicables peut être pris entre 160 et 200 °C.

3.4. Influence des conditions de thermopressage sur la densité, l'absorption d'eau, le gonflement en épaisseur et la porosité dans le n-butanol des panneaux produits

Huit panneaux de particules ont été fabriqués dans différentes conditions de thermopressage (Tableau III). L'absorption d'eau (118,76 et 176,02 %) ; le gonflement en épaisseur entre 70,28 et 141,67 % et la porosité au n-butanol entre 3,20 et 15,32 %. Les conditions de moulage ont grandement affecté la densité, augmentant avec les conditions de plus en plus extrêmes, augmentant entre 1,17 et 1,40 g/cm³.

Tableau III : plan d'expérimentation de Dohelert pour la production de panneaux à base de CCC.

N°Exp	Température	Pression	Densité	Absorption	Gonflement	Porosité
	°C	MPa	(d)	d'eau (A)	(G)	(P)
			g/cm ³	%	%	%
1	200,00	30,00	1,32	121,92	112,82	3,74
2	160,00	30,00	1,25	118,76	70,28	9,33
3	190,00	38,66	1,40	140,43	116,19	3,20
4	170,00	21,34	1,31	145,95	108,48	10,78
5	190,00	21,34	1,22	159,52	121,12	9,64
6	170,00	38,66	1,17	160,74	87,91	15,32
7	180,00	30,00	1,29	149,16	123,13	5,44
8	180,00	30,00	1,32	176,02	141,67	5,34

Cependant cette augmentation de la densité des panneaux a entraîné une diminution de leur porosité, comme déjà rapporté [14]. Ce qui pourrait contribuer à les rendre moins sensible à l'eau. L'influence des différents facteurs sur l'absorption d'eau et le gonflement est examinée à travers la figure 5 :

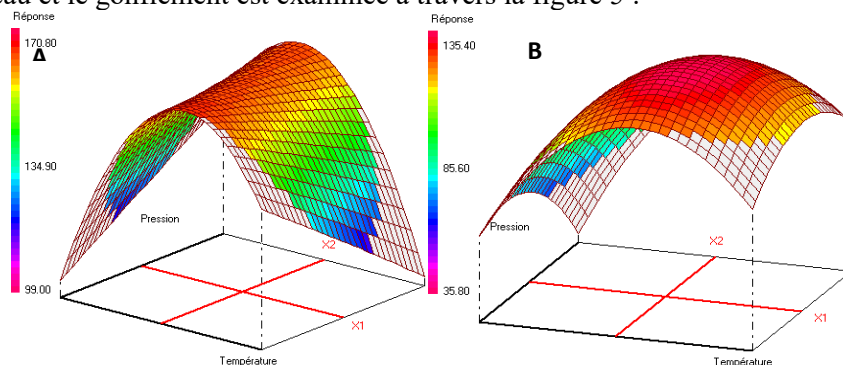


Figure 5 : Surfaces de réponses 3D illustrant l'influence de la température et de la pression sur l'absorption d'eau (A) et le gonflement en épaisseur (B) des panneaux de particules étudiés.

Le gonflement en épaisseur et l'absorption d'eau des panneaux dépendaient des conditions de thermopressage, diminuant à mesure qu'elles augmentaient. Une analyse statistique de la conception expérimentale de Doehlert a été menée pour déterminer les conditions optimales de thermo-pressage. Le modèle ajusté donnant une valeur de R^2 de 0,858 et 0,950 respectivement pour l'adsorption d'eau et le gonflement, montrant que les données expérimentales et prédites sont en accord. D'où, l'adéquation du modèle de second degré suggéré. Les graphes montrent également une dépendance quadratique négative importante de ces deux réponses avec la température. Ceci est illustré par une augmentation suivie d'une diminution. Les conditions optimales obtenues étaient : température de 166,94 °C, pression de 28,13 Mpa, densité de 1,29, absorption d'eau de 142,22 %, gonflement de 103,24 et porosité de 5,41 % pour une désirabilité de 1. Ces conditions optimales ne sont pas forcément les plus élevées, montrant qu'une pression de pressage trop élevée ou une température de prétraitement élevée, ne contribuent qu'à la détérioration de la structure interne du matériau, diminuant sa résistance à l'absorption d'eau [23].

3.5. Effet du temps de pressage sur l'absorption d'eau par l'étude de la cinétique d'absorption

Afin d'évaluer l'effet du temps de pressage sur l'absorption d'eau, la cinétique d'absorption d'eau a été étudiée pour deux panneaux pressés, l'un pendant 4 min et l'autre en 10 min. Les conditions opératoires étaient identiques pour les deux panneaux (200 °C et 30 Mpa). Les résultats sont présentés à la figure 6.

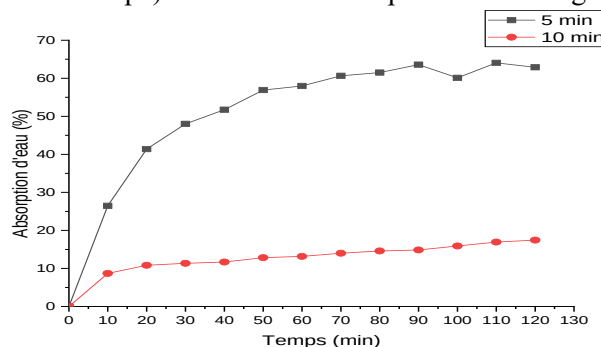


Figure 6 : Influence du temps de pressage sur l'absorption d'eau à 200 °C et 30 MPa.

La saturation pour le panneaux pressé en 4 min, est atteinte après 90 min de pressage avec une absorption d'eau d'environ 64 %. Cependant, le panneau pressé en 10 min présente une cinétique très lente, avec à peine 10 % d'eau absorbée après 120 min, et qui tend à saturation. Ces observations suggèrent que pour les mêmes conditions de température et de pression, un temps de pressage plus long est nécessaire pour obtenir un panneau avec de bonnes propriétés dimensionnelles. En effet, il a été rapporté qu'une augmentation du temps de moulage conduirait à une densification du panneau [14], et par conséquent à l'amélioration de ses propriétés hydriques afin de les rendre moins sensibles à l'eau.

4. Conclusion

Des panneaux de particules biodégradables très cohésifs ont été élaborés par simple pressage à chaud dans le moule d'une thermopresse hydraulique, à partir de poudre de cosse de cabosses de cacao. La température du moule et la pression appliquée ont eu un effet important sur la densité, l'absorption d'eau, le gonflement en épaisseur et la porosité. Les conditions optimales étaient : température (166,94 °C), pression (28,13 Mpa), densité (1,29), absorption d'eau (142,22 %), gonflement (103,24) et porosité (5,41 %). Ces panneaux s'effritent après 2 heures d'immersion. Néanmoins, l'étude cinétique a montré qu'une augmentation du temps de pressage pourrait nettement réduire l'absorption d'eau et le gonflement en épaisseur des panneaux produits. Les prochaines études devraient envisager de prendre en compte l'influence du temps de pressage et les propriétés mécaniques, afin d'envisager leur utilisation comme panneaux de type P₄ en milieu sec où, l'absorption d'eau et le gonflement sont respectivement 30 % et 21 % (NF EN 312).

5. Bibliographie

[1]. Rouilly, A., Rigal, L. 2002. AGRO-MATERIALS: A BIBLIOGRAPHIC REVIEW. *J. Macromol. Sci. Part C Polym. Rev.* 42:441–479.

- [2]. Meza-Sepúlveda, D. C., Castro, A. M., Zamora, A., Arboleda, J. W., Gallego, A. M., Camargo-Rodríguez, A. V. 2021. Bio-Based Value Chains Potential in the Management of Cacao Pod Waste in Colombia, a Case Study. *Agronomy*. 11:693.
- [3]. ICCO. 2021. Cocoa Statistics - May 2021 Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. *Int. Cocoa Organ.* [cited 2 November 2021]. Available from <https://www.icco.org/may-2021-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics/>.
- [4]. Valadez-Carmona, L., Ortiz-Moreno, A., Ceballos-Reyes, G., Mendiola, J. A., Ibáñez, E. 2018. Valorization of cacao pod husk through supercritical fluid extraction of phenolic compounds. *J. Supercrit. Fluids*. 131:99–105.
- [5]. Mansur, D., Tago, T., Masuda, T., Abimanyu, H. 2014. Conversion of cacao pod husks by pyrolysis and catalytic reaction to produce useful chemicals. *Biomass Bioenergy*. 66:275–285.
- [6]. Nenonene, A. Y. 2009. Elaboration et caractérisation mécanique de panneaux de particules de tige de kénaf et de bioadhésifs à base de colle d'os, de tannin ou de mucilage.
- [7]. Drzal, L. T. 2003. Bio-composites : opportunities for value-added biobased materials. [cited 21 September 2021]. Available from <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/20412563>.
- [8]. Rerat, A. 1956. Méthodes de dosage des glucides en vue du calcul de leur valeur énergétique. *Ann. Zootech.* 5:213–236.
- [9]. Poursat, A. 2015. *L'analyse des constituants chimiques du bois au sein de populations génétiques de Peuplier noir pour faire de la sélection d'individus pour des besoins de production énergétique*.:40. Institut Universitaire de Technologie d'Orléans, France.
- [10]. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Crocker, D. 2012. *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*.:18. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Denver West Parkway (USA).
- [11]. Boudjema, H. L. 2016. Elaboration de matériaux composites biodégradables issus de ressources renouvelables. Available from <https://ds.univ-oran2.dz:8443/jspui/handle/123456789/468>.
- [12]. Evon, P., VanDenBossche, V., Pontalier, P.-Y., Rigal, L. 2010. Thermo-Mechanical Behaviour of the Raffinate Resulting from the Aqueous Extraction of Sunflower whole Plant in Twin-Screw Extruder: Manufacturing of Biodegradable Agromaterials by Thermo-Pressing. *Adv. Mater. Res.* 112:63–72.
- [13]. El Hajj, N., Dheilly, R. M., Goullieux, A., Aboura, Z., Benzeggagh, M. L., Quéneudec, M. 2012. Innovant agromaterials formulated with flax shaves and proteinic binder: Process and characterization. *Compos. Part B Eng.* 43:381–390.
- [14]. Evon, P., Vinet, J., Labonne, L., Rigal, L. 2014. Influence of thermo-pressing conditions on the mechanical properties of biodegradable fiberboards made from a deoiled sunflower cake. *Ind. Crops Prod.* 65:117–126.
- [15]. Castillo Martinez, F. A., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., Domínguez González, J. M., Converti, A., Oliveira, R. P. de S. 2013. Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 30:70–83.
- [16]. Eson, R. N., Etchu, K. A., Bayemi, P. H., Tan, P. V. 2015. Effects of the dietary replacement of maize with sun-dried cocoa pods on the performance of growing rabbits. *Trop. Anim. Health Prod.* 47:1411–1416.
- [17]. Evon, P., Vandenbossche, V., Rigal, L. 2012. Manufacturing of renewable and biodegradable fiberboards from cake generated during biorefinery of sunflower whole plant in twin-screw extruder: Influence of thermo-pressing conditions. *Polym. Degrad. Stab.* 97:1940–1947.
- [18]. Rouilly, A. 2002. Nouveaux agro-matériaux composites à matrice protéique ou polysaccharidique: étude du fractionnement, de la transformation et de la mise en forme par extrusion et par injection-moulage de la pulpe de betterave et du tourteau de tournesol.
- [19]. Rambat, R., Aprilita, N. H., Rusdiarso, B. 2015. Aplikasi Limbah Kulit Buah Kakao sebagai Media Fermentasi Asam Laktat untuk Bahan Baku Bioplastik. *J. Kim. Dan Kemasan*. 37:111.
- [20]. Asiedu, N. Y., Neba, F. A., Addo, A. 2019. Modeling the attainable regions for catalytic oxidation of renewable biomass to specialty chemicals: Waste biomass to carboxylic acids. *South Afr. J. Chem. Eng.* 30:1–14.
- [21]. Nazir, N., Juita, E., Amelia, C., Fatli, R. 2016. Optimization of Pre-treatment Process of Cocoa Pod Husk Using Various Chemical Solvents. *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.* 6:403–409.
- [22]. Velásquez, J. A., Ferrando, F., Salvadó, J. 2003. Binderless fiberboard from steam exploded *Miscanthus Sinensis* : optimization of pressing and pretreatment conditions. *Wood Sci. Technol.* 37:279–286

Stabilisation des adobes adjuvés de chaux dolomitique et de fibres de lin

Richard Ouedraogo^{a*}, Moussa Ouedraogo^a, Issiaka Sanou^a, Seick Omar Soré^a, Halidou Bamogo^a, Zara Nikiema^b, Adamah Messan^c, Jean Emmanuel-Aubert^d, Jacob Sanou^b, Younoussa Millogo^a

^aLaboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Unité de Formation et de Recherche en Sciences Exactes et Appliquées (UFR/SEA), Université Nazi BONI, Bobo-Dioulasso, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso

^bLaboratoire de génétique et amélioration des plantes, INERA, Farakobâ, 01 BP 910 Bobo 01

^cInstitut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement (2iE), Laboratoire Eco-Matériaux de Construction (LEMC), BP 594 Ouagadougou 01, Burkina Faso

^dLaboratoire Matériaux et Durabilité des Constructions (LMDC), Université de Toulouse, INSA/UPS Génie Civil, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse cedex 04 France de Toulouse

*ouedraogorichard93@gmail.com

Résumé

L'objectif de ce travail était d'élaborer des éco-matériaux de construction durables ayant de bonnes propriétés physico-mécaniques à partir d'un mélange de terre argileuse, de chaux dolomitique et de fibres de lin cultivé au Burkina Faso. D'après les caractérisations minéralogiques (DRX, DSC/ATG et IR-TF), chimique (ICP-AES) et géotechniques (granulométrie, VBS), cette terre est utilisable pour l'élaboration d'adobes. Les caractérisations chimiques de la chaux dolomitique (ICP-AES) et biochimique des fibres de lin (méthode Van Soest) ont présenté des résultats convenables à l'amélioration des propriétés physico-mécaniques. L'apport de la chaux dolomitique à la matrice argileuse a présenté la meilleure résistance à la compression pour la teneur de 4 %. Cette formulation fut par la suite renforcée de fibres de lin de longueur 1,5 ou 3 cm à des teneurs massiques de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 %. Les teneurs de 4 % de chaux dolomitique et 0,6 % de fibres de lin de 3 cm offrent les meilleures propriétés microstructurales et physico-mécaniques (résistance en compression (2,73 MPa), résistance en flexion (0,74 MPa) et conductivité thermique (0,457 W.m⁻¹.K⁻¹)). La matrice argile-chaux dolomitique étant basique, donc hostile aux fibres de lin, une étude sur leur durabilité est envisagée.

Mots clés : Argile ; Chaux dolomitique ; Fibres de lin ; Propriétés physico-mécaniques.

Stabilization of adobes admixed of dolomitic lime and flax fibers

Abstract

The objective of this work was to develop sustainable eco-building materials with good physico-mechanical properties from a mixture of clay soil, dolomitic lime and flax fibers grown in Burkina Faso. According to mineralogical (XRD, DSC/ATG and IR-TF), chemical (ICP-AES) and geotechnical (particle size, VBS) characterizations, this soil is suitable for the production of adobes. Chemical characterization of dolomitic lime (ICP-AES) and biochemical characterization of flax fibers (Van Soest method) have produced results suitable for improving physico-mechanical properties. The addition of dolomitic lime to the clay matrix gave the best compressive strength for the content of 4 wt.%. This formulation was subsequently reinforced with 1.5 or 3 cm of flax fibers at mass contents of 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 wt.%. The contents of 4 wt.% dolomitic lime and 0.6 wt.% flax fibers of length 3 cm offer the best microstructural and physico-mechanical properties (compressive strength (2.73 MPa), flexural strength (0.74 MPa) and thermal conductivity (0.457 W.m⁻¹.K⁻¹)). As the dolomitic clay-lime matrix is basic and therefore hostile to flax fibers, a study of their durability is planned.

Key words: Clay; Dolomitic lime; Flax fibers; Physico-mechanical properties.

1. Introduction

La terre regorge d'énormes quantités de matières premières utilisables pour l'élaboration de briques en terre pour la construction d'habitat partout dans le monde. Au Burkina Faso par exemple, la technique la plus utilisée est celle de l'adobe [1]. Malheureusement, pour des raisons de résistance mécanique et surtout de la tenue à l'eau et aussi d'influence sociale, on assiste à une sous-exploitation de cette ressource locale abondante au profit des constructions modernes en ciment et acier [2, 3]. Cette technique architecturale moderne est pourtant très énergivore, coûteuse et non écologique. En effet, le ciment Portland beaucoup utilisé au Burkina Faso produit par les cimenteries telles que CIMBURKINA, CIMFASO et CIMAFA a un coût très élevé car le clinker est importé.

Aujourd'hui la prise de conscience sur le réchauffement climatique et des inconvénients de l'exploitation des ressources fossiles en générale suscite un appel à une transition écologique dans tout le monde entier. Le secteur du bâtiment se positionne comme un acteur clé pour parvenir à résoudre les inquiétants défis environnementaux et énergétiques auxquels nous devons faire face [4]. Un recours aux matériaux de construction locaux est donc une nécessité.

Plusieurs études portant sur la stabilité des matériaux de construction en terre ont montré que l'incorporation de fibres végétales dans les briques en terre améliorerait leurs propriétés [5]. D'autres études ont montré que l'utilisation de stabilisants minéraux tels que le ciment et la chaux améliorerait les propriétés des matériaux en terre [6].

En dépit de ces études réalisées, très peu d'études à notre connaissance ont porté un intérêt sur les propriétés du composite argile-chaux dolomitique-fibre de lin. Le présent travail vise à stabiliser les adobes à partir d'un mélange de chaux et de fibres de lin tous produits au BURKINA FASO, utilisables pour la construction d'habitats modernes et durables.

Il s'agira principalement d'évaluer les propriétés microstructurales, physiques et mécaniques des adobes élaborés à partir d'un mélange de terre argileuse, de chaux dolomitique (jusqu'à 10 % à des pas de 2 %) et de fibres de lin de longueur 1,5 et 3 cm (jusqu'à 1 % à des pas de 0,2 %). A la fin ce travail proposera une formulation d'adobes pour des constructions résistantes et durables.

2. Matières premières, méthodes et procédures expérimentales

2.1. Matières premières

La matière première argileuse utilisée dans ce travail provient de Matourkou (11°4' N et 4°22' W) une commune rurale du département de Bobo-Dioulasso au Burkina Faso. Sa couleur rouge laisse penser selon VATAN [7] à une argile latéritique.

La granulométrie complète de cette terre argileuse a été déterminée par tamisage (particules de diamètre $\geq 80 \mu\text{m}$) et par sédimentométrie (particules de diamètre $< 80 \mu\text{m}$) respectivement selon les normes NF P NF P18-560 et NF P 94-057.

La détermination des limites d'Atterberg et de la valeur au bleu de méthylène a été réalisée respectivement selon les normes NFP 94-051 et NF P 94-068.

La valeur au bleu de méthylène obtenue ($\text{VBS} = 1\text{g}/100\text{g}$) indique que l'argile de Matourkou peut être classée dans le groupe des sols sablo argileux [8]. Cette nature de l'argile se confirme par les limites d'Atterberg : limite de liquidité ($W_L = 40\%$), limite de plasticité ($W_p = 19\%$) et indice de plasticité ($I = 21\%$). Ces valeurs de limites d'Atterberg et celles de la granulométrie permettent de placer l'échantillon de terre de Matourkou respectivement dans le fuseau des indices de plasticité et le fuseau granulométrique des terres utilisables pour l'élaboration des briques en terre.

La chaux utilisée dans cette étude est une chaux dolomitique sous forme de poudre blanche avec une granulométrie $< 1 \text{ mm}$. Elle a une densité absolue de 2,24 et un temps de prise lent qui peut durer plusieurs jours. Elle est produite par la Compagnie Villageoise d'Exploitation Minière (COVEMI).

Les fibres de lin utilisées proviennent d'un champ expérimental de l'Institut d'Environnement et de Recherche Agronomique (INERA) situé dans la vallée de Bama, une commune rurale du Burkina Faso. L'extraction des fibres est manuelle après le rouissage des tiges de plante de lin dans des bassins d'eau.

2.2. Méthodes et procédures expérimentales

La composition chimique de la terre argileuse ainsi que de la chaux dolomitique utilisée a été déterminée par spectrométrie d'émission atomique (Inducted Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry ou ICP-AES) après une digestion de l'échantillon dans des fondants.

La diffraction des rayons X (DRX), la calorimétrie différentielle par balayage couplée à l'analyse thermogravimétrique (DSC-ATG) et l'infrarouge ont été utilisées pour déterminer la composition minéralogique des trois matières premières.

La composition biochimique des fibres de lin a été déterminée selon la méthode de Van Soest en utilisant quatre détergents d'extraction : NDS (Neutral Detergent Soluble), NDF (Neutral Detergent Soluble), ADF (Acid Detergent Fiber) et ADL (Acid Detergent Lignin) [8]. Ces détergents sont utilisés dans le but de quantifier les teneurs en cellulose.

La conductivité thermique (K) des adobes a été mesurée avec une sonde TR-1 (2,4 mm de diamètre ; 10 cm de longueur, de plage de travail entre 0,1 et $4 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$) reliée au dispositif KD2 Pro Thermal Properties Analyzer.

La détermination du coefficient d'absorption (A) a été réalisée sur des éprouvettes prismatiques de dimension $(4 \times 4 \times 16) \text{ cm}^3$ à une température de 20°C . Une des surfaces (s) $(4 \times 4) \text{ cm}^2$ des éprouvettes, préalablement séchées à l'étuve (105°C) pendant 3 heures et pesées (m_0), est plongée dans un bécher contenant de l'eau et au fond de laquelle repose un chiffon (**Figure 2.1**). Au bout d'un temps (t) de séjour dans l'eau, la masse des éprouvettes est à nouveau mesur e (m_1) prenant en compte la masse d'eau absorb e. Le coefficient d'absorption (A) des adobes est donné par la **Relation 2.1** [1]

$$A = \frac{m_1 - m_0}{s \times \sqrt{t}}$$

Relation 2.1



Figure 2.1 : Absorption d'eau des adobes

La densité apparente noté (d) a été réalisé sur les éprouvettes par la méthode de la pesée hydrostatique. Cette méthode consiste à peser un échantillon sec (m_s) (séché à 105°C pendant 3 heures), puis à l'enduire d'une certaine quantité de paraffine (m_p) et peser l'ensemble (m_{s+p}), enfin une troisième pesée est réalisée alors que l'éprouvette enrobée de paraffine est plongée dans l'eau ($m_{(s+p)l}$). Connaissant la densité de la paraffine ($d_p = 0,88$), on peut calculer la densité du matériau sec par le principe d'Archimède [1] (**Relation 2.3**)

$$d = \frac{m_s}{m_{s+p} - m_{(s+p)l} - \left(\frac{m_{s+p} - m_s}{d_p} \right)} \quad \text{Relation 2.3}$$

Les essais mécaniques de flexion trois points et de compression simple ont été effectués à l'aide d'une presse multifonction de marque CONTROLAB avec une vitesse de 0,5 mm/min et une charge maximale de 200 kN.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation chimique et minéralogique de la terre argileuse de Matourkou

Les résultats de l'analyse chimique de notre échantillon de terre sont consignés dans le **tableau 3.1**. Ces résultats montrent que l'échantillon est constitué essentiellement de silice (60,01%) et d'alumine (19,42%). Le rapport massique SiO₂/Al₂O₃ est de 3,09 contre 1,1 pour la kaolinite pure, ce qui suggère la présence de silice libre (quartz et silice amorphe) dans cet échantillon [9]. Une teneur appréciable d'oxyde de fer (9,01%) donnant la teinte rougeâtre à la matière première argileuse.

Ces résultats laissent penser que l'échantillon soit riche en quartz, en aluminosilicates et en minéraux de fer et pauvre en minéraux contenant du calcium et du potassium.

Le dépouillement du diffractogramme (**Figure 3.1**) a permis d'identifier la présence des phases cristallines suivantes : La kaolinite (Al₂Si₂O₅(OH)₄), le quartz (SiO₂) et la goethite FeO(OH). Cette composition minéralogique a été confirmée par la DSC-ATG et l'infrarouge.

La composition semi quantitative de terre argileuse a été déterminée par la relation de Yvon et al 1979 [10] (**Tableau 3.2**).

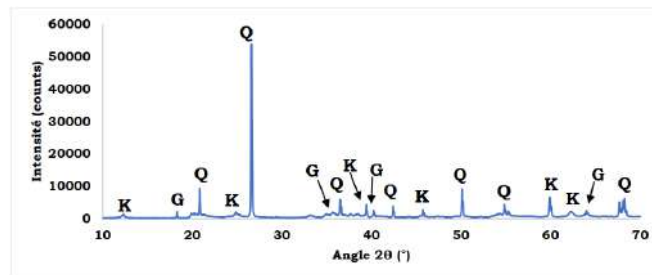


Figure 3.1: Diffractogramme de la terre argileuse de Matourkou

Tableau 3.1: Composition chimique de l'argile de Matourkou

Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	P ₂ O ₅	PF
Pourcentage (%)	60,01	19,42	9,01	-	0,14	0,21	-	0,23	0,81	-	9,56

Tableau 3.2: Composition semi-quantitative de la terre argileuse de Matourkou

Phase cristalline	Kaolinite	Quartz	Goethite	Balance
Composition minéralogique (%)	49	37	10	4

3.2. Caractérisation chimique et minéralogique de la chaux dolomitique

La composition chimique de la chaux dolomitique utilisée est de 54,83% d'oxyde de calcium (CaO), 37,25% d'oxyde de magnésium (MgO) et 7,92% de silice (SiO₂) renfermant de résidus insolubles formés essentiellement de quartz.

Sur le plan minéralogique, (**figure 3.2**) la chaux dolomitique est constituée essentiellement d'oxyde de calcium (CaO) de portlandite (Ca(OH)₂), de carbonate de calcium ou calcite (CaCO₃), de carbonate de magnésium (MgCO₃) et de quartz (Q) [11].

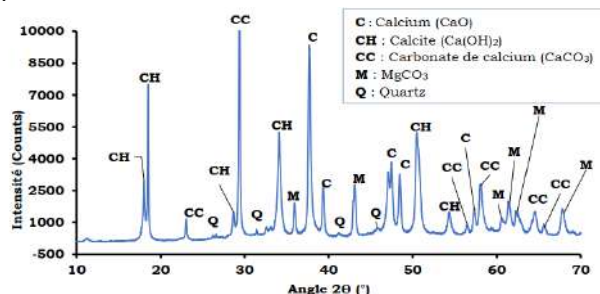


Figure 3.2: Diffractogramme de la chaux dolomitique

3.3. Caractérisation minéralogique, biochimique, physique et mécanique des fibres de lin

Le diffractogramme des fibres de lin présente des pics caractéristiques de la cellulose sous forme cristalline avec un indice de cristallinité de 76 %. Les fibres de lin présentent une contrainte à la rupture de 700 MPa, un module élastique de 70 GPa et un allongement à la rupture de 3 %.

La composition biochimique obtenue est de 74 % de cellulose, 12 % d'hémicellulose, 11 % de pectine, 2 % de lignine et 1 % de cendres.

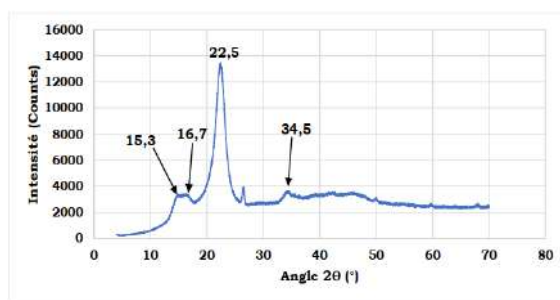


Figure 3.3: Diffractogramme des fibres de lin

3.4. Caractérisation minéralogique et mécanique des adobes stabilisés à la chaux dolomitique

La composition minéralogique des adobes stabilisés à la chaux dolomitique a été analysée. Les diffractogrammes des adobes contenant 0, 4 et 10 % de chaux dolomitique révèlent la présence de la kaolinite, du quartz et de la goéthite sur tous les échantillons analysés. Cependant l'intensité des pics caractéristiques de certains minéraux tels la kaolinite et le quartz diminue avec l'ajout de la chaux dolomitique (**figure 3.5**). Les diffractogrammes des échantillons amendés de 4 % et de 10 % de chaux présentent des pics caractéristiques de la calcite ainsi que des raies diffuses de faible intensité autour de l'angle 2θ compris entre 48° et 50° et 2θ compris entre 17° et 19° respectivement caractéristiques de la présence des CSH faiblement cristallisés et des portlandites [11].

Les résultats obtenus au cours des tests mécaniques présentent une amélioration des résistances mécaniques jusqu'à une teneur de 6 % de chaux dolomitique. Au-delà de cette teneur, la résistance chute (**Figure 3.6**). Cette amélioration de résistances mécaniques peut être expliquée par une microstructure plus homogène (avec de petits pores externes) à cause de la formation des CSH et des MSH qui jouent le rôle de colle en liant les particules isolées du sol entre elles. Au delà de 6 %, les résistances mécaniques baissent et cette baisse peut être expliquée par la formation excessive de la calcite (CaCO₃) et de la portlandite (Ca(OH)₂) dans la matrice argileuse en inhibant l'action des phases cimentaires formées [11]. Pour des raisons économiques, la plus petite teneur en chaux dolomitique qui présente une résistance en compression d'au moins 2 MPa est retenue pour l'incorporation des fibres de lin. Nous retenons donc le pourcentage optimal de 4% de chaux dolomitique (2,30 MPa) pour la suite de nos travaux.

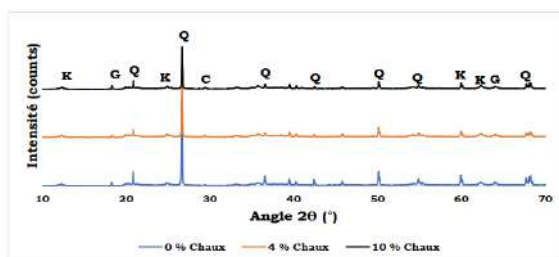


Figure 3.5: Diffractogramme des adobes adjuvés de chaux dolomitique

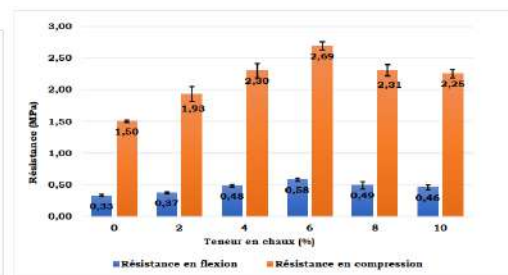


Figure 3.1: Résistances mécaniques des adobes adjuvés de chaux dolomitique

3.5. Caractérisation microstructurale, physique et mécanique des adobes stabilisés à la chaux dolomitique aux fibres de lin

La microstructure des faciès de ruptures des adobes renforcés de chaux dolomitique et de fibres de lin a été réalisée par MEB. Les images obtenues présentent des pores et des fissures dans la structure des adobes contenant peu de fibres (Figure 3.7-a). A des teneurs convenables de fibres, les matériaux présentent une structure homogène avec réduction de la taille des pores et disparition des fissures (Figure 3.7-b). Lorsque la teneur de fibres est importante (1 %), celles-ci se prennent en masse en s'entassant à des endroits occasionnant la formation de cavités comme le montre la Figure 3.7-c. En effet, au cours du malaxage, les molécules des fibres de lin (cellulose, hémicellulose, pectine) interagissent avec les minéraux argileux (kaolinite, quartz) pour former des liaisons hydrogènes [5].

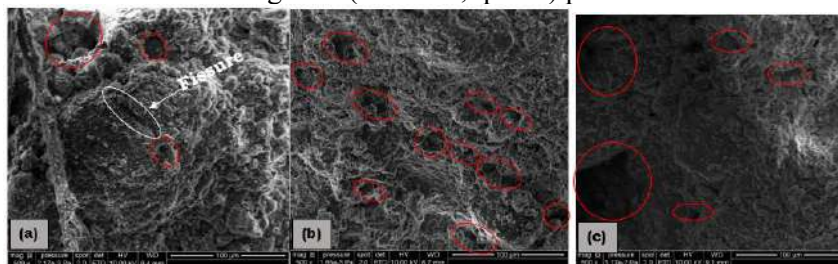


Figure 3.7 : Microstructure des faciès de ruptures des adobes renforcés de fibres de lin: (a) – AF1,5 4-0,2; (b) – AF1,5 4-0,6; (c) – AF1,5 4-1

L'absorption d'eau par capillarité des adobes adjuvés de chaux dolomitique et de fibres de lin est présentée par la Figure 3.8. Le coefficient d'absorption augmente de façon générale jusqu'à la teneur de 0,6 % de fibres de lin pour les deux longueurs. Cette augmentation est due à l'absorption d'eau élevée des fibres de lin grâce au fort taux de cellulose contenu dans ces fibres [5]. Au-delà de 0,6 % de fibre, une baisse de l'absorption d'eau est constatée tant au niveau des fibres de 1,5 cm et celles de 3 cm. Cela est dû à l'entassement des fibres en paquet réduisant ainsi la cinétique d'absorption d'eau par capillarité.

La densité apparente et la porosité des adobes renforcés de chaux dolomitique et de fibres de lin sont présentées par la Figure 3.9. L'ajout de fibres de lin aux adobes entraîne une diminution de la densité apparente et inversement une augmentation de la porosité. Cette diminution s'explique par le fait que l'argile, plus dense (2,68), soit substituée par des fibres de lin moins dense (1,34) [12].

Le comportement thermique des adobes stabilisés à la chaux dolomitique et de fibres de lin est représenté par la Figure 3.10. L'examen des résultats montre que la conductivité thermique des adobes diminue avec l'incorporation de fibres de lin. Cette baisse de conductivité thermique est due à la présence de la cellulose dans les fibres de lin. La cellulose, du fait de sa cristallinité, est un bon isolant thermique [13].

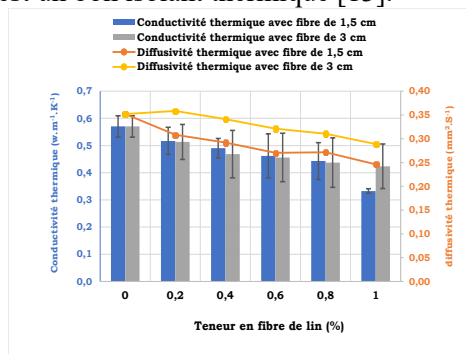
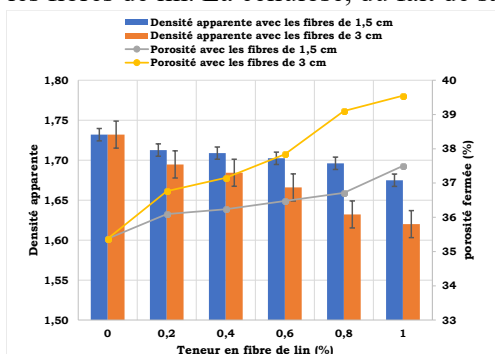


Figure 3.9. Densité apparente et porosité des adobes adjuvés de fibres de lin

Les résistances à la flexion des adobes augmentent avec l'apport de fibres jusqu'à la teneur de 0,8 % pour les deux longueurs de fibres puis chutent au-delà de cette teneur (**figure 3.11**). Cela pourrait s'expliquer principalement par la résistance à la traction élevée des fibres de lin (700 MPa). Cependant, les fibres de 3 cm offrent les meilleures résistances en flexion. En effet les fibres de 3 cm, du fait de la longueur élevée, forment une sorte de pont de jonction dans la matrice argile-chaux améliorant ainsi la résistance en flexion des adobes. La résistance à la compression augmente avec les ajouts de fibres jusqu'à une teneur de 0,6 % pour les deux longueurs de fibres et diminue au-delà de cette teneur (**figure 3.12**). L'amélioration de la résistance à la compression est due aux surfaces rugueuses des fibres de lin, à la formation des CSH et des MSH qui collent les particules argileuses et consolident donc le matériau. Cette amélioration serait aussi due à la formation des liaisons hydrogène entre les atomes d'hydrogènes du groupe hydroxyde des minéraux et les molécules organiques des fibres qui possèdent de nombreux atomes d'oxygènes ayant des doublets électroniques libres [5, 14]

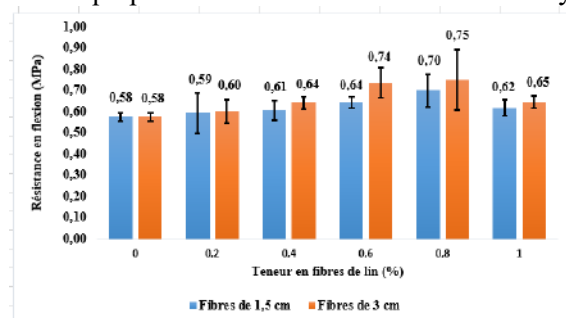


Figure 3. 11 : Résistance en flexion des adobes adjuvés de chaux et de fibres de lin

Figure 3.10. Propriétés thermiques des adobes adjuvés de chaux et de fibres de lin

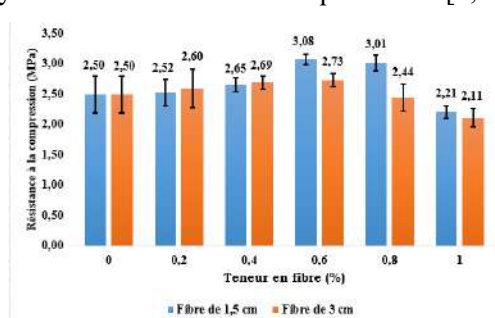


Figure 3. 12 : Résistance en compression des adobes adjuvés de chaux et de fibres

4. Conclusion

L'ajout de la chaux dolomitique à la matière première argileuse de Matourkou a montré une amélioration des propriétés mécaniques des adobes du fait de la formation des CSH, des MSH et des carbonates. La teneur de 4 % était la plus petite teneur en chaux dolomitique offrant une résistance en compression d'au moins 2 MPa (2,30 MPa). Elle a été retenue comme celle optimale. Les propriétés des adobes amandés de 4 % de chaux dolomitique ont subi des modifications à la suite de l'incorporation de fibres de lin de longueur 1,5 et 3 cm. Il ressort que les adobes formulés avec 4% de chaux dolomitique et 0,6 % de fibres de lin de longueur 3 cm ont les meilleures propriétés microstructurales et physico-mécaniques (résistance à la compression (2,73 MPa), résistance à la flexion (0,74 MPa) et conductivité thermique (0,457 W.m⁻¹.K⁻¹)). Ces adobes stabilisés pourraient être utilisés dans la construction d'habitats avec un bon confort thermique.

5. Bibliographie

- [1] Ouedraogo M. : Stabilisation des adobes par des fibres végétales. Thèse de l'université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO, BURKINA FASO, janvier 2018.
- [2] Nshimiyimana P., Fagel N. and Messan A. : Physico-chemical and mineralogical characterization of clay materials suitable for production of stabilized compressed earth blocks. Construction and Building Materials, 2020. 241: p. 118097.
- [3] Wyss U. : La construction en <<matériaux locaux>>, Ouagadougou, décembre 2005.
- [4] Fgaier F. E. : Conception, production et qualification des briques en terre cuite et en terre crue. Thèse Ecole centrale de Lille. (France), 2013.
- [5] Ouedraogo M., Dao K. et Millogo Y. : Influence des fibres de kenaf (Hibiscus altissima) sur les propriétés physiques et mécaniques des adobes. Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie, 2017. 43: p. 48-63
- [6] Dao K. : Stabilisation des adobes par le ciment et les fibres de kenaf. Thèse de Doctorat, Université Joseph Ki Zerbo (Burkina Faso), 2018.
- [7] Dibara M. : Synthèse bibliographique sur les phénomènes latéritiques. Rapport de D.E.A., option géochimie appliquée, Université d'Orléans 1978, 56p.
- [8] Millogo Y. : Stabilisation des Matériaux Locaux par des Liants Minéraux: Application au Génie Civil. 2012: Éditions Universitaires Européennes.

- [9] Konan K. L., Interaction entre des matériaux argileux et un milieu basique riche en calcium. Thèse Université Limoges 2006.
- [10] Didisheim J. J., Yvon K., Shaltiel D. and Fischer P.: The distribution of the deuterium atoms in the deuterated hexagonal Laves-phase ZrMn_2D_3 . Solid State Communications, 1979. 31(1): p. 47-50.
- [11] Bamogo H., Ouédraogo M., Sanou I. and Aubert J.E. : Physical, Hydric, Thermal and Mechanical Properties of Earth Renders Amended with Dolomitic Lime. Materials, 2022. 15(11) : p. 4014.
- [12] Phung T. A. : Formulation et caractérisation d'un composite terre-fibres végétales: la bauge. Thèse Université Normandie, 2018.
- [13] Coulson M. : Conductivité, diffusivité, émissivité thermiques de composites poly (EtherKetoneKetone)-charges carbonées: fibres continues et particules. Thèse Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2018.
- [14] Ouedraogo M., Dao K., Millogo Y. and Aubert J.E. : Physical, thermal and mechanical properties of adobes stabilized with fonio (*Digitaria exilis*) straw. Journal of Building Engineering, 2019. 23: p. 250-258.

Caractérisation physico-chimique et géotechnique des argiles de quatre (4) sites au Mali (Mopti dans la ville de Mopti, Ségou dans la commune de Farako, Bougouni dans la commune Tiagadougou-Dialakoro et Kayes dans la ville de Kita).

Bamba COULIBALY 1*, Youssouf BERTHE 2, Souleymane DAMBE3 , Amadou CISSE4

1* Institut de Pédagogie Universitaire (I.P.U) , Bamako , Mali

2 Ecole Nationale d'Ingénieur Abderhamane Baba Toure (ENI-ABT) , Bamako , Mali

6Faculté des sciences et Techniques

7Institut des sciences Appliquées

1* Courriel de l'auteur de correspondance : coulibalybamba73@yahoo.fr

2 E-mail :sardia@yahoo.fr ; ,

3Email :solodab@yahoo.fr

1. Résumé

Ces travaux visent à la caractérisation physico-chimique et géotechnique des argiles de quatre (04) sites au Mali pour leur emploi dans la construction des habitats par addition d'un stabilisant naturel approprié, incluant l'élaboration d'un liant à base de gomme végétale

L'argile a été avant 1817 (invention du ciment portland) le matériau le plus utilisé dans la construction des ouvrages.

Ses principaux défauts dont sa vulnérabilité à l'eau, son entretien fréquent et sa faible résistance à la compression à l'état naturel l'ont fait à l'ère du ciment portland un matériau de méfiance dans la construction.

Afin d'améliorer la performance des argiles plusieurs sujets ont été traités par différents auteurs ces dernières décennies à savoir la stabilisation avec le ciment ; des sciures de bois, création des liants géopolymères, le béton d'argile environnemental et des recettes traditionnelles (cellulose, gommages naturelles, gluants, protéines, etc.) (Mariette Moevus, 2013) ; (ESSAIDI, 2013) ; (Aurélien Vissac, 2017, 978-2-906901-88-9.); (SO, 2009).

Afin de mieux juger les caractéristiques des argiles les échantillons sont testés aux essais suivants de laboratoire : granulométrie ; les limites d'Atterberg ; le bleu de méthylène ; le poids spécifique ; Essai Proctor normal.

Ces essais fournissent des informations précieuses sur les propriétés physiques, mécaniques et hydrauliques des argiles, ce qui est essentiel pour concevoir et construire des infrastructures sûres et durables.

Une fois les caractéristiques, maîtrisées ces argiles seront sollicitées pour la création d'un liant écologique pouvant agglomérer les granulats (sables et graviers) au même titre que le ciment portland.

Mots clés : Argile, Mali, liant écologique, environnement, ciment Portland

2. Introduction

Le secteur des BTP dégrade l'environnement via la production industrielle, les transports, l'entretien énergétique et les matériaux non biodégradables. Le béton est particulièrement problématique. Une alternative écologique est la terre, ressource inépuisable utilisée depuis toujours. Elle se modèle en poteries, briques cuites, briques en terre comprimée (BTC), et liants comme le ciment et la chaux. Récemment, des chercheurs ont amélioré ses performances en y incorporant des liants industriels et des armatures végétales ou organiques (paille, chanvre, copeaux de bois). En plus de la construction, la terre est utilisée en agriculture pour l'amélioration des sols, en médecine traditionnelle pour ses propriétés curatives, en art pour la sculpture et la céramique, en cosmétiques pour les masques et soins de peau, et en aménagement paysager pour la création de jardins et espaces verts.

La terre est donc un matériau extraordinaire qui s'adapte à toutes les situations selon l'expérience et le savoir du concepteur et des exécutants. Au cours de ces dernières décennies plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'amélioration des caractéristiques de la terre afin d'accroître ses performances dans la construction en y incorporant des proportions de liants industriels (ciment, chaux, plâtre, vernis etc.) ; des proportions des armatures végétales ou des produits organiques appelés aussi les recettes naturelles (la paille sèche, le chanvre, le sisal, les feuilles de palmier, les copeaux de bois, les écorces de bois etc.).

3. Objectifs

2.1. Objectif général

Caractériser les compositions physico-chimiques et géotechniques de ces argiles pour créer des liants écologiques à faible énergie grise pour accroître l'économie dans le BTP

2.2. Objectifs spécifiques

Déterminer les paramètres physico-chimiques

Déterminer les paramètres géotechniques

4. Méthodologie

2.3. Matériel

Il est constitué des échantillons d'argiles de quatre sites au Mali prélevés de Novembre 2022 à Mai 2023 à des profondeurs allant de 0,050m à 1,00m selon la morphologie du site.

2.4. Méthodes

2.5. Détermination des constantes physicochimiques

Objectif : Préparer un échantillon représentatif pour les tests.

Étapes : Séchage à l'air, réduction en poudre si nécessaire, tamisage pour éliminer les gros débris.

2.6. Analyse Granulométrique (par sédimentation)

Objectif : Déterminer la distribution des tailles de particules.

Étapes : Dissolution de l'échantillon dans de l'eau, analyse de la vitesse de sédimentation des particules en utilisant un hydromètre ou un analyseur granulométrique.

2.7. Limites de Liquidité et de Plasticité (tests d'Atterberg)

Objectif : Évaluer le comportement de l'argile en fonction de la teneur en eau.

Étapes : Préparation de pâtes d'argile, mesure de la limite de liquidité à l'aide d'un cône de Casagrande et de la limite de plasticité par essai de filage.

2.8. Essai de Méthylène Bleu

Objectif : Évaluer la capacité d'adsorption des ions de méthylène pour identifier le type d'argile.

Étapes : Mélange de l'argile avec une solution de méthylène bleu, mesure de la quantité de colorant adsorbée.

2.9. L'argile de Dialakoro

C'est une argile provenant de la plaine de riziculture de l'ODRS dont la carrière d'extraction est située à 3km de Dialakoro.

L'échantillon est prélevé à une profondeur de 1,00 m, le site est habituellement recouvert par une terre végétale d'épaisseur moyenne 5cm. Elle est de couleur unique et blanchâtre, de toucher très doux, très collant, résistant sous la pression des doigts et à odeur terreuse.

Présence de mottes de plus de 30 cm et de petits agrégats, peu de porosité à l'intérieur des mottes

Elle est composée essentiellement de grains fins avec minoritairement des nodules. Grace à cohésion et à sa malléabilité elle est le matériau utilisé par excellence par les familles de forgerons du village pour la confection des produits en poterie (jarres, canaris, encenseurs, couscoussiers etc.).

La technique de production utilisée est la technique artisanale c'est la confection des produits avec l'habileté des mains et la cuisson avec les branches des arbres morts.

L'ensemble de ces renseignements nous permet de confirmer que cet échantillon d'étude est une argile très plastique.



Figure1 : échantillon d'argile smectique de Tiagadougou-Dialakoro

2.10. L'argile de Mopti

Notre sol est un gisement d'argile à ciel ouvert qui se trouve en abondance dans la région de Mopti, cercle de Mopti précisément dans la zone rivière entre la station ORTM et le rond-point d'entrée de la ville. Il est beaucoup ritualisé dans confection des briques en terre destinées à la construction des maisons en terre de niveau RDC le plus fréquent voir même R+1 quelques fois.

L'échantillon est récolté à une profondeur de 0,50 m à 1,00 m, le site est habituellement recouvert par une terre végétale d'épaisseur moyenne 10 cm. Elle est de couleur jaune, comportant des bandes et taches de rouilles de toucher légèrement collant, avec des petites aspérités, résistant sous la pression des doigts et à odeur minérale. Présence de mottes de plus de 25 cm et de petits agrégats, peu de porosité à l'intérieur des mottes. Elle est constituée essentiellement de grains fins avec très peu de nodules. Grâce à cohésion et à sa compacité elle est le matériau utilisé pour la production des éléments de construction. La technique de production des éléments de construction la plus utilisée est la technique artisanale c'est-à-dire la production des briques à la main. L'ensemble de ces renseignements nous permet de confirmer que cet échantillon d'étude est un échantillon limono-sablo- Argileuse peu plastique



Figure2 : échantillon d'argile limoneuse de Mopti

2.11. L'argile de Farako

Les carrières sont situées non loin du village de Farako sur une étendue de la plaine du fleuve Niger entre Farako et Kalabougou.

L'extraction se fait au fond de trous d'un (01) mètre de profondeur.

Elle se déroule en début de semaine, précisément le mardi. Les lundis et vendredis sous l'emprise des mauvais génies sont néfastes. La poterie est depuis longtemps l'activité principale de la famille des hommes de caste de ce village (Dagnon ; Koumaré ; Doumbia ; Ballo ; Kané ; Diarra ; Coulibaly)

C'est une argile limoneuse, ferrugineuse, à teinte beige clair avec des pastilles ocre.

Cette argile est beaucoup reconnue grâce à sa malléabilité et sa cohésion.

Elle est de toucher collant, avec des petites aspérités remarquable à sa surface, résistant sous la pression des doigts et à odeur organique.

L'ensemble de ces renseignements nous permet de confirmer que cet échantillon d'étude est une argile très plastique.



Figure3 : échantillon d'argile smectique de Farako

2.12. L'argile de Kita

Ce sol provient d'un site à ciel ouvert situé à l'entrée Est de la ville en venant de Bamako non loin du marigot.

Ce site est habituellement exploité par la population pour la confection des briques en terre utilisées dans la construction des maisons en terre.

L'échantillon est prélevé à une profondeur de 0,6 mètre après avoir nettoyé la terre végétale de 4cm au-dessus du terrain naturel.

Il est de couleur jaune pâle, de toucher légèrement collant, résistant sous la pression des doigts et à odeur minérale.

Présence de mottes de plus de 8 cm et de petits agrégats, peu de porosité à l'intérieur des mottes.

Elle est constituée essentiellement de grains fins avec quelques nodules. Grâce à cohésion et à sa compacité elle est le matériau utilisé pour la production des éléments de construction.

La technique de production des éléments de construction la plus utilisée est la technique artisanale c'est-à-dire la production des briques à la main.

L'ensemble de ces renseignements nous permet de confirmer que cet échantillon d'étude est un échantillon limon-argileux peu plastique.



Figure4 : échantillon d'argile Kita

2.13. Analyses chimiques

Les résultats de l'analyse chimique, résumés dans le tableau I, révèlent que la silice (SiO_2), l'alumine (Al_2O_3) et l'oxyde de fer (Fe_2O_3) sont les oxydes prédominants dans les trois échantillons examinés. Cette prééminence indique avec force que ces échantillons se classifient comme aluminosilicates, une famille de minéraux notoire pour sa structure cristalline unique et sa composition chimique caractéristique.

Les aluminosilicates exhibent des propriétés spécifiques qui varient en fonction de leur composition chimique détaillée. Une teneur élevée en silice confère aux échantillons une résistance notable aux conditions environnementales sévères et aux attaques chimiques, en raison de la solidité des réseaux silicatés qui créent une barrière protectrice contre les agressions externes. L'alumine joue un rôle prépondérant dans la plasticité et la cohésion des sols, influençant leur comportement mécanique et leur aptitude dans des contextes nécessitant une flexibilité ou une malléabilité particulière. De plus, l'oxyde de fer, responsable de la teinte rougeâtre caractéristique observée dans certains sols, contribue également à la formation de structures cristallines robustes, améliorant ainsi la durabilité des matériaux en facilitant les processus de cristallisation.

Une analyse détaillée de ces composés indique que les échantillons présentent des propriétés qui les rendent particulièrement adaptés à une vaste gamme d'applications industrielles et environnementales. Par exemple, l'association de silice et d'alumine est particulièrement bénéfique pour la production de céramiques et de matériaux réfractaires, en raison de leur exceptionnelle capacité à résister à des températures élevées et à des environnements corrosifs. En outre, la présence d'oxyde de fer peut renforcer les propriétés magnétiques des matériaux, offrant des perspectives intéressantes pour leur application dans des technologies avancées, telles que la fabrication de dispositifs électroniques sophistiqués et de capteurs magnétiques de haute précision.

2.14. Analyses physiques

Concernant les techniques d'analyse ATG (Analyse Thermogravimétrique) et ATD (Analyse Thermo différentielle), elles fournissent des informations complémentaires de grande importance. L'ATG permet de mesurer les variations de masse des échantillons en fonction de la température, fournissant des indications cruciales sur les processus de décomposition thermique des différents composés présents. Cette méthode est essentielle pour appréhender les mécanismes de perte d'eau ou de dégradation des aluminosilicates, en offrant des données approfondies sur la stabilité thermique et les réactions de décomposition spécifiques à ces matériaux. En parallèle, l'ATD évalue les variations de température associées aux transitions thermiques, telles que les changements de phase et les réactions endothermiques ou exothermiques. Cette analyse détaillée permet de mieux comprendre la stabilité thermique des composés et leur impact sur les propriétés matérielles, fournissant ainsi des informations précieuses pour l'optimisation des matériaux.

En définitive, l'analyse chimique exhaustive des trois échantillons confirme leur classification en tant qu'aluminosilicates et met en lumière les implications de leur composition en termes de propriétés physiques et chimiques. Une compréhension approfondie des résultats obtenus par les méthodes ATG et ATD ouvre la voie à des applications diversifiées et optimisées pour ces matériaux, en tirant parti de leurs caractéristiques intrinsèques pour répondre aux exigences spécifiques de divers secteurs industriels et technologiques de pointe.

Tableau I: Résultats des analyses chimiques

Désignations	Argile de			
	Falako	Kita	Mopti	Dialakoro
Fe ₂ O ₃	5,35	7,59	3,33	5,15
CaO	0,41	0,75	0,38	0,53
K ₂ O	0,52	0,43	0,61	0,58
SiO ₂	29,61	29,23	32,38	26,25
Al ₂ O ₃	5,59	5,46	5,03	5,44
MgO	0,18	0,36	0,35	0,26
P ₂ O ₅	0,1	0,1	0,18	0,11
TiO ₂	0,65	0,74	0,75	0,97
Cr	203	307	116	213
Cu	1	29	1	1
Cd	1	1	1	1
Fe	37400	53100	23300	
As	1	1	1	3
Mn	1	275	64	330
Si	138400	136600	151300	122600
pH	4,37	5,97	5,53	6,06
Cond (µs/Cm)	407	760	563	687

TableauII: resultats des analyses physiques (ATG/ATD)

Echantillons	Creuset vides	Poids humide d'écht (g)	Creuset chargé après le four	Poids d'écht sec	%	%
Farako	73,8320 g	20	91,4225 g	17,5905	87,9525	12,0475
Kita	73,8412 g	20	91,8310 g	17,9898	89,949	10,051
Mopti	71,1385 g	20	89,7356 g	18,597	92,985	7,015
Dialakoro	71,5678 g	20	89,1894 g	17,6196	88,098	11,902
Perte au feu						

Fe₂O₃ (Oxydes de fer)

Farako (5,35%), Kita (7,59%), Mopti (3,33%), Dialakoro (5,15%)

- Selon Dupont et al. (2010), les valeurs de Fe₂O₃ dans les sols argileux du sud du Mali varient entre 4,50% et 6,30%. Ces valeurs sont similaires à celles observées à Farako et Dialakoro, mais inférieures à celles de Kita et supérieures à celles de Mopti.

- D'après Toure et al. (2012), la concentration de Fe₂O₃ dans les sols argileux de la région de Mopti est typiquement de 2,80% à 4,00%, ce qui est cohérent avec la valeur de 3,33% pour Mopti.

2.15. Les caractéristiques géotechniques des argiles étudiées

Essais d'identification

Les essais réalisés sur les échantillons d'argile ont pour objectif d'évaluer divers paramètres clés afin d'identifier les caractéristiques fondamentales du sol et de prédire son comportement, notamment en termes de gonflement et de stabilité. Ces essais permettent de caractériser les propriétés physiques et chimiques du sol, essentielles pour des applications dans la construction, l'agriculture, et l'ingénierie des sols.

Parmi les méthodes d'analyse employées, on distingue :

2.16. Analyse granulométrique par lavage et sédimentométrie NF P18-560 et NF P94-057

La composition granulométrique joue un rôle primordial dans la détermination des comportements physiques et mécaniques des sols, influençant toutes les propriétés associées à la teneur en eau et à ses variations, telles que la compacité, la plasticité, la portance, la capacité de rétention, la perméabilité et la capillarité. La détermination de

la composition granulaire d'un sol s'effectue par deux méthodes principales : le tamisage par voie humide et la sédimentométrie, conformément aux normes NF P18-560 et NF P94-057, respectivement. (Djalel, 2022)

2.17. Tamisage par voie humide

Le tamisage par voie humide consiste à séparer les particules d'un échantillon de sol aggloméré à l'aide d'un brassage sous l'eau. Ce procédé permet de fractionner le sol en différentes tailles de particules, qui sont ensuite séchées. Le séchage est suivi d'un tamisage à travers une série de tamis de mailles variables (voir Figure 25), permettant de collecter et de peser les fractions de sol retenues sur chaque tamis. La masse de chaque fraction est comparée à la masse totale sèche de l'échantillon initial, fournissant une répartition granulométrique des particules. Les résultats de cette analyse permettent d'obtenir un profil détaillé de la taille des grains, allant des particules grossières telles que le sable aux particules fines telles que l'argile. (Djalel, 2022)



Figure 5: Mode opératoire de l'analyse granulométrique par voie humide

2.18. Sédimentométrie

La fraction fine, constituée de particules de taille inférieure à 80 μm , est soumise à un essai de sédimentométrie pour déterminer la distribution des tailles des particules fines. Cette méthode repose sur la mesure de la vitesse de décantation des particules dans un liquide, qui est directement liée à leurs dimensions. La loi de Stokes, appliquée aux particules sphériques de même densité, permet de relier le diamètre des grains à leur vitesse de sédimentation. Par convention, cette loi est utilisée pour calculer les diamètres équivalents des particules dans le sol, offrant ainsi une estimation précise de la taille des particules fines qui passent au travers d'un tamis de 80 μm . (Djalel, 2022)



Figure6: Mode opératoire de granulométrie par voie sèche

TableauIII:reultat de l'analyse granulométrique et de sedimentometrie de l'argile de mopti

Ouverture tamis	Masse refus partiel Ri	Masse refus cumulé	Pourcentage	
			Refus cumulé	Tamisat cumulé
Mm	G	g	%	%
80		0	0,00	100,00
50		0	0,00	100,00
31,5		0	0,00	100,00
25		0	0,00	100,00
20		0	0,00	100,00
10		0	0,00	100,00
5		0	0,00	100,00

2		4	0,20	99,80
1		36	1,80	98,20
0,5		108	5,40	94,60
0,4		138	6,90	93,10
0,2		316	15,80	84,20
0,08		776	38,80	61,20
0,075	ANALYSE GRANULOMETRIQUE PAR SEDIMENTATION			61,20
0,055				61,18
0,038				61,16
0,025				61,13
0,017				61,11
0,012				61,08
0,06				61,05
0,0055				60,99
0,005				60,94
0,0035				60,91
0,0014				60,88

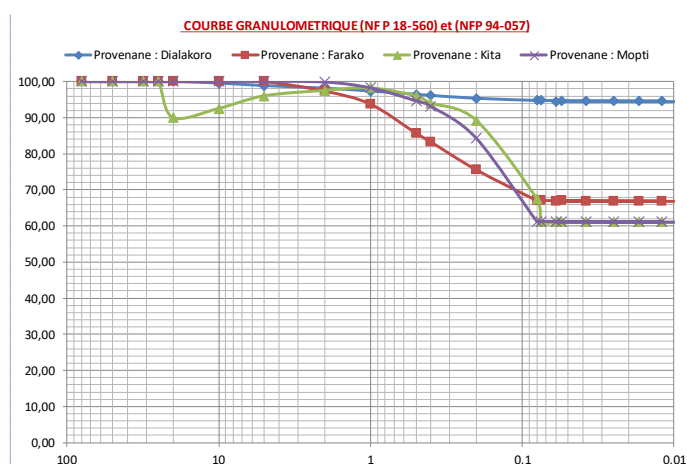


Figure 7 : Courbes granulométriques des échantillons étudiés

2.19. Les limites d'Atterberg NF P 94-052-1

Définition : Les limites d'Atterberg (limite de liquidité et limite de plasticité) sont des paramètres géotechniques destinés à identifier un sol et à caractériser son état au moyen de son indice de consistance. Ce sont des teneurs en eau pondérales correspondant à des états particuliers d'un sol.

La limite de liquidité (WL) est la teneur en eau exprimée en pourcentage au-dessus de laquelle le sol s'écoule comme un liquide sous l'influence de son propre poids.

La limite de plasticité (WP) est la teneur en eau au-dessous de laquelle il devient impossible de confectionner des bâtonnets de 3 mm de diamètre et de 1cm de longueur sans qu'ils se rompent ou s'émiettent.

L'indice de plasticité (IP) est la différence entre la limite de liquidité et la limite de plasticité qui mesure l'étendue du domaine de plasticité du sol.

Matériel

Un pénétromètre à cône ; Un abaque ; Une balance de précision ; Une étuve ;

Godet (un petit récipient contenant le sol) ; Un chronomètre ; Des tares ;

Des spatules des truelles et un marbre pour effectuer le malaxage de la pâte.

Méthodes

Après l'échantillonnage, nous avons pris une masse m de matériau qui est mise à imbiber dans un récipient d'eau à la température ambiante pendant 24h. Une fois imbibé, le matériau est tamisé par voie humide au tamis de

0.400mm. L'eau de lavage et le tamisât sont recueillis dans un bac. Après une durée de décantation d'au moins 12h, l'eau claire du bac est siphonnée sans entrainer de particules solides. L'eau excédentaire est mise à l'étuve à une température de 50°C jusqu'à poids constant. On retire le matériau de l'étuve et on procède à la détermination des limites de liquidité et de plasticité.

2.20. Détermination de la limite de liquidité WL

Le sol, préparé ayant une teneur en eau fixée est étalé sur la plaque lisse puis malaxé avec une spatule pour obtenir une pâte homogène presque fluide. Ensuite, remplir le godet de pâte à l'aide d'une spatule. Cette opération doit-être exécuter de façon à éviter la présence de bulles d'air dans le godet. Araser afin d'obtenir une surface lisse et plane. Ajuster la pointe normalisée à peu près au centre du récipient et pour qu'elle affleure la surface du sol (une légère trace apparait lorsqu'on déplace le récipient). Repérer la position du cône. Libérer le cône et laisser s'enfoncer dans le sol pendant 5s. Noter sa nouvelle position. L'enfoncement h doit être compris entre 12 et 25 mm. Enlever le cône. Faire un prélèvement et mesurer son poids.

L'opération est renouvelée trois autres fois pour différentes teneurs en eau. Peser les échantillons secs après 24 heures pour déterminer les teneurs en eau. On réalise le tracé de la courbe dans un repère orthonormé portant en abscisse les valeurs de l'enfoncement et en ordonnée les valeurs de la teneur en eau. A partir de la courbe tracée, on détermine la limite de liquidité qui représente l'ordonnée correspondant qui correspond à un enfoncement de 17mm de cône de l'axe des abscisses.

2.21. Détermination de la limite de plasticité WP

Elle est déterminée sur la même fraction de matériau ayant servi à la détermination de la limite de liquidité. Souvent humide, cette fraction est desséchée par malaxage et roulement sur du verre, jusqu'à ce que la masse devienne suffisamment plastique pour former une boule.

Cette dernière est roulée sur le verre pour lui donner une forme cylindrique qui se fragmente pour un diamètre d'environ 3mm.

La limite de plasticité est la moyenne des teneurs en eau de deux fragments issus de l'opération.

Expression des résultats des limites d'Atterberg

2.22. Limite de liquidité

La limite de liquidité (WL) est définie comme la teneur en eau du matériau à laquelle un cône s'enfonce de 17 mm dans l'échantillon. Cette valeur est déterminée par l'ajustement d'une droite moyenne sur les ensembles de données expérimentales, exprimées en termes d'enfoncement et de teneur en eau (w).

Pour obtenir une droite moyenne fiable, il est impératif de disposer d'au moins quatre points de données. La relation est considérée comme valide si l'écart entre la teneur en eau mesurée et celle calculée pour une même valeur d'enfoncement ne dépasse pas 3%. En cas de non-conformité à ce critère, il est nécessaire de répéter les mesures.

La valeur calculée est ensuite arrondie au nombre entier le plus proche pour obtenir la limite de liquidité.

2.23. Limite de plasticité

La limite de plasticité (WP) est définie comme la teneur en eau à laquelle un cylindre de sol commence à se fissurer lorsque son diamètre atteint 3,0 mm $\pm$ 0,5 mm. La valeur de WP est calculée comme la moyenne arithmétique des teneurs en eau obtenues à partir de deux essais distincts. Cette valeur est exprimée en pourcentage, avec un arrondi à l'unité près.

Indice de plasticité

L'indice de plasticité (IP) est la différence entre la limite de liquidité et la limite de plasticité, et est donné par la formule suivante :

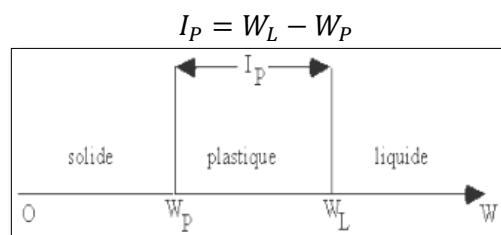


Figure N° 8 : Limite d'ATTERBERG

L'indice de plasticité est en relation avec la quantité d'argile que comporte le sol. Les sols argileux ont un indice de plasticité élevé et assurent la cohésion du sol.

Tableau IV:limites d'atterberg (NFP94-052) (site de mopti ; nature: sol limoneux)

	Essai N°1	Essai N°2	Essai N°3	Essai N°4
Enfoncement (mm)	12mm ≤ Enfoncement < 17mm		17mm < Enfoncement ≤ 25mm	
	14,7	16,6	18	21,5
N° Tare	C1	C2	C3	C4
Poids Total humide	11,82	12,22	12,95	13,68
Poids Total Sec	9,6	9,85	10,38	10,82
Poids de la Tare	0,5	0,5	0,5	0,5
Poids de l'eau	2,22	2,37	2,57	2,86
Poids du sol sec	9,1	9,35	9,88	10,32
Teneur en eau	24,40	25,35	26,01	27,71

TableauV : limite de plasticité

Désignations	Essai N°1	Essai N°2		
N° Tare	A5	A6	LL:	26,02
Poids Total humide	6,3	6,73		
Poids Total Sec	5,51	5,87		
Poids de la Tare	0,5	0,5		
Poids de l'eau	0,79	0,86	LP:	15,89
Poids du sol sec	5,01	5,37		
Teneur en eau	15,77	16,01		
Moyenne teneur en eau	15,89		IP:	10,16

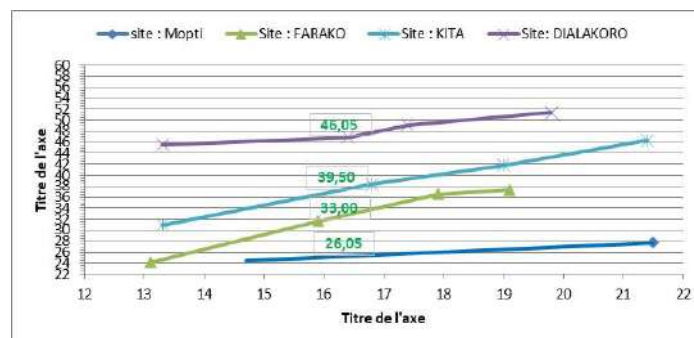


Figure 9 : Limites d'Atterberg (NF P 94 – 051)

Suivant la valeur l'indice de plasticité, les sols peuvent se classer comme suit : voir tableau n°7.

TableauVI:classification des sols selon les valeurs du degré de plasticité

Indice de plasticité	Degré de plasticité
$0 < I_p < 5$	Non plastique (l'essai perd sa signification dans cette zone de valeurs)
$5 < I_p < 15$	Moyennement plastique
$15 < I_p < 40$	Plastique
$I_p > 40$	Très plastique

Tableau VII:recapitulatif des valeurs des limites d'atterberg

Limites d'Atterberg	Dialakoro	Mopti	Farako	Kita
Limite de Liquidité (WL)	48,27	26,02	33,00	46,8
Limite de Plasticité (WP)	26,14	15,89	17,15	32,52

Indice de Plasticité (Ip)	22,13	10,16	15,85	14,28

Tableau IX : classification des sols selon la classification HRB

Sites	Classe de sol
Dialakoro	A6 (15) Sol argileux
Kita	A7-6(9) Sol argileux
Farako	A6(9) Sol argileux
Mopti	A4(6) Sol limoneux

2.24. Essai Proctor normal sur l'argile de Mopti MEII (NF P 94-093)

L'essai Proctor est essentiel pour identifier la teneur en eau optimale à laquelle un sol compacté atteint sa densité sèche maximale. Les propriétés de compactage d'un sol sont généralement illustrées à l'aide de la courbe Proctor, représentée sur un diagramme montrant la densité sèche γ_d en fonction de la teneur en eau w .

Pour cet essai, une masse de trois (3) kilogrammes de matériau a été utilisée.

Détermination de la teneur en eau naturelle

Avant tout, on a déterminé la teneur en eau naturelle du matériau. Soit M_1 la masse du matériau à l'état naturel et M_2 cette même masse brûlée pendant 15mn puis pesée.

La teneur en eau est obtenue par la formule suivante :

$$W_i\% = \frac{M_1 - M_2}{M_2} \times 100$$

Connaissant $W_i\%$, la première eau de mouillage est choisie. Les autres sont obtenues en ajoutant successivement au précédent 2% d'eau jusqu'à la chute du poids du matériau. A chaque eau de mouillage correspond une densité sèche.

L'objectif recherché est la détermination des paramètres du compactage à savoir la densité sèche optimale (γ_{dopt}) et la teneur en eau optimale (W_{opt}) qui serviront de base pour la confection des éprouvettes. Le tableau 9 donne les valeurs de ces paramètres pour les trois (3) échantillons.

Les matériels utilisés sont :

Un socle de compactage ;

Un modèle de moule (moule Proctor) Constitué d'un corps de moule d'une embase et d'une rehausse ;

Un modèle de dame de compactage manuelle (dame Proctor Normal) ;

Une règle à araser ;

Un plateau ;

Une balance ;

Des tares marquées ;

Une étuve.

Méthodologie opératoire

Préparation de l'échantillon : Prélevez une masse de 300 g du matériau à tester. Séchez cette masse dans une étuve à 105°C pendant environ 24 heures, ou jusqu'à ce qu'un poids constant soit atteint. Déduisez la teneur en eau naturelle à partir de ces mesures (voir ci-dessus).

Pesée initiale : Pesez le moule Proctor vide, sans la rehausse.

Humidification : Ajoutez à l'échantillon une première quantité d'eau. L'eau doit être répartie progressivement et uniformément pour assurer une humidification homogène.

Compactage : Le compactage s'effectue en trois couches successives de hauteur égale, dans le moule Proctor équipé de sa rehausse. Chaque couche reçoit vingt-cinq coups de dame. La dernière couche doit légèrement dépasser le bord supérieur du moule.

Finition : Une fois le compactage terminé, retirez-la rehausse et nivelez correctement la surface du sol au niveau du bord supérieur du moule. Nettoyez les parois et la base du moule, puis pesez l'ensemble.

Échantillonnage : Après démoulage, coupez l'échantillon compacté en sections et prélevez des portions représentatives de différentes zones (bas, milieu, et haut). Placez ces échantillons dans une tare pour déterminer la teneur en eau moyenne.

Arrêt de l'essai : L'essai est interrompu dès qu'une diminution de la masse de l'échantillon est observée, indiquant que l'optimum Proctor a été atteint.

Cette méthodologie permet de déterminer la relation entre la densité sèche du sol et sa teneur en eau, et de trouver ainsi la teneur en eau optimale pour un compactage maximal.



Figure 10: Mode opératoire de l'essai Proctor normal

Le tableau n°8 et la courbe n°3 montrent un exemple de la variation de la densité sèche en fonction de la teneur en eau pour l'échantillon n°2.

Nature : Argile

Provenance : Mopti

Date: 25/02/2022

TableauX:proctor normal 94-093

N°		I	II	III	IV
% L'eau ajoutée		12	14	16	18
N° du moule					
Poids du moule		2436	2436	2436	2436
Poids total humide		4306	4386	4384	4360
Poids du sol humide		1870	1950	1948	1924
Volume du moule		945	945	945	945
Densité humide		1,979	2,063	2,061	2,036
TENEUR EN EAU NATURELLE	N° de la tare				
	Poids total humide	500			
	Poids total sec				
	Poids de la terre				
	Poids de l'eau	2			
	Poids du sol sec	498			
	Teneur en eau %	0,40	12,40	14,40	16,40
	Densité sèche	1,76	1,80	1,77	1,72
			Ds max:	1,80	t/m3
			W. opt:	14,90	%

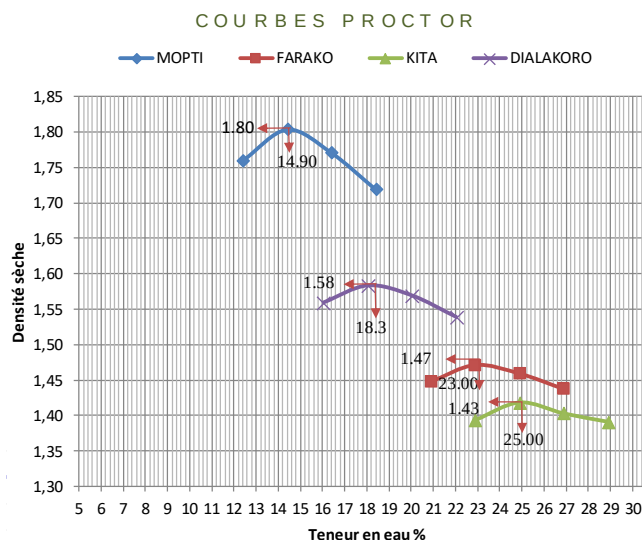


Figure 11: Proctor normal sur les échantillons d'argile

Densité Sèche Optimale (g/cm³)

Farako (1,47 g/cm³), Kita (1,42 g/cm³), Mopti (1,8 g/cm³), Dialakoro (1,58 g/cm³)

- Coulibaly et al. (2017) ont rapporté des densités sèches optimales de 1,45 à 1,65 g/cm³ pour des sols de la région de Kayes, similaires à celles observées à Farako et Dialakoro, mais inférieures à celles de Mopti.

- Sylla (2016) a trouvé des densités sèches optimales de 1,40 à 1,50 g/cm³ dans des sols de la région de Kita, ce qui correspond aux valeurs observées pour Farako et Kita.

2.25. Essai au bleu de méthylène NF P 94-068

Définition : La valeur de bleu de méthylène (VBS) est une mesure quantitative exprimant la capacité d'adsorption de l'argile par le bleu de méthylène. Elle est indiquée en grammes de bleu de méthylène par 100 grammes de sol. Cette valeur permet de caractériser non seulement la quantité d'argile présente, mais également la nature et les propriétés des minéraux argileux constituant le sol.

Équipement Nécessaire pour l'Essai au Bleu de Méthylène

Système de Dosage :

Un appareil de dosage permettant d'injecter des volumes de solution de bleu de méthylène par paliers de 10 cm³, 5 cm³, et 2 cm³, avec une précision d'injection totale de ± 1 cm³.

Récipient Cylindrique :

Un conteneur cylindrique ayant une capacité minimale de 3000 cm³, avec un diamètre interne de (155 ± 10) mm.

Papier Filtre Blanc :

Utilisé pour la filtration des échantillons après traitement avec la solution de bleu de méthylène.

Baguette de Verre et Balance Précise :

Une baguette en verre pour l'agitation manuelle.

Une balance avec une précision de 0,2% de la masse de l'échantillon prélevé.

Agitateur à Ailettes :

Un agitateur équipé d'ailettes, capable de fonctionner à des vitesses de rotation comprises entre 400 tr/min et 700 tr/min.

Chronomètre et Thermomètre :

Un chronomètre pour mesurer les durées précises des étapes de l'essai.

Un thermomètre pour contrôler la température des solutions et des échantillons.

Étuve Ventilée :

Une étuve ventilée utilisée pour la détermination précise de la teneur en eau des échantillons.

Ces équipements sont essentiels pour garantir la précision et la fiabilité des résultats obtenus lors de l'essai au bleu de méthylène, permettant ainsi une évaluation rigoureuse de l'argilosité des sols.

Méthodes

500 ml d'eau déminéralisée ou distillée sont incorporés à l'échantillon dans un récipient de 3 litres. La solution est agitée à l'aide d'un mélangeur à ailettes à une vitesse de 700 tr/min pendant au moins 5 minutes, puis continuellement à 400 tr/min. 10 ml de solution de bleu de méthylène sont ensuite ajoutés à l'aide d'une burette et après 1 minute, le test de la tache est réalisé sur papier filtre de la manière suivante :

Prélever avec une baguette de verre une goutte de la suspension et la déposer sur le papier filtre. Observer la tache formée, qui consiste en un dépôt central de matériau, teinté d'un bleu foncé, entouré d'une zone humide incolore.

La goutte prélevée doit former un dépôt dont le diamètre se situe entre 8 et 12 mm.

Le test est considéré comme positif si, dans la zone humide, apparaît autour du dépôt central une auréole bleu clair persistante. Dans ce cas, permettre l'adsorption du bleu, qui n'est pas immédiate, en réalisant des tests chaque minute sans ajout de solution. Il est considéré comme négatif si l'auréole bleu clair disparaît à la cinquième minute. Procéder alors à de nouvelles injections de solution de bleu de méthylène par incréments de 2 ml. Chaque addition est suivie de tests minute par minute. L'opération est répétée jusqu'à ce que le test reste positif pendant cinq minutes consécutives, indiquant ainsi la fin du dosage..

Expression des résultats

$$VBS = \frac{B}{m_0} \times C \times 100$$

Elle s'exprime en grammes de bleu pour 100g de matériau sec. Où :

B : la masse de bleu introduite en gramme ;

m₀ : la masse sèche de la prise d'essai en gramme ;

C : la proportion de fraction de 0/5mm dans la fraction 0/50mm du matériau sec.

Les résultats de l'essai au bleu de méthylène sont résumés dans le tableau 4.2.

Tableau xi:récapitulatif de l'essai vbs

Poids sol (g)	60
Fraction 0/1 (mm)	0.01
Volume bleu (cm ³)	310
Masse bleu (g)	3.10
VBS	2.25



La figure12 : montre la classification du sol selon la valeur de bleu de méthylène.

Tableau xii :classification des échantillons suivant la valeur du bleu de méthylène (VBS)

Échantillon	Valeur du Bleu de méthylène (VBS)	Classification du sol
MEII	2,25	Sol limoneux
DEI	10,33	Sol très argileux
FEIII	8,17	Sol très argileux
KEIV	6,25	Sol argileux

Les essais menés dans ce chapitre ont abouti à la classification de nos sols.

Les granulométries sont continuées pour tous les échantillons étudiés mais celle de Kita présente une variation importante de l'allure ce qui explique la présence des nodules dans cet échantillon.

Elles ont montré qu'on est en présence des sols argileux de type A6 (15) pour Sol argileux le site de Dialakoro ; A7-6(9) Sol argileux pour le site de Kita ; A6(9) Sol argileux pour le site Farako et A4(6) Sol limoneux selon la classification HRB.

Les droites de représentation des limites d'Atterberg sont dispersées dans le repère ce qui fait ressortir clairement les différences entre les argiles de ces sites.

Les limites d'Atterberg ont permis de classer le sol selon son degré de plasticité comme des sols argileux plastiques pour les de Dialakoro ; Kita ; Farako et limoneux pour peu plastique pour le site de Mopti.

Les courbes de représentation des essais Proctor Normal sont aussi dispersées dans le repère ce qui nous montre facilement les différences entre les argiles de ces sites.

Les paramètres de compactage obtenus à travers l'essai Proctor sont de 1,58 g/cm³ de densité sèche optimale et 18,20% de teneur en eau optimale pour l'argile de Dialakoro ; de 1,80 g/cm³ de densité sèche optimale contre 14,00% de teneur en eau optimale pour l'argile de Mopti ; de 1,47g/cm³ de densité sèche optimale contre 23,10%

de teneur en eau optimale pour l'argile de Farako et de 1,42g/cm³ de densité sèche optimale contre 25,10% de teneur en eau optimale pour l'argile de Kita.

5. Conclusion et perspectives

Conclusion

Les résultats des analyses chimiques et géotechniques des échantillons d'argile de Dialakoro, Mopti, Farako et Kita révèlent une variabilité significative des propriétés des sols. Cette variabilité, en particulier dans les teneurs en oxydes métalliques comme Fe₂O₃, SiO₂ et Al₂O₃, ainsi que des métaux lourds tels que le chrome et le cuivre, souligne l'importance d'une caractérisation précise de chaque site avant toute utilisation en génie civil. Par exemple, les concentrations élevées en SiO₂ à Mopti indiquent une argile avec des propriétés mécaniques distinctes, particulière pour déterminer les méthodes de stabilisation les plus appropriées.

Les propriétés géotechniques, telles que les limites d'Atterberg, varient largement entre les sites, avec Dialakoro et Kita présentant des indices de plasticité élevés. Ces caractéristiques, similaires à celles observées dans d'autres régions du Mali et du Burkina Faso, confirment une tendance régionale dans le comportement des sols argileux. Cette information permet aux ingénieurs civils d'adapter les techniques de construction aux spécificités de chaque site, minimisant ainsi les risques de défaillance structurelle. La classification des sols selon le système AASHTO, qui montre une prédominance de sols argileux, sauf à Mopti où le sol est limoneux, impacte directement les choix de techniques de stabilisation.

L'étude des propriétés de densité sèche optimale et de teneur en eau optimale révèle des variations importantes entre les sites. Par exemple, Mopti, avec une densité sèche optimale de 1,80 g/cm³, montre un sol plus compact et potentiellement plus stable par rapport aux autres sites. Les essais ont démontré que l'ajout de stabilisants naturels comme la gomme arabique améliore significativement les propriétés mécaniques et chimiques des sols, augmentant leur pH et leur conductivité électrique, tout en réduisant leur sensibilité à l'humidité. Ces améliorations sont essentielles pour la conception et la mise en œuvre de structures durables et adaptées aux conditions locales, contribuant ainsi à la réalisation de projets plus sûrs, durables et économiques, adaptés aux défis géotechniques particuliers de chaque région.

Perspectives

Incorporation d'un stabilisant approprié pour la production de ces nouveaux liants écologiques

Sensibilisation des gouvernants pour l'emploi des matériaux locaux dans les ouvrages publics

Bibliographie

- al, A. V. (2012). *Recettes traditionnelles & classification des stabilisants d'origine animale ou végétale*. Grenoble. Récupéré sur <https://docplayer.fr>
- Aurélie Vissac, A. B. (2017, 978-2-906901-88-9). *argiles & biopolymères - les stabilisants naturels pour la construction en terre*. HAL.
- Djalel, A. Z. (2022). *Comportement mécanique du sol cohérent traité avec un bio-liant*. . Algerie.
- ESSAIDI, N. (2013). *Formulation de liant aluminosilicaté de type géopolymère*. Limoges: Thèse.fr.
- Hugo HOUBEN et Hubert GUILLAUD , EAG CRATERE. (1989). *Traité de construction en terre*. Grenoble: Edditions Panthèses.
- Mariette Moëvus, L. F. (2013). *Béton d'Argile Environnemental*. HAL.
- SO, D. (2009). *Caractéristiques géotechniques, chimiques et mécaniques des matériaux argileux utilisés dans la construction de l'actuelle cité de Djenné : essais de renforcement* Thèse de l'Université de l'université de Bamako, Mali. Bamako.

**Groupe thématique 2
(ReSBOA) :**

**Chimie des Substances
Biologiquement Actives**

Analyse phytochimique et activité antioxydante des miels des colonies sauvages et de l'apiculture de cinq régions de la cote d'ivoire.

Gnangouli bi Koffi Albert¹, Kouamé kan Benjamin¹, Traoré Koba Fatou¹

Laboratoire d'Agrovalorisation, Département de Biochimie et Microbiologie, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, (Côte d'Ivoire).

Résumé

L'activité biologique du miel très complexes due à sa composition phénolique est très utiles pour le traitement de certaines affections. L'objectif de cette étude est d'analyser les composés phénoliques et activité antioxydante des miels des colonies sauvages et de l'apiculture de la côte d'Ivoire. Vingt (20) échantillons issus des miels des colonies sauvages et de l'apiculture y ont été récoltés et analysés. La teneur en polyphénols a été quantifiée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. L'évaluation du potentiel antioxydant des miels a été réalisée par le test au DPPH. Les fortes teneurs en polyphénols sont obtenues avec des miels MSP ($4,32 \pm 0,02$ mgEAG/g), MSH ($3,7 \pm 0,01$ mgEAG/g), MST ($2,95 \pm 0,01$ mgEAG/g). Les échantillons de miel MSH ($1,48 \pm 0,05$ mg QE/100 g) ; MSP ($1,36 \pm 0,03$ mg QE/100 g) ont enregistré des valeurs les plus élevées en flavonoïdes. L'échantillon MAPIH ($2,56 \pm 0,04$ mg EQ/g) a enregistré la valeur la plus élevée en tanins. Des capacités antioxydantes importantes sont observées dans le miel du Poro MSP (82,384 % à 80 mg/ml). Tous les miels des colonies sauvages du nord sont plus actifs que les miels de l'apiculture en fonction de leur teneur en flavonoïdes et en tanins.

Mots clés : Polyphénols, Flavonoïdes, tanins Antioxydants.

Introduction

En Côte d'Ivoire, le miel récolté autrefois par les chasseurs d'abeilles pour son activité biologique est devenu aujourd'hui un produit générateur de revenus substantiels pour les populations. La production de miel a évolué de la chasse au miel à l'apiculture traditionnelle avec des ruches traditionnelles puis à l'apiculture moderne qui utilise de nos jours des ruches modernes (Kelomey *et al.*, 2015). D'ailleurs, la production annuelle du miel ivoirien est estimée à 20 tonnes (Apinome, 2018 ; Yéboué, 2022). Cette production nationale du miel reste assez faible et n'arrive donc pas à couvrir les besoins des populations malgré les potentialités mellifères existantes ivoiriennes. Ce qui fait du miel ivoirien un produit très coûteux pour les couches socialement modestes. Malgré cela, la production du miel des apiculteurs ivoiriens est compromise par les incidences des maladies des abeilles et la non maîtrise des pratiques apicoles. Aussi, faut-il observer que les miels ainsi produits et vendus sur les marchés ivoiriens sont souvent de mauvaise qualité et présente une durée de conservation limitée dans le temps due aux activités post-récoltes appliquées. Certains auteurs comme Kouassi *et al.* (2018) ont travaillé sur la cueillette, la production et la commercialisation du miel dans le Département de Katiola (Centre-Nord). Quant aux travaux de Diomandé *et al.* (2018), ils ont porté sur l'analyse du pollen et activités antioxydantes du miel de l'apiculture moderne et l'identification de plantes mellifères et propriétés physicochimiques de miels de la région du Worodougou. Par ailleurs, des études très récentes ont menés par plusieurs auteurs pour améliorer la productivité et la qualité du miel ivoirien (Coulibaly *et al.*, 2021 ; Kouamé *et al.*, 2021 ; Yeboué, 2022). S'agissant des travaux menés par Coulibaly *et al.* (2021), ils ont porté sur la caractérisation de l'activité de butinage du pollen par l'abeille mellifère au Centre-est de la Côte d'Ivoire. Ces auteurs ont montré que la maîtrise de l'activité de butinage des plantes par les abeilles est nécessaire pour mieux orienter les apiculteurs en vue d'une meilleure productivité apicole. A cela s'ajoutent les travaux de Kouamé *et al.* (2021) et Yeboué (2022) qui ont respectivement travaillé sur la caractérisation des propriétés physicochimiques des Miels récoltés de la Sous-Préfecture de Cechi (Département D'Agboville) et sur l'étude physicochimique, chimique, nutritionnelle et biologique de miels issus de dix (10) régions de Côte d'Ivoire. Il serait donc intéressant d'aborder dans ces travaux toutes les analyses qui se rapportent à la qualité des miels et de pouvoir ainsi constituer une base de données pour améliorer leur qualité. Dès lors, ce travail de recherche tire, son originalité et son intérêt du fait de manque de données conséquentes sur les miels issus des fermes apicoles et des colonies sauvages d'abeilles. C'est dans cette optique que la présente étude qui s'intéresse à la contribution de la valorisation de miel de meilleure qualité produit dans cinq régions de la Côte d'Ivoire, à travers son analyse phytochimique a été initiée.

II.MATERIELS ET METHODES.

2.1. Matériel biologique



Figure1 : Echantillon de miel issu des cinq régions de la cote d'Ivoire.

La présente étude porte sur 20 échantillons de miel collectés dans cinq régions de production en Côte d'Ivoire (Poro, Tchologo, Hambol, Béliet et le N'zi). Les analyses ont été réalisées au laboratoire central de L'université Nangui Abrogoua d'Abidjan

2.2. Méthodes

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques a été déterminée par le réactif de folin-ciocalteu suivant le protocole de **Singleton et al., (1999)**. La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits (**Arvouet-Grand et al., 1994**). Le dosage des tanins a été fait selon la méthode de **Bain bridge et al. (1996)**. Les activités anti oxydantes des extraits de miel ont été mises en évidence par deux méthodes, La capacité de piégeage du radical DPPH a été évaluée par **Hartmann (2007)**.

4. Analyse statistique

Les données quantitatives sont exprimées en moyenne plus ou moins écart type et les données qualitatives en pourcentages. Ces données ont été récoltées pour leur exploitation puis transférées sur le logiciel Microsoft Excel 2016 ayant servi pour les représentations graphiques et les résultats ont été présentés sous forme de tableaux et de graphiques.

L'analyse de variance à un facteur (ANOVA) a été effectué avec le logiciel STATISTICA 7.1 pour les comparaisons multiples au seuil $\alpha = 0,01$. Le test de TUKEY, pour déceler les niveaux de différence.

- la détermination du coefficient de corrélation de Pearson, pour déterminer les corrélations significatives ($\alpha = 0,01$) entre les différentes variables obtenues.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. RESULTAT

Le dosage des polyphénols totaux nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus au niveau des échantillons analysés (**Pawlowska et al., 2006**). Les proportions en polyphénols totaux varient entre $2,04 \pm 0,01$ mgEAG/g de miel et $4,32 \pm 0,02$ mgEAG/g de matière sèche. Les fortes teneurs ont été obtenues avec des miels MSP ($4,32 \pm 0,02$ mgEAG/g), MSH ($3,7 \pm 0,01$ mgEAG/g), MAIPH ($3,16 \pm 0,02$ mgEAG/g). Les miels des colonies sauvages MSP, MST, MSH, MSB ont obtenu des valeurs nettement élevées en polyphénols, exceptée celle de MSN qui est plus faible à environ $2,04 \pm 0,01$ mgEAG/g matière sèche. Quant aux miels de l'apiculture, ils ont enregistré des valeurs allant de $2,07 \pm 0,01$ mgEAG/g à $3,16 \pm 0,01$ mgEAG/g (**Figure 1**)

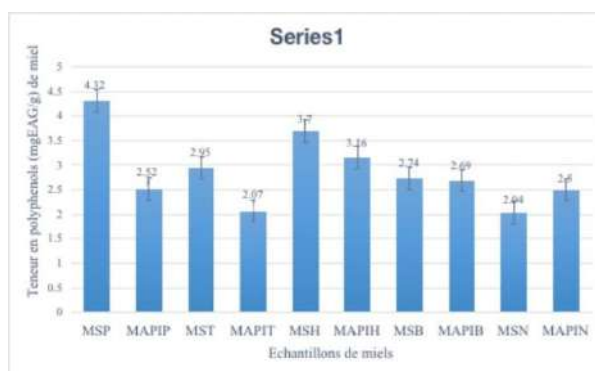


Figure 1 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de miel des cinq régions de la Côte d'Ivoire. La teneur en flavonoïdes totaux du miel des cinq régions varie de $0,88 \pm 0,02$ mg QE/100g à $1,48 \pm 0,05$ mg QE/100 g. (figure2). Les échantillons des miels des colonies sauvages du Poro (MSP) ($1,36 \pm 0,03$), du Tchologo (MST) ($1,08 \pm 0,04$) ; du Hambol (MSH) ($1,48 \pm 0,05$), et du Bélier (MSB) ($1,15 \pm 0,05$) mg QE/100 g ont obtenu des valeurs les plus élevées en flavonoïdes (**Figure 2**)

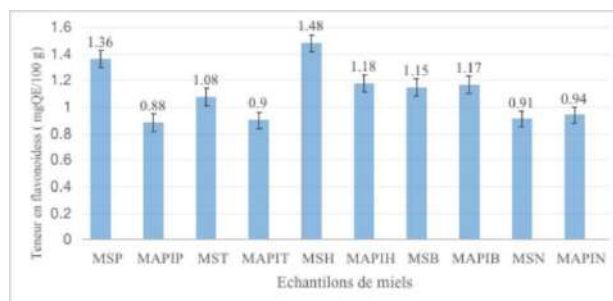


Figure 2 : Teneurs en Flavonoïdes totaux des échantillons de miel des cinq régions de la Côte d'Ivoire.

Les teneurs en Tanins condensés des échantillons de miel varient entre $1,1 \pm 0,01$ et $2,56 \pm 0,04$ mg EQ/g de miel (Figure 28). L'échantillon du Hambol (MAPIH) avec un taux de $2,56 \pm 0,04$ mg EQ/g de miel a été le plus élevé en flavonoïdes, suivi de ceux du Poro (MSP) ($2,53 \pm 0,04$ mg EQ/g de miel), du Bélier (MAPIB) ($2,46 \pm 0,03$ mg EQ/g de miel), (MSB) ($2,04 \pm 0,01$). Tandis que l'échantillon de la région de N'zi (MSN) ($1,1 \pm 0,01$), MST ($1,45 \pm 0,04$), MAPIT ($1,22 \pm 0,04$) ont obtenu des taux les moins les élevés (**Figure 3**)

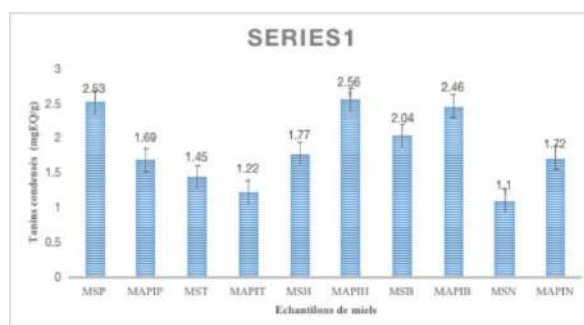


Figure 3 : Teneurs en Tanins condensés des échantillons de miel des cinq régions de la Côte d'Ivoire.

Les échantillons de miel présentant des PR ≥ 50 % sont ceux du Poro (MSP) (82,384 % à 80 mg/ml et 50,1355 % à 40 mg/ml), du N'zi (MAPIN) (71,56 % à 80 mg/ml et 46,73 % à 40 mg/ml) et du Tchologo MAPIT (67,23 % à 80 mg/ml et 41,03 % à 40 mg/ml). Les échantillons du Poro (MSP), du N'zi (MAPIN), du Bélier (MSB), du Tchologo (MAPIT) ont obtenu les pourcentages de réduction les plus élevés à 80 mg/ml respectivement (82,4 %), (71,56 %), (68,4 %), (67,23 %), (67,7506 %). Les potentiels de réduction les plus faibles ont été observés chez le miel (MSN) (51 %) à Djamalabo dans la région du N'zi (**Tableau 1**)

Tableau 1 : Pourcentage d'inhibition(PI) des miels des cinq régions.

Concentration	Pourcentage d'inhibition (%)									
	MSP	MAPIP	MST	MAPIT	MSH	MAPIH	MSB	MAPIB	MSN	MAPIN
80 mg/ml	82,4	53,4	64,4	67,23	58,8	59,36	68,4	59,86	51	71,56
40 mg/ml	50,1	32,56	44	41,03	42,3	35,7	40,1	36,76	41	46,73
20 mg/ml	26,4	21,3	29,5	26,33	27,1	22,16	25,2	19,32	28	28,2
10 mg/ml	14	14,23	19,6	14,46	23,7	13,09	14,5	14,6	16,8	18,9
5 mg/ml	8,46	11,76	18,9	12,23	17,1	9,3	11,9	9,6	18,3	11,37

Les CI50 des miels des colonies sauvages varient de 44,862 mg/ml (MSP) à 71,717mg/ml (MSN). La valeur de CI50 la plus faible provient du miel des colonies sauvages de la région du Poro (MSP)(44,86mg/ml) précisément à N'Bengué et la valeur la plus forte est issue du miel sauvage de la région du N'zi (MSN) (71,717 mg/ml) (Dimbokro). Quant à celles des miels de l'apiculture, elles varient de 53,025 mg/ml à 73,14 mg/ml. La plus faible

valeur est issue de la région du N'zi (MAPIN) (53,025 mg/ml) de Dimbokro. La plus forte valeur est obtenue avec le miel de la région du Poro (MAPIP) (73,14 mg/ml). Tous les miels sauvages ont obtenu des CI50 les plus faibles excepté le miel sauvage (MSN) de la région du N'zi (Dimbokro) (**Figure 4**)

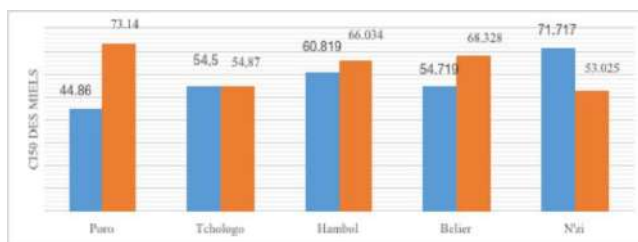


Figure 4 : Les CI50 des miels issus des cinq régions (en Bleu : miel sauvage ; en marron : miel de l'apiculture).

II. DISCUSSION

Le dosage des polyphénols totaux nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus au niveau des échantillons analysés (**Pawlowska et al., 2006**). La **figure 1** montre que les proportions en polyphénols totaux varient entre $2,04 \pm 0,01$ mgEAG/g de miel et $4,32 \pm 0,02$ mgEAG/g de matière sèche. Les fortes teneurs obtenues ont été celles des miels MSP ($4,32 \pm 0,02$ mgEAG/g), MSH ($3,7 \pm 0,01$ mgEAG/g), MAIPH ($3,16 \pm 0,02$ mgEAG/g). Les miels des colonies sauvages MSP, MST, MSH, MSB ont obtenu des valeurs nettement élevées en polyphénols qui sont respectivement $4,32 \pm 0,02$ mgEAG/g, $2,95 \pm 0,01$ mgEAG/g, $3,7 \pm 0,01$ mgEAG/g, $2,74 \pm 0,02$ mgEAG/g. Exceptée celle de l'échantillon MSN qui a été la plus faible à environ $2,04 \pm 0,01$ mgEAG/g matière sèche. Quant aux miels de l'apiculture, ils ont enregistré des valeurs allant de $2,07 \pm 0,01$ mgEAG/g à $3,16 \pm 0,01$ mgEAG/g. Nos résultats sont inférieurs à ceux de **Buratti et al., (2006)** qui ont rapporté des valeurs très élevées (20-1810 mg d'GAE/ Kg). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **SARIC et al (2012)**, qui montrent que la valeur de contenu phénolique total du miel multifloral varie entre 141,14 et 247,81 mg GAE/ Kg. **IBRAHIM et al (2012)** ont également trouvés que la concentration moyenne de polyphénols pour 4 échantillons de miel algérien a été établi à $459,83 \pm 1,92$ mg GAE/ kg. **SARIC et al (2012)** obtiennent également une gamme de 69,71 à 112,57 mg GAE/ kg du miel d'acacia d'une valeur moyenne de 86,26 mg GAE/ kg.

La teneur en flavonoïdes totaux du miel des cinq régions varie de $0,88 \pm 0,02$ mg QE/100g à $1,48 \pm 0,05$ mg QE/100 g. (figureII). Les échantillons des miels des colonies sauvages du Poro (MSP) ($1,36 \pm 0,03$), du Tchologo (MST) ($1,08 \pm 0,04$) ; du Hambol (MSH) ($1,48 \pm 0,05$), et du Bélier (MSB) ($1,15 \pm 0,05$) mg QE/100 g obtiennent des valeurs les plus élevées en flavonoïdes. Tous les miels des colonies sauvages ont obtenu des valeurs plus élevées que ceux des miels de l'apiculture excepté le miel sauvage (MSN) ($0,91 \pm 0,01$) mg QE/100 g. Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Rebiai et al., (2015)** (290 mg REE/kg). Selon (**Českstertyt et al., 2006**), la variation de la teneur en flavonoïdes du miel dépend de la source florale, de la région, de la saison, de l'environnement de la ruche et l'espèce mellifère. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenue par SARIC et al en 2012. Ces derniers déterminent les valeurs initiales de la teneur en flavonoïdes totaux du miel d'Acacia, qui varient de 8,29 à 29,65 mg QE/100 g par rapport à la valeur moyenne, 15,26 mg QE /g. **IBRAHIM et al (2011)** montrent également que la teneur en flavonoïdes totaux est de $233,99 \pm 2,81$ mg QE/kg et $227,57 \pm 2,91$ mg QE/Kg. Ces résultats corroborent avec ceux d'**IBRAHIM ; KHALIL et al (2012)**. Selon eux les flavonoïdes sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire qui sont des éléments essentiels pour l'arôme et ses propriétés antioxydants du miel.

Les teneurs en Tanins condensés des échantillons de miel varient entre $1,1 \pm 0,01$ et $2,56 \pm 0,04$ mg EQ/g de miel (Figure 3). L'échantillon du Hambol (MAPIH) avec un taux de $2,56 \pm 0,04$ mg EQ/g de miel a été le plus élevé en flavonoïdes, suivi de ceux du Poro (MSP) ($2,53 \pm 0,04$ mg EQ/g de miel), du Bélier (MAPIB) ($2,46 \pm 0,03$ mg EQ/g de miel), (MSB) ($2,04 \pm 0,01$). Tandis que l'échantillon de la région de N'zi (MSN) ($1,1 \pm 0,01$), MST ($1,45 \pm 0,04$), MAPIT ($1,22 \pm 0,04$) en sont les moins élevés. Les résultats en tanins démontrent que nos miels sauvages proviennent des tronc d'arbre et des feuilles. Ce qui est conforme aux résultats d'**Okoro, et al. ,2014**, qui a démontré la présence des tanins et des stérols dans les feuilles et les écorces de tronc.

Les échantillons de miel présentant des PR ≥ 50 % sont ceux du Poro (MSP) (82,384 % à 80 mg/ml et 50,1355% à 40 mg/ml) du Bélier (MSB) (68,4% à 80 mg/ml et 40,1% à 40mg/ml) Les échantillons du Poro (MAPIP), du Bélier (MAPIB) ont obtenu les pourcentages de réduction les plus faibles à 80 mg/ml respectivement (53,4%) et (59, 86%).

Les échantillons du Poro (MAPIP), du Bélier (MAPIB) ont obtenu les pourcentages de réduction les plus faibles à 80 mg/ml respectivement (53,4%) et (59, 86). Il est rapporté dans la littérature que les phytophénols constituent par excellence l'une des principales familles à fort potentiel antioxydant (**Siddhuraju et al., 2002 ; Rajeswari et al., 2014**). Ce sont de bons éboueurs de radicaux libres par don d'hydrogène (**Guillouty, 2016**). La présence des composés polyphénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes pourraient expliquer l'activité anti radicalaire DPPH des extraits. Des études ont également démontré le rôle des radicaux libres dans des pathologies telles que les maladies inflammations et les affections hépatiques (**Libetta et al., 2011 ; Onu et al., 2013**). La majorité des miels ont une teneur en polyphénols totaux inférieure à 50 mg GAE/100g. Les polyphénols ou plus largement les composés secondaires volatiles confèrent au miel son odeur, ses arômes et sa couleur. En effet, selon la littérature, plus la CI50 est faible et plus l'extrait est efficace (**N'gaman, 2013 ; Tanoh et al., 2019**). D'autre part, les échantillons du Poro présente un potentiel antioxydant (44,86 mg/ml) notable élevé comparativement au miel de Vitellaria du Burkina Faso, qui a présenté des CI50 comprises entre $1,37 \pm 0,03$ et $2,43 \pm 0,08$ (**Meda et al. 2005a**). En somme, le miel le plus actif est celui de la région du Poro (MSP) précisément à N'Bengue avec pour CI50 (44,86mg/ml) vient ensuite l'échantillon (MST) (54,5mg/ml) de Lafokpokaha dans la région du Tchologo pour le miel des colonies sauvages d'abeilles. Tous les miels des colonies sauvages sont plus actifs que les miels de l'apiculture en fonction de leur teneur en flavonoïdes et en tanins. La CI50 est la concentration nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du radical DPPH. Plus la valeur de la CR₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est prononcée (**Tanoh et al., 2019**).

CONCLUSION

Les analyses phytochimique et activités antioxydantes des miels des colonies sauvages et de l'apiculture de cinq de la Côte d'Ivoire ont été déterminées. Il ressort de cette étude que les échantillons de miels des colonies sauvages ont des composés phénoliques très élevées par rapport aux miels de l'apiculture. La présence des composés polyphénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes pourraient expliquer l'activité anti radicalaire DPPH des extraits. En somme, le miel le plus actif est celui de la région du Poro (MSP) précisément à N'Bengue avec une CI50 faible, ensuite celle de l'échantillon (MST) de Lafokpokaha dans la région du Tchologo. Tous les miels des colonies sauvages sont plus actifs que les miels de l'apiculture en fonction de leur teneur en flavonoïdes et en tanins. Il est indispensable d'identifier l'influence de la nature botanique et de l'origine florale des miels à travers leurs analyses polliniques pour crédibiliser les différents noms souvent donnés aux miels.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achour & Khali ,2014. Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques ». Afrique Science, N° 2, Volume 10 : 1813-1848.
- Acquarone, Buera p. & Elizalde b., 2007. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys Rev.Food Chem., 101: 695–703.
- AFNOR (Association Française de Normalisation) (1981-1982). Recueil des normes françaises. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. Paris, la Défense. 327p
- Alvarez-Suarez J., Giampieri F. et Battino M. (2013). Honey as a source of dietary antioxidants: Structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. Current Medicinal Chemistry, 20(5): 621-638. Doi :10.2174/092986713804999358.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Agriculture Chemists, Washington, DC, USA, 528-530.
- AOAC, 1999. Association of Official Analytical Chemists (16th ed.), *Official Methods of Analysis*, DC (1999)
- Apimondia, 2001. Standing commission of apitherapy. Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [Cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN : 2- 9600270-0-0
- Apinome (Apiculture – Nourriture – Médicament) (2018). Société Anonyme basée à Sikensi, Côte d'Ivoire. Apinome.net.
- Azeredo , Meda, Manda & Ozcan, 2003. The protein content of honeys from different floral sources, was considered medium when is comprised between 500 and 734.5 µg/g.
- Békro Y-A., Mamrybékova Békro J., Boua B., Tra Bi F. et Ehilé E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). Sciences et Nature, 4(2) : 217-225.
- Bogdanov S. (2006). Contaminants of bee products. Apidologie 37, 1-18. Doi: 10.1051/apido: 2005043. Bogdanov S. (2009). Harmonised Methods of the International Honey Commission. Review of the Work of the International Honey Comission, 90: 1-63.
- Bogdanov VS., & Matzke, 2003. La propolis – un antibiotique naturel. Edition VDB 6235 Winikon; 72 pp
- Bogdanov S., Bieri K., Germand G., IFFD Känzig , Seiler K., Stöckli H, & Zürchev K.,2004 a Swiss food manual pollen Bienenprodukte, Ba G (SWISS Federal Office for Public Health) Berne.

- Bogdanov, Bieri K., Kilchaman U., Gallaman P. & Verzera, 2005, Miels mono floraux suisses, Centre de recherches apicoles, Station de recherches en production animale et laitière. 55p.
- Bogdanov, Bieri K., Kilchaman U. & Gallaman P., 2005. Miels monofloraux Suisse ALP Forum 231-55.
- Bogdanov SP., Martin, & C. Lüllmann, 1997. Harmonised methods of the European Honey Commission. Apidologie, extra issue, Online:(<http://www.apis.admin.ch/host/doc/pdfhoney/IHCmethods>) p. 1–59
- CAA. (2015). Codigo Alimentino Argentino. www.alimentosargentinos.gov.ar / contenido /marco /capitulos pdf (29/03/2018).
- Carvalho CAL. & Bruneau E., 2009. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponinae) submitted to a dehumidification process
- Chataway HD., 1932. Canad J Res 6, 540; (1933) Canad J Res 8, 435; (1935) Canad Bee J 43, (8) 215.
- Codex (Codex Alimentarius) (2001). Programme mixte FAO/OMS sur les Normes alimentaires. Commission du Codex alimentarius. ALINORM 01/25, 1-31.
- Clément H. (2009). L'abeille sentinelle de l'environnement. Paris, Alternatives. 160p. Codex (Codex Alimentarius) (2001). Programme mixte FAO/OMS sur les Normes alimentaires. Commission du Codex alimentarius. ALINORM 01/25, 1-31.
- Coulibaly S. (2014). Potentialités de production mellifère de la flore de transition forêt-savane, en zone Guinéenne et caractérisations pollinique et physico-chimique de quelques miels de la Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest). Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 194 p
- Codex, 2001. programme mixte fao/oms sur les normes alimentaires. Commission du Codex Alimentarius . ALINORM 01/25, 1-31
- Da Silva P., Gauche C., Gonzaga L., Costa A. et Fett R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Food Chemistry, 196 : 309-323. Doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.051. Dailly H. (2008a). Le réfractomètre, un outil essentiel. Abeilles & Cie, 122 : 30-32 Dailly H. (2008b). Cristallisation du miel, le savoir et le faire. Abeilles & Cie, 124 : 24-28. Dawson
- De Rodriguez G.P., De Ferrer B.S., Ferrer & Rodriguez B., 2004. Characterization of honey produced in Venezuela. Food Chemistry, 84 : 599-502
- Diomandé M., Coulibaly S., Coulibaly K. et Bohoua L. (2018). Identification de plantes mellifères et propriétés physicochimiques de miels de la région du Worodougou, Côte d'Ivoire. International Journal of Current Research, 10 (4): 67583-67590
- Djossou J., Tchobo F., Yédomonhan H., Alitonou G. et Soumanou M. (2013). Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou. Tropicultura, 31(3) : 163169.
- Domerego R. (2002). Santé, bien-être, apithérapie. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica. 390416.
- Fallico B., Zappalà M., Arena E. & Verzera A., 2004. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. Food Chemistry, Volume 85, Issue 2, April 2004, Pages
- Eskevinho LM, Feas X, Seija JA, Vazquez-Tato MP. (2012). organic honey from tras-os-Montes Region (Portugal): chemical, salynological, microbiological and bioactive compounds characterization. Food chem toxicol; 50: 258-64
- FAO, 2003. Food energy - methods of analysis and conversion factors, Food and Agriculture Organization of United Nations: Rome
- Gomes Susana, Luis G., Dias, Leandro L., Moreira, Paula Rodrigues, & Leticia Estevinho, 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. Food and
- Gonnet M., 1982. Le miel : composition, propriétés, conservation. Ed. Echauffour. Argentan. Ornes. 9-12 pp.
- Grabowski NT et Klein G. (2015). Microbiology and food-borne pathogens in honey. Crit. Rev. Food. Sci Nutr. www.dx.doi.org
- Kelomey, 2015., Synthèse Bibliographique sur caractérisation moléculaire et Ethnologique de l'abeille (*apis mellifera*) et son parasite Varroa Destructor dans l'habitat anacardier au Bénin.
- Kouamé K.F., Gbouhoury E.-K.B., Fofié N'Guessan B.Y., Kassi N'Dja J. (2021). Caractéristiques Physicochimiques Récoltés des Miels de la Sous-Préfecture de Cechi (Dans le Département D'Agboville, Côte D'Ivoire). European Scientific Journal, 17(34) : 286-300 Doi:10.19044/esj.2021.v17n34p286
- Kouassi D., Ouattara D., Coulibaly S. et N'guessan K. (2018). La cueillette, la production et la commercialisation du miel dans le Département de Katiola (Centre-Nord, Côte d'Ivoire). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 12(5): 2212-2225.
- Mahmoodi-Khaledi E., Lozano-Sanchez J., Bakhouch A., Habibi-Rezaei M., Sadeghian I. et Segura-Carretero A. (2017). Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran. European Food Research and Technology, 243(6): 1019-1030. Doi:10.1007/s00217-016-2811-0
- Mendes E., Brojo proença, I.M.P.L.V.O., ferreira & ferreira, 1998. Quality evaluation of Portuguese honey, Rev.Carbohydr. Polym., 03, 1998. 219–223
- Nair Samira, 2006. Biodiversité végétale et qualité du miel dans la région nord-ouest Algérienne. Mémoire de magister d'écologie.

- Nair S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat, Université d'Oran, Algérie, 235p.
- N'gaman K. (2013). Étude phytochimique et effet d'extraits de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire sur la stabilité osmotique d'érythrocytes. Thèse de Doctorat, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire, 152p
- Ngoma B., Ilanga O., Kwemani S-M. et Efoto E. (2018). Quelques paramètres physico-chimiques des miels de quatre provinces de la République Démocratique du Congo en relation avec leur qualité et leur stabilité. *Afrique Science*, 14(5): 415-424.
- Okoro S.O, Kawo A.H., & Arzai A.H., 2014, Phytochemical screening, antibacterial and toxicological activities of *Acacia nilotica* extracts, *Bayero journal of pure and applied sciences*, 7(1), 105-115.
- Ouchemoukh S., Louaileche H. & Schweitzer P., 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18: 52-58.
- Ozcan MD., & Arslam DA., 2006. Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food Chem.*; 99:24-27
- Perdrix J. (2003). Critères de qualité du miel. *Bulletin de liaison* N°41
- Rebiai A, Lanez T, Chouikh A. (2015). Physico-chemical and biochemical properties of honey bee products in south algeria. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 16: 133-142.
- Sanz, Schin , Stunol ,Mariam & Cozzani, 2005. In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides, *J Agric Food Chem*
- Saxena S., Gautam A. & Sharma, 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of food Chem., 118: 391-397.
- Terrab, Angeles F., Recamales, Dolores Hernanz, Francisco J. & Heredia, 2004. Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry* 88:537-542.
- Thasyvorlor A. & Manikis A J., 1995. some physicochemical and microscopic characteristics of Greek honeys, *Apidologie*, 26: p 441-452.
- White J. & Kudry O., 1978. The protein content of honey, *Journal of Apical research*, (17): 234-238P...
- White J., 1980. Hydroxyméthylfurfural and honey adulteration 1-ASSOC.OFFAMEL Chem. 63. pp-10.
- Yéboué et al, 2022. Études physicochimique, chimique, nutritionnelle et biologique de miels issus de dix (10) régions de Côte d'Ivoire.
- Zaikina V. (2012). Examen du miel et méthodes de détection de sa falsification (3^eédn). Société d'Édition et de Négoce "Dashkov et K ", 168 p.
- Zappala M., Fallico B. Arena & Verzera A., 2005. Methods for the determination of HMF in honey a comparison. *Food Control*, 16 : 273-277.

Isolement et sélection de potentiels starters de levures issues de la pulpe des fruits de *Cola cordifolia*

Soumahoro Souleymane^{1*}, Kouame Maimouna Liliane², Toure Abdoulaye³, Soro Yadé René⁴

^{1*}Laboratoire de Biochimie, Microbiologie et de Valorisation des Agroressources, Institut de Gestion Agropastorale (IGA), Université Peleforo GON COULIBALY (UPGC), Korhogo BP 1328, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Biochimie, Microbiologie et de Valorisation des Agroressources, Institut de Gestion Agropastorale (IGA), Université Peleforo GON COULIBALY (UPGC), Korhogo BP 1328, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Biotechnologie et de Valorisation des Agroressources et des Substances Naturelles, Unité de Formation et de Recherche en Sciences Biologiques, Université de Peleforo GON COULIBALY (UPGC) Korhogo BP 1328, Côte d'Ivoire.

⁴Laboratoire de Biotechnologie, Unité de Formation et de Recherche de la Faculté des Biosciences, Université Felix Houphouët-Boigny (UFHB), Abidjan, Côte d'Ivoire.

Auteur correspondant : souleysoum@yahoo.fr

Résumé

Les starters microbiens jouent un rôle significatif dans le processus de fermentation. En raison de son taux élevé de glucide, *Cola cordifolia* pourrait être un substrat approprié pour la recherche d'une flore fermentaire intéressante pour l'industrie alimentaire. L'objectif de cette étude est de valoriser les fruits de *Cola cordifolia*. Pour ce faire, les paramètres physico-chimiques du fruit ont été déterminés. Aussi, les analyses microbiologiques ont été effectuées. Elles ont consisté à isoler et identifier les levures de la pulpe, à tester leur capacité fermentaire, puis à soumettre les isolats ayant une forte capacité fermentaire à l'influence de différents paramètres. Au niveau des analyses physico-chimiques, les résultats ont révélé que le pH du fruit est acide avec un taux d'humidité élevé, une teneur de 6,40 mg/100g en vitamine C et un degré brix élevé (25 ± 0 °B). Par ailleurs, les analyses microbiologiques ont permis de sélectionner cinq (5) isolats présentant les meilleures croissances comparativement aux autres isolats testés. Ainsi, ces isolats pourraient être utilisés comme de potentiels starters dans des applications biotechnologiques. *Cola cordifolia* se présenterait comme intéressant dans la mise en place de collections de cultures de levures utiles pour les fermentations contrôlées.

Mots-clés : Caractérisation ; sélection ; starter ; *Cola cordifolia*.

Abstract

Microbial starters play a significant role in the fermentation process. Because of its high carbohydrate content, *Cola cordifolia* could be a suitable substrate for research into fermentative flora of interest to the food industry. The aim of this study is to add value to *Cola cordifolia* fruit. To this end, the fruit's physico-chemical parameters were determined. Microbiological analyses were also carried out. They consisted in isolating and identifying yeasts from the pulp, testing their fermentative capacity, and then subjecting isolates with a high fermentative capacity to the influence of various parameters. In terms of physico-chemical analysis, the results revealed that the fruit had an acid pH with a high moisture content, a vitamin C content of 6.40 mg/100g and a high brix degree (25 ± 0 °B). In addition, microbiological analyses enabled us to select five (5) isolates with the best growth rates compared with the other isolates tested. So, these isolates could therefore be used as potential starters for biotechnological applications. *Cola cordifolia* would be of interest in the development of yeast culture collections useful for controlled fermentations.

Keywords: Characterization; selection; starter, *Cola cordifolia*.

1. Introduction

La fermentation est l'une des plus anciennes méthodes connues pour préparer et conserver la nourriture [1]. Elle fut employée bien avant que l'on ne découvre les microorganismes et leur rôle dans ce processus [2]. Les aliments fermentés étaient fabriqués à la ferme, ces fermentations se déroulaient naturellement, de manière non contrôlée, mettant ainsi en compétition une flore variée dont le développement n'est guidé que par les variations physicochimiques du milieu [3]. Les aliments ont été fermentés afin d'en améliorer la saveur et la texture, pour prolonger leur durée de conservation et, dans certains cas, pour diminuer les risques de contamination [4]. Aujourd'hui, les procédés de fermentation jouent un rôle important dans la technologie des aliments dans les pays développés et aussi dans les pays en voie de développement.

La Côte d'Ivoire est le premier producteur Ouest-Africain de fruits et de légumes. Chaque année en Côte d'Ivoire, de grandes quantités de fruits sont produits. Certains sont commercialisés sur le territoire ivoirien, d'autres sont destinés à l'exportation et d'autres sont uniquement destinés à la consommation locale sans activité lucrative résultante. Mais une grande quantité est perdue car beaucoup sont des fruits très périssables [5]. Bien que certaines alternatives pour orienter la consommation aient déjà été réalisées (confitures, concentrés de fruits, jus de fruits, nectars, purées, etc.), une grande quantité de fruits est encore laissée dans les champs pour pourrir ou pour être collectée et ensuite éliminée comme déchet. C'est le cas du *Cola cordifolia*, un fruit sauvage qui pousse

généralement en région de savane. Ce fruit est mal exploité, peu connu de point de vue nutritionnel et industriel par la population ivoirienne et sa consommation reste saisonnière. La production est abondante mais le produit n'a jamais été pris en compte pour le valoriser. La transformation par fermentation a été proposée et appliquée dans certains pays comme alternative pour la plupart des fruits sauvages. Le plus souvent, le produit qui en résulte est un vin de fruit qui est souvent distillé et qui présente une concentration d'alcool variable ou du vinaigre de fruit [6]. Les cultures starters sont couramment utilisées dans l'industrie de la fermentation alimentaire pour prévoir et sauvegarder la qualité du produit [7]. Ces starters microbiens jouent un rôle significatif dans le processus de fermentation [8]. L'inoculation de levure a été largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour obtenir un produit de qualité prévisible, y compris dans la production de boissons alcoolisées telles que le vin et la bière [7]. En raison de son taux élevé de glucide, *Cola cordifolia* pourrait être un substrat approprié pour la recherche d'une flore fermentaire intéressante pour l'industrie alimentaire. Ainsi une meilleure valorisation de *Cola cordifolia* par transformation en divers produits finis par bioconversion en éthanol pourrait permettre de limiter la pollution de l'environnement et créer de nouvelles activités économiques créatrice d'emploi et, par conséquent, de lutter contre le chômage en Côte-d'Ivoire [9]. A cet effet, l'objectif de ce travail est de contribuer à la valorisation des fruits de *Cola cordifolia* par l'isolement et le criblage des isolats de levure présents dans la pulpe de ce fruit.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Le matériel biologique a été constitué du fruit (la pulpe) de *Cola cordifolia* (**Figure 1**) provenant des arbres de l'Université PELEFERO GON COULIBALY de Korhogo (Côte d'Ivoire).

2.2. Méthodes

Détermination du taux d'humidité, de la matière sèche et du pH

La méthode utilisée pour déterminer le taux d'humidité, la matière sèche et le pH a été celle décrite par AOAC [10].



Détermination de la teneur en vitamine C

La teneur en vitamine C a été déterminée selon la méthode décrite par Pongracz *et al.* [11] en utilisant le 2,6-dichlorophénol indophénol.

Détermination de l'extrait sec soluble

L'extrait sec soluble, exprimé en °Brix, a été déterminé à l'aide d'un réfractomètre manuel (Atago N-20E, Japon).

Isolement des levures

Les fèves de *Cola cordifolia* (25 g) ont été délayées dans 225 ml de solution saline peptone (0,1 % (p/v) bactopeptone et 0,85 % (p/v) NaCl). La solution mère a subi des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-4}) successives avec une solution de tryptone sel. Un volume de 100 μ L de chaque dilution a été ensemencé par étalement sur la gélose MYGP (3 g/L d'extrait de levure, 3 g/L d'extrait de malt, 5 g/L de bactopeptone et 10 g/L de glucose) contenant 100 mg/L de chloramphénicol. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 30 °C pendant 3 jours. Les isolats présomptifs de levures ont été conservés du bouillon MYGP additionné de 20 % de glycérol à - 20 °C pour les tests ultérieurs [12].

Etude du fort pouvoir fermentaire des levures

La capacité fermentaire des souches de levure isolées de *Cola cordifolia* a été étudiée selon la méthode de Dung et Phong [13] avec de légères modifications. Une pré-culture (100 μ L) de 24 heures, de densité optique 0,7 à 600 nm a été inoculée dans un tube à essai contenant 10 mL de milieu YPG et un tube à hémolyse (remplace la cloche de Durham). La culture a été incubée à 30 °C pendant 6 jours, sans agitation. La capacité fermentaire a été

déterminée en mesurant la production de gaz dans le tube à hémolyse. En effet, dans les conditions d'anaérobiose, les levures oxydent les sucres en éthanol avec production de CO₂ [14]. Le volume de CO₂ corrélé au pouvoir fermentaire de la souche est lié à l'éthanol produit [15].

Influence de la concentration de glucose et d'éthanol sur la croissance des isolats de levure

L'influence du glucose et de l'éthanol sur la croissance des isolats de levure a été évaluée en utilisant un milieu liquide contenant 0,05 % d'extrait de levure ; 0,3 % de peptone de caséine avec des concentrations différentes de sucre. Le glucose a été ajouté à 10 %, 20 %, 30 % et 40 %. Quant à l'éthanol, il a été ajouté aux concentrations suivantes : 0 %, 5 %, 8 %, 10 %, 12 %, 14 %, 16 %, 18 %, 20 % et 22 %. Dix (10) mL du milieu liquide contenu dans un tube à essai ont été inoculés avec 100 µL de pré-culture de levures, DO₆₀₀ = 0,7. Après l'inoculation, le milieu a été incubé à 30 °C pendant 3 jours. La croissance des isolats de levure a été déterminée par la mesure de la turbidité du milieu de culture à 600 nm au spectrophotomètre.

Traitement statistique des données

Les analyses statistiques des données ont été réalisées au moyen du logiciel Statistica version 7.1. La comparaison des moyennes a été réalisée selon le test HSD de Tuckey avec un seul de significativité de 5 % ($p < 0,050$).

3. Résultats et discussion

3.1. Paramètres physicochimiques de la pulpe

Les paramètres physicochimiques de la pulpe sont présentés par le **tableau I**. Le pH de *Cola cordifolia* est acide ($5,74 \pm 0,08$) ; ce qui est en concordance avec les résultats de Monrose [16] qui indique que le pH des fruits est naturellement acide et compris entre 2 et 6. Le pH est lié à l'acidité totale de la pulpe, due à la présence des acides organiques. L'extrait sec soluble (25 ± 0 °B) montre que ce fruit est très sucré. La teneur en humidité de *Cola cordifolia* est très élevée ($72,68 \pm 0,64$ %) tandis que la teneur en matière sèche est faible ($27,32 \pm 0,64$ %). Ces résultats corroborent ceux de Ekué *et al.* [17], qui a montré que la plupart des fruits charnus ont une teneur en humidité assez élevée qui peut atteindre jusqu'à $79,19 \pm 0,29$ % dans la région du Poro. Cette forte activité en eau constitue une limite pour le temps d'entreposage de ces fruits ; ce qui en fait des denrées très périssables.

La vitamine C de *Cola cordifolia* a une teneur de $6,40 \pm 1,65$ mg /100g. Ce fruit présente une teneur en vitamine C bien supérieure à celle d'un autre fruit sauvage ($4,5 \pm 0,01$), *Dialium guineense* du Bénin, étudié par Gnansounou *et al.* [18].

Tableau I : Paramètres physico-chimiques du *Cola cordifolia*

PARAMETRES	VALEURS
Ph	$5,74 \pm 0,08$
Taux d'humidité (%)	$72,68 \pm 0,64$
Matière sèche (%)	$27,32 \pm 0,64$
Teneur en vitamine c (mg/100 g)	$6,40 \pm 1,65$
Extrait sec soluble (°B)	25 ± 0

3.2. Isolement et purification des levures issues de *Cola cordifolia*

Cinquante-six (56) isolats présomptifs de levure ont été isolés à partir de la pulpe du *Cola cordifolia*. Les isolats ont été purifiés puis codés de manière que la première lettre corresponde à l'initiale du nom de levure (Yeast) suivie de l'initiale du nom du fruit et enfin du numéro attribué à la souche (YC1 à YC56).

3.3. Capacité fermentaire des levures issues de *Cola cordifolia*

Cinquante-six (56) isolats de levures ont été testés pour leur capacité à produire du CO₂ (**Figure 2**). Sur la base de leur capacité fermentaire, ces cinquante-six (56) isolats de levure ont été classés en trois (3) groupes en fonction du volume de CO₂ produit (**Tableau II**). En effet, la capacité d'une souche à présenter de meilleures performances technologiques et fonctionnelles, constitue une propriété prépondérante pour celle-ci dans sa sélection en tant que potentiel starter [19]. Ainsi, parmi les 56 levures analysées pour leur capacité fermentaire, seize (16) ont montré une forte capacité fermentaire avec un volume de CO₂ supérieur à 4 cm³. Ces résultats sont similaires à ceux de Koffi *et al.* [20], qui ont montré que parmi 743 souches, 113 souches de levure ont été sélectionnées pour leur forte capacité fermentaire avec un volume de CO₂ supérieur à 4 cm³. Ces souches de levure sont susceptibles de

produire de fortes quantités d'éthanol car durant la fermentation alcoolique, la quantité de dioxyde de carbone (CO₂) correspondrait à la quantité d'éthanol produite [15].

Tableau II : Production de CO₂ des isolats de levure issues de *Cola cordifolia*

GROUPE	VOLUME DE CO ₂ (cm ³)	NOMBRE DE LEVURES
Groupe 1	[4 – 6 cm ³]	16
Groupe 2	[1 – 4 cm ³]	05
Groupe 3	[0 – 1 cm ³]	35

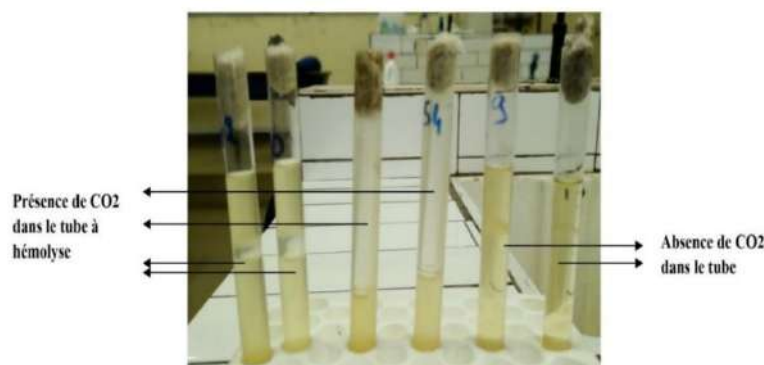


Figure 2 : Milieux de culture des souches de levure montrant la présence et l'absence de CO₂ à l'intérieur du tube à hémolyse utilisé comme cloche de Durham

3.1.1. Effet de la température sur différents isolats de levure

3.4. Effet de la concentration de glucose sur la croissance des isolats à fort pouvoir fermentaire

La croissance des isolats varie en fonction de la concentration de glucose (**Tableau III**). L'isolat YC42 a eu la meilleure croissance 2,50 à 30 % de glucose dans le milieu. Les résultats indiquent que la meilleure croissance des isolats a été observée à 30 % de glucose. Ces résultats confirment ceux de Koffi *et al.* [20] qui indiquent que certaines souches de levure sont capables de résister à 50 % dans le milieu de culture.

Tableau III : Effet du glucose sur les isolats de levures à fort pouvoir fermentaire

Souches de levures sélectionnées	Densité optique à 600 nm par concentration de glucose, DO = 1			
	10 %	20 %	30 %	40 %
YC 3	0,52 ± 0,18 ^d	0,72 ± 0,04 ^{cd}	0,86 ± 0,01 ^{cd}	0,72 ± 0,06 ^c
YC 5	0,73 ± 0,08 ^d	0,75 ± 0,01 ^d	0,92 ± 0,01 ^{cd}	0,82 ± 0,07 ^c
YC 6	0,79 ± 0,01 ^d	0,62 ± 0,02 ^c	0,84 ± 0,03 ^d	0,80 ± 0,08 ^d
YC 8	0,27 ± 0,00 ^c	0,82 ± 0,09 ^d	0,85 ± 0,05 ^d	0,71 ± 0,02 ^d
YC 16	0,21 ± 0,06 ^c	0,99 ± 0,03 ^d	2,11 ± 0,13 ^b	0,94 ± 0,01 ^d
YC 21	0,76 ± 0,14 ^{cd}	0,94 ± 0,06 ^{bc}	1,047 ± 0,06 ^b	0,55 ± 0,05 ^d
YC 28	0,52 ± 0,10 ^d	0,88 ± 0,00 ^{bc}	0,95 ± 0,10 ^b	0,64 ± 0,04 ^{cd}
YC 40	0,66 ± 0,03 ^d	0,76 ± 0,04 ^c	0,97 ± 0,01 ^b	0,68 ± 0,01 ^{cd}
YC 41	0,78 ± 0,02 ^d	1,15 ± 0,89 ^{cd}	2,23 ± 0,05 ^c	0,44 ± 0,22 ^d
YC 42	1,73 ± 0,06 ^d	2,03 ± 0,27 ^d	2,50 ± 0,06 ^b	0,85 ± 0,00 ^c
YC 46	0,39 ± 0,30 ^d	0,71 ± 0,03 ^{cd}	2,07 ± 0,08 ^b	0,94 ± 0,06 ^c
YC 49	0,69 ± 0,17 ^d	1,26 ± 0,08 ^b	2,10 ± 0,03 ^c	0,93 ± 0,00 ^d
YC 51	0,63 ± 0,11 ^d	0,97 ± 0,00 ^c	1,00 ± 0,02 ^c	0,63 ± 0,03 ^d
YC 53	0,93 ± 0,10 ^d	0,60 ± 0,02 ^d	1,72 ± 0,51 ^c	0,58 ± 0,02 ^d
YC 54	0,31 ± 0,11 ^d	0,57 ± 0,08 ^{bc}	0,77 ± 0,03 ^b	0,43 ± 0,05 ^{cd}
YC 56	0,75 ± 0,00 ^{cd}	0,55 ± 0,12 ^d	1,00 ± 0,14 ^c	0,55 ± 0,03 ^d

a, b, c et d : dans les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement distincts (test HSD de Tuckey, $p < 0,050$)

3.5. Effet de la concentration de l'éthanol sur isolats à fort pouvoir fermentaire

La croissance des isolats varie en fonction de la concentration d'éthanol. L'isolat YC54 a eu la meilleure croissance 1,88 à 8 % d'éthanol (**Tableau IV**). Au-delà, de 12 % d'éthanol dans le milieu, la croissance de la plupart des isolats de levure est nulle à l'exception de cinq isolats qui ont eu une croissance relativement bonne lorsque le milieu est supplémenté de 14 % d'éthanol. En effet, lorsque la quantité d'éthanol augmente dans le milieu, il s'ensuit une baisse du taux de croissance, de la viabilité cellulaire, de l'activité métabolique et de la capacité de production de l'éthanol [21]. Les isolats YC16, YC21, YC42, YC46 et YC49 ont eu de meilleures croissances sous différents conditions stress (glucose et éthanol). La croissance de ces isolats de levure sous les conditions de stress confirme la capacité de ces souches de levures à être utilisées comme starters dans de nombreux processus alimentaires, notamment dans le processus de fermentation des fruits.

Tableau IV : Effet de l'éthanol sur les isolats de levures à fort pouvoir fermentaire

Souches de levures sélectionnées	Densité optique à 600 nm par concentration d'éthanol, DO = 0,7					
	0 %	5 %	8 %	10 %	12 %	14 %
YC 3	0,40 ± 0,06 ^b	0,81 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,12 ^c	0,16 ± 0,02 ^c	0,01 ± 0 ^d	0,002 ± 0 ^d
YC 5	0,53 ± 0,06 ^b	0,66 ± 0,04 ^a	0,15 ± 0,03 ^c	0,13 ± 0 ^c	0 ± 0 ^d	0 ± 0 ^d
YC 6	0,44 ± 0,07 ^b	0,52 ± 0,11 ^c	0,22 ± 0,05 ^c	0,13 ± 0,01 ^{bc}	0,08 ± 0,06 ^{bc}	0 ± 0,01 ^d
YC 8	0,61 ± 0,05 ^b	0,65 ± 0,06 ^b	0,21 ± 0,11 ^c	0,16 ± 0,02 ^c	0 ± 0 ^d	0 ± 0 ^d
YC 16	0,39 ± 0,01 ^c	1,29 ± 0,61 ^d	0,50 ± 0,12 ^d	0,42 ± 0,10 ^d	0,21 ± 0,12 ^d	0,17 ± 0,01 ^d
YC 21	0,43 ± 0,06 ^b	1,01 ± 0,02 ^a	0,17 ± 0,03 ^d	0,16 ± 0,00 ^d	0,14 ± 0 ^{cd}	0,10 ± 0,06 ^{ce}
YC 28	0,84 ± 0,03 ^a	0,84 ± 0,01 ^a	0,15 ± 0,01 ^b	0,11 ± 0,02 ^{bc}	0,07 ± 0,06 ^c	0,00 ± 0 ^d
YC 40	0,39 ± 0,04 ^b	0,80 ± 0,14 ^a	0,21 ± 0,12 ^{bc}	0,16 ± 0,02 ^{cd}	0,04 ± 0,06 ^{cd}	0,00 ± 0 ^d
YC 41	0,57 ± 0,06 ^b	0,83 ± 0,10 ^a	0,20 ± 0,13 ^c	0,16 ± 0,00 ^{cd}	0,16 ± 0,02 ^{cd}	0,04 ± 0,08 ^{cd}
YC 42	0,85 ± 0,05 ^c	1,54 ± 0,38 ^b	0,35 ± 0,01 ^d	0,21 ± 0,01 ^d	0,16 ± 0,08 ^d	0,10 ± 0 ^d
YC 46	0,76 ± 0,00 ^b	1,03 ± 0,07 ^a	0,15 ± 0,00 ^c	0,15 ± 0,02 ^c	0,11 ± 0,01 ^c	0,11 ± 0,06 ^c
YC 49	1,43 ± 0,03 ^a	1,54 ± 0,02 ^a	0,230 ± 0,08 ^b	0,24 ± 0,02 ^{bc}	0,19 ± 0,01 ^{cd}	0,14 ± 0 ^{cd}
YC 51	0,41 ± 0,07 ^b	0,93 ± 0,12 ^a	0,16 ± 0 ^c	0,15 ± 0,04 ^c	0,04 ± 0 ^{cd}	0 ± 0 ^d
YC 53	0,72 ± 0,11 ^b	0,51 ± 0,06 ^a	0,17 ± 0,00 ^c	0,05 ± 0,08 ^{cd}	0,03 ± 0,05 ^{cd}	0 ± 0 ^d
YC 54	0,35 ± 0,07 ^d	1,87 ± 0,11 ^c	1,88 ± 0,08 ^c	1,17 ± 0,526 ^b	0,13 ± 0,00 ^d	0,05 ± 0,04 ^d
YC 56	0,97 ± 0,04 ^b	0,27 ± 0,01 ^a	0,17 ± 0 ^c	0,12 ± 0,02 ^c	0,03 ± 0,05 ^d	0 ± 0 ^d

a, b, c et d : dans les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement distincts (test HSD de Tuckey, $p < 0,050$)

4. Conclusion

Les analyses physico-chimiques ont montré que le pH est acide avec un taux d'humidité important, une teneur en vitamine C d'ordre 6,40 mg/100g et un degré brix élevé de 25 ± 0 °B. Les analyses microbiologiques ont permis de répertorier cinquante-six (56) isolats purs. L'étude des propriétés biotechnologiques a permis de sélectionner cinq (5) isolats nommées YC16, YC21, YC42, YC46 et YC49 présentant les meilleures performances. Ces isolats ont montré une meilleure croissance face aux différents stress que sont le glucose et l'éthanol. Ainsi, ces cinq (5) isolats pourraient être utilisés comme des starters dans des applications biotechnologiques.

5. Bibliographie

- [1]. Kalui C. M., Mathara J. et Kutima P. (2010). Probiotic potential of spontaneously fermented cereal-based foods- a review. *African journal of biotechnology*, 9 (17): 2490- 2498.
- [2]. Morot-Bizot S. C. (2006). Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons, Thèse de doctorat en sciences des aliments, université d'Auvergne-Ferrand, France, 132 pages.

- [3]. **Morot-Bizot S. C. (2006)**. Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons, Thèse de doctorat en sciences des aliments, université d'Auvergne-Ferrand, France, 132 pages.
- [4]. **ASTS. (2004)**. La biotechnologie potentiel enjeux et perspectives : le cas du Sénégal, Docs de programme de développement des biotechnologies, Dakar, 64 pages.
- [5]. **FIRCA (2014)**. Présentation des filières fruitières. La filière du Progrès n°13 du 1er trimestre, Côte-d'Ivoire, 46 pages.
- [6]. **Ayed L., M'hir S. et Hamdi M. (2020)**. Aspects microbiologiques, biochimiques et fonctionnels des boissons fermentées de légumes et de fruits. *Journal de la chimie*, 20 (2) :1-12.
- [7]. **Ribéreau P., Dubourdiou D., Donèche B. et Lonvaud A. (2006)**. La microbiologie du vin et des vinifications. Dunod, 497 pages.
- [8]. **Ayad E. (2009)**. Développement d'une culture starter pour améliorer la sécurité et la qualité du fromage Domiati. *Journal de Microbiologie alimentaire*, 26 (5) : 533-541.
- [9]. **Soro L. C., Atchibri A.L., Kouadio K. K. et Kouamé C. (2012)**. Evaluation de la composition nutritionnelle des légumes feuilles. *Journal of applied biosciences*, 51 (2) : 3567-3573.
- [10]. **AOAC. (1990)**. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Association of Official Analytical Chemists, 15th edition, volume 1, Arlington, Virginia (USA), 771 p.
- [11]. **Pongracz G., Weiser H., Matzinger D. (1971)**. Tocopherols- Antioxydant. *Fat. Science Technology*, (97), 90-104.
- [12]. **Samagaci, L., Ouattara, H. G., Goualié, B. G., & Niamke, S. L. (2014)**. Growth capacity of yeasts potential starter strains under cocoa fermentation stress conditions in Ivory Coast. *Emirates Journal of Food & Agriculture*, 26(10), 861-870.
- [13]. **Dung N. T. P et Phong. X.H. (2013)**. Screening Thermo- and Ethanol Tolerant Bacteria for Ethanol Fermentation. *American Journal of Microbiological Research*, 1(2), 25-31.
- [14]. **Hesclot H., Vladescu B. (1994)**. La levure dans les industries alimentaires.
- [15]. **Dung N. T. P., Pornthap T. et Huynh X. P. (2012)**. Screening useful isolated yeasts for ethanol fermentation at high temperature. *International Journal of Applied Science et Technology*, 2 (4) : 65-71.
- [16]. **Monrose G. S (2009)**. Standardisation d'une formulation de confiture de chadèque et évaluation des physico-chimiques, microbiologiques et sensoriels. Mémoire de Master, Université d'Etat d'Haïti, Port-au-Prince (Haïti), 60 pages.
- [17]. **Ekué M., Codjia J., Fonton B. et Assogbadjo A. (2008)**. Diversité et préférence en ressources forestières alimentaires végétales des peuples Otammari au Nord-Ouest du Bénin. *Bulletin de la recherche agronomique du Bénin*, 1 (60) : 1-12.
- [18]. **Gnansounou, S. M., Noudogbessi, J. P., Yehouenou, B., Gbaguidi, A. N. M., Dovonon, L., Aina, M. P., Ahissou, H. et Sohounhloue, D. (2014)**. Proximate composition and micronutrient potentials of Dialiumguineense wild growing in Benin. *International Food Research Journal*, 21 (4): 1603-1607.
- [19]. **Holzappel W. H. (2002)**. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International journal of Food Microbiology*, 75 (3) : 197-212.
- [20]. **Koffi O., Samagaci L., Goualie B. et Niamke S. (2018)**. Screening of potential yeast starters with high ethanol production for a small-scale cocoa fermentation in Ivory Coast. *Food and Environment Safety*, 7 (2): 113 – 130.
- [21]. **Hirasawa T., Yoshikawa K., Nakakura Y., Nagahisa K., Furusawa C., Katakura Y. et Shioya S. (2007)**. Identification of target genes conferring ethanol stress tolerance to *Saccharomyces cerevisiae* based on DNA microarray data analysis. *Journal of Biotechnology*, 131 (1): 34-44.

Optimisation d'une méthode de préparation d'échantillons biologiques basée sur le Salting-out Assisted Liquid - liquid Extraction (SALLE)

Jean Simon Thodhekes YAO^{1,2*}; Yoann LADNER¹; Jerome MONTELS¹; N'Cho Christophe AMIN²; Catherine PERRIN¹

1. Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), UMR 5247-CNRS-UM-ENSCM, Université de Montpellier, Montpellier, France

2. Université Felix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire
*js_thodhekes@yahoo.fr

Résumé : Développer des dispositifs d'analyse spécifiques, simples et rapides pour le suivi thérapeutique de patients en cancérologie est de plus en plus indiqué. Dans ce contexte, afin d'améliorer la phase de traitement des échantillons biologiques, une méthode d'extraction liquide-liquide assistée par relargage (Salting – out assisted liquid – liquid Extraction : SALLE) a été optimisée en utilisant une approche par plan d'expériences.

Cette étude sur la technique SALLE, présentant des avantages en termes de simplicité, temps et coût de purification des échantillons biologiques a été réalisée sur des molécules modèles d'inhibiteurs de la tyrosine kinase en milieu plasmatique.

L'optimisation a porté sur le type de solvant d'extraction, le ratio volumique échantillon/solvant d'extraction, le type de sels ainsi que sa concentration, le pH du milieu et le temps de centrifugation, permettant ainsi de mieux appréhender leur influence sur la séparation de phases et l'extraction des molécules.

Au total, 22 expériences ont été réalisées et les données ont été traitées à l'aide d'approches statistiques appropriées.

L'étude a montré que deux sels (Na_2SO_4 , K_2CO_3), utilisés à une force ionique de 2 M, en milieu basique en présence d'acétonitrile avec un ratio échantillon/ACN (v/v) de 50%, permettait d'obtenir les meilleurs rendements d'extraction après 6 min de centrifugation.

Mots clés : Préparation d'échantillon ; Salting - out assisted liquid - liquid Extraction ; Plan d'expériences ; Plasma

Optimization of a biological sample preparation method based on Salting-out Assisted Liquid-liquid Extraction (SALLE)

Summary: It is becoming increasingly important to develop specific, simple, and rapid analytical devices for therapeutic monitoring of patients, particularly in cancerology. In this context, in order to improve the processing phase of biological samples, a Salting - out assisted liquid - liquid Extraction (SALLE) method has been optimized using a design of experiments approach.

This study of the SALLE technique, which offers advantages in terms of simplicity, time, and cost for purifying biological samples, was carried out on model molecules of tyrosine kinase inhibitors in plasma.

Optimization focused on the type of extraction solvent, the sample/extraction solvent volume ratio, the type of salts and their concentration, the pH of the medium and the centrifugation time, enabling a better understanding of their influence on phase separation and molecule extraction.

A total of 22 experiments were carried out and the data processed using appropriate statistical approaches.

The study showed that two salts (Na_2SO_4 , K_2CO_3), used at an ionic strength of 2 M, in a basic medium in the presence of acetonitrile with a sample/ACN ratio (v/v) of 50%, achieved the best extraction yields after 6 min of centrifugation.

These parameters were selected for future methodological transfer to miniaturized formats.

Key words: Sample preparation; Salting - out assisted liquid - liquid Extraction; Design of experiments; Plasma

1. Introduction

La préparation d'échantillons est une étape cruciale pour l'analyse de composés pharmaceutiques dans des milieux biologiques. Elle permet la purification et la concentration des analytes d'intérêt, permettant une meilleure spécificité et sensibilité analytique [1].

Les méthodes de préparation d'échantillons biologiques en vue de l'analyse quantitative de médicaments les plus répandues sont l'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction en phase solide (SPE). Cependant, ces techniques présentent des limitations : la LLE nécessite souvent d'importantes quantités de solvants/réactifs potentiellement

nocifs et une étape de mélange souvent longue pour la récupération des analytes [2] et la SPE requiert une méthodologie multi-étapes relativement complexe de conditionnement de la phase solide, de chargement de l'échantillon, puis de lavage et d'élution [3].

Pour des raisons de simplicité et d'automatisation, l'extraction liquide – liquide reste encore l'approche la plus utilisée en milieu hospitalier. Parmi les techniques d'extraction liquide-liquide, la méthode de Salting out Assisted Liquid-Liquid Extraction (SALLE) a suscité un intérêt croissant ces dernières années en raison de ses nombreux avantages, dont une consommation de solvants réduite, une bonne sélectivité et une facilité de mise en œuvre [4,5].

La technique SALLE repose sur l'augmentation de la solubilité des composés hydrophobes par l'ajout de sels, facilitant ainsi leur extraction dans une phase organique initialement miscible à l'eau, ce qui simplifie le processus et améliore la récupération des analytes [6].

L'objectif de notre étude a été de développer une méthode de préparation d'échantillons basée sur le SALLE en utilisant une approche par plan d'expériences. Deux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), l'imatinib et l'erlotinib, ont été choisis comme molécules modèles.

Cette approche vise à optimiser les performances analytiques en termes de sensibilité, spécificité et reproductibilité, tout en simplifiant l'étape de préparation des échantillons [7] et rationalisant les choix de solvant et de sels retrouvés dans la littérature pour l'usage du SALLE. En intégrant cette nouvelle méthode, il est attendu de fournir à terme une stratégie bioanalytique robuste et efficace améliorant ainsi la prise en charge des patients. Cette méthode de préparation d'échantillons biologiques est une étape à la mise au point d'un outil microfluidique afin de déterminer in fine les concentrations plasmatiques d'inhibiteurs de la tyrosine kinase dans le cadre d'un suivi thérapeutique.

2. Matériel et méthodes

Les réactifs utilisés étaient de qualité analytique et la verrerie classique pour analyse de laboratoire a été utilisée. L'acétonitrile (ACN) et le tétrahydrofurane (THF) étaient de grade CLHP.

Les substances de référence médicamenteuses (imatinib et erlotinib) ont été achetées chez Sigma Aldrich.

L'étude a également nécessité une balance de précision, un agitateur type Vortex, une centrifugeuse.

L'échantillon était constitué de plasma humain lyophilisé (Sigma Aldrich®) dopé d'inhibiteur de la tyrosine kinase.

Au total, 22 expériences ont été réalisées. Pour chaque expérience, un blanc (H₂O), un dosage avec Imatinib et un autre avec l'Erlotinib (3 sous expérience) ont été effectués. Le rendement d'extraction des deux inhibiteurs de la tyrosine kinase (Imatinib et Erlotinib) ITKs ont été évalués à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible de marque Shimadzu après établissement d'une gamme étalonnage.

Les données ont été traitées à l'aide d'une approche statistique sur Excel.

La phase aqueuse était constituée de 48,33 % de plasma et 1,67% ITK et 46,67 % sel et 3,33% de base ou H₂O.

3. Résultats et discussion

L'optimisation du rendement d'extraction des ITKs a porté sur le type de solvant, le ratio volumique ACN/échantillon (33%, 40%, 50%), le type de sel et sa concentration (force ionique égale à 1M et 2M), le pH du milieu (pH initial du plasma puis ajout de NaOH), ainsi que le temps de centrifugation (0, 3, 6 min). Deux solvants organiques miscibles à l'eau (acétonitrile et tétrahydrofurane) et 3 sels (carbonate de potassium, sulfate de sodium et Chlorure d'ammonium) ont été étudiés.

Au départ, 18 expériences ont été générées à partir d'un plan d'expérience fractionnaire (i.e. seule une fraction de l'ensemble des combinaisons possibles entre les différents facteurs a été étudiée afin de limiter le nombre d'expériences. Les expériences ont été choisies de façon à couvrir un maximal du domaine expérimental étudié). L'une d'elles a été répétée 5 fois afin de pouvoir étudier l'influence des facteurs étudiés sur le rendement d'extraction et leur significativité statistique. Pour chaque combinaison de facteurs, i.e. pour chaque expérience, deux paramètres, la qualité de séparation des phases aqueuse et organique et le rendement d'extraction des ITKs ont été évalués. Suite à la réalisation expérimentale, il a été observé que plusieurs expériences n'avaient pas conduit à une séparation des phases aqueuse et organique. En étudiant chaque condition expérimentale, il a pu être conclu que l'absence de centrifugation était pour de nombreux cas responsable de cette absence d'effet SALLE. Ainsi, quatre expériences supplémentaires (19 à 22) ont été ajoutées avec l'ACN car plusieurs

combinaisons initiales ne donnaient pas de séparation de phase avec l'ACN d'où des résultats déséquilibrés entre l'ACN et le THF.

Le plan d'expérience, les résultats obtenus en termes de rendement d'extraction pour chacun des ITKs sont présentés dans les tableaux ci-après. :

Tableau I : Plan d'expériences mis en œuvre et résultats : séparation de phases et rendements d'extraction des ITKs

N° essai	Sel	Proportion solvant organique (%)	Solvant Organique	Force ionique (M)	pH	Temps de centrifugation (min)	Séparation de phase	RE Imatinib	RE Erlotinib
1	K ₂ CO ₃	40	ACN	1	Basique	3	Oui	38,11	64,33
2	NH ₄ Cl	33	ACN	1	Basique	0	Aucune	-	-
3	NH ₄ Cl	50	THF	1	Basique	6	Oui	20,74	40,3
4	K ₂ CO ₃	50	ACN	2	Basique	0	Aucune	-	-
5	Na ₂ SO ₄	50	THF	1	Initial	6	Oui	97,54	83,98
6	NH ₄ Cl	40	ACN	2	Initial	6	Aucune	-	-
7	NH ₄ Cl	40	THF	2	Initial	0	Aucune	-	-
8	Na ₂ SO ₄	33	THF	1	Initial	0	Aucune	-	-
9a	K ₂ CO ₃	50	THF	2	Initial	3	Oui	49,69	63,95
9b	K ₂ CO ₃	50	THF	2	Initial	3	Oui	51,16	60,59
9c	K ₂ CO ₃	50	THF	2	Initial	3	Oui	52,76	61,72
9d	K ₂ CO ₃	50	THF	2	Initial	3	Oui	55,48	63,3
9e	K ₂ CO ₃	50	THF	2	Initial	3	Oui	55,63	66,77
10	K ₂ CO ₃	40	THF	1	Initial	0	Aucune	-	-
11	NH ₄ Cl	50	ACN	1	Initial	3	Aucune	-	-
12	Na ₂ SO ₄	50	ACN	2	Basique	0	Aucune	-	-
13	NH ₄ Cl	33	THF	2	Basique	3	Aucune	-	-
14	Na ₂ SO ₄	33	ACN	2	Initial	3	Aucune	-	-
15	Na ₂ SO ₄	40	THF	1	Basique	3	Oui	73,47	83,99
16	K ₂ CO ₃	33	THF	2	Basique	6	Oui	58,2	61,08
17	Na ₂ SO ₄	40	ACN	2	Basique	6	Oui	85,72	98,77
18	K ₂ CO ₃	33	ACN	1	Initial	6	Aucune		
19	Na ₂ SO ₄	40	ACN	2	Initial	6	Oui	83,41	92,09
20	Na ₂ SO ₄	50	ACN	1	Initial	3	Oui	88,34	98,72
21	K ₂ CO ₃	40	ACN	1	Initial	3	Aucune		
22	K ₂ CO ₃	50	ACN	2	Initial	6	Oui	93,21	86,15

RE : Rendement d'extraction

Après calcul des rendements d'extraction, une étude statistique de l'effet des différents facteurs expérimentaux sur le rendement d'extraction des 2 ITKs a pu être réalisée. Les résultats sont présentés ci-après (**Tableau II**):

Le sel sulfate de sodium (Na₂SO₄) présente les rendements d'extraction moyens les plus élevés pour les deux ITKs. Le sel chlorure d'ammonium (NH₄Cl) donne les rendements d'extraction moyens les plus bas.

Na₂SO₄ apparait ainsi être le meilleur sel pour l'extraction des ITKs sélectionnés. Nos résultats sont cohérents avec ceux de Roen et Otsuka. En effet, ces auteurs ont sélectionné le sulfate de sodium comme sel de relargage après des travaux d'optimisation de la méthode SALLE à partir de plasma et de sérum [8,9].

L'acétonitrile s'est révélé être le meilleur solvant pour l'extraction des deux inhibiteurs de la tyrosine kinase. De nombreuses études réalisées pour l'extraction d'ITKs et sur des échantillons sanguins ont également retenu l'ACN comme solvant pour le SALLE [10–14].

Par contre, le THF après optimisation de méthode a été choisi préférentiellement en raison de ses propriétés d'accepteur de protons, adaptées à l'extraction de composés donneurs de protons [9].

Des travaux ont à la fois retenu le THF et l'ACN pour l'extraction des analytes en raison de leur capacité de générer une séparation de phase nette et un pourcentage d'extraction plus élevé que les autres solvants étudiés [15].

Tableau II : Analyse statistique de l'effet des différents paramètres expérimentaux sur le rendement d'extraction des ITKs

Paramètres	Imatinib	Erlotinib
Nature du sel		
	Significatif	Significatif
K ₂ CO ₃ vs Na ₂ SO ₄	-35,83 ***	-26,02 ***
NH ₄ Cl vs K ₂ CO ₃	-29,01 ***	-22,59 ***
Seuil critique	5,24	4,72
Proportion solvant organique		
	Significatif	Significatif
50 vs 40	0,38 NS	10,31 *
40 vs 33	11,98 *	23,72 ***
Seuil critique	5,24	4,72
Solvant organique		
	Significatif	Significatif
ACN vs THF	17,18 **	24,49 ***
Seuil critique	5,24	4,72
Force ionique		
	Significatif	Significatif
1M vs 0,5M	8,16 **	6,22 **
Seuil critique	5,24	4,72
Ph		
	Significatif	Significatif
Basique vs Initial	10,35 **	10,83 **
Seuil critique	5,24	4,72

NS : Non Significatif

La proportion de solvant organique de 50% offre les rendements d'extraction les plus élevés pour les ITKs, suivie de la proportion de 40%. L'amélioration du rendement entre les proportions 50% et 40% reste cependant faible. Il faut noter que le volume de solvant est un facteur clé de la séparation de phase. Il existe un volume déterminé pour lequel aucune séparation de phase n'est observée et les volumes trop élevés de solvant entraînent une dilution trop importante de l'échantillon. Ainsi, dans la littérature, on observe que l'optimisation du volume de solvant est un équilibre entre réduction du volume de solvant (afin de limiter la dilution des échantillons) et l'augmentation de la concentration en sel (afin d'éviter leur précipitation) [16]

Un pH basique semble être plus favorable pour l'extraction des deux médicaments Imatinib et Erlotinib. Le pH joue un rôle important dans l'efficacité d'extraction, car il affecte à la fois l'ionisation et la solubilité des analytes. Pour obtenir une efficacité d'extraction maximale, l'analyte doit être présent sous une forme non ionisée. L'Imatinib et l'Erlotinib du fait de leurs propriétés physicochimiques possèdent un caractère basique donc un pH basique est favorable à leur extraction. Cependant au cours des travaux, il a été observé que l'ajout de base à la méthode d'extraction impacte négativement le taux de précipitation des protéines plasmatiques.

L'effet de la force ionique est moins marqué. La force ionique impacte la séparation de phase mais une force ionique de 0,5M dans le plasma semble être suffisante. Il existe un seuil pour lequel la génération d'une séparation de phase est réalisée. Les différentes expériences réalisées ont montré qu'une teneur en sel donc une force ionique plus élevée permettait d'obtenir une séparation de phase plus stable et plus nette. Une séparation de phase rapide et claire entre le solvant organique et la solution aqueuse pourrait facilement être obtenue si la force ionique du sel est élevée.

4. Conclusion

L'optimisation d'une méthode de préparation d'échantillons à travers un plan d'expériences a permis d'évaluer le rendement d'extraction de l'Imatinib et de l'Erlotinib en fonction de divers paramètres. Les différents paramètres étudiés (type et concentration des sels, choix et proportion des solvants, pH, et temps de centrifugation) jouent un

rôle crucial dans l'efficacité d'extraction. L'optimisation des paramètres expérimentaux par l'utilisation d'un plan d'expériences a permis de déterminer de façon efficace les meilleures conditions d'extraction SALLE : Na_2SO_4 à 2M de force ionique ; ACN à un ratio de 50% par rapport au volume de l'échantillon ; ajout de base au milieu ; centrifugation pendant 6 min). Plusieurs de ces paramètres ont montré un effet significatif sur les rendements d'extraction de l'Imatinib et de l'Erlotinib soulignant l'importance de prendre en compte ces variables lors de la conception et de l'optimisation du processus d'extraction. Cette approche raisonnée offre une méthode d'extraction robuste et adaptable, avec des implications potentielles pour des applications analytiques dans des contextes variés. Les résultats obtenus fournissent une base solide pour des études futures et des applications pratiques dans le domaine de l'analyse des médicaments et pour un suivi thérapeutique.

5. Bibliographie

1. Poole CF. New trends in solid-phase extraction. *TrAC Trends Anal Chem.* 1 juin 2003;22(6):362-73.
2. Stokvis E, Rosing H, Beijnen JH. Stable isotopically labeled internal standards in quantitative bioanalysis using liquid chromatography/mass spectrometry: necessity or not? *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2005;19(3):401-7.
3. Tang YQ, Weng N. Salting-out assisted liquid-liquid extraction for bioanalysis. *Bioanalysis.* juin 2013;5(12):1583-98.
4. Kataoka H. Recent developments and applications of microextraction techniques in drug analysis. *Anal Bioanal Chem.* janv 2010;396(1):339-64.
5. Rezaee M, Assadi Y, Milani Hosseini MR, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J Chromatogr A.* 26 mai 2006;1116(1):1-9.
6. Zhang J, Myasein F, Wu H, El-Shourbagy TA. Sugaring-out assisted liquid/liquid extraction with acetonitrile for bioanalysis using liquid chromatography-mass spectrometry. *Microchem J.* 1 mai 2013;108:198-202.
7. Heydarzadeh M, Givianrad MH, Heydari R, Aberoomand Azar P. Salt-assisted liquid-liquid extraction in microchannel. *J Sep Sci.* 2019;42(20):3217-24.
8. Otsuka M, Tsuge K, Seto Y, Miyaguchi H, Uchiyama M. Analysis of degradation products of nerve agents via post-pentafluorobenzoylation liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 23 nov 2018;1577:31-7.
9. Røen BT, Sellevåg SR, Lundanes E. Quantification of Nerve Agent Biomarkers in Human Serum and Urine. *Anal Chem.* 2 déc 2014;86(23):11833-40.
10. Ahmed OS, Ladner Y, Montels J, Philibert L, Perrin C. Coupling of salting-out assisted liquid-liquid extraction with on-line stacking for the analysis of tyrosine kinase inhibitors in human plasma by capillary zone electrophoresis. *J Chromatogr A.* 7 déc 2018;1579:121-8.
11. Écsiová D, Šimkovič M, Uher M, Hroch M. High-throughput salting-out assisted liquid-liquid extraction using a 3D printed device and its application in the quantification of ibrutinib and its metabolite PCI-45227 in human serum. *J Pharm Biomed Anal.* 20 sept 2022;219:114923.
12. Hammad SF, Abdallah IA, Bedair A, Mansour FR. Salting-out induced liquid-liquid microextraction for alogliptin benzoate determination in human plasma by HPLC/UV. *BMC Chem.* 15 janv 2021;15(1):2.
13. Hassan J, Bahrani SH. Determination of atorvastatin in human serum by salting out assisted solvent extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography-UV detection. *Arab J Chem.* 1 janv 2014;7(1):87-90.
14. Tok KC, Gumustas M, Sengel-Turk CT, Amasya G, Bayram B, Arioglu-Inan E. Development of salting-out extraction methodology for the determination of piroxicam from polymeric based nanocarriers and biological samples. *J Pharm Biomed Anal.* 20 sept 2022;219:114966.
15. Otsuka M, Tsuge K, Seto Y, Miyaguchi H, Uchiyama M. Analysis of degradation products of nerve agents via post-pentafluorobenzoylation liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 23 nov 2018;1577:31-7.
16. Rood JJM, van Bussel MTJ, Schellens JHM, Beijnen JH, Sparidans RW. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for the T790M mutant EGFR inhibitor osimertinib (AZD9291) in human plasma. *J Chromatogr B.* 15 sept 2016;1031:80-5.

Etude statistique de la variabilité chimique des huiles essentielles de feuilles de *Lippia multiflora* Mold (Verbenaceae) collectées dans cinq régions de Côte d'Ivoire

Philatryho ATCHE.¹, Sorho SIAKA¹, Kouwelton Patrick Franck Olivier KONÉ¹, Yaya SORO^{1*}, Zanahi Félix TONZIBO²

¹Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie Organique et de Substances Naturelles (LCOSN), UFR-SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

*Corresponding author ; E-mail : philatryho@gmail.com; Tel: (00225) 07 08 91 22 33 / 01 42 18 00 23

RESUME

La variabilité chimique d'une plante provenant de divers continents ou collectée dans différentes localités justifie ses différentes activités biologiques. Ainsi, la présente étude a été entreprise pour évaluer l'étude statistique de la variabilité chimique des huiles essentielles de feuilles de *Lippia multiflora* Mold de cinq localités du centre de la Côte d'Ivoire. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation avec des rendements variant de 0,56 à 1,20% selon les localités. L'analyse de leurs compositions chimiques a montré la prédominance d'Eucalyptol, α -citral, β -citral, Linalol et Trans-géraniol dans les huiles de Yamoussoukro, Tiébissou, Bouaflé, Toumodi et Dimbokro, respectivement. L'analyse en composantes principales et la classification hiérarchique ascendante ont révélé que ces huiles essentielles peuvent être classées en trois groupes. L'étude comparative des compositions chimiques des huiles essentielles a montré que le α -citral est un marqueur de *Lippia multiflora* acclimaté au centre de la Côte d'Ivoire. Ces résultats mettent en évidence l'influence des facteurs intrinsèques tels que les conditions climatiques et probablement la nature des sols sur les huiles essentielles des feuilles de *Lippia multiflora*. Cette étude laisse entrevoir des applications dans les domaines de l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique pour contribuer à la valorisation de ces plantes aromatiques.

Mots clés : Huiles essentielles, *Lippia multiflora*, Variabilité chimique, Étude statistique

Comparative study of chemical variability of essential oils from the leaves of *Lippia multiflora* Mold (Verbenaceae) collected in five regions of Côte d'Ivoire

Abstract

Chemical variability of a plant from various continents or collected in different localities justifies its different biological activities. Thus, the present study was undertaken to evaluate the statistical study of chemical variability of essential oils from leaves of *Lippia multiflora* Mold from five localities in the center of Côte d'Ivoire. Essential oils have been extracted by hydrodistillation with yields varying from 0.56 to 1.20% depending on localities. Analysis of their chemical compositions showed the predominance of Eucalyptol, α -citral, β -citral, Linalool and ($\pm$)-trans-Nerolidol in the oils from Yamoussoukro, Tiébissou, Bouaflé, Toumodi and Dimbokro, respectively. Principal Component Analysis and Hierarchical Ascending Classification revealed that these essential oils can be classified in three groups. The comparative chemical compositions study of essential oils showed that α -citral is a marker of *L. multiflora* acclimated in the center of Côte d'Ivoire. These results highlight that essential oils of leaves of *L. multiflora* are strongly influenced by intrinsic factors such as climatic conditions and probably nature of soils. This study suggests applications in the fields of food, cosmetics and pharmaceuticals to contribute to the development of these aromatic plants.

Keywords: Essential oils, *Lippia multiflora*, Chemical variability, Statistical study

1. INTRODUCTION

La flore africaine est composée d'une grande diversité de plantes possédant des biomolécules et utilisées en médecine traditionnelle pour la gestion de diverses pathologies [1]. Les plantes aromatiques contiennent notamment des huiles essentielles largement utilisées en aromathérapie, pharmacie, parfumerie et cosmétique [2]. Parmi les nombreuses plantes aromatiques de la Pharmacopée Ivoirienne, *Lippia multiflora* Mold (Verbenaceae) est utilisée pour ses propriétés antimicrobiennes [3], anti-inflammatoires [4], antifongiques [3], antihypertensive [5], antibactérienne [7] et sédative [5]. Les propriétés biologiques de *Lippia multiflora* ont été attribuées à la présence de composés terpéniques de son huile essentielle [8]. Diverses études sur la composition chimique des huiles essentielles dans la sous-région ont révélé plusieurs chémotypes dominés principalement par le linalol et le -terpinéol [9] et le nérolidol [8]. *Lippia multiflora* apparaît comme une plante oléagineuse de qualité et quantité variables [10] même au sein d'une zone écologique et pour un génotype donné avec des effets saisonniers et environnementaux dont ceux du sol [11] ; [12].

Compte tenu de la grande variabilité de la composition de l'huile essentielle de *Lippia multiflora*, il semble nécessaire de regrouper les localités. Dans ce contexte, l'utilisation de méthodes statistiques telles que l'analyse en composantes principales (ACP) et la classification hiérarchique ascendante (HAC) sont importantes. L'ACP

permet de mettre en évidence les similitudes et la position graphique de deux ou plusieurs variables chimiques au fur et à mesure de leur évolution. Son utilisation permet de réduire et d'interpréter des données sur un espace réduit [13]. HAC est un système de classification plus distinctif où chaque membre d'un groupe est plus similaire à ses collègues qu'à tout autre membre en dehors du groupe [14]. Par conséquent, la présente étude vise à révéler une corrélation potentielle entre ces localités.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériel végétal

Les feuilles fraîches de *Lippia Multiflora* Mold ont été récoltées en août 2019 pendant la saison des pluies dans cinq villes du centre de la Côte d'Ivoire : Yamoussoukro (6°53'40"N 5°13'31"W), Tiébissou (7°08 '18"N 5°13'36"W), Bouaflé (6°53'49"N 5°44'36"W), Toumodi (6°30'36"N 5°06'50"W) et Dimbokro (6°47'41"N 4°44'52"O). Après identification par M. Amani N'GUESSAN, botaniste de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire), le matériel végétal récolté a été lavé à l'eau courante et séché au laboratoire à température ambiante (27 ± 2 °C), à l'abri de la lumière directe du soleil, pendant quatre jours [8].

2.2. Extraction d'huile essentielle

L'huile essentielle a été produite par hydrodistillation de feuilles séchées dans un appareil Clevenger selon la méthode décrite par Goly et al. (2015). En effet, 500 g de feuilles séchées ont été introduits dans un autocuiseur contenant de l'eau distillée. Le mélange a été bouilli à l'aide d'une enveloppe chauffante. La vapeur d'eau chargée d'huile essentielle était condensée dans le serpentin du Clevenger, à l'aide d'un flux d'eau. Quatre heures après l'apparition de la première goutte du distillat, l'huile essentielle a été séparée de l'eau et séchée sur sulfate de magnésium anhydre (Merck, Allemagne). Les huiles collectées ont ensuite été stockées à 4°C, à l'abri de la lumière dans un flacon opaque scellé. Chaque extraction a été réalisée trois fois et le rendement en huile essentielle a été déterminé par le rapport de la masse de l'huile extraite et de la masse des feuilles traitées selon la formule : $R (\%) = 100 \times m/M$; R = rendement (%) ; M = masse des feuilles séchées (g) et m = masse de l'huile essentielle après 4 heures de distillation (g).

2.3. Chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse

Un système Perkin Elmer Clarus 680 GC couplé à un détecteur MSD 600C a été utilisé lors des analyses GC-MS. La colonne capillaire en silice fondue Rtx-5MS (Restek Co., Bellefonte, PA, USA) (30 m de longueur x 0,25 mm de diamètre intérieur x 0,25 µm d'épaisseur de film) a été utilisée, avec de l'hélium comme gaz vecteur (1 ml/min). Un L d'une solution d'huile essentielle dans l'hexane a été injecté en mode splitless avec un rapport de 1:50. La température a été programmée de 50°C (5 min) à 250°C (8,33 min), à une vitesse de 3°C/min pendant 80 minutes (temps total d'analyse). Le détecteur sélectif de masse fonctionnait avec une énergie d'ionisation de 70 eV et une vitesse de balayage de 200 balayages/min sur une plage de masse de balayage de 50 à 450 unités de masse atomique. Les températures de la source et de l'injecteur ont été fixées à 200°C et 250°C, respectivement. Les composants individuels ont été identifiés sur la base de leurs indices de rétention sur une colonne capillaire Rtx-5MS dans les mêmes conditions opératoires utilisées pour GC-MSD, en utilisant une série de n-alcanes C7-C30 et ont été comparés à ceux rapportés dans la littérature [14]. Les structures ont été appariées par ordinateur avec des bibliothèques spectrales (Wiley 7, NIST 08 et FFNSC 1.2). Des identifications ont également été faites par référence à des composés étalons authentiques analysés dans les mêmes conditions que les huiles essentielles, lorsqu'elles étaient disponibles dans le commerce.

2.4. Analyses statistiques

Les résultats des analyses de la composition chimique des huiles essentielles ont été traités par analyse en composantes principales (ACP) et classification hiérarchique ascendante (HAC) [15]. La combinaison de ces deux méthodes permet de connaître les différences ou les similitudes des huiles essentielles récoltées dans les différentes localités, afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité de leurs compositions chimiques et d'identifier pour chacun des sites, la zone de récolte correspondant à la teneur maximale en composés d'intérêt pharmacologique, puis de mettre en évidence des spécificités intra et inter-espèces. Elle a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT version.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 RÉSULTATS

3.1.1. Rendement et densité des huiles essentielles

L'hydrodistillation de feuilles de *Lippia multiflora* provenant de différentes localités a donné des huiles essentielles de couleur jaunâtre, caractérisées par une odeur intense.

Les rendements moyens en huile essentielle des cinq (5) localités sont présentés à la Figure 2. Les rendements varient de 0,34% pour Yamoussoukro (LYK) à 1,2% pour Toumodi (LTD). Les densités d'huiles essentielles varient de 0,73 % pour Bouaflé (LBF) à 0,94 % pour Toumodi (LTD). Ils sont tous inférieurs à 1 (densité de l'eau), ce qui montre le caractère insoluble (non miscible) de ces corps gras dans l'eau.

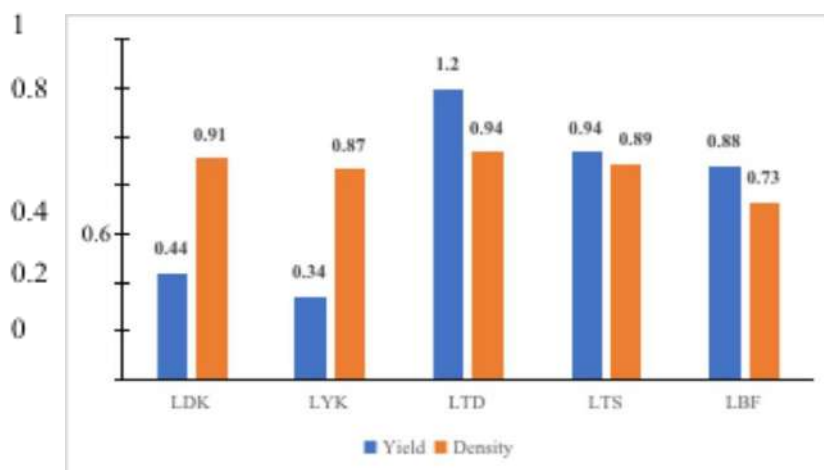


Figure 1 : Rendement et densité des huiles essentielles de *Lippia multiflora* de cinq (5) localités ivoiriennes

3.1.2 Compositions chimiques des huiles essentielles

L'analyse GPC/MS des huiles essentielles de *Lippia multiflora* des cinq localités a identifié un total de quatre-vingt-cinq (83) constituants avec des proportions globales de 100 % avec la présence de huit (8) composés majoritaires (dont le pourcentage est supérieur ou égale à 10%). Ce sont : l' α -phellandrène, l'Eucalyptol (1,8-cinéol), le Linalool, le β -citral (Néral), le *trans*-géraniol, le α -citral (Géraniol), le Germacrène D et le ($\pm$) -*trans*-nérolidol **figure 2**. Ils représentent entre 60,50 à 87,05% de l'ensemble des composés détectés dans l'HE des différentes localités. Ils sont donc représentatifs des HE des différentes localités. Les huiles essentielles des feuilles de *Lippia multiflora* des cinq (5) localités contiennent également quatre (4) composés intermédiaires (dont le pourcentage est compris de 5 à 10%). Ce sont : le β -caryophyllène, le Limonène, le *p*-cimène et le β -farnésène **figure 3**.

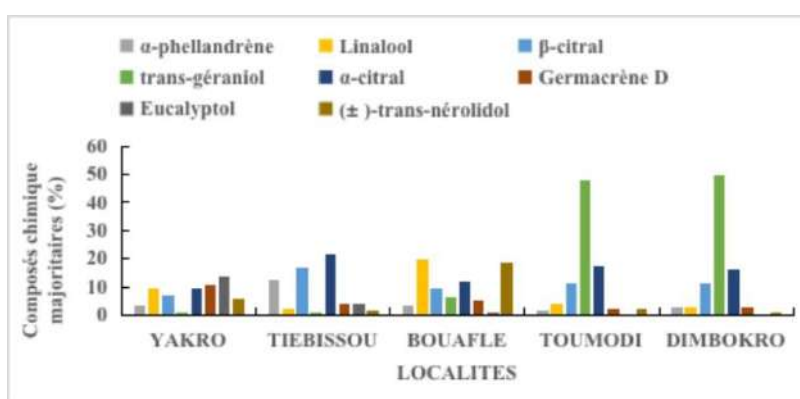


Figure 2 : Répartition des composés chimiques majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* en fonction des localités

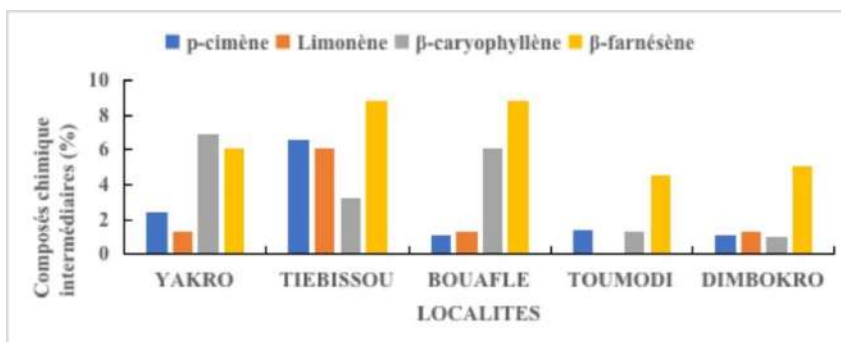


Figure 3 : Répartition des composés chimiques intermédiaires de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* en fonction des localités

3.1.3. Analyse en Composantes Principales des principaux composés des huiles essentielles de *Lippia Multiflora* des cinq localités étudiées

L'analyse des liens entre la composition chimique des huiles essentielles et la taxonomie de *Lippia Multiflora* des cinq localités a été réalisée par Analyse en Composantes Principales (ACP). Seules les variables discriminantes ont été considérées. Cette analyse était basée sur 8 composants chimiques majoritaires de toutes les huiles essentielles avec des proportions supérieures ou égale à 10 %. Il s'agit du Linalool, Eucalyptol, β-Citral, trans-géraniol, α-Citral, germacrène D, (±)-trans-nérolidol et α-phéllandrène. Ils représentent entre 60,50 à 87,05 % de l'ensemble des composés détectés dans l'HE des différentes localités. Ils sont donc représentatifs des HEs des différentes localités.

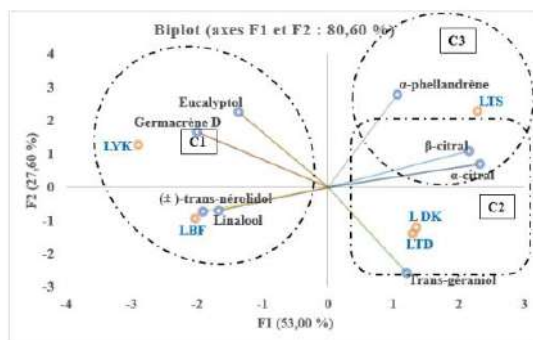


Figure 3. Analyse en Composantes Principales des principaux composés des huiles essentielles de *Lippia Multiflora* des cinq localités étudiées

3.2. DISCUSSIONS

Les résultats de la figure 1 montrent que le meilleur rendement en huile essentielle (1,2%) a été obtenu avec les feuilles récoltées à Toumodi. Ce rendement est suivi de ceux de Tiébissou (0,94 %) et de Bouafilé (0,88 %). Les rendements en huile essentielle les plus faibles ont été obtenus avec les feuilles de Dimbokro (0,44 %) et Yamoussoukro (0,34 %). Le rendement en huile essentielle de Yamoussoukro est inférieur à celui obtenu par Goly et al. (2017) (1,32 %). Cependant, le rendement de Toumodi (LTD) est supérieur à ceux de Soro et al. (2015) (0,76 %) et Kanko et al. (2004) (0,8%). En général, les variations de rendement en huile essentielle peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment l'origine de l'espèce, la période de récolte, le niveau d'humidité et le stade de développement de la plante [15].

Les densités d'huiles essentielles des différentes localités varient de 0,73 à 0,94 pour les huiles essentielles de Bouafilé et Toumodi, respectivement. Ces densités sont généralement incluses dans les gammes de densité des huiles essentielles [16].

Les huiles essentielles des cinq sites ont des teneurs en monoterpènes oxygénés variant de 45,91 à 81,74 %, les plus élevées étant obtenues pour Toumodi et Dimbokro. La deuxième famille la plus abondante dans toutes les villes est celle des Hydrocarbures Sesquiterpènes à l'exception de Tiébissou où la famille des Hydrocarbures Monoterpènes occupe la deuxième place. La famille des Monoterpènes Oxygénés est caractérisée par des proportions élevées d'Eucalyptol (13,91 %) / Linalol (9,56 %) / β-Citral (6,89 %) / α-Citral (9,43 %), β-Citral (16,74 %) / α-Citral (21,87 %), Linalol (19,99 %) / β-Citral (9,44 %) / α-Citral (12,10 %), β-Citral (11,59 %) /

trans-Géraniol (47,82 %) / α -Citral (17,20 %), β -Citral (11,57 %) / trans-Géraniol (49,43 %) / α -Citral (16,38 %) à Yamoussoukro, Tiébissou, Bouaflé, Toumodi et Dimbokro, respectivement ainsi qu'un taux important de α -Terpinéol (3,63 %), Eucalyptol (4,02%) / Linalol (2,22%), trans-Géraniol (6,37%), Linalol (4,05%) et Linalol (2,89%) dans les huiles essentielles des localités susmentionnées, respectivement.

La famille Sesquiterpène Hydrocarbures est caractérisée par des proportions moyennes de β -Caryophyllène (6,85 %) / β -Farnésène (6,09 %) / Germacrène D (11,02 %), β -Caryophyllène (6,06 %) / β -Farnésène (8,82 %) / Germacrène D (5,27 %), β -Caryophyllène (1,33 %) / β -Farnésène (4,53%) / Germacrène D (2,43 %) et β -Farnésène (5,05 %) / Germacrène D (2,93 %) à Yamoussoukro, Bouaflé, Toumodi et Dimbokro, respectivement. L'Analyse en Composantes Principales (ACP) (Figure 3) montre que les principaux composés de l'huile essentielle de *Lippia Multiflora* des cinq localités étudiées sont regroupés en trois (3) groupes. Le groupe I, formé par Bouaflé (LBF) et Yamoussoukro (LYK), est caractérisé par la présence Eucalyptol, Germacrène D, ($\pm$)-trans-Nérolidol et Linalool. Le groupe II, formé par Tiébissou (LTS), est caractérisé par la présence de et de l' α -citral, β -citral et α -Phellandrène. Le groupe III, formé par Toumodi (LTD) et Dimbokro (LDK), est caractérisé par la présence de Trans-Géraniol.

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) a également révélé la présence de trois classes distinctes selon les indices de dissemblance (Figure 5). Cette méthode d'agrégation affiche les différentes relations entre les échantillons d'huile, sous la forme d'un dendrogramme calculé à l'aide de la méthode Ward Minimum Variance. CAH a identifié trois classes chimiques (Classes C1, C2 et C3) dans tous les échantillons. La localité de TIEBISSOU autour de l' α -citral, du β -ciral et de l' α -phellandrène. Ces trois composés plus abondants dans la localité de TIEBISSOU que dans les quatre autres localités. Cette localité constitue la classe C2. Les localités de YAKRO et BOUAFLE autour du Linalool, du (+/-)-trans-nérolidol, de l'Eucalyptol et du Germacrène D qui sont plus abondants dans ces deux localités que dans les trois autres. Ces deux localités constituent la classe C1. Les localités de TOUMODI et DIMBOKRO autour du trans-géraniol. Ces localités forment la classe C3 qui est caractérisée par une teneur élevée en trans-géraniol. Les classes C1 et C2 sont diamétralement opposées ce qui signifie qu'elles n'ont pas de composés majoritaires en commun. Ainsi, la CAH a révélé la présence de trois classes C1, C2 et C3 séparées selon les indices de dissimilarité. L'ACP confirme les conclusions tirées des dendrogrammes de la CAH par la mise en évidence de trois classes de localités dans l'ensemble de nos échantillons.

Dans l'ensemble, les monoterpènes oxygénés dominent la composition chimique du groupe II (26,65%), tandis que dans les groupes I et III, leurs pourcentages sont respectivement de 12,31% et 20,86%. Les six principaux composés (≥ 5 %) sont le linalol, le germacrène D, le β -farnésène, le trans-géraniol, le β -citral et l' α -citral. Ces résultats montrent clairement que les huiles essentielles des feuilles appartiennent à des groupes chimiques différents.

4. Conclusion

L'étude des compositions chimiques des huiles essentielles des feuilles de *Lippia multiflora* Mold de cinq villes du centre de la Côte d'Ivoire a révélé une variabilité dans la composition chimique des huiles essentielles. En général, les monoterpènes oxygénés suivis des hydrocarbures sesquiterpéniques étaient les principales familles de ces huiles essentielles. L'analyse en composantes principales et la classification hiérarchique ascendante ont révélé que ces huiles essentielles peuvent être classées en trois groupes ou chémotypes dominés par l'eucalyptol, le citral/linalol et le trans-géraniol. Ces résultats mettent en évidence que les huiles essentielles des feuilles de *Lippia multiflora* sont fortement influencées par des facteurs intrinsèques tels que les conditions climatiques et probablement la nature des sols. L'étude comparative des compositions chimiques des huiles essentielles a montré que le α -citral est un marqueur de *Lippia multiflora* acclimaté au centre de la Côte d'Ivoire.

5. REFERENCES

- [1] Soro Y, Kassi ABB, Bamba F, Siaka S, Toure SA, Coustard J-M. 2012. Flavonoids and gallic acid from leaves of *Santaloides afzelii* (connaraceae). *Rasayan Journal of Chemistry*, 5(3): 332-337.
- [2] N'Guessan KA and Yao-Kouamé A. 2010. Filière de commercialisation et usages des feuilles de *Lippia multiflora* en Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.*, 29: 1743 – 1752.
- [3] Goly KRC, Dadie A, Soro Y, Kouame ND, Kassi ABB, Djé M. 2017. Antimicrobial and Preservative Activities of *Lippia Multiflora* Essential Oil on Smoked Mackerel (*Scomber Scombrus*) Fish - *Archives of Clinical Microbiology*, 8(1:33): 1-5. DOI: 10.4172/1989-8436.100063.

- [4] Soro LC, Munier S, Pelissier Y, Grosmaire L, Yada R, Kitts D, Ocho-Anin AAL, Guzman C, Boudard F, Menut C, Robinson JC, Poucheret P. 2016. Influence of geography, seasons and pedology on chemical composition and anti-inflammatory activities of essential oils from *Lippia multiflora* Mold leaves. *J. Ethnopharmacol.*, **24**(194):587-594. DOI: 10.1016/J.Jep.2016.10.047
- [5] Etou-Ossibi A-W, Nzonzi J, Mombouli JV, Nsondé- Ntandou GE, Ouamba J-M, Abena AA. 2005. Screening chimique et effets de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* Moldenke sur le cœur isolé du crapaud. *Phytotherapy*, **3**(5) :193-199. DOI:10.1007/s10298-005-0104-z
- [6] Samba N, Aitfella-Lahlou R, Nelo M, Silva L, Coca R, Rocha P, Rodilla JML. 2021. Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lippia multiflora* Moldenke Essential Oil from Different Regions of Angola. *Molecules*, **26**: 155. <https://doi.org/10.3390/molecules26010155>
- [7] Goly C, Soro Y, Kassi B, Dadié A, Siaka S and Djé M. 2015. Antifungal activities of the essential oil extracted from the tea of savanna (*Lippia multiflora*) in Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **9**(1): 24-34. DOI: 10.4314/ijbcs.v9i1.3
- [8] Tia EV, Adima AA, Niamké SL, Gnago AJ, Thibaud M, Lozano P, Menut C. 2011. Chemical composition and insecticidal activity of essential oils of two aromatic plants from Ivory Coast against *Bemisia tabaci* G. (Hemiptera: Aleyrodidae). *Natural Product Communication.*, **6**: 1-6.
- [9] Kanko C, Bamba E-H, Kone S, Koukou G, and N'guessan Y-T. 2004. Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Compte Rendu Chimie*, **7**(10-11) :1039-1042. Doi : 10.1016/j.crci.2003.12.030
- [10] Oussou KR, Yolou S, Boti JB, Guessennd KN, Kanko C, Ahibo C, Casanova J. 2008. Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*, **24** (1): 94-103.
- [11] Gazim ZC, Amorim ACL, Hovell AMC, Rezende CM, Nascimento IA, Ferreira GA and Cortez DAG. 2010. Seasonal Variation, Chemical Composition, and Analgesic and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from Leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. *Molecules*, **15**(8): 5509-5524. DOI: 10.3390/molecules15085509
- [12] Tia EV, Cissé M, Douan GB, Koné A. 2019. Etude comparée de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* DC et d'*Ocimum canum* Sims sur *Cylas puncticollis* Boheman, un charançon de la patate douce. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **13**(3): 1789-1799. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i3.46>
- [13] Lagarde J. 1995. Initiation à l'Analyse des Données. Ed. Dunod : Paris. p.42
- [14] Güler C, Thyne GD, Mccray JE, Tuner AK. 2002. Evaluation of graphical and multivariate statistical methods for classification of water chemistry data. *Hydrogeology Journal*, **10**: 455-474. DOI 10.1007/s10040-002-0196-6
- [15] Landoulsi A. 2016. Etude chimiotaxonomique et activités biologiques des métabolites secondaires des plantes du genre *Eryngium*, thèse Université de Lille 2, 207-208.

Mise en évidence du pouvoir intercalant des anthraquinones antimicrobiennes isolées de *Morinda morindoides*, une plante médicinale de la Côte d'Ivoire

MOROH Jean-Luc Aboya 1, BAH Calixte 2, KOKORA Aya Philomène 1, KARAMOKO Detto 1, FLEURY Yannick 2, LABIA Roger 3, COULIBALY Adama 2 et LEGUERINEL Ivan 3

1 Département de Biochimie-Génétique, UFR Sciences Biologiques, université Peleforo Gon Coulibaly BP 1328 Korhogo. Téléphone 225 0707618581, Mail : jlamoroh@gmail.com ou moroh_aboya@upgc.edu.ci

2 UFR Biosciences, université Félix Houphouët-Boigny

3 Laboratoire universitaire de Biodiversité et d'écologie microbienne, Université de Bretagne occidentale (Brest, France)

Face l'émergence inquiétante des micro-organismes pathogènes résistants aux antibiotiques, le renouvellement de notre arsenal thérapeutique s'impose. Nous nous sommes orientés dans cette étude vers la quête de phytomolécules antimicrobiennes. Nous avons caractérisé par la spectrométrie de masse et la RMN douze anthraquinones antimicrobiennes de *Morinda morindoides*. Leurs concentrations minimales inhibitrices varient de 7.81 et 62.5 µg/ml sur *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Kebsiella oxytoca* et *Candida albicans*. Une électrophorèse d'un mélange du plasmide pBR322 et des différentes molécules isolées en comparaisons et la topoisomérase I de *Escherichia coli*, nous a permis une mise en évidence qualitative leur pouvoir intercalant à l'ADN et inhibitrice de la topoisomérase I. De façon quantitative la CI₅₀ du pouvoir intercalant de ces phytomolécules ont été déterminées par une compétition avec le sybr gold. L'intensité de la fluorescence mesurée a permis de quantifier la quantité de Sybr gold ou des phytomolécules intercalés à l'ADN. Les résultats révèlent que la lucidine présente la plus forte activité intercalante avec une CI₅₀ de 5,62 µg/µg d'ADN et la tithoniaquinone A le pouvoir intercalant le plus faible (CI₅₀ = 65,54 µg/µg d'ADN). Ces activités pourraient non seulement leur conférer un mécanisme d'action semblable à celui des antibiotiques de la famille des quinolones

Mots clés : Substances antimicrobienne, anthraquinones, *Morinda morindoides*

Introduction

Durant ces 30 dernières années, nous assistons à une apparition croissante des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Cette émergence pourrait d'une part être s'expliquer par une consommation excessive et inappropriée des antibiotiques en médecine humaine [1], vétérinaire [2] et même en agriculture [3]. D'autre part, cette situation pourrait aussi être due à la réduction de la recherche en antibiothérapie depuis les années 1980. La mise sur le marché de nouvelles molécules antimicrobiennes par les firmes pharmaceutiques s'est appauvrie progressivement depuis cette période. De 1983 à 1987, on a enregistré aux Etats Unis d'Amérique 16 nouveaux antibiotiques mis sur le marché, puis 7 (de 1993 à 1997) pour atteindre 7 de 1998 à 2002 [3, 4]. Les bactéries ainsi exposées par l'antibiothérapie aux mêmes molécules sur une longue période ne peuvent que s'adapter et générer des résistances puis évoluer vers des multi-résistances de type MDR, XDR et PDR.

Face à cette récurrence des infections difficiles à traiter induites par ces bactéries pathogènes, le renforcement de l'arsenal des antimicrobiens, fait partie des préoccupations majeures de santé publique. A ce titre, une approche ethno-pharmacologique a été initiée dans le cadre d'une collaboration entre le laboratoire de pharmacodynamie biochimique et le laboratoire universitaire de biodiversité et d'écologie microbienne. Cette approche a été motivée par le fait que si la médecine traditionnelle utilisée depuis des millénaires continue aujourd'hui d'être exploitée par 80% de la population mondiale, cela pourrait aussi s'expliquer par une certaine efficacité dont elle dispose. Par conséquent, dans cette approche, les habitudes traditionnelles d'automédication par les plantes médicinales ont été exploitées pour identifier de nouvelles sources de composés antimicrobiens. Parmi les nombreuses espèces de plantes médicinales recensées, *Morinda morindoides* connu pour traiter les infections de tout genre en Afrique occidentale et centrale, a fait l'objet de cette présente étude. Elle a pour objectif principal de d'identifier à partir de *Morinda morindoides*, de nouvelles molécules pour faire face aux maladies infectieuses. Il se décline en trois objectifs spécifiques dont le premier consiste à effectuer un extrait de cette plante comportant des substances antimicrobiennes ; la seconde est de purifier et de caractériser les substances chimiques antimicrobiennes de cet extrait et enfin identifier les mécanismes d'action de l'activité antimicrobienne de ces phytomolécules.

II Matériel et méthodes II.1 Extraction ; purification et caractérisation

Le matériel végétal utilisé est composé de racines de *Morinda morindoides* récoltées pendant les mois d'avril et de mai en Côte d'Ivoire. Ces organes ont ensuite été triés, lavés, découpées en petits morceaux, séchés à l'abri des rayons du soleil pendant 8 jours puis pulvérisés en poudre fine. Pour l'extraction, 25 g de cette poudre ont été homogénéisés dans 300 ml d'acétonitrile, sous une agitation de 100 rpm pendant 24 heures à la température ambiante. Après filtration sur du papier filtre wattman, le filtrat est lyophilisé puis conservés à 4°C à l'abri de la

lumière pour les tests d'activités biologiques [5]. Les composés contenus dans cet extrait ont été séparé par chromatographie liquide à haute pression avec une colonne C18 et un mélange d'eau et d'acétonitrile comme éluant. La combinaison de la spectrométrie de masse electrospray et la RMN ont été utilisés pour la caractérisation de la structure chimique des composés.

II.3 Activités antimicrobiennes des différents composés caractérisés

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des 18 extraits ont été réalisé contre 11 microorganismes dont *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* CIP 6086, *Citrobacter freundii* NRRL B 2643, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella oxytoca* CIP 7932, *Salmonella enterica* CIP 8297 et *Pasteurella multocida* ATCC 43137, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* CIP A186, *Candida albicans* ATCC 291, et *Cryptococcus neoformans* ATCC 32045. La méthode en milieu liquide a été utilisée pour déterminer les CMI des différents composés contre les 11 microorganismes [6].

II.4 Mise en évidence de l'effet intercalant et anti-topoisomérase I de l'extrait végétal

Dans 7 tubes Eppendorf constituant une gamme de concentration d'extrait allant de 0 à 12 µg/µl, sont ajoutés 10µl de plasmide pBr 322 à 0,0425µg/µl puis incubé à température ambiante pendant 15 minutes. Au bout de cette période, sont ajoutés 3µl Blue/Orange loading dye 6X fournis par Promega et 2µl de sybr gold 1X fourni par Molecular Probes. Pour un volume final de 20µl dans chaque tube, la gamme de concentrations d'extrait dans ces derniers varie ainsi de 3 µg/µl à 0,093 µg/µl ; celle du DMSO passe à 10% et la concentration du plasmide dans chaque est de 0.021 µg/µl. Le contenu de chaque tube est déposé le puits d'un gel d'agarose 1% pour une migration de 4 heures sous une tension de 40 volts puis observé sous lampe UV.

L'activité anti topoisomérase a été évaluer dans les mêmes conditions que la précédente par une migration électrophorétique sur gel d'agarose (i) de 0,4 µg de ADN, (ii) de 0,4 µg d'ADN + la topoisomérase I et (iii) de 0,4 µg d'ADN+Topoisomérase I + extrait.

Dans le but d'évaluer de façon quantitative l'activité intercalante à l'ADN des différents composés isolés nous avons ajouté dans des puits de 3 colonnes d'une microplaque à 96 puits, 50µl d'une gamme de concentration de nos phytomolécules et 20µl de DNA génomique de *Staphylococcus aureus* à 0.02 µg/µl. Après homogénéisation et incubé à température ambiante pendant 15 minutes, sont ajoutés 5µl de Sybr Gold dans chaque puits. La fluorescence du contenu de chaque puits est lue à 535nm après une excitation à 485 nm. Les valeurs de la fluorescence obtenue nous permettent de représenter le pourcentage d'ADN non intercalé par nos composés en fonction de la concentration de ces composés.

$$\text{Pourcentage d'ADN non - intercalé} = \frac{F_i - F_{i.nc}}{F_t - F_{t.nc}} \times 100$$

Fi : Fluorescence de chaque concentration de composé +ADN+ Sybr Gold

Fi.nc: Fluorescence de chaque concentration de composé + Sybr Gold sans DNA (blanc)

Ft: Fluorescence du Sybr Gold + DNA

Ft.nc: Fluorescence du Sybr Gold seul

Cette représentation nous permet de déterminer la concentration du composé qui induit une intercalation de l'ADN à 50% (IC50).

III Résultats

Le fractionnement de l'extrait à l'acétonitrile des racines de *Morinda morindoides* par HPLC a révélé 14 fractions bien résolues présente par la figure 1. La caractérisation des composées par la spectrométrie de masse et la RMN a mise en évidence 14 phytomolécules de nature anthraquinonique avec une structure originale (la fraction 2) nommée la moridoidine.

La lecture de la turbidité de chaque puits de la microplaque à l'œil nu à la lumière du jour nous permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices de chaque composé sur un certain nombre de souches microbiennes. Les valeurs de ces concentrations minimales inhibitrices sont consignées dans le tableau ci-dessous. Ces CMI varient de 7,81 µg/ml avec la tithoniaquinone sur *S aureus* à plus de 100 µg/ml. *S aureus* est le microorganisme le plus sensible tandis que *E coli* est la moins sensible à ces composés isolés

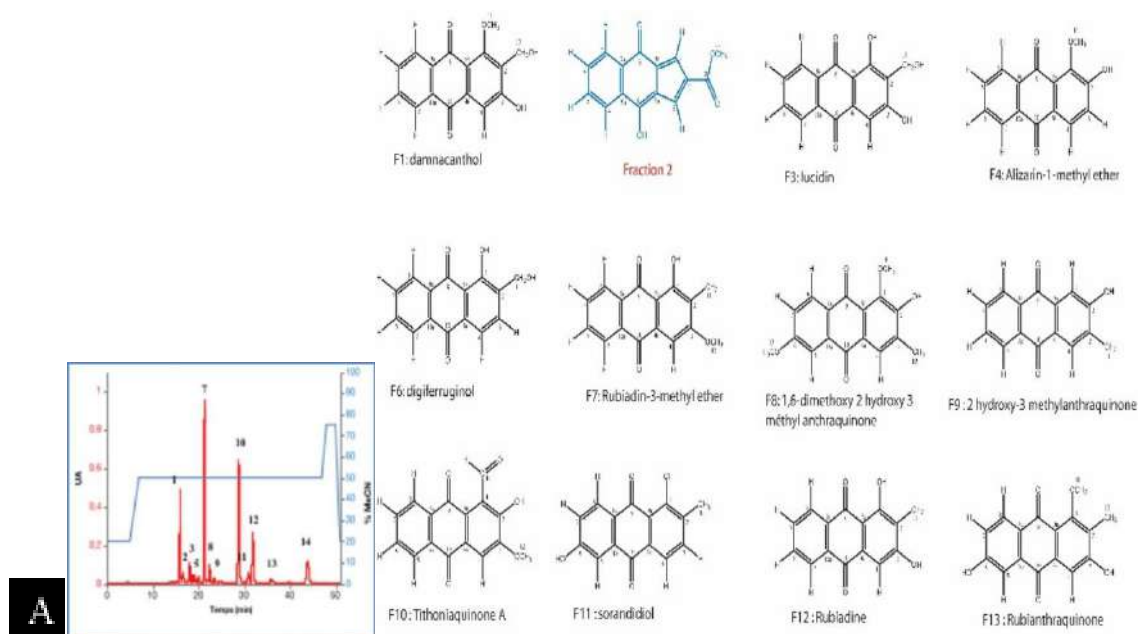


Figure 1 : Chromatogramme (A) et composés caractérisés par combinaison de la spectrométrie de masse et RMN (B)

Tableau 1 : différentes phytomolécules isolées et caractérisées avec leurs concentrations minimales inhibitrices contre différents microorganismes

	Concentration minimale inhibitrice (µg/ml)					
	<i>E coli</i>	<i>S aureus</i>	<i>C albicans</i>	<i>P aeruginosa</i>	<i>C neoformans</i>	<i>E faecalis</i>
F1 : Damnacanthol	> 100	62,5	>100	>100	>100	>100
F2 Morindidine	> 100	31,25	>100	>100	>100	>100
F3 Lucidin	> 100	100	> 100	>100	> 100	> 100
F4 Alizarin 1 méthyl éther	> 100	> 100	> 100	>100	> 100	> 100
F5 :	> 100	100	> 100	>100	> 100	> 100
F6 Digiferruginol	> 100	15,75	100	>100	62,5	> 100
F7 : 1 hydroxy 2 methyl 3 méthoxy anthraquinone	> 100	15,75	31,25	62,5	62,5	62,5
F8 1,6 diméthoxy 2 hydroxy 3 méthyle anthraquinone	> 100	62,5	100	62,5	nd	> 100
F9 : 1 hydroxy 2 méthyle anthraquinone	> 100	31,25	nd	62,5	nd	> 100
F10 : Tithoniaquinone	> 100	7,81	31,25	31,25	62,5	31,25
F11 : Soranjidiol	> 100	31,25	nd	62,5	nd	nd
F12 : Rubiadine	> 100	7,81	62,5	62,5	62,5	31,25
F13 Rubianthraquinone	> 100	100	> 100	62,5	nd	> 100
F14	> 100	62,5	100	> 100	100	> 100

La mise en évidence du pouvoir intercalant de composés anthraquinoniques isolés a été effectuée par l'approche qualitative. Le plasmide pBr 322 de *E coli* a été incubé en présence de différentes concentrations d'extrait à l'acétonitrile de la racine puis analysé par électrophorèse. La révélation aux ultraviolets des gels après migration électrophorétique a permis d'observer des effets doses-dépendants de ces composés sur le plasmide pBr 322. En effet, l'augmentation de la concentration de l'extrait induit par une diminution de la migration et de la détection du plasmide aux ultraviolets.

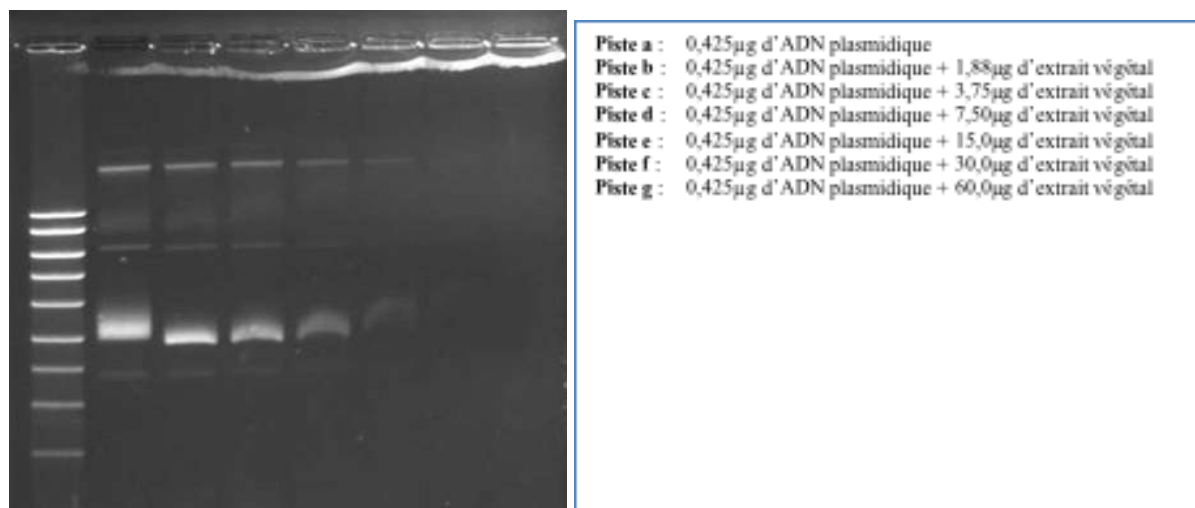


Figure 2: Mise en évidence du pouvoir intercalant des composés isolés par migration électrophorétique

Nous avons déterminé les concentrations de chaque phytomolécule qui provoque une réduction de la fluorescence de 50% (CI_{50}). Cette valeur a été déterminée à partir d'une courbe de tendance (régression exponentielle). Les valeurs des CI_{50} déterminées sont présentées la figure 3.

Cette figure révèle que la fraction 14 présente la plus forte activité intercalante avec une CI_{50} de 1,72 µg/µg d'ADN. La tithoniaquinone A (la fraction 10) présente le pouvoir intercalant le plus faible (CI_{50} = 65,54µg/µg d'ADN).

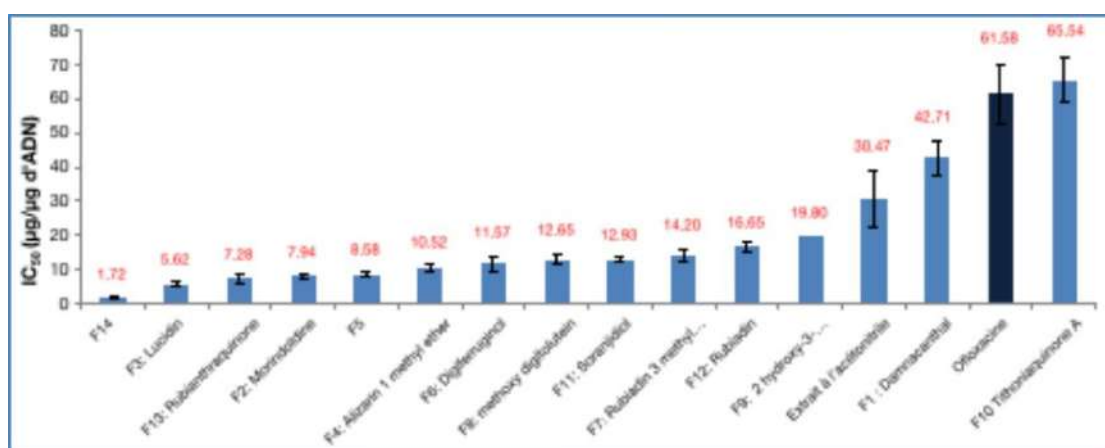


Figure 3 : Valeur des concentrations de chaque composé qui intercale 50% d'ADN CI_{50}

La figure 4 nous présente la migration de l'ADN plasmidique non déroulé (forme condensée sur la piste A. La présence de la topoisomérase I de E coli induit un déroulement de l'ADN plasmidique. Sa migration est présentée par la piste b. La piste 3 nous présente la migration du plasmide en présence de la topoisomérase I et de notre extrait. Sa position est semblable à celle de l'ADN plasmide en absence de topoisomérase 1, celle de l'ADN enroulé.

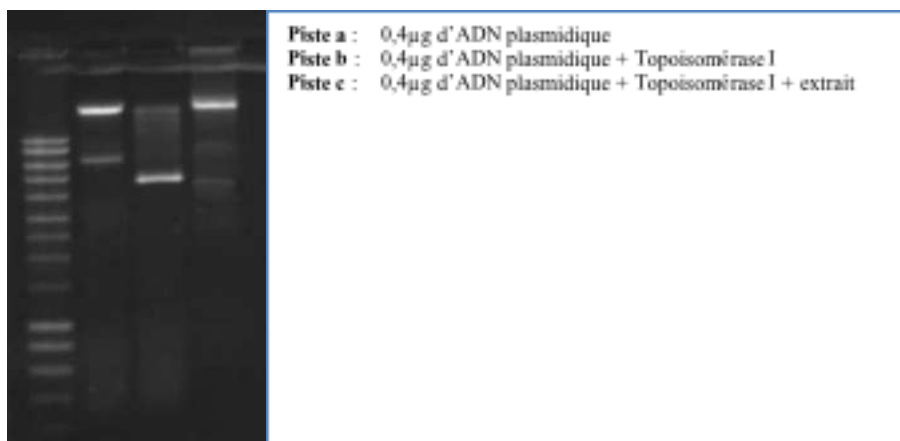


Figure 4 : Mise en évidence de l'activité inhibitrice de la topoisomérase I des composés isolés

IV Discussion

La séparation par RP-HPLC des composés contenus dans l'extrait à l'acétonitrile des racines de *Morinda morindoides* a révélé 14 composés distincts. La caractérisation de tous ces composés par la spectrométrie de masse et par la résonance magnétique nucléaire a révélé la présence de deux types de structure. Il s'agit d'une part de composés anthraquinoniques et d'autre part d'une structure aromatique originale proche des anthraquinones. On note ainsi la présence de 11 anthraquinones dont 10 ont en général été décrites dans des extraits de racines des rubiacées.

Ces composés anthraquinoniques avec une structure originale (la morindoïdine) présente toute des activités antimicrobiennes orientées contre un panel de microorganisme.

L'affinité des phytomolécules isolées pour l'ADN a été mise en évidence par les tests de compétition d'intercalation de l'ADN avec le Sybr Gold, un intercalant de référence. La représentation du pourcentage d'ADN non-intercalé en fonction de la concentration des composés a permis de mettre en évidence une intercalation dose-dépendante. Ce constat permet de conclure que toutes les phytomolécules isolées sont des intercalants d'ADN. Cette propriété déjà observée [7] est commune aux anthraquinones.

La concentration de chaque composé provoquant l'intercalation de 50% d'ADN a été estimée et nommée IC₅₀. Ces valeurs représentent le pouvoir intercalant des composés à l'ADN. En se basant sur ces valeurs, les composés isolés ont été classé en fonction de l'intensité de ce pouvoir.

Aucune corrélation n'a été estimée entre les IC₅₀ et leur activité antimicrobienne.

Si le mécanisme d'action de l'activité antimicrobienne des composés étudiés implique une interaction avec l'ADN, leur pouvoir intercalant à lui tout seul ne le met pas en évidence. La figure 4 nous permet de comprendre que ces composés anthraquinoniques inhibe la topoisomérase I, une enzyme qui induit le déroulement de l'ADN microbien (phase importante pour déclencher la réplication de l'ADN)

Par ailleurs, les structures des composés isolés de l'extrait à l'acétonitrile de la racine de *Morinda morindoides* ont été comparées à celles des quinolones, des antibiotiques de structures proches.

La relation structure-activité de ces antibiotiques a été cartographiée et met en évidence deux cibles moléculaires. Il s'agit de l'ADN et de la topoisomérase.

L'activité antibactérienne des quinolones est liée à la combinaison de leur intercalation à l'ADN microbien et à l'interaction avec les topoisomérases. Ce mécanisme est également décrit au niveau des anthracyclines qui sont des antibiotiques de structure anthraquinonique [8]. Le mécanisme d'action des anthracyclines a été mis en évidence par la formation d'un complexe ternaire ADN-Anthracycline-Topoisomérase [9]. En s'intercalant, l'anhracycline stabilise le complexe transitoire ADN-Enzyme et empêche de façon réversible la ligation des brins d'ADN [10]. C'est cette inhibition de l'enzyme qui induit l'effet antimicrobien de ces structures car il empêche la réplication de l'ADN microbien.

L'intercalation de la quinolone à l'ADN se fait par les liaisons hydrogènes avec le groupement carbonyle de la fonction quinone. L'interaction avec l'enzyme quant à elle se fait par les groupements jouxtant la fonction quinone [11-13].

A travers ceci, nous retenons que l'affinité du composé à l'ADN est certes une propriété importante et son interaction avec l'enzyme jouerait un rôle primordial.

Références

- [1.] Monnet, D.L., *Consommation d'antibiotiques et résistance bactérienne*. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 2000. **19**(5): p. 409-417.
- [2.] Guillot, J.F. and J.P. Lafont, *Antibiotiques et microflore intestinale*. Revue Scientifique et Technique (international Office of Epizootics) 1989. **8**(8): p. 439-452.
- [3.] Andremont, A.T. and M. Tibon-Cornillot, *Le triomphe des bactéries: La fin des antibiotiques ?* 2007: Max Milo Editions.
- [4.] O'Brien, T.F. and J. Stelling, *Integrated Multilevel Surveillance of the World's Infecting Microbes and Their Resistance to Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews, 2011. **24**(2): p. 281-95.
- [5.] Moroh, J.-L.A., et al., *Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de Morinda morindoides (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'Escherichia coli*. Bulletin de la société royale des sciences de Liège, 2008. **77**: p. 44 - 61.
- [6.] Moroh, J.-L.A., et al., *Highlighting of the antimicrobial activities of extracts of Morinda morindoides, a medicinal plant used in West and Central Africa*. SSRG-IJMS, 2016. **3**(12): p. 19-25.
- [7.] Bhakta, D. and R. Siva, *Morindone, an Anthraquinone, Intercalates DNA Sans Toxicity: a Spectroscopic and Molecular Modeling Perspective*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012. **167**(4): p. 885-896.
- [8.] Booser, D.J. and G.N. Hortobagyi, *Anthracycline Antibiotics in Cancer Therapy*. Drugs, 1994. **47**(2): p. 223-258.
- [9.] Tewey, K.M., et al., *Intercalative antitumor drugs interfere with the breakage-reunion reaction of mammalian DNA topoisomerase II*. Journal of Biological Chemistry, 1984. **259**(14): p. 9182-9187.
- [10.] Isaacs, R.J., et al., *Topoisomerase $H\alpha$ and β as therapy targets in breast cancer*. Anti-Cancer Drugs, 1995. **6**: p. 195-211.
- [11.] Shen, L.L., *Quinolone-DNA interaction*, in *Quinolone antimicrobial agents*, 2, Editor. 2003, ASM Press. p. 77-95.
- [12.] Yoshida, H., et al., *Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of Escherichia coli*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1991. **35**: p. 1647-1650.
- [13.] Hooper, D.C. and E. Rubinstein, *Quinolone antimicrobial agents*. 3 ed. 2003: American Society for Microbiology. 485.

Activité antioxydante et cytotoxicité des feuilles de *Caesalpinia benthamiana* (Baill). Herend & Zarucchi (Fabaceae) sur les cellules du cancer du côlon (HCT-116).

TANOY Aya Honorine ^{1*}, KPOROU Kouassi Elisee ¹, BRION Anaïs ², Seguin Cendrine ², KITCHLER Antoine ²,
FRISCH Benoit ², FOURNEL Sylvie ²

¹ Excellence Group of Research on Products of Traditional Pharmacopoeia (GeRProPhaT, Daloa Côte D'Ivoire),
Agrovalorization Laboratory, Jean Lorougnon Guede University, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives- Equipe 3bio Bureau F320, UMR 7199 CNRS-
Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie, 74 Route du Rhin- BP 60024- 67401 Illkirch Cédex- France.
tanohayahonorine@gmail.com

Résumé

Contexte : Le cancer colorectal occupe le deuxième rang des cancers les plus mortel dans le monde [1]. Les limites observées au cours de son traitement suscitent la recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques. En médecine traditionnelle ivoirienne *Caesalpinia benthamiana*, est une plante indiquée dans la thérapie des tumeurs solides [2] [3]. Cette étude vise à évaluer son potentiel cytotoxique sur une lignée cancéreuse HCT-116.

Méthodes : La cytotoxicité a été évaluée selon la méthode MTS sur la lignée cancéreuse HCT-116 en utilisant la doxorubicine et le DMSO respectivement comme contrôles positifs et négatifs. L'activité antioxydante a été évaluée par les tests DPPH et ABTS, avec pour contrôles respectifs l'acide ascorbique et l'acide gallique.

Résultats : Parmi les extraits testés, la meilleure activité cytotoxique a été observée avec l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *C. benthamiana* sur HCT-116 (CI₅₀= 27 µg/mL). Cependant l'activité antioxydant de cet extrait est moins intéressante que les control (CI₅₀ = 13,18 µg/mL). Conclusion et perspective : *C. benthamiana* serait donc un bon candidat dans la lutte contre le cancer du côlon. Par ailleurs, une identification des molécules responsables de ces activités biologiques sera faite.

Mots clés : cytotoxicité ; cellules cancéreuses ; colorectal ; *Caesalpinia benthamiana*.

Abstract

Background: Colorectal cancer is the second most deadly cancer in the world [1]. The limitations observed in its treatment have prompted a search for new therapeutic alternatives. In traditional Ivorian medicine, *Caesalpinia benthamiana* is a plant indicated for the treatment of solid tumours [2] [3]. The aim of this study was to evaluate its cytotoxic potential on HCT-116 cancer line. Methods: Cytotoxicity was assessed by the MTS method in the HCT-116 cancer cell line using doxorubicin and DMSO as positive and negative controls, respectively. Antioxidant activity was assessed by the DPPH and ABTS tests, with ascorbic acid and gallic acid as the respective controls. Results: Of the extracts tested, the best cytotoxic activity was observed with the ethyl acetate extract of *C. benthamiana* leaves on HCT-116 (IC₅₀= 27 µg/mL). However, the antioxidant activity of this extract was less interesting than that of the controls (IC₅₀ = 13.18 µg/mL). Conclusion and outlook: *C. benthamiana* would therefore be a good candidate in the fight against colon cancer. In addition, the molecules responsible for these biological activities will be identified.

Key words: cytotoxicity; cancer cells; colorectal; *Caesalpinia benthamiana*.

Introduction

Le cancer colorectal est une affection qui touche le gros intestin ou le rectum. Il se classe au deuxième rang des cancers entraînant le plus grand nombre de décès dans le monde. En 2018, environ 1,8 million de cas de cancer du côlon ont été diagnostiqués, entraînant 881 000 décès [1]. En 2022, ce nombre était estimé à 1,93 million de cas. Cette maladie est caractérisée par une prolifération anarchique de cellules anormales résultant de dommages prolongés et non réparés de l'ADN [2]. Plusieurs facteurs de risque sont associés à cette pathologie, notamment une alimentation pauvre en fibres et riche en matières grasses, l'âge, le mode de vie, les antécédents familiaux et l'exposition à des substances cancérigènes telles que les radiations ionisantes ou les rayonnements ultraviolets. Les espèces oxygénées activées (EOA), dont font partie les radicaux libres et l'oxygène singulet, jouent également un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules en contribuant à la prolifération incontrôlée et à des métastases lors du processus de cancérisation [3]. Le traitement du cancer du côlon repose sur l'utilisation de la chimiothérapie et de la radiothérapie. Cependant, ces options de traitement sont complexes et peuvent entraîner des effets secondaires parfois difficiles à supporter pour les patients [1].

Par conséquent, il est essentiel de rechercher de nouveaux composés anticancéreux d'origine végétale qui présenteraient une toxicité minimale pour les cellules normales et qui pourraient également neutraliser le stress oxydatif [4].

Caesalpinia benthamiana, également connue sous le nom de *Mezoneuron benthamianum* est une plante qui est fréquemment utilisée en médecine traditionnelle pour traiter certaines pathologies. En Côte d'Ivoire, la

mastication quotidienne de ses racines fraîches par voie orale au coucher est recommandée pour traiter les problèmes d'érection [6]. Les racines possèdent des propriétés vasoactives, antioxydantes, aphrodisiaques, anti-fertilité et vasorelaxantes [7]. Des recherches précédentes sur les feuilles de cette plante ont permis d'isoler l'acide gallique et des dérivés d'acide gallique qui ont une activité antibactérienne [8]. Récemment au Nigeria, Tayo et al., (2022) ont montré que ses feuilles ont des propriétés cytotoxiques contre les cellules du cancer du poulmon, prostate et sein. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle, nous avons décidé dans cette étude d'évaluer son activité cytotoxique contre les cellules du cancer du côlon.

Matériels et méthodes

Lignées cellulaires et conditions de culture

Les cellules cancéreuses HCT-116 ont été maintenues dans le milieu de culture RPMI 1640 (sigma-Aldrich R2405-500mL), supplémentées avec 10% de sérum bovin fœtal + 1% (pénicilline+ streptomycine). Les cellules ont été incubées à 37°C dans 5% de CO₂ et 95% d'air dans un incubateur humidifié.

Matériel végétal

Les feuilles de *Caesalpinia benthamiana* ont été récoltées dans la ville Daloa (Côte d'Ivoire), dans le mois de février 2023 puis identifiées par Docteur KPANGUI, un botaniste au sein du Groupe de Recherche Interdisciplinaire en Ecologie du Paysage et en Environnement (GRIPE) de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa. Les feuilles ont été séchées à l'abri du soleil à la température ambiante. Ensuite, elles ont été réduites en poudre et bien conservées.

Matériels chimiques

Les solvants tels que l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau, produits chimiques pour culture cellulaire, les réactifs DPPH, ABTS, l'acide ascorbique, le persulfate de potassium et l'acide gallique ont été utilisés pour réaliser ces travaux.

Méthodes

Préparations des extraits

Une masse de 20 g de poudre végétale a été macérée dans chaque solvant (acétate d'éthyle, méthanol et l'eau) puis évaporé à l'aide d'un rotavapor rotatif. Les extraits secs obtenus ont été conservés au réfrigérateur jusqu'à utilisation. Par la suite, 10 mg de chaque extrait ont été dissous dans un mélange de DMSO et d'eau distillée (1 :1) afin d'obtenir une solution stock à une concentration de 10 mg/mL. Ensuite, des solutions diluées d'extraits dans du milieu de culture à une concentration 2X (400 µg/mL ; 80 µg/mL ; 16 µg/mL ; 3,2 µg/mL) ont été préparées. Les cellules (20.000 cellules /puits) ont étéensemencées dans des plaques de 96 puits. Elles ont été placées dans un incubateur réglé à 37°C avec du CO₂ humidifié (5%) pendant 24 heures (jour 0). Après 24 heures, les cellules ont été traitées avec différentes concentrations d'extrait, pour les cellules non traitées 100 µL de milieu ont été ajoutés dans chaque puits (contrôle positif de croissance). Le DMSO (1%) préparé dans les mêmes conditions que les échantillons testés a été utilisé comme contrôle. La Doxorubicine, une substance anticancéreuse de référence a été utilisée comme contrôle positif de toxicité à 1 mM puis incubées à nouveau pendant 24 heures (jour 1).

La cytotoxicité a été évaluée selon la méthode utilisant le 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl) -5-(3-carboxyméthoxyphényl) -2-(4-sulfophényl) -2H-tétrazolium (MTS). Au jour 2, les 200 µL présents dans les puits ont été d'abord retirés, 100 µL du mélange MTS/PBS (1 :9) ont été ajoutés dans les puits, et elles ont été incubées pendant 1 heure (selon la coloration). Les plaques ont été retirées puis leur absorbance a été mesurée à 490 nm au spectrophotomètre. La quantité de produit formazan mesurée par absorbance à 490 nm est directement proportionnelle au nombre de personnes vivantes [9].

$$\%Viab = \frac{A_{Echantillon} - A_{blanc}}{A_{Témoin} - A_{blanc}} \times 100$$

%Viab: Pourcentage de viabilité des cellules traitées

A_{Echantillon} : Absorbance des extraits

A_{Témoin} : Absorbance des cellules non traitées

A_{blanc} : absorbance du blanc (MTS).

Activité antioxydante

Deux tests chimiques ont été utilisés dans cette étude à savoir : Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) et de l'ABTS (acide 2,2-azino-bis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

Test DPPH

Une solution mère a été préparée en dissolvant 0,024 g de DPPH dans 100 mL d'éthanol. Le spectrophotomètre a été employé pour mesurer la DO de la solution obtenue à 517 nm. L'absorbance de cette solution est d'environ $0,98 \pm 0,021$. Puis, 1680 μ L de la solution de DPPH a été mélangé avec 1600 μ L de l'extrait à différentes concentrations allant de 100 μ g/mL à 3,12 μ g/mL. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 minutes. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le contrôle a été préparé dans les mêmes conditions que l'échantillon. L'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence, a été testé aux mêmes concentrations que les extraits [10].

Chaque test a été effectué en triplicata et les résultats ont été présentés par la moyenne des trois essais $\pm$ ecartype. Le pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$IP = \frac{DO_{\text{témoin}} - DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{témoin}}} \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH

DO_{témoin} : Densité optique du témoin (solution methanolique de DPPH)

DO_{échantillon} : Densité optique de l'extrait

La CI50, également appelée EC50 (Efficient concentration 50), représente la concentration d'un échantillon nécessaire pour réduire de 50 % le radical DPPH[•]. On détermine les CI50 graphiquement en utilisant des régressions linéaires basées sur les pourcentages d'inhibition à différentes concentrations. Plus les valeurs de CI50 sont faibles, plus l'activité antioxydante du produit testé est importante. En d'autres termes, la CI50 mesure l'efficacité d'un antioxydant à neutraliser le radical DPPH[•], qui passe du violet initial au jaune pâle après réduction.

Test l'ABTS+

Préalablement 0,038 g d'ABTS^{•+} a été dissout dans 10 mL d'eau avant d'ajouter 0,0067 g de persulfate de potassium. La préparation a été stockée dans l'obscurité et à température ambiante pendant 12 heures avant d'être utilisée. La dilution avec de l'éthanol a ensuite permis d'obtenir une absorbance de 0,7 à 734 nm. Les extraits ont été préparés dans une gamme de concentration allant de 200 μ g/mL à 12,5 μ g/mL. Nous avons évalué l'activité antioxydante en ajoutant 2 mL de la solution d'ABTS^{•+} à chaque dilution. L'acide gallique, qui est un antioxydant de référence, a été préparé et testé selon les mêmes conditions que l'extrait. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 2 minutes au spectrophotomètre à 734 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée (n=3).

Analyse statistique

Toutes les mesures expérimentales ont été effectuées en triplicatas et sont exprimées en moyennes plus ou moins au risque $p < 5\%$.

Résultats et discussion

Résultats

Rendement

L'extraction réalisée à partir de 20 g de poudre de feuille de *C.benthamiana* a permis de déterminer les rendements. L'extrait methanolique, aqueux et acétate d'éthyle a donné respectivement un rendement de 8,13%, 16, % et 5,24 %.

Cytotoxicité

Avec l'extrait methanolique de 0,001 à 2 μ g/mL, toutes les cellules sont vivantes (100% de viabilité). A partir de 2 μ g/mL cette viabilité baisse jusqu'à 15% à la plus grande concentration. Au niveau de l'extrait aqueux, de 0,001 à 10 μ g/mL, toutes les cellules sont vivantes. Cette viabilité baisse (70 % de viabilité) à la plus grande concentration. Pour l'extrait acétate d'éthyle, de 0,001 à 2 μ g/mL, toutes les cellules sont vivantes. Mais à partir 3 μ g/mL, cette viabilité diminue progressivement jusqu'à ce qu'elles meurent toutes à la plus grande concentration (figure 1).

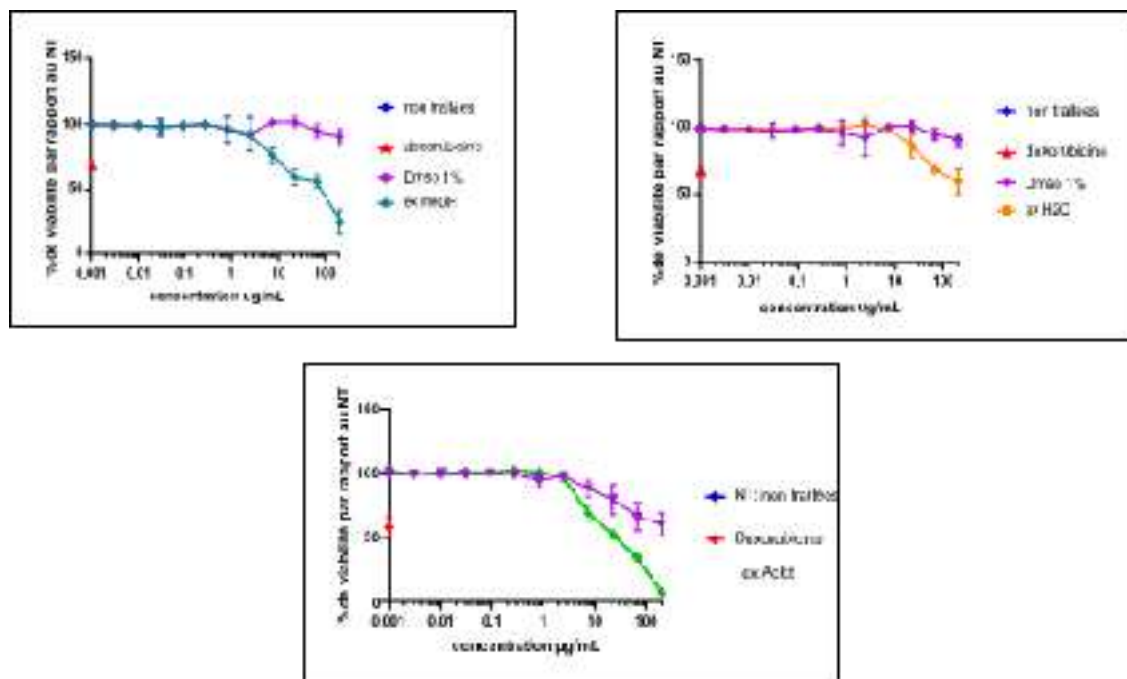


Figure 1 : Dose-réponse des extraits méthanolique, aqueux et acétate d'éthyle des feuilles *C. benthamiana* sur la ligné cellulaire cancéreuse HCT-116.

Les tests ont été faits en triplicatas biologiques et les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ erreurs standard des moyennes. L'analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide de GraphPad Prism (version 8). La courbe sigmoïde dose-réponse obtenue à partir d'analyses de régression non linéaire (logarithme de l'inhibiteur par rapport à la réponse normalisée) a été utilisée pour déterminer les CI₅₀. Ainsi les CI₅₀ est de $51,50 \pm 0,5$ µg/mL, $200 \pm 0,1$ µg/mL et de $27,58 \pm 0,28$ µg/mL respectivement pour l'extrait méthanolique, aqueux et acétate d'éthyle.

Activité antioxydant

Test DPPH

La figure 2 présente les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par la vitamine C et l'extrait testé avec une gamme de concentration croissante. L'acide ascorbique a obtenu une inhibition d'environ 92% à des concentrations comprises entre 50 g/mL et 100 g/mL. Tandis que le pourcentage d'inhibition maximal obtenue par l'extrait est de 79%. Les valeurs des CI₅₀ de l'acide ascorbique et de l'extrait sont présenté sous forme de diagramme. La CI₅₀ de l'acide ascorbique étaient 7,31 µg/mL, celle de l'extrait est $13,18 \pm 0,9$ µg/mL.

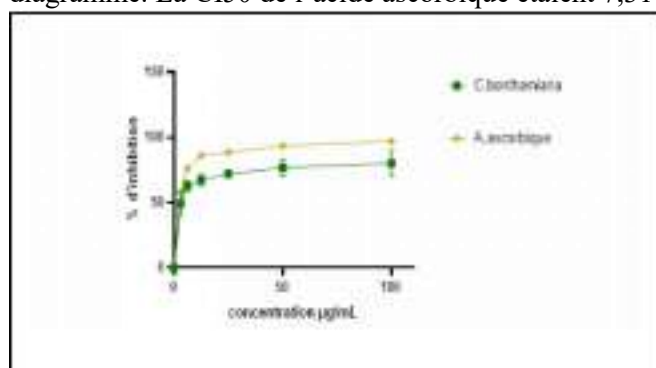


Figure 2 : Evolution des pourcentages D'inhibition du radical par l'acide ascorbique et l'extrait.

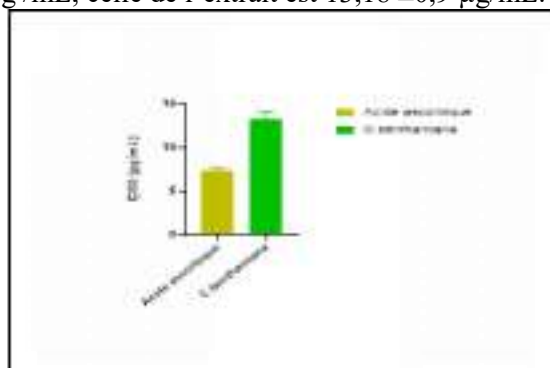


Figure 3 : Représentation des concentrations minimales inhibitrices de l'acide ascorbique, et de l'extrait.

Test de d'ABTS•+

La figure 4 présente les pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et l'extrait. L'acide gallique a entraîné une inhibition d'environ 96% à des concentrations comprises entre 200 et 100 µg/mL tandis que l'extrait a une inhibition maximale de 62%. Les CI50 ont été également déterminées (figure 5).

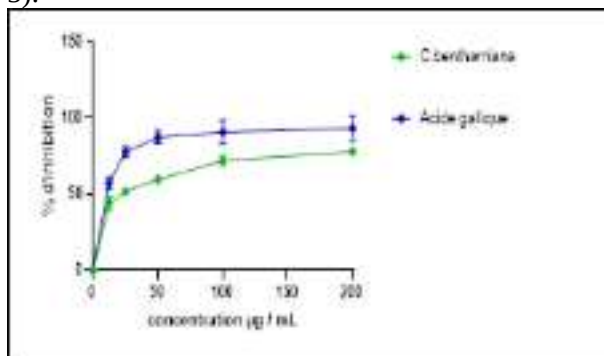


Figure 4 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et l'extrait

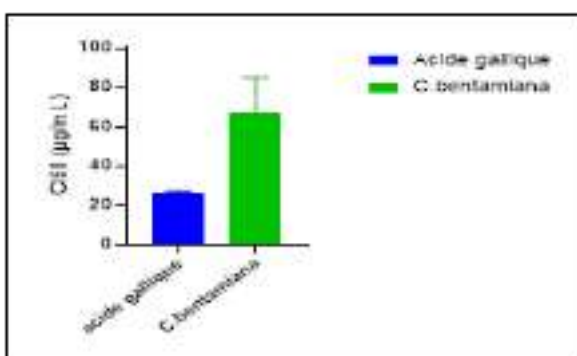


Figure 5 : Représentation des concentrations minimales inhibitrices de l'acide gallique et l'extrait

Discussion

Dans cette présente étude, des extraits méthanolique, acétatique et aqueux de feuilles de *C. benthamiana* ont été évalués pour leur potentiel cytotoxique sur la lignée cellulaire cancéreuse HCT-116. L'extrait le plus efficace était l'extrait acétatique avec une CI50 de $27,58 \pm 0,28$ µg/mL. Quant aux deux autres extraits, ils se sont montrés moins cytotoxiques. La toxicité de l'extrait acétate d'éthyle pourrait être due à une accumulation importante des composés chimiques responsables de cette activité biologique solvants [9]. Ces CI50 obtenues sont meilleurs à celles obtenue par Nelson et al., 2020 qui ont obtenus une CI50 de $179 \pm 0,81$ µg/mL sur la même lignée cellulaire avec l'extrait méthanolique de *Eclipta alba*. L'extrait le plus cytotoxique (acétate d'éthyle) a été évalué pour son activité antioxydante. Le test de piégeage des radicaux libres par le DPPH a révélé que l'extrait possède un potentiel antiradicalaire bien qu'il soit inférieur à la vitamine C. La comparaison des valeurs des CI50 de l'extrait des feuilles de *C. benthamiana* a révélé que le potentiel antioxydant de cette plante des feuilles est meilleur que les racines de cette plante. En effet, [12] ont obtenu une CI50 de $23,70$ µg/mL avec l'extrait d'acétate d'éthyle des racines de *C. benthamiana*. Cette plante pourrait être un potentiel candidat pour la lutte contre le cancer et les radicaux libres.

Conclusion

Cette étude a démontré que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *C. benthamiana* présente une cytotoxicité supérieure à celle des autres extraits préparés. De plus, il possède des propriétés antioxydantes remarquables. Cette recherche, axée sur les propriétés antioxydantes et anti-cancéreuses de *C. benthamiana*, notamment contre les cellules du cancer du côlon, s'inscrit dans un programme visant à découvrir de nouvelles molécules anti-cancéreuses d'origine végétale.

Références bibliographiques

- [1] Nelson, K.V. ; Nalini, K.S. ; Madhusmita. S.; Hari, H., Sudhan, C.; Pullaiah, P.; et Kanuri, S.M. In vitro anticancer activity of *Eclipta alba* whole plant extract on colon cancer cell HCT-116. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, (2020) 20 :355-8.
- [2] Tayo, F.T.; Taiwo, O. E.; Olumayokun, A. O.; Michael, D.; et Adeboye, A. New cytotoxic compounds from the leaves of *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. & Zarucchi (Fabaceae), *Avicenna Journal Phytomed*, (2022) 11(1) : 54-67.
- [3] Pincemail, J. ; Meurisse, M. ; Limet, R. ; Defraigne, J.O. Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer, *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, (1998) 4(4) : 4 p.
- [4] Koffi, A.E. Étude de l'activité antibactérienne d'extraits de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae), sur la croissance in vitro de souches cliniques et de souches environnementales de *Vibrio cholerae* O : 1, Thèse de Doctorat Biochimie- Pharmacologie des substances, l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, Abidjan, (2013) 198 p.

- [5] Dickson, R A.; Fleischer, T C.; Houghton, P J. Cassane-type diterpenoids from the genus *Caesalpinia*. *Pharmacognosy Communications* (2011)1(1) :15.
- [6] Békro, A.Y.; Janat, A.; Mamyrbekova, B.J.; Boua, B. B.; TRA BI, F.; & Ehouan, E. E. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature* (2007) 4 (2) : 217-225.
- [7] Zamble, A.; Françoise, M.N.; Sevser S.; Thierry, H.; Bart, S.; Regis, B.; Patrick, D.; Claude, B.; François B. Vasoactivity, antioxidant and aphrodisiac properties of *Caesalpinia benthamiana* roots. *Journal of Ethnopharmacology* (2007) 116 (1) 112–119.
- [8] Dickson, A.; Peter, J.H.; et Peter, J.H. Diterpénoïdes de cassane antibactériens et antioxydants issus de *Caesalpinia benthamiana*. *Phytochimie*, (2007)68(10) : 1436-1441.
- [9] Ali-Azouaou, S. Evaluation of the anticancer effects of pharmacological compounds on cancer stem cells and their descendants: characterization of molecular mechanisms: University of Strasbourg, (2016) 158 p.
- [10] Tepe, B.; Dimitra, D.; Atalay, S.; Munevver, S.; Moschos, P. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Chimie alimentaire*. (2005) Tome 90 (3) :333-340.
- [11] Kouadio, K.B. Chemical and biological study of the leaves of *Turraea heterophylla* (Meliaceae), a medicinal plant from the COTE D'IVOIRE. (2022), Jean Lorougnon Guédé University of Daloa, 189p.
- [12] Osamudiamen, P.M.; Bolaji, B.; Oluremi, Osamudiamen, F.T.; & Olapeju, O. A. Effets inhibiteurs des extraits de racine de *Mezoneuron benthamianum* sur les micro-organismes cariogènes buccaux et sur le piégeage des radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *phytoscience Clinique* ,2020, 6 : 49 .

Conception et Synthèse de quelques Dérivés *N*-Alkylbenzimidazolyl Dimercapto-Propénones

Mabintou KALO¹, Fatogoma DIARRASSOUBA², Gouegoui Serge-Pacôme BOHUI³, Yaya SORO¹, Mahama OUATTARA⁴, Peter G. GOEKJIAN⁵

¹Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Thermodynamique et Physico-Chimie du Milieu, UFR SFA, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Constitution et de Réaction Matière, UFR SSMT, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

⁴Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Chimie Organique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire

⁵Laboratoire Chimie Organique 2- Glycosciences - UMR 5246 «Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires» Université de Lyon, Université Claude Bernard – Lyon 1, France

kalomabintou@gmail.com

Résumé : Le benzimidazole de par sa grande flexibilité tant chimique que biologique, constitue le support hétérocyclique de nombreux médicaments, en l'occurrence anti-infectieux [1-3]. Cependant, leur efficacité thérapeutique devient de plus en plus limitée par l'émergence des micro-organismes résistantes [4-5]. Il paraît donc nécessaire de concevoir et de synthétiser de nouveaux agents anti-infectieux potentiellement plus performants. C'est ainsi, nous nous sommes intéressés à la série des *N*-alkylbenzimidazolyl dimercapto-propénones. Notre objectif est de synthétiser de nouvelles molécules par pharmacomodulation en vue de contribuer à la mise au point de nouveaux candidat-médicaments plus performants. L'élaboration de ces molécules a été réalisée par synthèse chimique totale. Ces structures ont été caractérisées par la spectroscopie RMN (¹H et ¹³C) et la spectrométrie de masse à haute résolution. Les profils antifongiques des molécules ont été établis par la détermination des diamètres d'inhibitions vis-à-vis de quatre souches de l'espèce *Aspergillus*. Les activités de ces produits ont montré que leur induction et leur amélioration sont liées par la nature des groupements alkyles situés en position 1 du noyau benzimidazolique et ceux liés aux atomes de soufre. Nous comptons approfondir cette étude par la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des composés testés puis d'évaluer la toxicité des composés actifs.

Mots clés : benzimidazole ; dimercapto-propénone ; antifongique ; aspergillus

Design and Synthesis of some Derivatives *N*-Alkylbenzimidazolyl Dimercapto-Propénones

Abstract: The benzimidazole of share its great flexibility as well chemical as biological, constitutes the heterocyclic support of many drugs, in fact anti-infectious [1-3]. However their therapeutic effectiveness becomes increasingly limited by the emergence of the micro-organisms resistant [4-5]. It thus appears necessary to design and prepare new anti-infectious agents potentially more powerful. They is thus, we were interested in the series of *N* alkylbenzimidazolyl dimercapto-propenones. Our objective is to synthesize new molecules by pharmacomodulation in order to contribute to the development of new more powerful candidate-drugs. The development of these molecules was carried out by total chemical synthesis. These structures were characterized by spectroscopy NMR (¹H and ¹³C) and the mass spectrometry to high resolution.. The profiles antifongic of the molecules were established by the determination of the diameters of inhibitions with respect to four stocks of *the Aspergillus* species. The activities of these products showed that their induction and their improvement are bound by the nature of the groupings alkyls located in position 1 of the core benzimidazole and those related to the sulphur atoms. We intend to look further into this study by the determination of the Inhibiting Minimal Concentrations of the compounds tested then to evaluate the toxicity of the active compounds.

Keywords: Benzimidazole, Dimercapto-propenone, antifongic,

1.Introduction

Les maladies infectieuses, généralement causées par différents agents pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus, sont responsables de 26% de décès dans le monde [1]. Leur forte propagation est due à la résistance des micro-organismes à de nombreux médicaments existant. Il apparaît donc urgent de développer de nouveaux agents anti-infectieux ayant un spectre d'activité plus large. Ainsi, les dérivés du benzimidazole ont attiré notre attention. En effet, le noyau du benzimidazole est le motif hétérocyclique de nombreux médicaments à activités antifongique, anthelminthique, antibactérienne, antituberculeuse, antipaludique, antivirale et anticancéreuse [2-6]. Il apparaît très utile pour le développement de nouvelles molécules à intérêt pharmaceutique. Ainsi, de nombreux

dérivés du benzimidazole tels que les benzimidazoles à fonction 2-arylacrylonitrile ou 2-cyanoarylpropénone [4], les benzimidazolyl chalcones [5,6], les benzimidazoles *N*-benzyl-substitués [7,8] sont respectivement doués d'activités antifongique, antimicrobienne et anthelmintique. De ce fait, nous nous sommes intéressés aux dérivés du *N*-alkyl dimercapto propénone benzimidazole **1**. Ces composés ont l'avantage d'être proche du chlormidazole **2** et luliconazole **3**, deux antifongiques commerciaux, ainsi que des benzimidazolyl chalcones **4** dotés d'activités antifongiques [4]

(Figure 1). Le présent travail décrit la synthèse et l'évaluation de l'activité antifongique de nouvelles *N*-alkyl dimercapto propénone benzimidazoles obtenues à partir de divers *N*-alkyl-2-acétylbenzimidazoles.

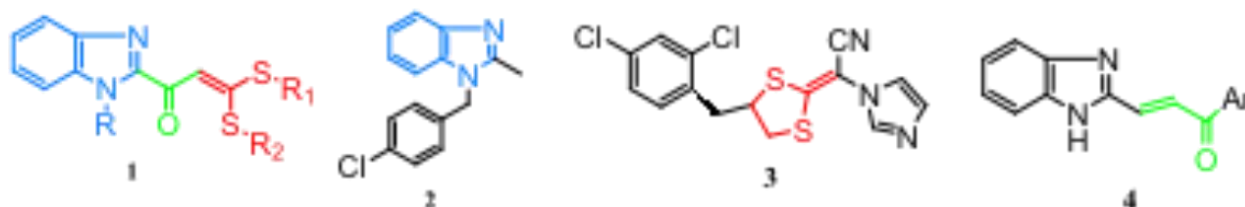


Figure 1 : Structure des composés 1-4

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériels

L'avancement de la réaction et la pureté des composés ont été contrôlés par chromatographie sur couche mine (CCM) sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice (Kieselgel 60 F254, MERCK). Après élution dans le solvant ou mélange de solvant adéquat (éluant), les plaques ont été révélées à la lampe l'ultraviolette (UV) à 254 nm et 366 nm puis chauffées. Les spectres en RMN ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER AV 300 (300 MHz pour le ^1H et 75 MHz pour ^{13}C) et BRUKER AVL 300 (300 MHz pour ^1H et 75 MHz pour ^{13}C) à température ambiante dans des solvants appropriés. Les spectres ont été référencés au solvant dans lequel ils ont été réalisés (RMN ^1H : $\text{CDCl}_3 = 7,26$ ppm ; $\text{DMSO}-d_6 = 2,50$ ppm et RMN ^{13}C : $\text{CDCl}_3 = 77,15$ ppm ; $\text{DMSO}d_6 = 39,5$ ppm). Le tétraméthylsilane (TMS) est utilisé comme référence et les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) tandis que les constantes de couplages (J) sont exprimées en Hertz (Hz). Les spectres de masse basse résolution ont été enregistrés sur un spectromètre AmaZon SL avec ionisation par électrospray (ESI). La spectroscopie de masse haute résolution a été effectuée par le spectromètre de masse Q-TOF Impact II. Les spectres de masses ont été obtenus par ionisation par électrospray (ESI). Les points de fusion ont été déterminés avec un appareil Büchi B545 en utilisant des tubes capillaires (vitesse de température $2^\circ\text{C} / \text{min}$). L'activité antifongique a été réalisée sur quatre espèces du genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger*, *Apergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus terreus*). L'innoculum des sources fongiques a été maintenu sur Sabouraud Dextrose Agar (SDA) à 37°C .

2.2. Méthodes

2.2.1. Procédure générale de synthèse de 2-acétylbenzimidazole (8)

A une solution d'orthophénylènediamine **5** (5g, 1éq) dans 50 mL d'acide chlorhydrique (4N), est ajouté l'acide lactique **6** (1,5 éq). Le mélange est porté à reflux pendant 1h. Après refroidissement à $T = 0^\circ\text{C}$, le mélange réactionnel est neutralisé avec une solution d'ammoniac à 25%. Le produit est collecté par filtration et séché pour donner le 1-(1*H*-benzimidazol-2-yl) éthanol **7** après trituration dans le cyclohexane à chaud. 0,5 éq de dichromate de potassium dissouts dans 35 mL d'eau, sont ajoutés à un mélange de 1-(1*H*-benzimidazol-2-yl) éthanol (1 éq) et 30 mL d'acide acétique. Le mélange est porté à reflux pendant 1h. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel est extrait à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont lavées -à l'eau, séchées sur le sulfate de sodium puis le solvant est réduit sur pression réduite. La recristallisation dans l'éthanol conduit au 1-(1*H*-benzimidazol-2-yl) éthanone ou 2-acétylbenzimidazole **8**.

2.2.2. Protocole générale de synthèse des dérivés du 1-(*N*-alkyl-1*H*-benzimidazol-2-yl) s éthanone (9a-e)

A une solution du 2-acétylbenzimidazole (1 g, 1 éq) dans 10 mL de diméthyl-formamide (DMF), sont ajoutés 1,1éq de carbonate de potassium et 1,1 éq des agents d'alkylation goutte à goutte. Le mélange réactionnel est laissé sous

agitation à température ambiante pendant 4-6h. Après quoi la solution est versée dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré, séché puis purifié pour donner les dérivés *N*-benzyl-2-acétylbenzimidazole correspondants.

2.2.3. Procédure générale de synthèse des *N*-benzylbenzimidazolyl dimercapto-propénones (10-14)

A une solution des *N*-alkyl-2-acétylbenzimidazole (1 éq) dans 5 mL de diméthylsulfoxyde (DMSO) refroidie à T= 0°C, sont ajoutés une solution de sulfure de carbone (1,1 éq) et l'hydruure de sodium (60%, 2,1 éq) par petites portions. Le mélange obtenu est agité à température ambiante pendant 4h. les agents d'alkylations (2,1 éq) pour l'iodure de méthyle et l'iodure d'ethyle puis (1,1 éq) pour le dibromoéthane sont additionnés au mélange à T= 0°C. la solution finale est ensuite agitée à température ambiante toute la nuit. Le mélange réactionnel est versé dans l'eau glacée, le précipité formé est filtré, lavé à l'eau et séché. Le produit brut est purifié pour donner les benzimidazole dimercapto-propénones **10-14**

2.2.4. Evaluation des activités antifongiques

Préparation de l'inoculum Fongique : Les spores de la surface des géloses ont été recueillies à l'aide d'une aiguille d'inoculation et mises en suspension dans 3-4 mL d'eau distillée. Le mélange a été homogénéisé et les particules lourdes ont pu se déposer. La suspension homogène a été ajustée à 0,5 McFarland équivalant à la turbidité de la suspension ajustée avec un spectrophotomètre à 530 nm pour obtenir une concentration finale correspondant à celle d'un étalon de 0,5 McFarland [9]. Reconstitution des composés : Les composés purifiés ont été reconstitués dans 10 % de tween 80. Une masse de 0,002 g est dissoute dans 4 mL de tween 80 à 10 % pour obtenir une solution mère de 500 µg/mL. Une dilution en série a été effectuée pour préparer des concentrations de 100 µg/mL, 80 µg/mL, 60 µg/mL, 40 µg/mL et 20 µg/mL. Pour la préparation de solutions antifongiques, une masse de 0,002 g d'Itraconazole (antifongique de référence d'une pureté de 100 %) dans 4 ml d'eau distillée à 50 % d'acétone pour obtenir une concentration de 100 µg/mL Une double dilution a été effectuée et les concentrations suivantes ont été utilisées : 100 µg/ml, 80 µg/mL, 60 µg/mL, 40 µg/mL, et 20 µg/mL [10]. Evaluation de l'activité antifongique in vitro des composés sur les espèces d'aspergillus : Après solidification du milieu, un foreur de liège stérile de 6 mm est utilisé pour creuser neuf puits équidistants de 2,5 mm de profondeur sur les plaques d'agar. Les puits sont forés loin l'un de l'autre pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition, à une distance d'au moins 24 mm l'un de l'autre. Ce qui permet une distance d'environ 10 mm au bord de la plaque [11,12]. Les composés (50 µL) sont ensuite placés dans des puits. Les plaques sont laissées au repos sur un banc de laboratoire de niveau pendant une heure pour permettre une migration adéquate de la solution du composé dans le milieu dans des conditions aseptiques strictes [13]. La culture a été incubée pendant 48 à 96 heures à 37°C. L'évaluation de l'activité antifongique ou de la sensibilité des espèces fongiques aux composés est déterminée en mesurant la taille moyenne des zones d'inhibition (y compris le diamètre des puits) sur la surface de la gélose autour des puits à l'aide d'un micromètre à vis. Pour tenir compte de l'effet inhibiteur du solvant, des témoins négatifs et positifs ont été inclus pour toutes les espèces fongiques, 50 % d'acétone dans de l'eau distillée stérile servant de témoin négatif tandis que l'Itraconazole, l'antifongique de référence servait de témoin positif [14].

3. Résultats et discussion

3.1. Synthèses de 2-acétylbenzimidazole (8) et de *N*-alkyl-2-acétylbenzimidazoles (9a-e)

Les *N*-alkyl-2-acétylbenzimidazoles **9a-e** ont été préparés selon le schéma 1. Le 2-acétylbenzimidazole **8** a été préparé par condensation de l'orthophénylène diamine avec l'acide lactique [15], suivie de l'oxydation dans l'acide acétique par le dichromate de potassium [16]. Une *N*-alkylation douce avec une série d'halogénures d'alkyle dans des conditions développées par Zhou et coll [17] a permis d'obtenir les *N*-alkyl-2-acétylbenzimidazoles **9a-e** (schéma 1).

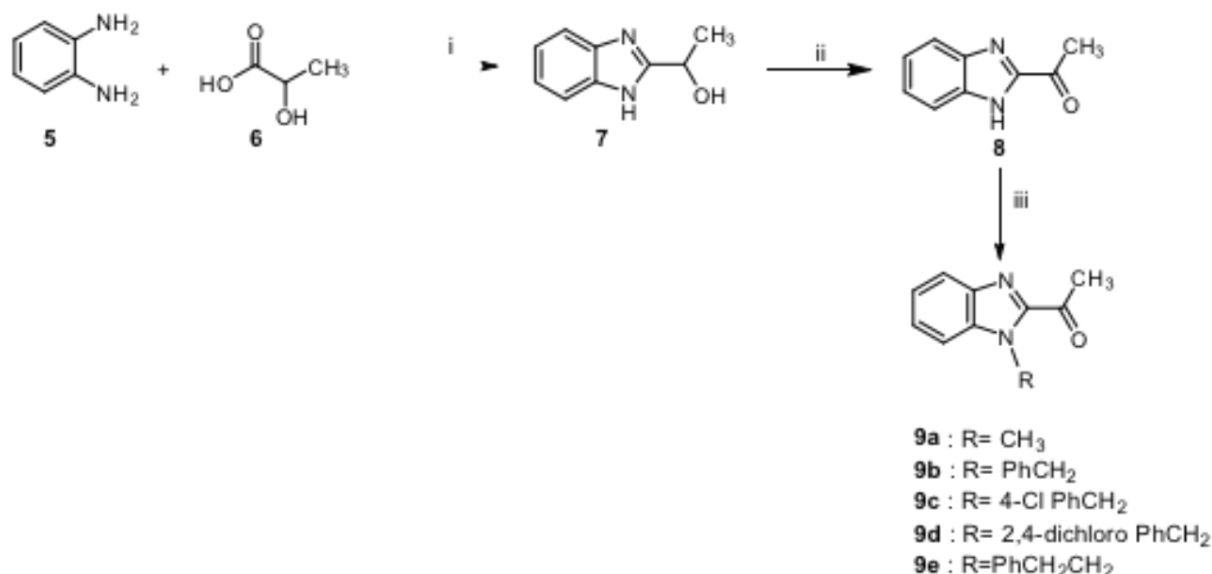


Schéma 1: Synthèses de 2-acétylbenzimidazole **8** et des *N*-alkyl-2-acétylbenzimidazoles **9a-e**
 (i) HCl (4N), reflux 2h 58%; (ii) AcOH, K₂Cr₂O₇/H₂O, reflux 1h 60%; (iii) DMF, K₂CO₃, RX 47-91%

2-acétylbenzimidazole (8) : Solide jaune ; PF= 188°C ; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 10,62 (s, 1H, N-H) ; 7,91 (d, J= 7,8Hz, 1H, 1Har) ; 7,56 (d, J=7,8 Hz, 1H, 1Har) ; 7,45-7,34 (m, 2H, 2Har) ; 2,84 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 192,26 (C=O), 147,84 (N-C=N), 143,55 (C_{Ar}), 133,82 (C_{Ar}), 126,70 (CH_{Ar}), 123,99 (CH_{Ar}), 122,06 (CH_{Ar}), 112,35 (CH_{Ar}), 26,13 (CH₃).

***N*-méthyl-2-acétylbenzimidazole (9a)** : obtenu à partir du 1-(1H-benzimidazol-2-yl) éthanone **8** (1 g, 0,625 mmol, 1 équ) et de l'iodure de méthyle (0,688 mmol, 1,1 équ, 0,043 mL). Il a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice cyclohex/AcOEt (4/1 v/v). Solide beige, Rdt = 57%, Rf = 0,35 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7,85 (d, J= 7,95, 1H, H₄) ; 7,39-7,26 (m, 3H, H-5, H-6, H-7) ; 4,09 (s, 3H, N-CH₃) ; 2,81 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ, ppm) : 193,45 (C=O) ; 146,17 (C-2) ; 141,61 (C-3a) ; 136,96 (C-7a) ; 126,02 (C-5) ; 123,83 (CH-5) ; 121,91 (CH-4) ; 110,61 (CH-7) ; 32,39 (NCH₃) ; 28,19 (CH₃). SM m/z (ESI)⁺ : 175,0 [M+H]⁺ ; 197,0 [M+Na]⁺.

1-benzyl-2-acétylbenzimidazole (9b) : obtenu à partir du 1-(1H-benzimidazol-2-yl) éthanone **8** (1 g, 0,625 mmol, 1 équ) et du chlorure de benzyle (0,688 mmol, 1,1 équ, 0,079 mL). Il a été purifié par recristallisation dans le mélange eau/éthanol (3/2 v/v). Solde jaune, Rdt = 85%, Rf = 0,39 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7,94-7,91 (m, 1H, H-4) ; 7,43-7,36 (m, 3H, H-5, H-6, H-7_{Ar}) ; 7,30-7,24 (m, 3H, 3H-Bn) ; 7,15-7,13 (m, 2H, 2H-Bn) ; 5,87 (s ; 2H, N-CH₂) ; 2,85 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃-d₆, δ ppm) : 193,29 (C=O) ; 145,87 (N= C-N) ; 141,87 (C-3a) ; 136,76 (C-7a) ; 136,69 (C-9) ; 128,85 (2CH-Bn) ; 127,84 (CH-12) ; 126,90 (2CH-Bn) ; 126,37 (CH-6) ; 124,04 (CH-5) ; 122,14 (CH-4) ; 111,29 (CH-7) ; 48,78 (CH₂) ; 28,34 (CH₃). SM m/z (ESI)⁺ : 251,1[M+H]⁺ ; 273,1[M+Na]⁺.

1-(4-chlorobenzyl)-2-acétylbenzimidazole (9c) : réalisé à partir du 1-(1H-benzimidazol-2-yl) éthanone **8** (1 g, 0,625 mmol, 1 éq) et le chlorure 4-chloro benzyle (0,688 mmol, 1,1 éq, 0, 111 g) puis purifié sur une colonne de gel de silice cyclohex/AcOEt (4/1 v/v). Solide blanc, Rdt= 91%, Rf = 0.33 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.95-7.91 (m, 1H, H-4) ; 7.40-7.37 (m, 3H, H-5, H-6, H-7) ; 7.22 (d, J= 8.44 Hz, 2H, H-10, H-10') ; 7.06 (d, J = 8.43Hz, 2H, H-11, H-11') ; 5.79 (s, 2H, N-CH₂) ; 2.93 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 193.27 (C=O); 145.65 (C-2); 141.81 (C-3a); 136.52 (C-7a); 135.14 (C-9); 133.68 (C-12); 128.99 (C-11, C-11'); 128.29 (C-10, C-10'); 126.52 (CH-6); 124.16 (CH-5); 122.22 (CH-4); 110.98 (CH-7); 48.12 (NCH₂); 28.26 (CH₃). SM m/z (ESI)⁺ : 285.0 [M+H]⁺ ; 307.0 [M+ Na]⁺ ; 590.0 [2M+Na]⁺.

1-(2,4-dichlorobenzyl)-2-acétylbenzimidazole (9d) : obtenu à partir du 1-(1H-benzimidazol-2-yl) éthanone **8** (1 g, 0,625 mmol, 1 éq) et le chlorure 2,4-dichlorobenzyle (0,688 mmol, 1,1 éq, 0,096 mL). Il a été purifié par recristallisation dans l'éthanol. Solide jaune ; PF= 168-170°C ; Rf = 0,40 (Cyclohex/ AcOEt 4/1) ; SM(ESI) m/z[M+H]⁺: 319,0 ; RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, δ, ppm) : 8,01-7,3 (m, 1H) ; 7,46 (d, J = 2Hz, 1H) ; 7,44-7,40 (m, 2H) ; 7,34-7,27 (m, 1H) ; 7,04 (dd, J= 2,06, 8,37 Hz) ; 6,34 (d, J= 8,39 Hz) ; 5,91 (s, 2H, N-CH₂) ; 2,87 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃, δ, ppm) : 192,84 (C=O) ; 145,59 (C) ; 141,26 (C) ; 136,27 (C) ; 134,14 (C) ; 133,03 (C) ; 132,69 (C) ; 129,63 (CH-11) ; 127,68 (2C) ; 126,93 (C) ; 124,70 (C) ; 122,12 (C) ; 110,96 (C) ; 46,25 (N-CH₂) ; 28,43 (CH₃).

1-(1-phénéthyl-1H-benzimidazol-2-yl) éthanone 9e : réalisé à partir du 1-(1H-benzimidazol-2-yl) éthanone **8a** (1g, 0,625 mmol, 1 éq) et le 1-(2-chloroéthyl) benzène (0,688 mmol, 1,1 éq, 0,090 mL). Il a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice cyclohex/ AcOEt. (4/1 v/v). Solide beige ; Rf = 0,42 (Cyclohex /AcOEt 4/1) ; TF = 102 ; SM(ESI) m/z[M+H]⁺ : 265,0 ; RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, δ, ppm) : 7,93-7,90 (m, 1H, H-4) ; 7,43-7,34 (m, 3H, H-5, H-6, H-7) ; 7,31-7,23 (m, 3H, 3H-Bn) ; 7,16-7,13 (m, 2H, 2H-Bn) ; 4,83 (t, J= 7,54, 2H, N-CH₂) ; 3,10 (t, J = 7,53, 2H, CH₂-Φ) ; 2,79 (s, 3H Hz, CH₃). RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃, δ, ppm) : 193,26 (C=O), 146.01 (N=C-N), 141,71 (C-3a) ; 137,83 (C-10) ; 136,21 (C-7a) ; 129,03 (2CH-Bn) ; 128,75 (2CH-Bn) ; 126,92 (CH-Bn) ; 126,02 (CH-6) ; 123,83 (CH-5) ; 122,05 (CH-4) ; 110,75(CH-7) ; 46,97 (N-CH₂) ; 36,72 (CH₂Φ) ; 28,23 (CH₃).

3.2. Synthèse des N-alkylbenzimidazolyl dimercaptopropénones (10-14)

Les N-alkylbenzimidazolyl dimercaptopropénones **10-14a-c** ont été préparés à partir des N-alkyl-2-acétylbenzimidazoles **9a-e** en présence d'hydruide de sodium et de disulfure de carbone, puis de l'halogénure d'alkyle correspondant selon la méthode rapportée par Abdelhalim et Coll [18]¹⁵ (schéma 2).



Schéma 2 : Synthèse de N-alkylbenzimidazolyl dimercaptopropénones **10-14** ; (i) CS₂, NaH (60%), DMSO, Agents alkylants, Température ambiante

1-(1-méthyl-1H-benzimidazolyl)-3,3-bis(méthylthio) prop-2-én-1-one (10a) : obtenu, après purification sur une colonne de gel de silice cyclohexane/acétate d'éthyle (4/1 v/v), Solide orange, Rdt= 43%, Rf = 0.15 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.84 (d, J= 7.8Hz, 1H, H_{Ar}) ; 7.56 (s, 1H, HC=) ; 7.42-7.31 (m, 3H, 3H_{Ar}) ; 4.22 (s, 3H, N-CH₃) ; 2.68 (s, 3H, SCH₃) ; 2.58 (s, 3H, SCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, δ ppm): 178.54 (C=O); 168.23 (=C-S); 148.08 (C-2); 141.82 (C-3a); 137.14 (C-7a); 125.13 (CH-6); 123.46 (CH-5); 121.49 (CH-4); 111.39 (HC=); 110,44 (CH-4); 32.57 (N-CH₃); 17.69 (SCH₃); 15.24 (SCH₃). SMHR (ESI): Calculé C₁₃H₁₅N₂OS₂ [M+H]⁺ : 279.0620, mesuré: 279.0618.

2-(1,3-dithiolan-2-ylidène)-1-(1-méthyl-1H-benzimidazol-2-yl) éthanone (10b): Solide orange, avec un Rdt = 48%. Rf = 0.28 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 8.04 (s, 1H, HC=) ; 7.87 (d, J= 7.89Hz, 1H, H-4); 7.45-7.32 (m, 3H, H-5, H-6, H-7); 4.25 (s, 3H, N-CH₃); 3.54 (AA'BB', dd_{app}, J_{app}= 5.1, 7.2Hz, 2H, SCH₂); 3.42 (AA'BB', dd_{app}, J_{app}= 7.2, 5.1 Hz, 2H, SCH₂). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 179.10 (C=O); 169.28 (=C-S); 147.49 (C-2); 141.79 (C-3a); 137.14 (C-7a); 125.29 (CH-6); 123.57 (CH-5); 121.53 (CH-4); 110.67 (HC=); 110.43 (CH-7); 39.22 (N-CH₃); 35.67 (SCH₂); 32.45 (SCH₂). SMHR (ESI): Calculé C₁₃H₁₃N₂OS₂ [M+H]⁺: 277.0464, mesuré: 277.0463

3,3-bis(éthylthio)-1-(1-méthyl-1H-benzimidazol-2-yl) prop-2-én-1-one (10c): Solide marron, Rdt = 21%. Rf = 0.14 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.84 (d, J= 7.93Hz, 1H, H-4) ; 7.60 (s, 1H, =CH-2'); 7.42-7.33 (m, 3H, H-5, H-6, H-7); 4.23 (s, 3H, NCH₃); 3.23 (q, 2H, SCH₂); 3.15 (q, 2H, SCH₂); 1.45 (t, J= 7.55Hz, 3H, CH₃); 1.41 (t, J= 7.54Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.40 (C=O); 166.88 (=C-S); 148.05 (N=C-N); 141.72 (C-3a); 137.15 (C-7a); 125.07 (CH-6); 123.39 (CH-5); 121.45 (CH-4); 111.80 (HC=); 110.38 (CH-7); 32.56 (NCH₃); 26.71 (SCH₂); 25.90 (SCH₂); 13.83 (CH₃); 12.48 (CH₃). HRMS (ESI): Calculé C₁₅H₁₉N₂OS₂ [M+H]⁺: 307.0933, mesuré: 307.0941.

1-(1-benzyl-1H-benzimidazol-2-yl)-3,3-bis(méthylthio) prop-2-én-1-one (11a): Solide jaune orangé, Rdt = 74%, Rf = 0.18 (Cyclohexane/acétate d'éthyle : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm): 7.88-7.85 (m, 1H, H_{Ar}); 7.60 (s, 1H, HC=); 7.37-7.30 (m, 3H, H-5, H-6, H-7); 7.28-7.24 (m, 3H, 3H-Bn); 7.21-7.17 (m, 2H, 2H-Bn); 6.03 (s, 2H, N-CH₂); 2.69 (s, 3H, SCH₃) ; 2.56 (s, 3H, SCH₃). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.27 (C=O); 168.42 (=C-S); 147.77 (N=C-S); 141.93 (C-3a); 137.00 (C-7a); 136.74 (C-9), 128.77 (2CH-Bn); 127.60 (CH-Bn); 127.03 (2CH-Bn); 125.35 (CH-6); 123.63 (CH-5); 121.54 (CH-4); 111.50 (HC=); 111.29 (CH-7); 48.75 (NCH₂); 17.69 (SCH₃); 15.22 (SCH₃). HRMS (ESI): Calculated for C₁₉H₁₉N₂OS₂ [M+H]⁺: 355.0933, found: 355.0942.

1-(1-benzyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2-(1,3-dithiolan-2-ylidène) éthanone (11b): Solide jaune, Rdt = 74%, Rf = 0.19 (Cyclohex/AcOEt: 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm): 8.07 (s, 1H, HC=); 7.90-7.87 (m, 1H, H-4); 7.34-7.31 (m, 3H, H-5, H-6, H-7); 7.25-7.21 (m, 3H, 3H-Bn) 7.19-7.17 (m, 2H, 2H-Bn); 6.04 (s, 2H, CH₂); 3.52 (dd_{app}, J_{app}= 5.3, 6.8Hz, 2H, SCH₂); 3.40 (dd_{app}, J_{app}= 5.4, 6.9Hz, 2H, SCH₂). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.94 (C=O); 169.47 (=C-S); 147.25 (N=C-N); 142.01 (C-3a); 136.91 (C-7a); 136.71 (C-9); 128.78 (2CH-Bn); 127.63 (CH-Bn); 127.00 (2CH-Bn); 125.53 (CH-6); 123.76 (CH-5); 121.64 (CH-4); 111.31 (HC=); 110.81 (CH-7); 48.82 (N-CH₂); 39.25 (SCH₂); 35.69 (SCH₂). HRMS (ESI): Calculé for C₁₉H₁₇N₂OS₂ [M+H]⁺ : 353.0777, mesuré: 353.0776.

1-(1-benzyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-3,3-bis(éthylthio)prop-2-én-1-one (11c): Solide Jaune, Rdt = 80%, Rf = 0.33 (Cyclohexane/acétate d'éthyle: 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 8-7.75 (m, 1H, H_{Ar}); 7.67 (s, 1H, HC=); 7.45-7.33 (m, 3H, 3H_{Ar}); 7.31-7.24 (m, 3H, 3H_{Ar}); 7.23-7.15 (m, 3H, 3H_{Ar}); 6.06 (s, 2H, N-CH₂); 3.25 (q, 2H, SCH₂); 3.15 (q, 2H, SCH₂); 1.48 (t, J= 7.43, 3H, CH₃), 1.41 (t, J= 7.44, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.23 (C=O); 166.98 (N=C-N); 147.83(=C-S); 141.92 (C); 136.98(C); 136.70 (C); 128.72 (2CH); 127.54 (C); 127.00 (2CH); 125.27 (CH); 123.55 (CH); 121.53 (CH); 111.94 (HC=); 111.23 (CH); 48.85 (N-CH₂); 28.71(SCH₂); 25.92 (SCH₂); 13.86 (CH₃); 12.50 (CH₃). SMHR (ESI): Calculated for C₂₁H₂₃N₂OS₂ [M+H]⁺: 383.1246, found: 383.1253.

1-(1-(4-chlorobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl)-3,3-bis(méthylthio)prop-2-én-1-one (12a): Solide marron, Rdt = 79%, Rf = 0.23 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.90-7.86 (m, 1H, H-4); 7.58 (s, 1H, HC=); 7.42-7.32 (m, 3H, H-5, H-6, H-7); 7.23 (d, J= 8.57, 2H, H-11, H-11'); 7.12 (d, J= 8.60, 2H, H-10, H-10'); 5.97 (s, 2H, NCH₂); 2.70 (s, 3H, SCH₃); 2.57 (s, 3H, SCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, δ ppm): 177.86 (C=O); 169.21 (=C-S); 147.47 (N=C-N); 141.63 (C-3a); 136.43 (C-7a); 135.42 (C-9); 133.47 (C-12); 128.95 (CH-11, CH-11'); 128.44 (CH-10, CH-10'); 125.56 (CH-6); 123.88 (CH-5); 121.54 (CH-4); 111.21 (=CH); 111.01 (CH); 48.27 (N-CH₂); 17.76 (SCH₃); 15.25 (SCH₃). SMHR (ESI): Calculé pour C₁₉H₁₈ClN₂OS₂ [M+H]⁺ : 389.0544, Mesuré 389.0548.

1-(1-(4-chlorobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl)-2-(1,3-dithiolan-2-ylidène) éthanone (12b): Solide marron, Rdt = 76%. Rf = 0.26 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 8.06 (s, 1H, HC=) ; 7.91-7.86 (m, 3H, H-5, H-6, H-7) ; 7.24 (d, J= 8.5, 2H, H-11, H-11') ; 7.13 (d, J= 8.5, 2H, H-10, H-10') ; 5.99 (s, 2H, NCH₂) ; 3.53 (AA'BB', dd_{app}, J=5.0, 7.1Hz, 2H, SCH₂) ; 3.41 (AA'BB', dd_{app}, J_{app}= 5.0, 7.2Hz, 2H, SCH₂). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.82 (C=O); 169.86 (=C-S); 147.13 (N=C-N); 142.00 (C-3a); 136.53 (C-7a); 135.45 (C-9); 133.51 (C-12); 128.97 (CH-11, CH-11'); 128.44 (CH-10, CH-10'); 125.70 (CH-6); 123.92 (CH-5); 121.77 (CH-

4); 111.01 (=CH); 110.67 (CH-7), 48.21 (N-CH₂); 39.27 (SCH₂); 35.72 (SCH₂). HRM(ESI): Calculated for C₁₉H₁₆ClN₂OS₂ [M+H]⁺: 387.0387, found: 387.0387

1-(1-(4-chlorobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl)-3,3-bis(éthylthio)prop-2-én-1-one (12c): Solide marron, Rdt = 68%. Rf = 0.34 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.93-7.93 (m, 1H, H_{Ar}); 7.62 (s, 1H, HC=); 7.40-7.28 (m, 3H, H-5, H-6, H-7); 7.24 (d, J = 8.5Hz, 2H, H-11, H-11'); 7.11 (d, J = 8.5Hz, 2H, H-10, H-10'); 5.97 (s, 2H, N-CH₂); 3.21 (q, 2H, SCH₂); 3.12 (q, 2H, SCH₂); 1.45 (t, J = 7.39, 3H, CH₃); 1.38 (t, J = 7.42, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, δ ppm) : 178.10(C=O); 167.40 (=C-S); 147.70 (N=C-N); 141.94 (C); 136.52 (C-7a); 135.53 (C-9); 133.40 (C-12); 128.91 (CH-11, CH-11'); 128.44 (CH-10, CH-10'); 125.42 (CH-6); 123.69 (CH-5); 121.66 (CH-4); 111.72 (=CH); 110.97 (CH-7); 48.23 (N-CH₂); 28.73 (SCH₂); 25.93 (SCH₂); 13.83 (CH₃); 12.48 (CH₃). SMHR (ESI): Calculé C₂₁H₂₂ClN₂OS₂ [M+H]⁺: 417.0857, mesuré 417.0871

1-(1-(2,4-dichlorobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl)-3,3-bis(méthylthio)prop-2-én-1-one (13a): Solide jaune, Rdt = 37%, Rf = 0.23 (Cyclohexane/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.91 (d, J = 8.58, 1H, H-4); 7.60 (s, 1H, HC=); 7.44 (d, J = 2.04Hz, 1H, H-11); 7.39-7.30 (m, 2H, H-5, H-6); 7.24-7.21 (m, 1H, H-7); 7.02 (dd, J = 1.94, 8.44Hz, 1H, H-13); 6.46 (d, J = 8.51Hz, 1H, H-14); 6.06 (s, 2H, N-CH₂); 2.72 (s, 3H, SCH₃); 2.56 (s, 3H, SCH₃). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 177.86 (C=O); 169.18 (=C-S); 147.96 (C-2); 141.90 (C-3a); 136.35 (C-7a); 133.78 (C-9); 133.21 (C-12); 132.90 (C-10); 129.37 (CH-11); 128.22 (CH-14); 127.63 (CH-13); 125.69 (CH-6); 123.99 (CH-5); 121.69 (CH-4); 111.05 (=CH); 110.81 (CH-7); 46.25 (N-CH₂); 17.70 (SCH₃); 15.20 (SCH₃). HRMS (ESI): Calculé C₁₉H₁₇Cl₂N₂OS₂ [M+H]⁺: 423.0154, mesuré: 423.0156.

1-(1-(2,4-dichlorobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl)-2-(1,3-dithiolan-2-ylidène) éthanone (13b): Solide orange avec un rendement de 34%. Rf = 0.29 (Cyclohexane/acétate d'éthyle : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 8.08 (s, 1H, HC=); 7.93-7.91 (m, 1H, H-4); 7.45 (d, J = 2.1Hz, H-11); 7.40-7.32 (m, 2H, H-5, H-6); 7.24-7.21 (m, 1H, H-7); 7.02 (dd, J = 2.1, 8.4Hz 1H, H-13); 6.45 (d, J = 8.4Hz, 1H, H-14); 6.08 (s, 2H, N-CH₂); 3.52 (AA'BB', dd_{app}, J_{app} = 5.0, 7.1Hz, 2H, SCH₂); 3.42 (AA'BB', dd_{app}, J_{app} = 4.9, 7.0 Hz, 2H, SCH₂). ¹³C NMR (300MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.61 (C=O); 170.24 (=C-S); 147.45 (N=C-N); 141.96 (C-3a); 136.36 (C-7a); 133.86 (C-9); 133.15 (C-12); 132.95 (C-10); 129.43 (CH-11); 128.22 (CH-14); 127.68 (CH-13); 125.93 (CH-6); 124.18 (CH-5); 121.82 (CH-4); 110.87 (=CH); 110.50 (CH-7); 46.19 (N-CH₂); 39.32 (SCH₂); 35.77 (SCH₂). SMHR (ESI): Calculé C₁₉H₁₅Cl₂N₂OS₂ [M+H]⁺: 420.9997, mesuré: 420.9995.

1-(1-(2,4-dichlorobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl)-3,3-bis(éthylthio)prop-2-én-1-one (13c): Solide jaune, Rdt = 37%, Rf = 0.40 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.90 (m, 1H, H-4); 7.62 (s, 1H, HC=); 7.43 (d, J = 2.1Hz, 1H, H-11); 7.38-7.29 (m, 2H, H-5, H-6); 7.22-7.19 (m, 1H, H-7); 7.01 (dd, J = 8.4, 2.1Hz, 1H, H-13); 6.46 (d, J = 8.4Hz, 1H, H-14); 6.06 (s, 2H, NCH₂); 3.24 (q, 2H, SCH₂); 3.12 (q, 2H, SCH₂); 1.47 (t, J = 7.4Hz, 3H, CH₃); 1.38 (t, J = 7.45Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm) : 177.75 (C=O), 167.94 (=C-S), 147.98 (C-2), 141.79 (C-3a), 136.27 (C-7a), 133.74 (C-9), 133.17 (C-12), 132.88 (C-10), 129.32 (CH-11), 128.28 (CH-14), 127.61 (CH-13), 125.65 (CH-6), 123.97 (CH-5), 121.65 (CH-4), 111.40 (=CH), 110.81 (CH-7), 46.22 (NCH₂), 28.75 (SCH₂), 25.94 (SCH₂), 13.79 (CH₃), 12.49 (CH₃). SMHR (ESI): calculé C₂₁H₂₁Cl₂N₂OS₂ [M+H]⁺: 451.0467, mesuré: 451.0466.

3,3-bis(méthylthio)-1-(1-phénéthyl-1H-benzimidazol-2-yl)prop-2-én-1-one (14a): Solide marron, Rdt = 71%. Rf = 0.27 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm) : 7.85-7.81 (m, 1H, H-4); 7.51 (s, 1H, HC=); 7.33-7.27 (m, 2H, H-5, H-6); 7.25-7.20 (m, 3H, H-7, H-12, H-12'); 7.19-7.15 (m, 3H, H-11, H-11', H-13); 4.90 (t, J = 7.5Hz, 2H, N-CH₂); 3.17 (t, J = 7.5, 2H, CH₂-Φ); 2.69 (s, 3H, SCH₃); 2.60 (s, 3H, SCH₃). ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.08 (C=O); 168.08 (=C-S); 147.68 (N=C-N); 140.43 (C-3a); 138.27 (C-10); 136.38 (C-7a); 129.11 (CH-12, CH-12'); 128.65 (CH-11, CH-11'); 126.72 (CH-13); 125.08 (CH-6); 123.46 (CH-5); 121.36 (CH-4); 111.52 (HC=); 110.59 (CH-7); 47.15 (N-CH₂); 36.96 (CH₂-Φ); 17.73 (SCH₃); 15.24 (SCH₃). SMHR (ESI): Calculé C₂₀H₂₁N₂OS₂ [M+H]⁺: 369.1090, mesuré: 369.1090.

2-(1,3-dithiolan-2-ylidène)-1-(1-phénéthyl-1H-benzimidazol-2-yl)éthanone (14b)

Solide jaune orangé, Rdt = 59%, Rf = 0.29 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm): 8.07 (s, 1H, HC=); 7.92-7.88 (m, 1H, H-4); 7.39-7.34 (m, 2H, H-5, H-6); 7.32-7.30 (m, 3H, H-7, H-11, H-11'); 7.28-7.24 (m, 3H, H-12, H-12', H-13); 4.97 (t, J = 7.6 Hz, 2H, NCH₂); 3.60 (AA'BB', dd_{app}, J_{app} = 5.0, 7.0 Hz, 2H, SCH₂); 3.47 (AA'BB', dd_{app}, J_{app} = 4.9, 7.0 Hz, 2H, SCH₂); 3.23 (t, J = 7.6, 2H, CH₂-Φ). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.86 (C=O); 168.91 (=C-S); 147.21 (C-2); 141.73 (C-3a); 138.23 (C-10); 136.43 (C-7a); 129.06 (CH-12, CH-12'); 128.65 (CH-11, CH-11'); 126.73 (CH-13); 125.21 (CH-6); 123.50 (CH-5); 121.51 (CH-4); 110.84 (HC=); 110.54 (CH-7); 47.09 (N-CH₂); 39.22 (CH₂-Φ); 36.96 (SCH₂); 35.68 (SCH₂). HRMS (ESI): Calculé pour C₂₀H₁₉N₂OS₂ [M+H]⁺: 367.0933, mesuré: 367.0933.

3,3-bis(éthylthio)-1-(1-phénéthyl-1H-benzimidazol-2-yl) prop-2-én-1-one (14c): Solide jaune, Rdt = 78%, Rf = 0.43 (Cyclohex/AcOEt : 4/1 v/v). RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ ppm): 7.84-7.81 (m, 1H, H-4); 7.57 (s, 1H, =CH); 7.30-7.26 (m, 2H, H-5, H-6); 7.22-7.19 (m, 3H, H-7, H-12, H-12'); 7.18-7.16 (m, 3H, H-11, H-11', H-13); 4.91 (t, J = 7.6 Hz, 2H, NCH₂); 3.22 (q, 2H, SCH₂); 3.18 (q, 2H, SCH₂); 3.15 (t, J = 7.6 Hz, 2H, CH₂-Φ); 1.47 (t, J = 7.42 Hz, 3H, CH₃); 1.43 (t, J = 7.42 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, δ ppm): 178.15 (C=O); 166.37 (C=S); 147.78 (N-C=N); 141.59 (C-3a); 138.30 (C-10); 136.43 (C-7a); 129.08 (CH-12, CH-12'); 128.59 (CH-11, CH-11'); 126.65 (CH-13); 124.96 (CH-6); 123.29 (CH-5); 121.40 (CH-4); 112.03 (HC=); 110.52 (CH-7); 47.08 (NCH₂); 36.93 (CH₂-Φ); 28.68 (SCH₂); 25.91 (SCH₂); 13.96 (CH₃); 12.50 (CH₃). SMHR (ESI): Calculé pour C₂₂H₂₅N₂OS₂ [M+H]⁺: 397.1403, mesuré: 397.1400.

3.2. Evaluation des activités antifongiques

Douze molécules ont été évaluées pour leurs activités antifongiques vis à vis de quatre espèces d'*Aspergillus*. L'activité de chaque dérivé est donnée par son Diamètre d'Inhibition (DI) exprimé en mm. Les résultats de l'évaluation antifongique des composés sont rassemblés dans les **tableaux 1 à 4**. Notre discussion vise à comparer l'efficacité antifongique des différentes molécules en fonction de la nature du substituant et de la souche d'*Aspergillus*. Nous nous sommes limités à la seule discussion de type corrélation structure-activité. Celle-ci a pour objectif de déterminer les éléments structuraux qui concourent à l'induction, voire à l'exaltation des activités attendues. Nous utiliserons le Diamètre d'Inhibition (DI) pour quantifier l'efficacité antifongique de chaque composé. L'*Itraconazole*, la molécule de référence a induit une activité sur les quatre espèces d'*Aspergillus* avec des diamètres d'inhibition allant de 24 à 7 mm suivant les concentrations de 100 µg / ml à 20 µg / ml.

Tableau 1 : Sensibilité d'*Aspergillus flavus* sur les dimercapto-propénones et l'Itraconazole

Composés	Concentrations en composés				
	100µg/ml	80µg/ml	60µg/ml	40µg/ml	20µg/ml
	Diamètres d'inhibition en mm				
10a	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
10b	12,00 ± 5,29	9 ± 3,06	8 ± 2,00	5 ± 0,18	5 ± 0,18
10c	19,00 ± 1,16	15,00 ± 1,16	11,00 ± 1,20	10,00 ± 0,00	5,00 ± 1,20
11b	6,00 ± 0,00	3,00 ± 1,16	2,00 ± 0,12	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
11c	16,00 ± 3,01	11,0 ± 1,16	8,00 ± 0,00	5,00 ± 1,16	3,00 ± 0,16
12a	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
12b	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
12c	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
13a	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
13b	25,00 ± 1,16	17,00 ± 1,15	14,00 ± 0,00	10,00 ± 0,20	4,00 ± 2,90
14a	23,00 ± 3,06	17,00 ± 1,15	13,00 ± 0,16	8,00 ± 0,00	5,00 ± 1,16
14c	14,00 ± 1,15	13,00 ± 2,31	10,00 ± 0,00	7,00 ± 0,81	2,00 ± 0,00
Itraconazole	24,00 ± 2,25	22,00 ± 1,87	19,00 ± 9,61	15,00 ± 7,07	12,00 ± 0,98

Les composés **12a**, **12b**, et **12c** avec le chlore en position para du benzyle (4-chlorobenzyle) en position 1 du benzimidazole n'induit pas d'activité. La présence du chlore en position 4 du benzyle est défavorable à l'induction de l'activité sur *Aspergillus flavus*. Toutefois, l'ajout d'un autre chlore (composé **13b**) induit une activité. Les composés **10a** et **13a** dérivés dithiométhyle (SCH₃) ne présentent aucune sensibilité alors que leurs dérivés

dithioéthyle (SCH₂CH₃) **10c** et dithiolane **13b** ont montré des activités. Il ressort donc que le groupement SCH₃ est défavorable à l'induction de l'activité ou conduit à une annihilation de l'activité. Les composés **13b** et **14a** ont présenté une efficacité antifongique approximativement identique à celle de l'Itraconazole, la substance de référence.

Les composés **10a**, **11b** et **13b** n'ont présenté aucune activité sur l'espèce considéré. Les groupements dithiométhyle (SCH₃) et dithiolane (SCH₂) sont défavorables à l'induction de l'activité pour le benzimidazole ayant pour substituant en position 1 le méthyle (**10a**), le benzyle (**11b**) et le 2,4-dichlorobenzyle (**13b**). La présence de l'atome de chlore en para du benzyle et le groupement éthylbenzène en position 1 du benzimidazole sont favorable à l'apparition de l'activité antifongique sur *Aspergillus fumigatus*. Les composés **13a** (20,00±0,00) et **14c** (20,00±1,16) ont présenté la même activité. Quant aux composés **11c** (22,00±2,00), **12b** (23,00±3,06) et **14a** (23,00±3,06), ils présentent la même efficacité antifongique sur *Aspergillus fumigatus* et comparable à celle de l'Itraconazole (24,00±2,01

Tableau 2 : Sensibilité d'*Aspergillus fumigatus* sur les dimercapto-propénones et l'Itraconazole

Composés	Concentrations en composés				
	100µg/MI	80µg/MI	60µg/mL	40µg/mL	20µg/MI
	Diamètres d'inhibition en mm				
10a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
10b	14,00±0,00	10,00±0,00	7,00 ±1,16	3,00 ±1,16	2,00±10,00
10c	18,00±2,00	14,00±3,47	10,00±3,06	5,00±0,06	2,00 ±0,00
11b	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
11c	22,00±2,00	16,00±1,16	15,00±1,16	11,00±1,16	7,00 ±1,16
12a	13,00±1,16	11,00±1,16	9,00 ±1,16	6,00 ±0,00	3,00 ±1,16
12b	23,00±3,06	15,00±0,16	13,00±0,81	7,00±1,16	4,00±0,00
12c	9,00 ±1,16	8,00±0,00	5,00±1,16	5,00±1,16	4,00 ±0,00
13a	20,00±0,00	17,00±4,16	15,00±5,03	11,0±1,16	7,00 ±1,15
13b	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
14a	23,00±3,06	17,00±1,15	13,00±0,16	8,00 ±0,00	5,00±1,16
14c	20,00±1,16	15,00±1,16	12,00±0,00	9,00± 0,16	6,00±0,00
Itraconazole	24,00±2,01	21,00±1,42	17,00±2,50	13,00±0,18	10,00±1,67

Tableau 3 : Sensibilité d'*Aspergillus niger* sur les dimercapto-propénones et l'Itraconazole

Composés	Concentrations en composés				
	100µg/MI	80µg/MI	60µg/MI	40µg/mL	20µg/MI
	Diamètres d'inhibition en mm				
10a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
10b	15,00±1,16	12,00±0,00	8,00±0,12	5,00±2,31	3,00±1,16
10c	25,00±1,16	20,00±0,17	17,00±1,16	13,00±1,16	7,00±1,16
11b	0,00±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
11c	25,00±3,06	20,00±0,17	18,00±0,00	15,00±1,16	9,00±2,31
12a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
12b	31,00±3,06	26,00±0,00	21,00±3,06	13,00±3,01	10,00±1,16
12c	24,00±2,00	21,00±2,31	17,00±1,12	13,00±1,16	9,00±2,31
13a	25,00±1,16	22,00±0,00	19,00±0,81	15,00±1,16	11,00±1,16
13b	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
14a	19,00±0,17	17,00±0,81	14,00±0,00	10,00±0,00	7,00±3,06
14c	18,00±2,00	13,00±1,16	10,00±0,00	5,00±1,16	2,00±0,00
Itraconazole	23,00±1,15	22,00±1,09	18,00±7,20	10,00±2,65	8,00±0,18

Le groupement dithioéthyle favorise l'apparition d'activité sur *Aspergillus niger* quelques soit l'agent alkylant en position 1 du benzimidazole. Les composés **10a**, **11b**, **12a** et **13b** sont inactif sur *Aspergillus niger*, les groupements

dithiométhyle (SCH₃) et dithiolane (SCH₂) apparaissent comme étant les groupements d'annihilation des activités pour les molécules ayant pour substituant en position 1 du benzimidazole, le méthyle (**10a**), le benzyle (**11b**), le parachlorobenzyle (**12a**) et le 2,4-dichlorobenzyle (**13b**). Les composés **10c**, **11c**, **12c** et **13a** ont présenté presque les mêmes efficacités et légèrement supérieures à celle de l'Itraconazole. Le composé **12b** a montré la meilleure activité antifongique sur *Aspergillus niger* avec son diamètre d'inhibition 1,35 fois supérieure à celui de l'Itraconazole, la substance médicamenteuse de référence. La présence d'un atome de chlore en para du groupement *N*-benzyle a totalement exalté l'activité antifongique de **12b**

Seulement quatre composés sur les douze molécules testées ont présenté une activité sur *Aspergillus terreus*. Le groupement *N*-benzyle et la duplication de l'atome de chlore sur le groupement *N*-benzyle sont défavorable à l'induction de l'activité antifongique sur l'espèce d'*Aspergillus* considéré (composés **11b**, **11c**, **13a** et **13b**). les composés **10a**, **12a**, **12c**, et **14c** sont inactifs. Cela s'explique par le fait que les groupements dithiométhyle et dithioéthyle s'avèrent nuisibles à l'apparition d'activité sur des molécules ayant en position 1 du benzimidazole *N*-méthyle (**10a**), *N*-parachlorobenzyle (**12a**, **12c**) et *N*-éthylphényle substitué (**14c**). Le composé **14a** (21,00±3,06) et l'Itraconazole (22,00±2,25) ont montré la même efficacité antifongique. La meilleure activité a été obtenue avec le composé **12b** dont le diamètre d'inhibition est 1,4 fois supérieure à celui de la substance de référence l'Itraconazole

Tableau 4 : Sensibilité d'*Aspergillus terreus* sur les dimercapto-propénones et l'Itraconazole

Composés	Concentrations en composés				
	100µg/mL	80µg/mL	60µg/mL	40µg/mL	20µg/mL
	Diamètres d'inhibition en mm				
10a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
10b	13,00±1,16	9,00±1,16	6,00±1,16	5,00 ±0,17	2,00±0,00
10c	15,00±1,16	11,00±0,16	8,00±0,00	5,00±1,16	3,00±1,17
11b	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
11c	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
12a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
12b	31,00±4,16	28,00±2,00	22,00±3,46	15,00±1,16	12,00±0,00
12c	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
13a	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
13b	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
14a	21,00±3,06	16,00±0,00	11,00±1,16	7,00 ±3,06	31,00±0,17
14c	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
Itraconazole	22,00±2,25	20,00±2,08	16,0±7,01	11,00±7,98	7,00±0,65

4. Conclusion

Notre étude a permis de concevoir et de synthétiser de nouveaux 2-(*N*-alkylbenzimidazolyl)-3,3-dimercapto-propénones dont les structures ont été confirmées par Résonance Magnétique Nucléaire du proton et du carbone 13 (RMN ¹H ; ¹³C) ainsi que par Spectrométrie de Masse à Haute Résolution (SMHR). L'évaluation antifongique in vitro des composés a été effectué vis-à-vis de quatre espèces d'*aspergillus*. Les activités des composés ont montré que leur induction et leur amélioration sont liées par la nature des groupements alkyles situés en position 1 du noyau benzimidazolique et ceux liés aux atomes de soufre. Cette étude a également montré que les *N*-alkylbenzimidazolyl-dimercapto-alkylpropénones sont des molécules à forte potentialité antifongique. Nous comptons approfondir cette étude par la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des composés testés puis d'évaluer la toxicité des composés actifs.

5. Références bibliographiques

- Kotaiah Y, Nagaraju K, Harikrishna N, Venkata Rao C, Yamini L, Vijjulatha M. *Journal of the Serbian Chemical Society* **2017** ; 82(9) : 985-93.

3. Nigam A, Kawathekar N, Zaveri M, Jain G. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology* **2017** ;
4(10) : 119-124.
4. Zon D, Kone A, Ouattara M, Kone MW, Sissouma D. *Rev Ivoir Sci Technol.* 2014 ; 41-53.
5. Babu IS, Selvakumar S. *Biosciences Biotechnology Research Asia* 2013 ; 10(2) : 891-896.
6. Kone A, Ouattara M, Zon D, Chany A-C, Collet S, Sissouma D, Adjou A. *World Journal of Pharmaceutical Research* **2018** ;
1589-1601.
7. Karataş H, Alp M, Yıldız S, Göker H. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012** ; 80 : 237-244.
8. He Y, Wu B, Yang J, Robinson D, Risen L, Ranken R, Blyn L, Sheng S, Swayze EE. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003** ; 13 :
3253-3256.
9. CLSI. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Nondermatophyte Filamentous Fungi, Approved
Guideline, CLSI Document M51-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA. **2010**.
10. Eloff JN, Picard L. and Masoko P. *South Africa Journal of Botany* **2007** ; 73 : 667-669.
11. Emeruwa A.C. Antibacterial substance from Carica papaya. *Journal of Natural Products.* **1982** ;45, 123-7.
12. Elumalai EK, Sivamani P, Thirumalai T, Vinothkumar P, Sivaraj A. David E. *Pharmacology Online* **2009** ; 2:
536-543.
13. Hawaze S, Deti H. and Suleman S. *Indian J. Pharm. Sci.* **2012** ; 74(1) :29-35.
14. Tashiro, T, Izumikawa, K, Tashiro, M., Takazono, T, Morinaga, Y, Yamamoto, K. *Medical Mycology* **2011**; 49(6),
581–
587.
15. Phillips MA. *J Chem Soc.* **1928** ; 0 : 2393-2399.
16. Wu LT, Jiang Z, Shen JJ, Yi H, Zhan YC, Sha MQ, Wang Z, Xue ST, Li ZR. *European Journal of Medicinal Chemistry*
2016 ; 114 : 328-336.
17. Zhou Z. *Medicinal Chemistry* **2015** ; 5(8) : 345-350.
18. Abdelhalima MM, El-Saidib MMT, Rabieb ST, Elmegeeda GA. *Steroids* **2007** ; 72 : 459–465.

Potentiel anticholestérolémiant du « datou », un condiment traditionnel malien

Haoussatou SIDIBE^{1*}, Fatoumata TOUNKARA¹, Amadou A. KODIO¹, Mamadou A. KONARE¹, Issiaka TOGOLA¹

¹Laboratoire de Biochimie Alimentaire et des Substances Naturelles (LBASNa), Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

*Email de l'auteur correspondant : haoussatousidibe19@gmail.com

Résumé

Grâce à sa richesse en protéines, le « datou », issu de la fermentation des graines de *Parkia biglobosa* ou *Hibiscus sabdariffa*, est un condiment traditionnel très prisé au Mali. De plus en plus, il est aussi utilisé pour ses vertus hypocholestérolémiantes. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets anticholestérolémiants *in vitro* des hydrolysats protéiques issus du « datou ». Les extraits infusés et décoctés de « datou » ont été soumis à l'hydrolyse enzymatique (trypsine, alcalase et protéase). La capacité de liaison de chaque hydrolysate aux sels biliaires (cholate de sodium et désoxycholate de sodium) a été utilisée pour estimer l'activité anticholestérolémiant. Les hydrolysats de trypsine ont présenté les meilleurs taux de liaison au cholate (63,81%) suivi de ceux d'alcalase avec un taux de liaison de 55,3% au désoxycholate. L'atorvastatine, molécule de référence, a présenté des taux de liaison variant de 76,88 à 92,36% vis-à-vis des sels testés. Ces données révèlent que ce condiment traditionnel posséderait la capacité de réduire la cholestérolémie chez les consommateurs. Le « datou » constituerait une source potentielle de molécules hypocholestérolémiantes qui pourrait être bénéfique dans la prise en charge des troubles de cholestérol.

Mots clés : Datou ; hydrolysats protéiques ; pouvoir anticholestérolémiant.

Anticholesteromic potent of « datou », a traditional malian condiment

Abstract

Thanks to its richness in proteins, "datou", made from the fermentation of *Parkia biglobosa* seeds, is a traditional condiment very popular in Mali. Increasingly, it is also used for its therapeutic virtues. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* anticholesterolemic effects of protein hydrolysates obtained from "datou". Infused and decocted extracts of "datou" were subjected to enzymatic hydrolysis (trypsin, alkalase and protease). The binding capacity of each hydrolysate to bile salts (sodium cholate and sodium deoxycholate) was used to estimate anticholesterolemic activity. The results show that trypsin hydrolysates presented the best binding rates to cholate (63.81%) followed by those of alkalase with a binding rate of 55.3% to deoxycholate. The reference molecule, atorvastatin, showed binding rates ranging from 76.88% to 92.36% to the salts tested. These data reveal that this traditional condiment has the potential to reduce cholesterol levels in consumers. 'Datou' is a potential source of cholesterol-lowering molecules that could be beneficial in the management of cholesterol disorders.

Key words: Datou; hypocholesterolemic effect; anti-inflammatory effect; hydrolysates.

1-Introduction

Les condiments traditionnellement fermentés sont issus d'un savoir-faire empirique très ancien [1]. Il s'agit d'un processus de fermentation naturelle par micro-organismes des graines protéagineuses et oléagineuses notamment celles de caroubier africain ou néré (*Parkia biglobosa*), de baobab (*Adansoniadigitata*), d'arachide (*Arachishypogaeae*), de soja (*Glycine max*) et d'oseille de Guinée (*Hibiscus Sabdariffa*). De ce processus résultent très souvent des condiments traditionnels, notamment le « datou » provenant des graines de *H. sabdariffa* qui est principalement cultivée pour ses feuilles, ses calices et ses graines [2]. Les procédés de fabrication de « datou » varient selon les ethnies et les localités. Dans certains pays africains comme le Burkina Faso, le Mali, le Niger, le Nigeria, ce condiment alimentaire traditionnel « datou » issu de la fermentation traditionnelle des graines de *Hibiscus sabdariffa* est très convoité [2]. Il est surtout utilisé pour rehausser le goût et la qualité des sauces accompagnant les plats locaux à base de céréales [1]. La littérature loue grandement sa richesse en protéines et son implication dans la prise en charge des carences protéino-énergétiques [3][5][6]. Sa production et sa commercialisation est avant tout une activité génératrice de revenus pour les femmes surtout en zone rurale. En outre, ce condiment traditionnel est aussi utilisé pour traiter de nombreuses affections telles le rhume, le paludisme, la fièvre, l'hypertension, les maladies cardiaques, le cancer et les ulcères. De plus il est impliqué dans les processus d'engraissement des animaux et de traitement traditionnel de certaines pathologies animales [3].

Au Mali, ce condiment traditionnel est utilisé dans de nombreuses recettes culinaires locales et particulièrement chez les personnes âgées et celles souffrant de certaines pathologies (hypertension, cholestérolémie, inflammation, etc.). Au Mali, la plupart des travaux réalisés sur ce condiment traditionnel ont porté sur ses vertus nutritionnelles. Les quelques données disponibles sur son utilisation thérapeutique traditionnelle se limitent essentiellement aux inventaires. C'est pourquoi cette étude visait à évaluer les propriétés thérapeutiques du « datou » à travers l'estimation du potentiel hypocholestérolémiant.

2-Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de «*datou* », acheté au marché de Yirimadjo (Bamako) au Mali. Ce condiment traditionnel «*datou* », a été fabriqué à base des graines d'oseille de guinée (*Hibiscus sabdariffa*).

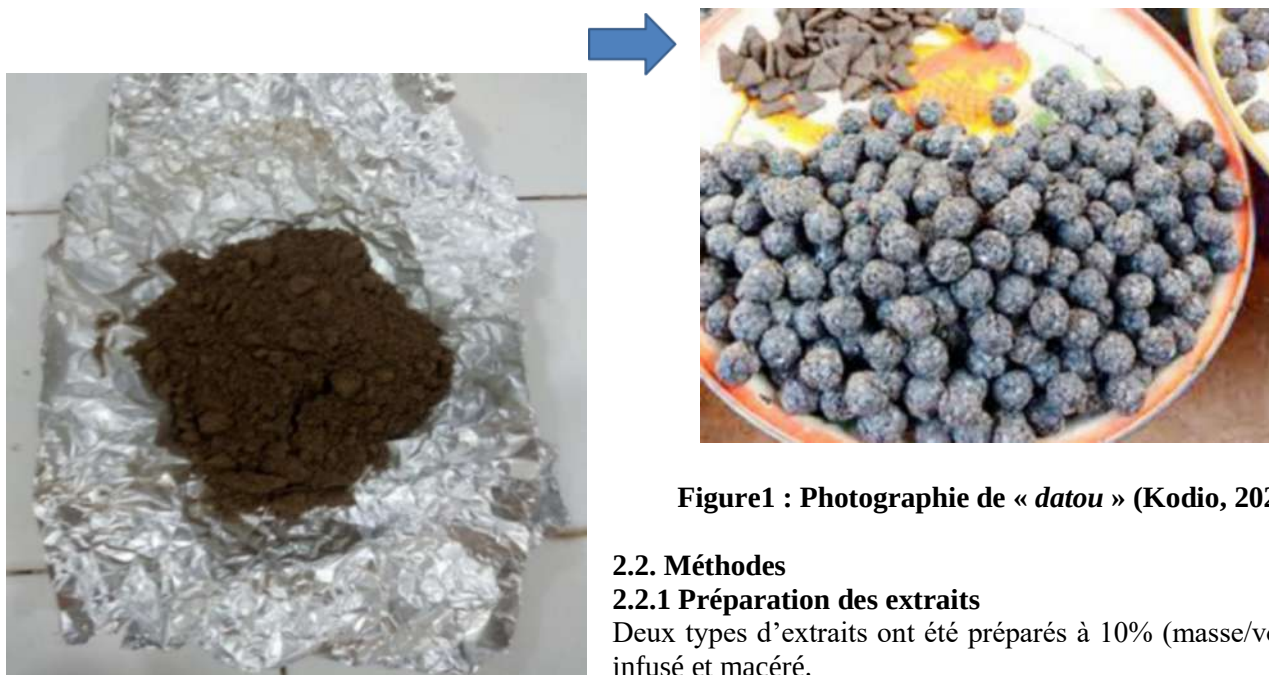


Figure1 : Photographie de «*datou* » (Kodio, 2021)

2.2. Méthodes

2.2.1 Préparation des extraits

Deux types d'extraits ont été préparés à 10% (masse/volume) : infusé et macéré.

Pour l'infusion, 10 g de poudre ont été placés dans 100 mL d'eau bouillante. Après 15 min, le mélange est filtré.

Pour la décoction, après une ébullition de 15 min, le mélange est filtré.

Les filtrats après refroidissement sont ainsi récupérés et réduisent sous pression à 45 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif puis conservé au froid pour les analyses futures.

2.2.2. Evaluation de l'activité anticholestérolémiant *in vitro*

L'activité anticholestérolémiant *in vitro* des extraits a été estimée à travers le test de liaison aux sels biliaires.

-Préparation et hydrolyse de protéines dégraissées

Les hydrolysats protéiques de «*datou* » ont été préparés selon le protocole de Kongo-Dia-Moukala et al.[6] légèrement modifié. Des isolats de protéines dégraissées ont été préparés par extraction alcaline à pH11,50, suivie d'une précipitation à pH4,50 puis lyophilisés. Les protéines dégraissées lyophilisées à 5 % dans l'eau distillée ont été soumises à l'hydrolyse de trois enzymes individuelles (l'alcalase, la trypsine et la protéase) pendant 90 min à pH constant par l'ajout d'une solution de NaOH 0,5M. A chaque 30 min, un volume de l'hydrolysate est prélevé et chauffé à 85 °C pendant 10 min pour inactiver l'enzyme.

-Test de liaison aux sels biliaires

La capacité de liaison des hydrolysats aux sels biliaires de cholate et désoxycholate de sodium a été déterminée selon la méthode décrite par Zhao et al.[7]. Chaque sel biliaire (substrat) a été dissout dans un tampon phosphate (pH6,5) pour obtenir une solution de 2 mM, correspondant ainsi à leur concentration physiologique. Dans la présente étude, les protéines de «*datou* » ont été hydrolysées indépendamment pendant 30min ;60min et 90 min avec l'alcalase, la trypsine, et la protéase afin de déterminer l'enzyme la plus appropriée pour la production de peptides liant les sels biliaires. L'atorvastatine, molécule de référence, a été utilisée comme contrôle positif. Le pourcentage de liaison aux sels biliaires a été déterminé par la formule suivante :

$$\% = 1 - \left[\frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du témoin négatif}} \right] \times 100$$

3. Résultats et Discussion

Dans la présente étude, les protéines de « datou » ont été hydrolysées indépendamment pendant 30 ; 60 et 90 min avec l'alcalase, la trypsine, et la protéase afin de déterminer l'enzyme la plus appropriée pour la production de peptides liant les sels biliaires.

3.1. Taux de liaison des hydrolysats au cholate de sodium

Les figures 2 et 3 représentent la capacité de liaison de nos hydrolysats d'infusion et décoction au cholate de sodium.

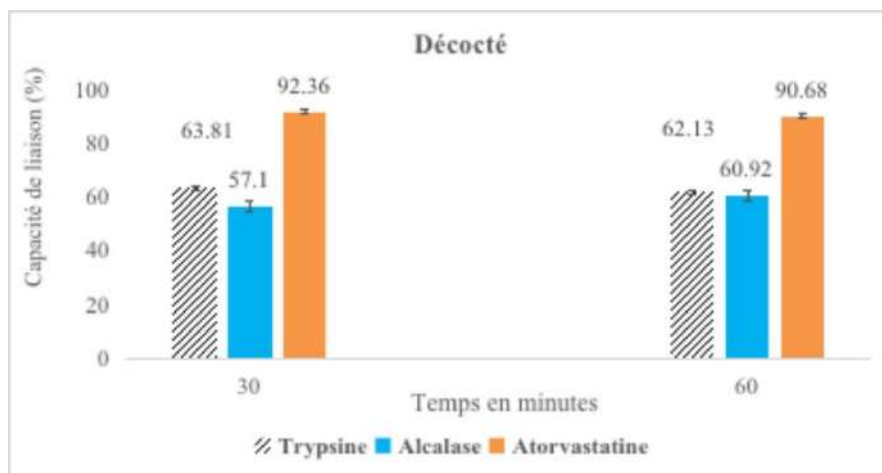


Figure 2 : Capacité de liaison au cholate de sodium pour le décocté

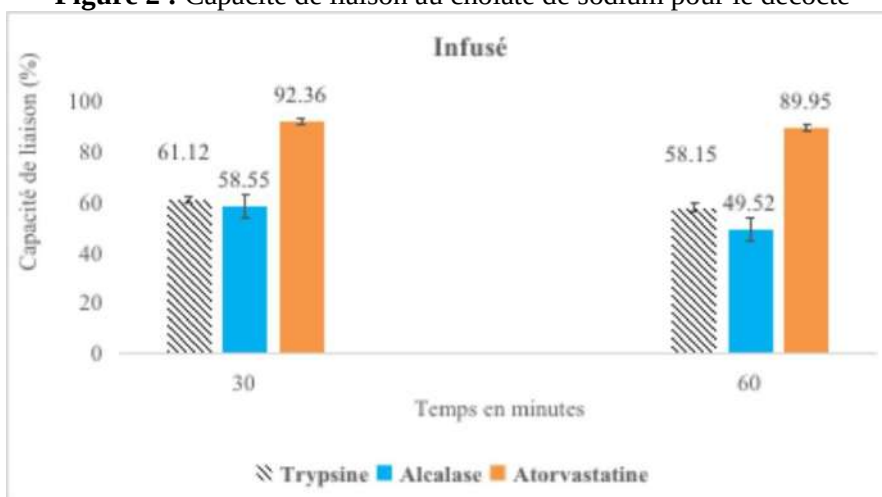


Figure 3 : Capacité de liaison au cholate de sodium pour l'infusé

3.2. Taux de liaison des hydrolysats au désoxycholate de sodium

Les figures 4 et 5 représentent la capacité de liaison de nos hydrolysats d'infusion et décoction au Desoxycholate de sodium.

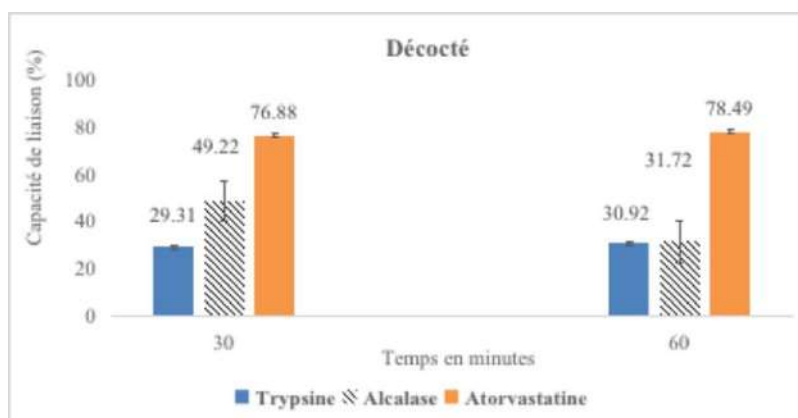


Figure 4 : Capacité de liaison au désoxycholate de sodium pour le décocté

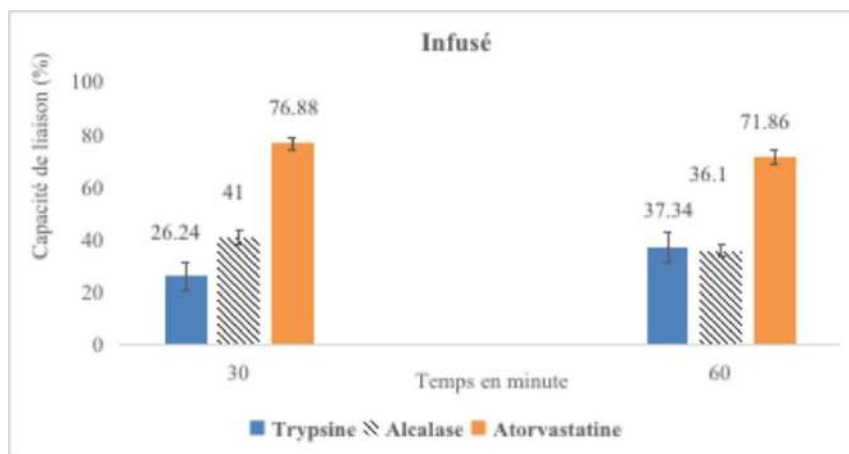


Figure 5 : Capacité de liaison au désoxycholate de l'infusé

La méthode rapportée ici semble être une technique satisfaisante pour mesurer la capacité de liaison des peptides aux acides biliaires.

L'atorvastatine, comme prévu, a lié tous les acides biliaires sélectionnés sous le même traitement. Le site de concentration des acides biliaires utilisés et le pourcentage de liaison dans la présente étude sont conformes aux résultats des études précédentes.[3]. Comme les résultats l'ont montré, tous les hydrolysats contenaient des peptides efficaces capables de lier les acides biliaires. Ce sont les hydrolysats de trypsine qui ont présenté les meilleurs résultats avec 63,81% de liaison au cholate de sodium après 30 minutes suivi de ceux du décocté avec 55,3% de liaison au désoxycholate de sodium après 90 minutes d'hydrolyse avec décocté. Ces résultats sont similaires avec celui de [8] dont le cholate de sodium a été lié par l'hydrolysats à différents niveaux, de $48,39 \pm 2,86$ % pour l'hydrolysats de protéase de 90 min à $72,37 \pm 2,29$ % pour l'hydrolysats de trypsine de 90 min, tandis que l'Atorvastatine, utilisé comme contrôle positif, avait une capacité de liaison au cholate de $92,61 \pm 1,37$ % . La synthèse des acides biliaires à partir du cholestérol est ajustée par leur concentration dans le foie [10] La présence de l'hydrolysats de trypsine de 90 min dans l'intestin peut diminuer non seulement la circulation hépatique des acides biliaires, mais aussi leur contact avec la muqueuse colorectale par l'effet de liaison. Par conséquent, il est possible pour l'homme d'ingérer un peu d'hydrolysats de trypsine pour prévenir l'hypercholestérolémie et le cancer colorectal en même temps.

5.Conclusion et perspectives

La présente étude montre que les extraits de « datou » sont riches en métabolites secondaires. Des taux d'inhibition de dénaturation protéique assez élevés ont été observés avec tous les extraits. Le décocté a montré la plus grande activité anti-inflammatoire. De même, ces extraits ont été capables de fixer tous les sels biliaires testés. Les meilleurs potentiels de liaison ont été enregistrés avec les hydrolysats de trypsine de l'extrait décocté. Ces données expérimentales montrent que cette espèce constituerait une source potentielle d'agents réducteurs de cholestérol pour les patients hypercholestérolémiques. Toutefois, une étude plus approfondie serait nécessaire pour isoler les peptides individuels responsables de l'activité hypocholestérolémiante des hydrolysats et d'identifier leurs séquences d'acides aminés afin de mieux élucider la relation structure-fonction des peptides.

Références bibliographiques :

- [1] R. A. Souley and H. O. Diadié, "Caractérisation Biochimique et Microbiologique de Soumbala de néré (*Parkia biglobosa*) et d ' oseille de Guinée (*Hibiscus sabdariffa*) Produits au Niger Biochemical and Microbiological Characteristics of soumbala from *Parkia biglobosa* and *Hibiscus sabda*," vol. 16, no. 3, pp. 224–243, 2020, doi: 10.19044/esj.2020.v16n3p224.
- [2] J. Vioque, R. Sánchez-Vioque, A. Clemente, J. Pedroche, and F. Millán, "Partially Hydrolyzed Rapeseed Protein Isolates with Improved Functional Properties," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 77, no. 4, pp. 447–450, 2000.
- [3] F. Tounkara, T. Amza, C. Lagnika, G. W. Le, and Y. H. Shi, "Extraction, Characterization, Nutritional and Functional Properties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Seed Proteins'," *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, vol. 35, pp. 159–166, 2013.
- [4] Khalil, El-Adawy, T.A, H, and A, "Characteristic of Roselle Seeds as a New Source of Protein and Lipid,"

- J. Agric. and Food Chem.*, vol. 42, no. 9, pp. 1896–1900, 1994.
- [5] F. Zhong, J. Liu, F. Shoemaker, C., and J. Ma, “Preparation of Hypocholesterol Peptides from Soy Protein and their Hypocholesterolemic Effect in Mice,” *Food Res. Int.*, vol. 40, no. 6, pp. 661–667, 2007.
- [6] J. U. Kongo-Dia-Moukala, H. Zhang, and I. Pierre Claver, “In Vitro Binding Capacity of Bile Acids by Defatted Corn Protein Hydrolysate,” *Int. J. Mol. Sci.*, no. 12, pp. 1066–1080, 2011.
- [7] Wäsche, Y. Yoshie-Stark, and A., “In Vitro Binding of Bile Acids by Lupin Protein their Isolates and Hydrolysates,” *Food Chem*, vol. 88, no. 2, pp. 179–84, 2004.
- [8] I. T. a Moussa Oumou Koné a and c and M. K. d Mamadou Abdoulaye Konaré a*, Nouhoum Diarra a, Rokia Sanogo b, “In vitro Anti-inflammatory and Anti-cholesterolemic Activities of *Chrysanthellum americanum* (L) Vatke Harvested in Mali,” *Vitr. Anti-inflamm. Anti-cholesterolemic Act. Chrysanth. Am. (L) Vatke Harvest. Mali*, vol. 31, no. 10, pp. 91–99, 2022, doi: 10.9734/ijbcr/2022/v31i10791.
- [9] L. JT, Y. B, W. B. Hong, and S. H. Xu, “The Pharmacologic Effect of 5-Fu and the Change of the Intracellular Bile Acid Activities of Colon Cancer, China: Chin.,” *Pharmacol. Bull.*, 1993.
- [10] D. . Zhao, Y. Wei, Y. S. Huang, and Q. T. Huang, “Biochemistry of Liver and Gall bladder. In Medical Biochemistry, 3rdP P ed. Biochemistry of Liver and Gall bladder. In Medical Biochemistry, 3rdP P ed.,” *Beijing World Publ. Co*, p. 25, 1998.
- [11] G. Leelaprakash and S. Dass, “Invitro anti_inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*.,” *Int. J. Drug Dev. Res.*, vol. 3, no. 3, pp. 189–196, 2011.
- [12] Z. Zreen, S. Kiran, A. Hameed, T. Gulzar, and T. Farooq, “Phytochemical and comparative biological studies of *Diospyros kaki* extracts,” *Int. J. Biosci. | IJB |*, vol. 14, no. 1, pp. 207–223, 2019.
- [13] S. Yui, M. Mikami, Y. Mimaki, Y. Sashida, and M. Yamazaki, “Inhibition effect of *Amaryllidaceae* alkaloids, Lycorine and Lycoricidinol on macrophage TNF- α production.2001;121:.,” *Yakugaku Zasshi*, pp. 167–71, 2001.
- [14] C. T. Sushil and H. Nisreen, “Biological activities and role of flavonoids in human health –a review. Res.,” *Indian J. Sci.*, vol. 12, no. 2, pp. 193–196, 2017.
- [15] M. Sayyah, N. Hadidi, and M. Kamalinejad, . “Analgesic and anti-inflammatory activity of *Lactuca sativa* seed extract in rats. Jo, :,” *urnal Ethnopharmacol.*, vol. 92, pp. 325–329, 2004.
- [16] A. Tatiya, D. Desai, S. Surana, and P. Patil, “Anti-inflammatory and nitric oxide scavenging activity of roots of *Eranthemum roseum*.,” *Indian Drugs*, vol. 44, no. 11, pp. 815–818, 2007.
- [17] O. Werz *et al.*, “Cannflavins from hemp sprouts, a novel cannabinoid-free hemp food product, target microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase.,” *Pharma Nutr.*, vol. 2, pp. 53–60, 2014.
- [18] M. A. H. Fane *et al.*, “ qualite nutritive du datou (*hibiscus sabdariffa*) produit au mali :,” vol. 2, no. 25, pp. 25–32, 2021.
- [19] T. Hamata, T. I, and S. L, “Comparative study of phenolic compound contents and antioxidant potential of *Moringa oleifera* Lam. leaf extracts from the four climatic zones of Mali.,” *Int. J. Biosci.*, vol. 17, no. 3, pp. 105–113, 2020, doi: <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/17.3.105-113>.
- [20] M. CISSE *et al.*, “Inhibitory and antioxidant activities of enzymes involved in hyperglycemia of *Chrysanthellum americanum*(L.)Vatke extracts.,”” *J. Pharm. Biol. Sci.*, vol. 17, no. 5, pp. 15–19, 2022, doi: DOI: 10.9790/3008-1705011519.

Analyse pollinique et évaluation de l'activité antioxydante de miels issus de quatre localités de la Côte d'Ivoire

Yeboué Koffi Apollinaire¹, Adou Axel Demel^{*2}, Assi-Kaudjhis Chimène³, Kabran Guy Roger Mida¹, Mamyrbékova-BékroJanat Akhanovna¹, Békro Yves-Alain¹

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (www.labcbosn.com) / UFR-SFA / Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 0801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

²Département des Sciences et Techniques, Université Alassane Ouattara, 01 BP 18 Bouaké 01, Côte d'Ivoire

³Laboratoire des milieux Naturels et Conservation de la Biodiversité / UFR Biosciences / Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

*Auteur correspondant : demelaxel@gmail.com

Résumé

Les miels des pays en développement demeurent sous-cotés sur les marchés internationaux, cela est dû aux manques d'informations sur leur origine florale et leur composition chimique. La présente étude se veut une valorisation de miels issus de quatre localités de la Côte d'Ivoire. Pour ce faire, une étude pollinique suivie d'une évaluation de l'activité antioxydante ont été menées sur lesdits miels. La méliissopalynologie a permis d'identifier trente taxons polliniques et a permis de répartir les miels en miels monofloraux et multifloraux. Quant à l'évaluation de l'activité antioxydante, les miels se sont montrés moins actifs dans le test FRAP comparativement aux références. Cependant, pour la méthode DPPH, les extraits sélectifs à l'acétate d'éthyle ont exhibé une activité significative par rapport aux extraits au chloroforme. Cette présence d'activité antioxydant pourrait se traduire par la présence d'espèces végétales telles que *Mangifera indica*, *Parkia biglobosa*, *Vitellaria paradoxa*. Cette étude, a montré que le miel ivoirien a la capacité de neutraliser les radicaux libres, sa consommation a donc un effet bénéfique sur la santé. Des études plus approfondies seront par la suite menées sur les autres produits du rucher en vue d'aider les apiculteurs à la labellisation du miel ivoirien.

Mots clés : miel, composition pollinique, activité antioxydante, méliissopalynologique

Pollen analysis and evaluation of the antioxidant activity of honeys from four localities in Ivory Côte d'Ivoire

Summary

Honeys from developing countries remain underpriced on international markets, due to lack of information on their floral origin and chemical composition. This study aims to promote honey from four localities in Côte d'Ivoire. To do this, a pollen study followed by an evaluation of the antioxidant activity was carried out on said honeys. Melissopalynology made it possible to identify thirty pollen taxa and made it possible to divide the honeys into monofloral and multifloral honeys. As for the evaluation of antioxidant activity, honeys were less active in the FRAP test compared to the references. However, for the DPPH method, the selective ethyl acetate extracts exhibited significant activity compared to the chloroform extracts. This presence of antioxidant activity could result in the presence of plant species such as *Mangifera indica*, *Parkia biglobosa*, *Vitellaria paradoxa*. This study showed that Ivorian honey has the ability to neutralize free radicals, its consumption therefore has a beneficial effect on health. More in-depth studies will subsequently be carried out on other apiary products with a view to helping beekeepers with the labeling of Ivorian honey.

Key words: honey, pollen composition, antioxidant activity, melissopalynological

1. Introduction

De nombreuses études ont montrées que certaines maladies notamment le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète seraient le résultat des dommages oxydatifs causés par les radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène. En effet, ces particules chimiques instables et hautement réactives peuvent être piégées ou neutralisées par des substances antioxydantes naturellement présentes dans les plantes médicinales, les fruits, les légumes et le miel [1-3]. La dernière citée est une substance naturelle produite par les abeilles à partir du nectar des fleurs et des sécrétions des plantes. Elle est connue pour ses activités antioxydantes et enzymatiques. En effet, le miel est un mélange complexe de sucres contenant également d'autres constituants tels que des minéraux, des protéines, des vitamines, des acides organiques, des flavonoïdes, des composés phénoliques et des enzymes [4].

La production mondiale annuelle de miel des pays africains est estimée à 198 668 tonnes, soit moins de 1,5% de la production mondiale. Au nombre de ces derniers, les pays de l'Afrique de l'ouest enregistrent le plus faible taux (21 484 tonnes) [5]. En effet, la filière apicole est le plus souvent réalisée dans ces pays de manière traditionnelle [6-7]. Fort heureusement, ces dernières années dans certains pays notamment en Côte d'Ivoire, la mise en place de pratiques modernes a permis de revaloriser la filière, entraînant ainsi une hausse de la productivité et la préservation de la biodiversité [8]. Toutefois, ces nectars sont taxés de produits de mauvaises qualités sur les

marchés internationaux. Cela est dû à l'absence de données fiables sur leur origine botanique et leur qualité. L'un des indicateurs de qualité à déterminer est le type de pollen végétal, car il permettra d'appréhender correctement la véritable nature du miel et sa composition, qui varie en fonction des sources florales. C'est dans ce contexte que le présent travail s'est fixé pour objectif d'étudier les échantillons de miel produits dans quatre (04) localités de la Côte d'Ivoire à travers leurs analyses pollinique et l'évaluation de leur potentiel antioxydant.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

Le matériel végétal est constitué de cinq échantillons de miel collectés auprès d'apiculteurs privés répartis dans quatre villes de Côte d'Ivoire (**Tableau I**). Ces supports d'étude ont été conservés dans des bouteilles en verre, dans un endroit propre, à l'abri de la lumière et à température ambiante. La sélection a été faite en fonction de la répartition des apiculteurs sur le territoire ivoirien. Par ailleurs, certains échantillons ont été retenus en se référant à l'emplacement des ruchers (Biankouma : M₃ ; M₄) (**Tableau I**).

Tableau I: Présentation des échantillons de miels étudiés

Échantillons	Sites de collecte	Situation géographique*	Coordonnées GPS
M ₁	Bouna (Chef-lieu de la région de Bounkani)	Nord-Est	9°16' N 3°00' O
M ₂	Ferkessédougou (Chef-lieu de la Région du Tchologo)	Nord-Ouest	7°57'36'' N 6°40'22'' O
M ₃ (en ville)	Biankouma	Centre-Ouest	7°44'00'' N
M ₄ (en forêt)	(Région du Tonkpi)		7°37'00'' O
M ₅	Molonoublé (Région des Lacs)	Centre	7°24'00'' N 4°59'00'' O

2.2 Méthodes

2.2.1 Analyse pollinique

L'étude pollinique a été effectuée grâce à la méthodologie décrite dans les travaux de [9]. Ainsi, 10 g de miel dissous dans 20 ml d'eau distillée sous agitation pendant 10 à 15 min ont été centrifugés (centrifuge SIGMA 2-7) à 1500 tr/min pendant 15 min. Après centrifugation et récupération du culot, 10ml d'eau distillée ont été ajoutées à ce dernier puis centrifugé à nouveau à 1500 tr/min pendant 15 min. Le culot est par la suite récupéré et 5 ml d'eau glycinée dans les proportions (eau/glycérine : 1/1 ; v/v) ont été ajoutés. Après 30 min, le mélange culot et eau glycinée a été centrifugé à 1500 tr/min pendant 15 min. Le culot a été récupéré à nouveau et placé au centre d'une lame de microscope avec 5mm² de gelée de glycérine. La lame a été chauffée doucement sur une plaque chauffante afin de dissoudre la gelée de glycérine. Elle a été ensuite couverte d'une lamelle et scellée avec de la paraffine. Le tout a été porté au microscope (Marque Optikos microscopes Italy) dans le but de visualiser les grains de pollen. L'identification de ces derniers a été réalisée grâce à une bibliothèque de lames polliniques de référence [10]. La classification des pollens a été effectuée selon les approches de **Feller-Demalsy et Parent** [11]

2.2.2. Estimation du pouvoir antiradicalaire

2.2.2.1. Méthode DPPH

L'évaluation du potentiel antiradicalaire des extraits sélectifs de miel a été faite suivant les procédés décrits dans la littérature [2;12]. Le radical DPPH a été solubilisé dans l'éthanol absolu, pour obtenir une solution de concentration 0,3 mg/ml. Différentes gammes de concentrations (4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml et 0,125 mg/ml) de chaque extrait de miel ont été préparées dans l'éthanol absolu. Dans des tubes secs et stériles, ont été introduits respectivement 1 ml d'extrait et 2 ml de solution éthanolique de DPPH. Après agitation, les tubes ont été placés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance du mélange a été ensuite mesurée à 517 nm contre un blanc constitué de 1 ml d'éthanol pur et 2 ml de solution de DPPH. Le témoin positif de référence a été la quercétine. Les pourcentages de réduction du DPPH (PR) ont été calculés suivant la formule (I)

$$PR = (Ab - Ae) \times 100 / Ab \quad (I)$$

PR : pourcentage de réduction ; **Ab** : absorbance du blanc ; **Ae** : absorbance de l'échantillon

L'efficacité des extraits a été mesurée grâce à l'obtention de leur concentration médiane (CR₅₀), laquelle est définie comme étant la concentration nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du radical DPPH. Cette grandeur a été déterminée avec le logiciel Excel 2010.

2.2.2.2. Méthode FRAP

Les travaux de Benzie et Strain [13], ont été utilisés pour la mise en œuvre du test FRAP. 500 µl de chaque échantillon de miel (0,25 g/ml) ont été mélangés à 2,5 ml de la solution de FRAP, laquelle est constituée du mélange de : 25 ml du tampon de CH₃COONa (300 mM, pH 3,6) ; 2,5 ml de TPTZ (10 mM) dissout dans du HCl (40 mM) et 2,5 ml de la solution de FeCl₃ (20 mM). Après 5 min d'incubation à 37°C, l'absorbance a été lue à 593 nm. Les concentrations de réduction du cation Fe³⁺ en Fe²⁺ ont été obtenues à partir d'une droite d'étalonnage réalisée par un extrait d'étalon de Trolox à différentes concentrations (1,5 ; 0,75 ; 0,375 ; 0,187 ; 0,0935 et 0,04675 mM), lequel a été préparé dans les mêmes conditions que les échantillons de miel. La quercétine a été utilisée comme antioxydant de référence. Les concentrations des composés réducteurs ont été exprimées en milligramme équivalent Trolox par gramme de miel (mg ET /g de miel) [14].

2.2.3. Analyse statistique

L'analyse statistique des données polliniques des échantillons de miel a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistique 25. Une analyse en composantes principales (ACP) et une classification ascendante hiérarchique (CAH) ont été réalisées. La corrélation a été vérifiée par le critère de Kaiser-Meyer-Olkin. L'AHC et le dendrogramme ont été réalisés en fonction des matrices calculées en distance euclidienne, entre les paires d'échantillons de miel.

3. Résultats et discussion

3.1. Spectre pollinique

L'analyse pollinique a indiqué la présence de plusieurs pollens dans les échantillons de miel de Côte d'Ivoire (Tableau II).

Tableau II : Répartition des pollens dans les échantillons de miel de Côte d'Ivoire

Miels	Origine botanique	Pollens dominants (≥ 45 %)	Pollens d'accompagnements (15-45%)	Pollens minoritaires (3-15%)	Pollens très minoritaires (≤ 3%)
M ₁	Monofloral	<i>V. paradoxa</i> (46.30%)	<i>P. Biglobosa</i> (18.52%)	<i>M. indica</i> (6.48%) <i>A. occidentale</i> (9.26%)	<i>A. digitata</i> (0.92%), <i>A. africana</i> (0.92%), <i>T. guineensis</i> (0.92%), <i>Ixora sp</i> (0.92%), <i>D. guineense</i> (0.92%), <i>C. pulcherrima</i> (0.92%), <i>H. squamosus</i> (0.92%), <i>B. buonopozense</i> (1.85%), <i>C. pentandra</i> (1.85%), <i>C. procera</i> (1.85%), <i>T. neriifolia</i> (1.85%), <i>A. cordifolia</i> (2.78%), <i>T. grandis</i> (2.78%)
M ₂	Multifloral	-	<i>V. paradoxa</i> (30%) <i>M. indica</i> (19.28%)	<i>C. pentandra</i> (3.57%), <i>A. cordifolia</i> (3.57%), <i>A. digitata</i> (5.71%), <i>P. biglobosa</i> (11.43%), <i>A. occidentale</i> (12.14%)	<i>H. sublobata</i> (0.71%), <i>D. guineense</i> (0.71%), <i>C. laurifolia</i> (0.71%), <i>P. santalinoides</i> (0.71%), <i>C. sanderianum</i> (0.71%), <i>T. guineensis</i> (1.43%), <i>C. procera</i> (1.43%), <i>Ixora sp</i> (1.43%), <i>B. buonopozense</i> (2.14%), <i>A. africana</i> (2.14%), <i>T. neriifolia</i> (2.14%)
M ₃	Multifloral	-	<i>V. paradoxa</i> (20.35%),	<i>A. cordifolia</i> (4.07%), <i>M. arboreus</i> (4.07%), <i>T. guineensis</i> (4.07%), <i>M. indica</i> (4.65%), <i>E. guineensis</i> (6.39%),	<i>T. grandis</i> (0.58%), <i>C. javanica</i> (0.58%), <i>H. sublobata</i> (0.58%), <i>Ixora sp</i> (0.58%), <i>T. neriifolia</i> (0.58%), <i>P. angolensis</i> (0.58%), <i>D. gilgiana</i> (0.58%), <i>C. laurifolia</i> (0.58%), <i>P.</i>

				<i>A. africana</i> (7.56%), <i>C. Arabica</i> (8.72%), <i>C. pentandra</i> (11.63%), <i>B.</i> <i>buonopozense</i> (14.53%)	<i>santalinoides</i> (0.58%), <i>P.</i> <i>biglobosa</i> (1.16%), <i>C. roseus</i> (1.16%), <i>A. occidentale</i> (1.74%), <i>M. oppositifolius</i> (1.74%), <i>C.</i> <i>pulcherrima</i> (2.91%)
M₆	Monofloral	<i>M. indica</i> (49.14%)		<i>B. buonopozense</i> (4.31%), <i>V. paradoxa</i> (8.62%), <i>A.</i> <i>occidentale</i> (8.62%), <i>E. guineensis</i> (11.21%)	<i>P. biglobosa</i> (0.86%), <i>C.</i> <i>Arabica</i> (0.86%), <i>M.</i> <i>oppositifolius</i> (0.86%), <i>C.</i> <i>procera</i> (0.86%), <i>P. reclinata</i> (0.86%), <i>P. santalinoides</i> (0.86%), <i>C. sanderianum</i> (0.86%), <i>C. pulcherrima</i> (0.86%), <i>T. grandis</i> (1.72%), <i>H.</i> <i>squamosus</i> (1.72%), <i>A. digitata</i> (2.59%), <i>C. pentandra</i> (2.59%), <i>T. nerifolia</i> (2.59%)
M₇	Monofloral	<i>C.</i> <i>pentandra</i> (45.87%)	<i>B. buonopozense</i> (15.60%)	<i>V. paradoxa</i> (3.67%), <i>E. guineensis</i> (7.34%) <i>A. digitata</i> (7.34%), <i>A. Africana</i> (11.93%)	<i>C. Arabica</i> (0.92%), <i>C. roseus</i> (0.92%), <i>H. sublobata</i> (0.92%), <i>P. santalinoides</i> (0.92%), <i>C.</i> <i>pulcherrima</i> (0.92%), <i>D.</i> <i>guineensis</i> (1.43%), <i>P. biglobosa</i> (2.75%)

Selon les travaux de **Feller-Demalsy et Parent [11]**, les taxons peuvent être classés en quatre (4) catégories : les taxons très fréquents dont le nombre de pollens est supérieurs à 45% ; les taxons fréquents dont les pollens sont appelés pollens d'accompagnement, ils occupent entre autre 15 à 45% du nombre total de pollens; ensuite les taxons peu fréquents qui sont représentés par un effectif de pollens compris entre 3 et 15%; enfin les taxons rares qui sont matérialisés par des quantités de pollens inférieures à 3%. Ainsi les taxons identifiés lors de notre étude ont été regroupés en dix-huit (18) familles de plantes réparties comme suit : *Fabaceae* (4 espèces), *Malvaceae* et *Apocynaceae* (3 espèces chacune), *Bombacaceae*, *Anacardiaceae*, *Arecaceae*, *Rubiaceae* et *Euphorbiaceae* (2 espèces chacune), *Sapotaceae*, *Mimosaceae*, *Asteraceae*, *Verbenaceae*, *Urticaceae*, *Ulmaceae*, *Convolvulaceae*, *Myristicaceae*, *Putranjivaceae* et *Amaryllidaceae* (1 espèce chacune) (**Tableau I**). Les miels de Bouna (M₁) et de Molonoubé (M₇) contiennent des pollens dominants (**Tableau I**), avec des proportions supérieurs à 45 % (≥ 45 %). Ainsi ces miels peuvent être considérés comme des miels monofloraux. En effet, selon les travaux de Von Der Ohe et collaborateurs [15], un miel est qualifié de monofloral, si le nombre de pollens de ce taxon est supérieur à 45%. De ce fait, le miel de Bouna (M₁) de la région de Bounkani (Nord-Est) peut être considéré comme étant un miel de *Vitellaria paradoxa* ; enfin celui de Molonoubé (M₅) de la région des Lacs (Centre) est un miel de *Ceiba pentandra*. Par ailleurs, l'échantillon de miel de Ferkessédougou (M₂) et de Biankouma (M₃ et M₄), situés respectivement au Nord et à l'Ouest peuvent être considérés comme des miels multifloraux, au regard du nombre de taxons identifiés. En effet, ces derniers comptent en leur sein, plusieurs pollens dont la quantité est inférieure à 45%. La différence de la composition pollinique des miels collectés à Biankouma indique les lieux d'emplacement des ruchers. En effet, les ruchers dont sont issus l'échantillon de miel M₃ sont situés dans de petites parcelles au sein de la ville. Quant à ceux de M₄, ils sont situés à la lisière de la forêt. Ce qui offre aux abeilles une panoplie d'espèces florales (fromager, caféier, etc.) pour butiner. En outre, bien que les ruchers dont sont issus l'échantillon de miel de Bouna (M₁) soit implanté dans une plantation d'anacardes (*Anacardium occidentale*), nous avons constaté une faible densité de cette plante dans les spectres polliniques dans ce miel. Cette situation pourrait s'expliquer par différents facteurs notamment la période de floraison des anacardiens, le comportement des abeilles, la sélectivité et la disponibilité des espèces florales, etc. [16-17]. Ces résultats sont en accords avec ceux de Massé et collaborateurs qui ont mentionné la présence en faible quantité d'*Anacardium occidentale* dans les miels issus de trois localités de Séguéla (Bobi, Forona et Woungué) et ce, malgré le fait que les ruchers dont sont issus ces miels soient dans des champs d'anacardes. Toutefois, les d'informations recueillis ont permis de donner l'origine florale des miels produits sur le territoire ivoirien.

3.2. Variabilité pollinique

La composition pollinique des différents échantillons de miels collectés a été soumise à une classification ascendante hiérarchique (CAH) et à une analyse en composantes principales (ACP) afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité pollinique.

L'analyse statistique a mis en évidence la variabilité de la composition pollinique en fonction de la situation géographique des différents échantillons de miels au sein des groupes identifiés. Cette variabilité pollinique observée pourrait être due à plusieurs facteurs phénologiques, bien que des facteurs génétiques ne puissent pas être complètement exclus. La phénologie semble être un facteur important expliquant la variabilité des espèces botaniques permettant aux abeilles une sélectivité et la disponibilité des espèces florales à butiner en fonction des saisons [16-17].

3.2. Activité antioxydante

3.2.1. Méthode DPPH

Les histogrammes des Figures 3 et 4 montrent les effets antioxydants des différents échantillons (chloroformique et acétate éthylique) de miel vis-à-vis du DPPH.

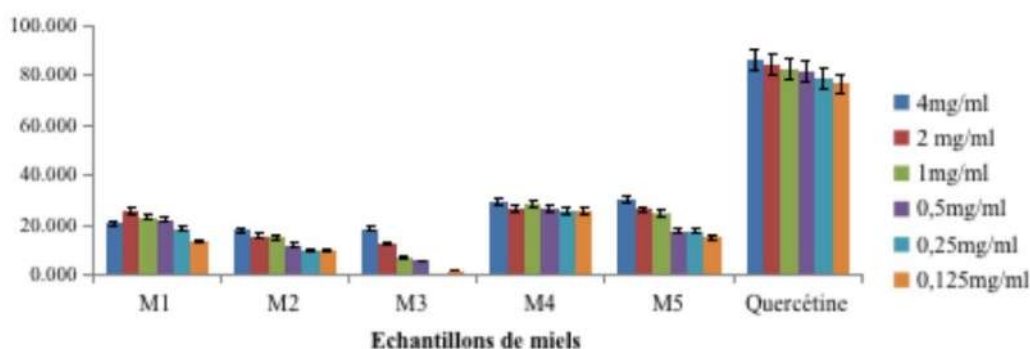


Figure 3 : Pourcentages de réduction du DPPH par les extraits chloroformique de miels

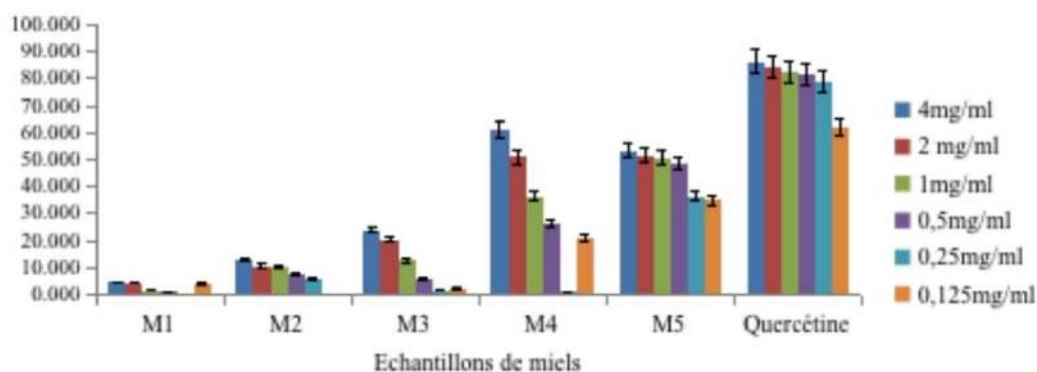


Figure 4 : Pourcentages de réduction du DPPH par les extraits éthyle acétate de miels

Les extraits chloroformiques ont montré une activité antiradicalaire peu significative, avec des pourcentages de réduction (PR) inférieurs à 50% comparativement à la quercétine, (**Figure 3**). Toutefois, les extraits les plus actifs sont ceux de Biankouma (M₄) avec les pourcentages de réduction, suivi des échantillons de Ferkessédougou (M₂) et de Bouna (M₁). En ce qui concerne les extraits à l'acétate d'éthyle, une activité antiradicalaire relativement modérée a été globalement observée, à l'exception des échantillons de Biankouma (M₄) et de Molonoubé (M₅) qui ont exhibé des PR $\geq 30\%$ à certaines concentrations (**Figure 4**). Les extraits d'acétate d'éthyle de miels présentant des PR $\geq 50\%$ sont ceux de Biankouma (M₄) (61,24% à 4 mg/ml et 51,01% à 2 mg/ml) et de Molonoubé (M₅) (53,49% à 4mg/ml ; 51,68% à 2 mg/ml et 50,84% à 1 mg/ml). De ce point de vue, ces deux extraits apparaissent comme étant les plus actifs. La concentration médiane (CR₅₀) de ces échantillons de miel est respectivement de 1,93 mg/ml et 0,8 mg/ml pour M₄ et M₅. En comparant ces valeurs à celle de la quercétine (CR₅₀ < 0,125 mg/ml), nous pouvons dire que les échantillons de Biankouma et de Molonoubé sont moins actifs

que la quercétine. En effet, selon la littérature, plus la CR_{50} est faible et plus l'extrait est efficace [18]. D'autre part, les échantillons de Biankouma (M_4) et de Molonoublié (M_5) présentent un potentiel antioxydant notable comparativement au miel de *Vitellaria* du Burkina Faso, qui a présenté des CI_{50} compris entre $1,37 \pm 0,03$ et $2,43 \pm 0,08$ [19].

3.2.2. Méthode FRAP

Les concentrations de réduction des Fe^{3+} en Fe^{2+} par les échantillons de miel varient de $0,065 \pm 0,004$ à $0,429 \pm 0,001$ mg ET/g de miel (Figure 5). Ces valeurs ont été obtenues après projection sur la droite d'étalonnage du Trolox

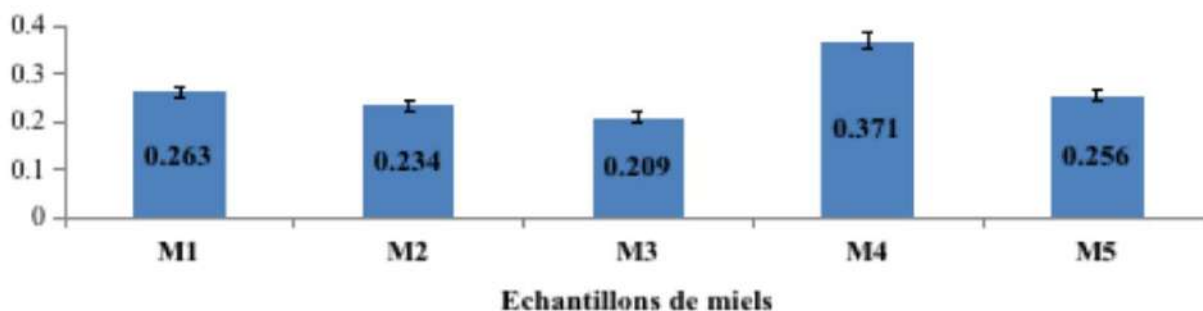


Figure 5 : Concentrations de réduction des Fe^{3+} en Fe^{2+} par les échantillons de miel

Le miel de lisière de forêt de Biankouma (M_4) a signé la concentration de réduction la plus élevée ($0,371 \pm 0,001$ mg ET/g de miel), tandis que celui de la ville de Biankouma (M_3) en a la plus faible ($0,209 \pm 0,004$ mg ET/g de miel). Cependant, ces valeurs restent largement inférieures à celles de la catéchine ($2339,96$ mg ET/g), la quercétine ($359,69$ mg ET/g) et de l'acide tannique ($293,46$ mg ET/g) qui sont des molécules pures utilisées comme antioxydants de référence. D'autre part, en comparant ces résultats à ceux des échantillons de miels d'Argentine (Province de Buenos Aires et Région d'Andine-patagonienne) ($0,19 \pm 0,06$ à $0,43 \pm 0,16$ μ g ET/mg) [14] et du Mexique (Tabasco) (48 à 152 mg ET/mg) [20]. Nous pouvons affirmer que les miels ivoiriens possèdent un caractère antioxydant non négligeable. Ainsi, la présente activité décelée chez l'ensemble des échantillons de miel de Côte d'Ivoire est subordonnée par leur richesse en composés phénoliques en polyphénols, les flavonoïdes [21]. En effet il est rapporté dans la littérature que les feuilles de *Vitellaria paradoxa* et les racines de *Mangifera indica* sont respectivement riches en anthracénosides, en anthocyanes et en terpènes [22]. Quant aux feuilles de *Vitellaria paradoxa*, elles sont riches en composés antioxydants avec une forte présence de flavonoïdes [22]. Il faut noter le miel ivoirien à travers les espèces végétales qui la composent a la capacité de neutraliser les radicaux libres, sa consommation a donc un effet bénéfique sur la santé.

4. Conclusion

La présente étude avait pour objectif de valoriser le miel ivoirien à travers l'étude pollinique suivi de l'évaluation de l'activité antioxydante de miels issus de 4 localités de la Côte d'Ivoire. Les résultats obtenus indiquent que l'analyse melissopalynologique a permis de mettre en lumière la composition pollinique des différents échantillons de miel. Au regard du spectre pollinique obtenu, les miels étudiés ont été répartis en deux catégories à savoir les miels monofloraux et multifloraux.

En outre, la classification ascendante hiérarchique (CAH) et l'analyse en composantes principales (ACP) ont mis en évidence une variabilité pollinique quantitative et géographique des quatre Groupes identifiés.

En plus les échantillons de miels se sont montrés moins actifs dans le test FRAP comparativement aux antioxydants de référence (quercétine, catéchine et acide tannique). Au nombre des extraits testés, les plus antioxydants par le test FRAP sont les miels du Tonkpi. En ce qui concerne l'activité selon la méthode DPPH, les extraits sélectifs à l'acétate d'éthyle ont exhibé une activité significative par rapport aux extraits au chloroforme. Ainsi, les extraits du Biankouma (M_4) et de Molonoublié (M_5) n'ont que présenté une activité notable avec des CR_{50} estimées respectivement à $1,93$ mg/ml et $0,8$ mg/ml. Nous retenons que les espèces végétales sont en parties responsables de cette activité antioxydante à cause de leur richesse en phytoconstitués. Nous pouvons conseiller ces miels aux consommateurs car ils contiennent des phytoconstitués capables de résoudre des déficits nutritifs, mais aussi thérapeutiques.

Références

- [1] Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S. et Tamendjari, A. Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, Algérie, 2016, pp. 85–90.
- [2] Adou, D. A., Guessan, A. H. O. N., -Békro, J. A. M. et Békro, Y.-A. Evaluation of the antioxidant potential and aglycone coumarins contents of ethereal extracts of 4 medicinal plants from Côte d'Ivoire. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2022, Côte d'Ivoire, pp. 46–49.
- [3] Schramm, D. D., Karim, M., Schrader, H. R., Holt, R. R., Cardetti, M. et Keen, C. L. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, pp. 1732–1735.
- [4] Nonotte-Varly, C. Les pollens à potentiel allergénique des miels du monde. Intérêt d'un nouveau procédé: L'allergomélissopalynologie. *Revue Française d'Allergologie*, 2019, pp. 493–499.
- [5] FAOSTAT. (n.d.). Retrieved 6 February 2024.
- [6] Kouassi, D. F., Ouattara, D., Coulibaly, S. et N'guessan, K. E. La cueillette, la production et la commercialisation du miel dans le Département de Katiola (Centre-Nord). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2018, Côte d'Ivoire, pp. 1-12.
- [7] Savadogo, S., Assi Kaudjhis, C. et N'guessan, K. Note sur la place de l'apiculture dans la société Baoulé en Côte d'Ivoire: Cas de deux villages du District de Yamoussoukro. *Geo-Eco-Trop*, 2018, Côte d'Ivoire, pp. 199–206.
- [8] Coulibaly, S., Koudegnan, C. M., Dro, B., Salla, M. et Ouattara, D. Caractérisation de l'activité de butinage du pollen par l'abeille mellifère au Centre-est de la Côte d'Ivoire: Intérêt pour l'apiculture. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2021, Côte d'Ivoire, pp. 9014–9021.
- [9] Louveaux, J., Maurizio, A. et Vorwohl, G. Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 1978, pp. 139–157.
- [10] Roubik W. et Moreno P. Pollen and spores of Barro Colorado Island. *Cabdirect.org*, 1991, Panama, pp. 1-36.
- [11] Feller-Desmaly M. et Parent J. Analyse pollinique des miels de l'Ontario, Canada. *Apidologie* 20, 1989, pp. 127-138.
- [12] Blois, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958, pp. 1199–1200.
- [13] Benzie, I. F. et Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 1996, pp. 70–76.
- [14] Patrignani, M. et Lupano, C. E. Actividad antioxidante de mieles argentinas de la provincia de Buenos Aires y la región Andino Patagónica. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos : 2016, Córdoba.,
- [15] Von Der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M. et Martin, P. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35(Suppl.1), 2004, pp. 18–25.
- [16] Iritié, B., Wandan, N., Paraïso, A., Agathe, F. et Gbomene, L. Identification des plantes mellifères de la zone agroforestière de l'Ecole Supérieure Agronomique de Yamoussoukro (Côte D'Ivoire). *European Scientific Journal*, ESJ October Edition. (2014) 10; 30.
- [17] Massé, D. et Coulibaly, S. Identification de plantes mellifères et propriétés physicochimiques de miels de la région du Worodougou. *International Journal of Current Research*, 2020, Côte d'Ivoire, pp. 67583–67590.
- [18] Etekpo, S. D., N'Gaman-Kouassi, K. C. C., Yao, T. R., Mamyrbekova-Bekro, J. A. et Bekro, Y.-A. Phytochemical, Antioxidant and pharmacological study of (SM.) JACQ.- FEL. (Melastomataceae). *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 2022, Côte d'Ivoire, pp. 37–43.
- [19] Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. et Nacoulma, O. G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 2005, Burkina, pp. 571–577.
- [20] Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Zaldivar-Cruz, J. M., Kuri, V. et Pérez-Álvarez, J. Á. Antioxidant Activity of Artisanal Honey From Tabasco. *International Journal of Food Properties*, 2011, Mexico, pp. 459–470.
- [21] Yeboe, A. K., Kabran, M. R. G., Sorokina, A. E., Adou, A. D., Kouassi, C. K., Mamyrbekova-Bekro, A. J. et Bekro, Y.-A. Physical, physicochemical and nutritional profile of honey produced in nine localities in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2021, Côte d'Ivoire, pp. 1-15.
- [22] Ballo, M. K. (2013). *Etude phytochimique et l'évaluation de l'activité sur Mycobacterium tuberculosis in vitro de 22 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la tuberculose au Mali*. <https://library.adhl.africa/handle/123456789/9812>

Cartographie de la vulnérabilité à la pollution des zones productives du bassin versant de la Lobo à Nibéhibé (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire)

Kamenan Yiwa Monique epse Mangoua¹, Mangoua Oi Mangoua Jules², Kré Yon Edwige³

1 Kamenan Yiwa Monique epse Mangoua, Bp 150 Daloa, Daloa, +225, Côte D'Ivoire.

2 Mangoua Oi Mangoua Jules, Bp 150 Daloa, Daloa, +225, Côte D'Ivoire.

3 Kré Yon Edwige, Bp 150 Daloa, Daloa, +225, Côte D'Ivoire.

mkamenan@gmail.com

Résumé

En Côte d'Ivoire, les eaux de surface constituent les ressources les plus exploitées pour satisfaire les besoins en eau potable des populations des grandes localités comme la ville de Daloa et ses environs. Cependant, elles restent menacées par les polluants organiques, micropolluants et autres substances toxiques mal maîtrisées qui donnent à ces ressources des aspects organoleptiques désagréables. Face à cette situation, la ressource en eau souterraine apparaît comme une ressource majeure d'eau potable de qualité. A cet effet, la gestion durable de cette ressource suggère de s'intéresser à sa vulnérabilité. C'est dans cette optique que l'objectif vise à cartographier la vulnérabilité à la pollution des zones de bonnes productivités du bassin versant de la Lobo. Les SIG associés à la télédétection ont été utilisés pour identifier les zones de stockage des eaux souterraines et à cartographier la vulnérabilité à la pollution à partir de la méthode PaPRI. Les résultats obtenus montrent que la zone d'étude est dominée par la classe de vulnérabilité élevée mais regorge une bonne potentialité en eau. Le bassin dans sa quasi-totalité est considéré comme zone à surveiller vis-à-vis des activités anthropiques intenses et dangereuses donc la réglementation de ces activités s'avère nécessaire.

Mots clés : Bassin versant ; Eaux souterraines ; Pollution ; Vulnérabilité.

Mapping the vulnerability to pollution of productive areas of the Lobo watershed in Nibéhibé (Central-West Ivory Coast)

ABSTRACT

In Ivory Coast, surface water constitutes the most exploited resources to meet the drinking water needs of the populations of large localities such as the town of Daloa and its surroundings. However, they remain threatened by organic pollutants, micropollutants and other poorly controlled toxic substances which give these resources unpleasant organoleptic aspects. Faced with this situation, groundwater resources appear to be a major resource for quality drinking water. To this end, the sustainable management of this resource suggests taking an interest in its vulnerability. It is with this in mind that the objective aims to map the vulnerability to pollution of areas of good productivity in the Lobo watershed. GIS associated with remote sensing have been used to identify groundwater storage areas and to map pollution vulnerability using the PaPRI method. The results obtained show that the study area is dominated by the high vulnerability class but has good water potential. Almost the entire basin is considered an area to be monitored with regard to intense and dangerous anthropogenic activities, so the regulation of these activities is necessary.

Keywords: Watershed; Groundwater; Pollution; Vulnerability

1. Introduction

L'eau est la source de la vie et le facteur le plus important pour la réalisation du développement durable. La gestion des ressources en eau est parmi les questions soulevées, en particulier dans les pays en développement [1]. En effet, une bonne gestion de l'eau conduit au progrès économique et social. À l'inverse, une mauvaise gestion de l'eau entrave le développement et cause la souffrance des populations [2]. Toutefois, l'accès à l'eau potable est devenu une préoccupation majeure pour l'humanité toute entière au point où les instances internationales l'ont inscrit dans les objectifs de développement comme indicateur de développement durable dans le monde d'ici à 2030 [3]. Offrir aux populations des conditions de vie décentes, c'est tout l'enjeu des 17 Objectifs de développement durable (ODD) qui ont été votés par 195 États et qui prévoient notamment, dans leur Objectif 6, l'accès de tous à des services d'assainissement et d'hygiène adéquats d'ici à 2030. Ce qui permettra de mettre fin à la contamination de l'eau et à la propagation des maladies comme le choléra, les diarrhées et la dysenterie. Pourtant, dans presque toutes les grandes villes du monde, l'action anthropique n'épargne pas cette ressource des différentes formes de pollution. En effet, l'utilisation accrue d'intrants agricoles et les rejets d'effluents domestiques, industriels et agro-industriels non contrôlés contribuent à la dégradation de la qualité des ressources en eau [4]. En Côte d'Ivoire, les eaux de surface constituent les ressources les plus exploitées pour satisfaire les besoins en eau potable des populations des grandes localités comme la ville de Daloa et ses environs. Cependant, elles restent menacées par les polluants organiques, micropolluants et autres substances toxiques mal maîtrisées qui donnent à ces ressources des aspects organoleptiques désagréables [5]. Face à cette situation, la ressource en eau souterraine apparaît comme une ressource majeure d'eau

potable de qualité. A cet effet, la gestion durable de cette ressource suggère de s'intéresser à sa vulnérabilité, vue qu'elle peut être considérée comme invariante dans le temps [6]. C'est dans cette optique que le thème dont l'objectif vise à cartographier la vulnérabilité à la pollution des zones de bonnes productivités du bassin versant de la Lobo a été initié.

✓ Présentation de la zone d'étude

Le bassin versant de la Lobo est situé au Centre-ouest de la Côte d'Ivoire entre les longitudes 6°20' et 7°55' Ouest et les latitudes 6° et 6°55' Nord (Figure 1). La population du bassin est estimée à 421 879 habitants [7] soit une densité de 153 habitants par km². Sa superficie est d'environ 2400 km². Le climat du bassin est de type équatorial de transition atténué caractérisé par une saison pluvieuse de Mars à Octobre et une saison sèche de Novembre à Février à faible variation de température [8]. Les formations géologiques du bassin sont dominées par trois entités géologiques, à savoir le granite qui se retrouve principalement au Nord-Ouest de la zone, les schistes et le granitoïde qui occupent presque tout le bassin [9,10]. Sur le plan hydrogéologique, on distingue un aquifère composite constitué des aquifères localisés dans les formations granitiques altérées (altérites) d'une part et dans l'horizon fissuré sous-jacent d'après le modèle conceptuel hydrogéologique des aquifères de roche de socle [11,12].

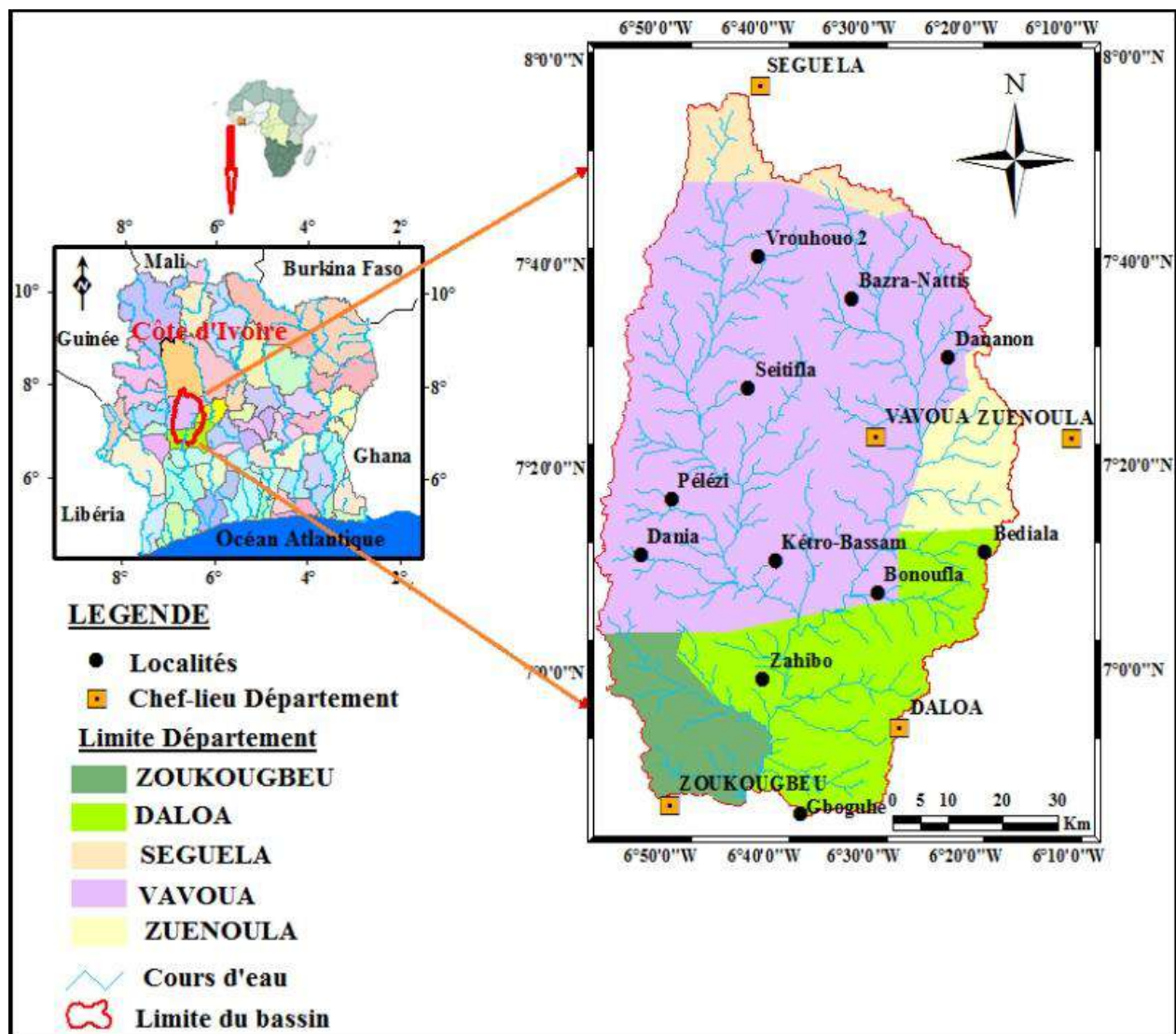


Figure 1 :Présentation de la zone d'étude

2. Matériel et méthodes

Nous avons, pour notre étude eu recours à plusieurs types de données tels que les fiches techniques de forages qui nous ont été fournies par la Direction Territoriale de l'Hydraulique de Daloa, à partir desquels nous avons extrait

la nature et l'épaisseur des altérites et les données cartographiques utilisées qui sont les images MNT (Modèle Numérique de Terrain). Elles nous ont permis d'établir la carte des pentes. Quant à la carte du réseau hydrographique, elle nous a permis de faire ressortir la carte de densité drainage. Toutes ces données associées ont permis d'élaborer la carte d'infiltration de la zone d'étude. Pour la méthodologie concernant la détermination de la zone potentielle de stockage des eaux souterraines dans le bassin versant de la Lobo, différents facteurs sont impliqués. [13] a procédé à la synthèse de plusieurs travaux en indiquant la qualité des résultats obtenus selon les paramètres utilisés. Cet auteur considère que les facteurs majeurs influençant le stockage de l'eau souterraine sont : (1) l'infiltration en tant que source d'eau ; (2) la lithologie de la zone qui régit le débit ; (3) la fracturation qui augmente la perméabilité et la porosité des roches ; ce qui facilite l'infiltration des eaux de surface ; (4) la pente qui contrôle le débit d'eau et son énergie ; (5) le drainage a également un rôle dans la distribution des eaux de ruissellement et donnent une indication sur le régime de l'infiltration [14]. L'intégration de ces facteurs dans un modèle empirique permettra d'identifier sur le bassin versant les zones potentielles de stockage des eaux souterraines. Dans cette étude, la démarche adoptée a considéré que les deux facteurs prépondérants sont les paramètres fracturation et lithologie donc on leur attribue un poids de 30% chacun. Les poids affectés aux trois autres facteurs, Infiltration, Drainage et Pente, sont respectivement de 15%, 15% et 10% [14]. Quant à la cartographie de la vulnérabilité à la pollution des eaux souterraines du bassin versant de la Lobo, nous avons utilisé la méthode PaPRI qui est une adaptation de la méthode PaPRIKa avec les paramètres de protection (P), les caractéristiques de la roche réservoir (R), l'infiltration (I). L'absence de l'épikarst conduit à la limitation du nombre de paramètres à trois (3) contre quatre (4) pour PaPRIKa. La protection des aquifères basée sur les critères de Protection, Roche, Infiltration et Karstification (PaPRIKa) est une avancée des méthodes RISKE [15] et RISKE 2 [16]. Elle caractérise la vulnérabilité à l'infiltration, c'est-à-dire la facilité avec laquelle un polluant peut atteindre le réservoir. Pour plus de détails sur la méthode le lecteur pourrait consulter [17]. La méthode doit être abordable en termes de coût, puis techniquement réalisable pour les hydrogéologues et autres organisations liées à l'eau et enfin, elle doit utiliser les données disponibles [18].

3. Résultats et discussion

3.1. Carte des zones potentielles de stockage des eaux souterraines

Les zones potentielles de stockage des eaux souterraines (figure 2) sont obtenues après la combinaison et l'intégration des paramètres qui influencent le stockage des eaux souterraines dans la région grâce au SIG, à savoir l'infiltration, la lithologie, la fracturation des roches, la pente et le drainage. Le modèle obtenu révèle que 18% de la superficie totale du bassin correspond à la zone du potentiel de stockage excellent et se rencontre principalement dans l'extrême Nord, la partie centrale et l'Est du bassin versant. Ensuite, la classe potentielle de stockage bonne occupe environ 34% de la superficie totale et les classes moyennes et mauvaises occupent respectivement 36% et 12% de la superficie totale du bassin versant. Ces différentes classes se rencontrent sur l'ensemble du bassin versant. Les classes excellente, bonne et moyenne occupent environ 88% de la superficie de la zone, preuve d'une bonne infiltration des eaux. Ainsi, cette bonne infiltration des eaux sur l'ensemble du bassin versant pourrait témoigner d'une bonne disponibilité des eaux souterraines dans le bassin versant de la Lobo. Cette bonne potentialité de stockage des eaux souterraines est principalement due à une faible pente qui favoriserait une bonne infiltration des eaux avec un faible drainage et à une bonne densité de fracturation [19]. Cette bonne infiltration découle également de l'abondance des précipitations qui constituent la source première de l'alimentation des aquifères. En effet, dans les zones tropicales humides comme c'est le cas de la Côte d'Ivoire, les aquifères sont essentiellement alimentés par la pluviométrie via les infiltrations de surface [20,21]. Ainsi, plus la pente est faible plus l'eau s'infiltre et moins le drainage est important plus l'eau s'infiltre [22,23]. La lithologie du bassin de la Lobo pourrait être une des causes de cette bonne potentialité de stockage des eaux souterraines. Selon [24] et [14], la lithologie des systèmes aquifères pourrait être un facteur majeur de stockage des eaux souterraines. Le bassin de la Lobo à Nibéhibé est majoritairement dominé par les granites et les schistes, ce qui pourrait contribuer à donner une explication à cette bonne potentialité de stockage. En effet, selon [25], les granites et les schistes constituent des formations lithologiques généralement très productives or le bassin de la Lobo est à 98% dominé par les roches granitiques et à 2% de schistes.

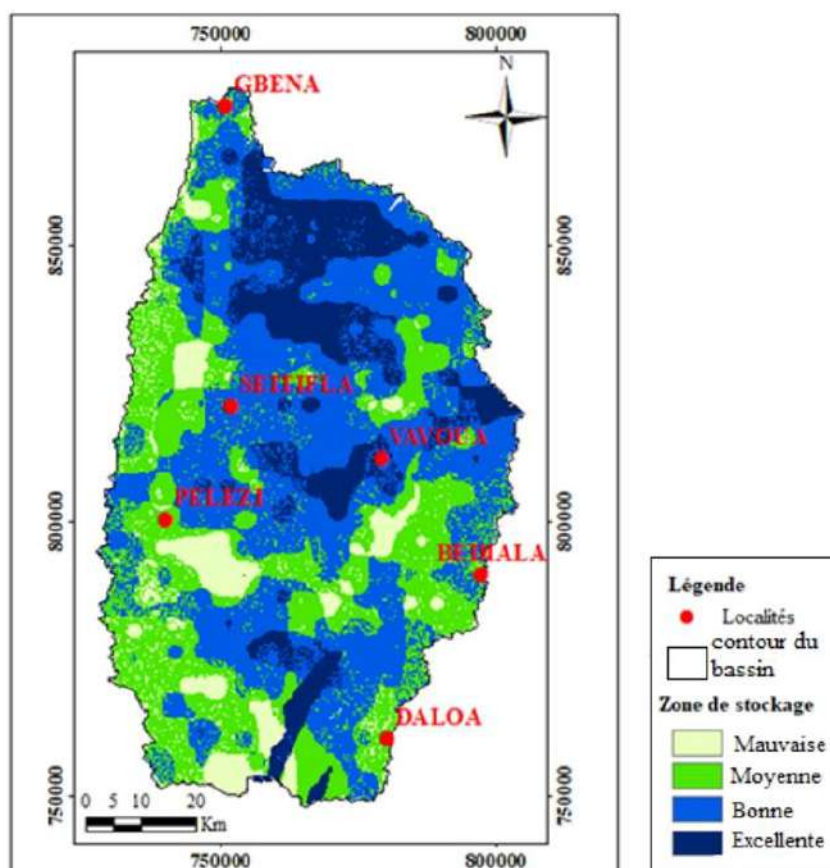


Figure 2 : Domaines potentiels de stockage des eaux souterraines dans le bassin versant de la Lobo

3.2. Etablissement de la carte de vulnérabilité

La combinaison de l'ensemble des critères a permis d'obtenir la carte de vulnérabilité des aquifères à la pollution à partir de la méthode PaPRI. Cette carte (Figure 3) a la particularité de faire ressortir les zones à protéger. L'analyse de ladite carte montre que les classes faibles n'existent pas sur la zone d'étude. En effet les résultats montrent que la classe élevée domine la zone. Les classes de vulnérabilité modérée, élevée et très élevée occupent respectivement environ 9,97%, 89 % et 0,98% de la superficie totale de la zone d'étude. Ces secteurs sont considérés comme des secteurs à surveiller vis-à-vis des activités anthropiques intenses qui ont tendance à polluer les eaux souterraines car ils sont dominés par la classe de vulnérabilité élevée. Cette forte vulnérabilité s'explique par la forte densité de fracturation qui confère aux formations géologiques souterraines une bonne porosité. Ainsi que des faibles pentes qui favorisent l'infiltration des eaux de la surface vers les nappes souterraines. A cela s'ajoutent les épaisseurs moyennes des couches de protection qui facilitent plus ou moins le transport vertical du contaminant. Ces résultats sont similaires à ceux de [6] qui ont souligné l'importance du type de sol, indiquant que la présence d'un sol très perméable associée à une faible profondeur de la nappe et à une forte recharge serait une condition propice pour accroître la vulnérabilité à la pollution des aquifères. La méthode PaPRI a donné de bons résultats dans ce travail comme l'ont montré dans les travaux de [26], [27] mais a connu quelques difficultés dans la réalisation des cartes de vulnérabilité. Ces difficultés résident essentiellement dans le nombre de critères à prendre en compte et dans les limites des classes et des cotes qui leur sont assignées [28]. En dépit de ces différentes limites, la carte de vulnérabilité demeure fiable. La fiabilité de cette carte a été testée par la détermination de la marge d'erreur sur la carte de vulnérabilité comme l'ont fait [6]. Dans la présente étude, la faible valeur de la marge d'erreur sur chaque carte témoigne à la fois de la bonne qualité des notes attribuées aux différents paramètres et de l'adaptation de ces méthodes à la zone d'étude. En effet, la marge d'erreur calculée pour apprécier la méthode, a donné 2,8%. Cette marge d'erreur est plus faible que celles obtenues par [6] à M'bahiakro, ainsi que [29] à Agboville et s'inscrit dans la même gamme que [30] à Adiaké.

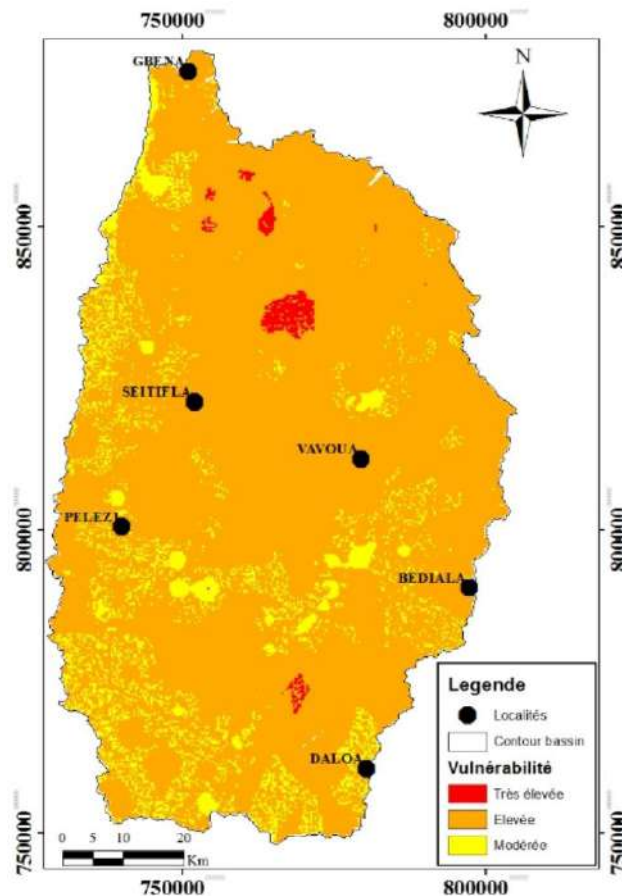


Figure 3 : Carte de la vulnérabilité

4. Conclusion

La cartographie de la zone de productivité révèle que Les classes excellente et bonne occupent environ 52% de la superficie de la zone, preuve d'une bonne infiltration des eaux. Ainsi, cette bonne infiltration des eaux sur l'ensemble du bassin versant pourrait rendre témoignage d'une bonne disponibilité des eaux souterraines. Quant à la cartographie de la vulnérabilité à la pollution des eaux souterraines du bassin versant de la Lobo à Nibéhibé, elle a été réalisée à partir de la méthode de vulnérabilité intrinsèque PaPRI. Cette carte a été obtenue par la combinaison des trois critères à savoir : les critères protection, réservoir et infiltration. La zone est dominée par la classe de vulnérabilité élevée qui occupe 89 % de la superficie totale de cette zone d'étude avec une marge d'erreur de 2,8%, qui montre que la carte de vulnérabilité intrinsèque est bien adaptée à la zone. Ces zones sont à surveiller vis-à-vis des activités anthropiques intenses qui ont tendance à polluer les eaux souterraines.

5. Bibliographie

- [1] Djaffar S. et Kettab A. Laboratoire de Recherches en Sciences de l'Eau (LRSEAU) Ecole Nationale Polytechnique : 2015, Algérie.
- [2] GWP (Partenariat Mondial de l'Eau). Stratégies 2009-2013. (2009).
- [3] ODD .Revue nationale volontaire revue nationale volontaire sur les objectifs de développements durable au Niger, Rapport NATIONS UNIES. 2018.
- [4] Deh S.K.,. Contributions de l'évaluation de la vulnérabilité spécifique aux nitrates et d'un modèle de transport des organochlorés à la protection des eaux souterraines du district d'Abidjan (sud de la Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat Unique, Université Félix Houphouët Boigny. 2013.
- [5] Eblin S.G., Kouakou S.K., Mangoua M.J., Andrei V.S., Narcis B., Ion S. & Valentin N. revista de chimie (Bucharest), 2019, pp. 2579-2583
- [6] Dibi B., Kouassi K. L., Kouamé K. I., Konan K. S., Soumahoro M., Konan-waidhet A. B., et Gnagri D. International Journal of Innovation and Applied Studies, 2013, pp.464-476 p.
- [7] INS (Institut National de la Statistique). Recensement Général de la population et de l'Habitat. Résultats globaux .2021.
- [8] Yao A.B. Evaluation des potentialités en eau du bassin versant de la Lobo en vue d'une gestion rationnelle (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire). Thèse Unique de Doctorat, Université Nangui Abrogoua (Abidjan, Côte d'Ivoire). 2015.

- [9] Tagini B., Esquisse structurale de la Côte d'Ivoire. Essai de géotectonique régionale. Thèse de Doctorat 3ème cycle, Université de Lausanne (Suisse). 1971.
- [10]. Potin K., Pétrographie et géochimie des formations précambriennes de la région d'Odienné (Nord-Ouest de la Côte d'Ivoire). Thèse Dr. Etat. Univ. Nat. C.I.1988.
- [11]. Lachassagne P., Wyns R. & Dewandel B. Terra Nova, 2011, pp.145-161.
- [12]. Kouassi K.J.M., Modélisation du fonctionnement hydrodynamique d'un aquifère d'altérite : cas de la ville de Daloa (Côte d'Ivoire). Mémoire De Master, Université Jean Lorougnon Guédé-Daloa (Côte d'Ivoire). 2017.
- [13] Mashael A. Hydrogeology Journal, 2010, pp. 1481-1495.
- [14]. Nouaty N., Khattach D. & Hilali M. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Terre, 2017, pp.45-57
- [15] Petelet-Giraud E., Dörfliger N. and Crochet P. (2000). RISKE: Méthode d'évaluation multicritère de la vulnérabilité des aquifères karstiques. Application aux systèmes des Fontanilles et cent-fonts (Hérault, sud de la France). Hydrogéologie , 4, 71-88.
- [16] Plagnes V., Théry S., Fontaine L., Bakalowicz M. and Doerfliger N. (2005). Karst Vulnerability Mapping: Improvement of the RISKE Method. KARST 2005, International Conference and Field Seminar , Water Resources and Environmental Problems in Karst , Belgrade-Kotor, Serbia, 14-19 September 2005.
- [17] Durand L., Cartographie de la Vulnérabilité du Système Karstique des Eaux Belles (Haute-Savoie) et étude de son Fonctionnement. Master 2 Sciences de l'univers, Environnement, Ecologie. Université Pierre et Marie Curie, École des Mines de Paris & École Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts. Parcours Hydrologie Hydrogéologie. 2012.
- [18]. Kavouri D., Evaluation cartographique de la vulnérabilité des eaux souterraines de la partie nord du Causse de Gramat (Lot). Rapport Université Pierre et Marie Curie-Paris 6/PnrCQ, disponible prochainement sur le site de l'AEAG. 2008.
- [19]. Shankar R.M.N. et Mohan G. India. Environmental Geology, 2006, pp. 990–998
- [20] Kouakou K.E., Impacts de la variabilité climatique et du changement climatique sur les ressources en eau en Afrique de l'Ouest : Cas du bassin versant de la Comoé. Thèse Unique de Doctorat, Université d'Abobo-Adjamé, Côte d'Ivoire. 2011.
- [21]. Yao A.B., Goula B.T.A., Kouadio Z.A., Kouakou K.E., Kane A. & Sambou S. Revue Ivoirienne des Sciences et Technologies, 2012, pp. 136-157.
- [22]. Dibi B., Cartographie des sites potentiels d'implantation des points d'eau dans le département d'Aboisso (Sud-Est de la Côte d'Ivoire) : Apport du SIG et de l'analyse multicritère. Thèse unique de Doctorat, Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). 2008.
- [23]. Selyam S., Farooq A., Dar N.S., Magesh C., Singaraja S. & Venkatramanan S.Y. Earth Science Informatics, 2015, pp. 137-150.
- [24] Chuma C., Oluwagbenga O.I., Orimoogunje., Dumisani J., Hlatywayo., Joseph O., Akinyede. Advances in Remote Sensing, 2013, pp. 149-161.
- [25] N'go Y.A., Gone D.L., Savane I. & Goble M.M. Afrique SCIENCE, 2005, Pp.127-144.
- [26], Dibi B., Plagnes V., Konan-Waidhet A.B., & Savané I., 20eme journées techniques du Comité Français d'Hydrogéologie de l'Association Internationale des Hydrogéologues. « Aquifères de socle : le point sur les concepts et les applications opérationnelles », 13 – 15 juin 2015, La Roche-sur-Yon (France).
- [27] Mangoua M.J., Konan K.S., Kouamé K.I., Zougrou N.N., Kouassi K.L., Savané I. & Biémi J. Environmental and water sciences public health & territorial intelligence, (2018), pp.46-54.
- [28]. Murat V., Etude comparative des méthodes d'évaluation de la vulnérabilité intrinsèque des aquifères à la pollution : Application aux aquifères granulaires du Piémont laurentien. Mémoire de maîtrise, INRS-Géosciences, Québec (Canada). 2000.
- [29]. Kouadio A.N.B., Évaluation du risque sanitaire lié à la consommation des eaux de puits traditionnels par les ménages à faibles revenus en milieu urbain : cas de la ville d'Agboville (Côte d'Ivoire). Thèse Unique de Doctorat, Université Nangui Abrogoua (Abidjan, Côte d'Ivoire). 2019.
- [30]. Eblin S.G., Dégradation des écosystèmes environnementaux dans la région d'Adiaké (sud-est côtier de la Côte d'Ivoire) et risque de pollution des eaux : apport d'un sig. Thèse d'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody (Côte d'Ivoire). 2014.

Conception assistée par ordinateur d'inhibiteurs de l'oncoprotéine E6 HPV16, molécules prometteuses pour le traitement du cancer du col de l'utérus

Bléhoué Clémence Ingrid ¹, Koné Mawa ², Kéïta Mélalie ¹, Fofana Issouf ¹, Eugène Megnassan ^{1,2,3}, Kré Raymond¹

¹ Laboratoire de Physique Fondamentale Appliquée (LPFA), Unité de Formation et de Recherche en Sciences Fondamentales et Appliquées, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière (LCRM), UFR SSMT Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

³ Laboratoire des Sciences de la Matière de l'Environnement et de l'énergie Solaire (LASMES), UFR SSMT Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire. *

Correspondance : blehouedorothee@gmail.com; Tel. : +225 07 79 24 27 49

Résumé :

Dans le monde, le cancer du col de l'utérus est le quatrième cancer le plus fréquent chez les femmes. Il est impératif de développer de nouveaux traitements plus efficaces contre cette pathologie. Cette étude a pour but de concevoir de nouvelles molécules anticancéreuses plus efficaces avec un profil pharmacocinétique favorable. La méthodologie utilisée est la Conception Assistée par Ordinateur, matérialisée par l'élaboration d'un modèle Relation Quantitative Structure-Activité (RQSA) de complexation, visant à mettre en relation la variation de l'enthalpie libre de complexation et les activités biologiques observées des inhibiteurs. La cible est l'oncoprotéine E6 HPV16 et les inhibiteurs sont une série de flavonoïdes divisés en jeux d'essai (TS) et de validation (VS). Le modèle RQSA bâti, présente une forte corrélation entre la variation relative de l'enthalpie libre de complexation et les activités biologiques observées (₅₀) des TS. La qualité prévisionnelle du modèle RQSA a été confirmée par le rapport entre les activités inhibitrices calculées (₅₀) et expérimentales des VS. Ce rapport (_{50/50}) tend vers un. Ces résultats ouvrent la voie à l'élaboration de modèle pharmacophore à partir des conformations actives des molécules au site actif, au criblage de chimiothèque virtuelle et à l'identification de nouveaux analogues efficaces.

Mots Clés : Cancer du col de l'utérus ; Relation Quantitative Structure-Activité (RQSA); Protéine E6 HPV16 ; Flavonoïdes.

Computer-aided design of HPV16 E6 oncoprotein inhibitors, promising molecules for the treatment of cervical cancer

Abstract:

Worldwide, cervical cancer is the fourth most common cancer among women. It is imperative to develop new, more effective treatments against this pathology. This study aims to design new, more effective anticancer molecules with a favorable pharmacokinetic profile. The methodology used is Computer Aided Design, materialized by the development of a Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) model of complexation, aiming to relate the variation of the free enthalpy of complexation and the observed biological activities of the inhibitors. The target is the HPV16 E6 oncoprotein and the inhibitors are a series of flavonoids divided into test (TS) and validation (VS) sets. The built QSAR model presents a strong correlation between the relative variation of the free enthalpy of complexation and the observed biological activities (₅₀) of the TS. The predictive quality of the QSAR model was confirmed by the ratio between the calculated (₅₀) and experimental inhibitory activities of the VS. This ratio (_{50/50}) tends towards one. These results open the way to the development of a pharmacophore model based on the active conformations of molecules at the active site, to the screening of virtual chemical libraries and to the identification of new effective analogues.

Keywords: Cervical cancer ; Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) ; Protein HPV16 E6 ; Flavonoids.

1. Introduction

En 2022, le cancer du col de l'utérus a été le quatrième cancer le plus répandu chez les femmes dans le monde, comptabilisant environ 660 000 nouveaux cas et causant environ 350 000 décès [1]. La principale étiologie du cancer du col de l'utérus est l'infection persistante par des papillomavirus humains (HPV), principalement les génotypes 16 et 18, responsables de la majorité des cas [2]. L'oncoprotéine E6 de HPV16 joue un rôle crucial dans l'oncogenèse cervicale. Elle favorise la dégradation de la protéine p53, une régulatrice clé du cycle cellulaire et de l'apoptose, par l'intermédiaire de la ligase E6 ubiquitine (E6AP). L'inhibition de cette interaction destructrice est donc une stratégie prometteuse pour le traitement du cancer du col de l'utérus. C'est dans ce sens que Srikanth Kolluru *et al.* [3] ont mené des travaux dans le but d'identifier une poche potentielle sur l'oncoprotéine virale E6 HPV16. Pour ce faire, ils ont utilisé six (6) petites molécules dont les flavonols avec pour ligand plus actif, la FLAV1 qui affiche une concentration micromolaire de 0,85. Les ligands ont été amarrés sur la chaîne C de la structure cristallographique de E6 HPV16 (PDB :4GIZ). La connaissance de cette poche constituerait une cible

anticancéreuse prometteuse pour la découverte de médicaments à petites molécules. Cependant, la conception de petites molécules capables de cibler spécifiquement l'oncoprotéine E6 et de restaurer la fonction de p53 présente des défis significatifs. Par conséquent, la conception assistée par ordinateur (CAO) est devenue une méthode incontournable dans la découverte de nouveaux médicaments. Elle permet de rationaliser et d'accélérer le processus de développement de composés thérapeutiques en intégrant diverses approches comme le criblage virtuel, la modélisation moléculaire, et la simulation des dynamiques moléculaires [4]. L'utilisation de la CAO pour identifier des inhibiteurs de l'oncoprotéine E6 de HPV16 pourrait potentiellement mener à des avancées significatives dans le traitement du cancer du col de l'utérus. L'objectif de cette étude est de concevoir et de valider *in silico* des inhibiteurs potentiels de l'oncoprotéine E6 de HPV16 à l'aide de la modélisation moléculaire et du criblage virtuel, techniques de la CAO. Les résultats attendus pourraient fournir de nouvelles pistes thérapeutiques dans la conception de nouveaux inhibiteurs à petites molécules pour le traitement de cancers à cible E6.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Logiciels de calcul

Au cours de ce travail, les opérations de calcul ont été effectuées via les logiciels Insight II [5] et Discovery Studio Client [6].

2.1.2. Ensembles de formation et de validation

Dans ce travail, les structures chimiques utilisées sont les flavonoïdes. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ayant pour structure de base : deux cycles aromatiques reliés par trois carbones (C6-C3-C6), chaîne souvent fermée en hétérocycle. Les flavonoïdes et leurs activités biologiques exploitées sont tirées des littératures [3, 7]. On dénombre au total dix-neuf (19) molécules avec pour concentration expérimentale d'inhibition de l'oncoprotéine E6 HPV16 allant respectivement de 0,85 à 671 μ M pour permettre la construction d'un modèle mathématique mettant en relation la structure à l'activité biologique, dit modèle RQSA (Relation Quantitative Structure à l'activité). Elles ont été réparties de la façon suivante :

- 16 molécules pour le jeu d'essai et ;
- 3 molécules pour le jeu de validation du modèle.
-

2.2. Méthodes

2.2.1. Simulation des complexes (PI)

La construction du modèle RQSA débute par le téléchargement de la structure cristallographique du complexe E6 HPV16–FLAV1 (Code PDB :4GIZ [3]). En effet, les complexes Protéine – Inhibiteur (PI) ont été réalisés à partir de la structure cristallographique de E6 HPV16 –FLAV1 en utilisant le programme de Modélisation Moléculaire Insight II [5]. Aucune molécule d'eau n'est incluse dans le modèle. La mise en complexe de l'oncoprotéine E6 du papillomavirus de type 16 (HPV16) avec chaque ligand de la série des molécules s'est faite par des modifications *in situ* sur la structure de FLAV1 à l'intérieur du site actif de la protéine. La construction a été réalisée en remplaçant « atome par atome », les fragments appropriés de la structure moléculaire de FLAV1. Durant ces modifications *in situ*, l'ajout d'un atome nécessite une minimisation locale dans un rayon de 5 Å autour de celui-ci. Lorsqu'il s'agit de l'ajout d'un groupe d'atomes, un calcul d'optimisation autour des angles de torsion en présence appelé torsion drive est nécessaire. Ensuite, une minimisation globale du complexe protéine-ligand est effectuée. Cette procédure a un double avantage car elle permet d'éviter les contacts stériques explosifs et tient compte de la réalité (flexibilité des chaînes latérales des résidus du site actif du récepteur et du ligand). La conception des différents modèles moléculaires a été faite par la Mécanique Moléculaire (MM) en utilisant le champ de force de classe, CFF97.

2.2.2. Solvation

La composante électrostatique de l'enthalpie libre de solvation qui incorpore les effets de la force ionique à travers la résolution de l'équation non linéaire de Poisson-Boltzmann [8] a été calculée par le module *Delphi* de la suite Discovery Studio [6]. Le programme traite le solvant comme un milieu continu de haute constante diélectrique ($\epsilon = 80$) et le soluté comme une cavité de basse constante diélectrique ($\epsilon = 4$) avec les limites que constituent la surface du soluté y compris les charges partielles sur ses atomes. Les calculs sont effectués dans des grilles cubiques de 235 x 235 x 235 nœuds pour le complexe et d'autre part pour la protéine libre dans des

grilles cubiques de 65 x 65 x 65 nœuds. Le volume du cube, occupé à 70% par le solvant et la force ionique physiologique est égale à 0,145 mol.dm⁻³.

2.2.3. RQSA de la modélisation moléculaire

D'abord, les grandeurs thermodynamiques $\Delta\Delta H_{MM}$, $\Delta\Delta G_{sol}$, $T\Delta\Delta S_{vib}$ et $\Delta\Delta G_{com}$ ont été calculées pour chaque ligand du jeu d'essai. Le ligand FLAV1 étant le plus actif de la série ($IC_{50}^{exp} = 0,85 \mu M$) a été choisi comme ligand de référence. Les valeurs de la variation de l'enthalpie libre relative de complexation sont obtenues par le calcul ($\Delta\Delta G_{com} = \Delta\Delta H_{MM} - T\Delta\Delta S_{vib} + \Delta\Delta G_{sol}$) avec :

- $\Delta\Delta H_{MM}$: variation relative de l'enthalpie de complexation pour chaque inhibiteur ;
- $T\Delta\Delta S_{vib}$: variation relative de l'entropie de complexation ;
- $\Delta\Delta G_{sol}$: variation relative de l'enthalpie de solvation de complexation.

Ensuite, les activités biologiques expérimentales IC_{50}^{exp} ont été corrélées à la variation de l'enthalpie de complexation $\Delta\Delta G_{com}$ (modèle dans le solvant) par rapport au ligand de référence. Enfin, pour valider ce modèle 3D-RQSA de complexation moléculaire, les indicateurs statistiques de fiabilité de la régression linéaire ont été calculés.

3. Résultats et discussion

Ensembles de formation et de validation

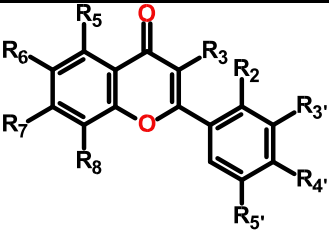
L'ensemble des seize (16) molécules du jeu d'essai et l'ensemble des trois (3) molécules du jeu de validation ainsi que leurs activités inhibitrices expérimentales ont été tirés des littératures [3, 7]. Ces molécules sont consignées dans le Tableau I.

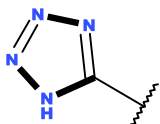
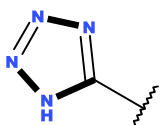
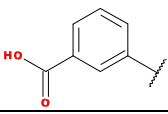
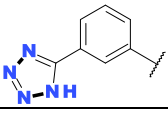
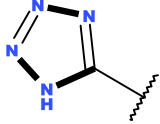
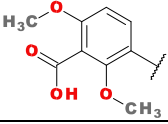
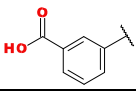
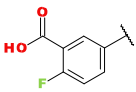
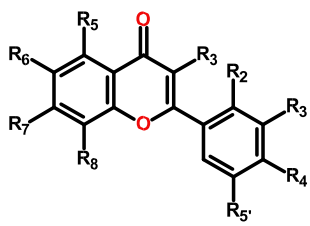
3.1. Modèle RQSA de complexation

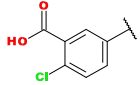
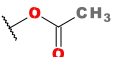
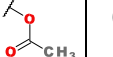
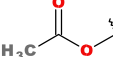
Au cours de ce travail, un modèle solide de complexation moléculaire a été bâti à partir de seize (16) flavonoïdes du jeu d'entraînement (Tableau I). Ce modèle a été par la suite validé par trois autres flavonoïdes (jeu de validation, voir Tableau I). Le Modèle de Complexation Moléculaire (MCM) établi, est un modèle de RQSA à un seul descripteur ($\Delta\Delta G_{com}$).

Les valeurs des variations relatives de l'enthalpie libre de complexation ($\Delta\Delta G_{com}$) ont été calculées pour chacun des dix-neuf (19) complexes E6 HPV16-FLAVs optimisés. Leurs activités inhibitrices expérimentales couvrent un intervalle suffisamment large d'activités ($0,85 \mu M \leq IC_{50} \leq 671 \mu M$) [3, 7] pour permettre l'établissement du modèle RQSA. Pour établir ce modèle, les composantes de $\Delta\Delta G_{com}$ ont été calculées à savoir l'enthalpie libre $\Delta\Delta H_{MM}$ dans le gaz, l'enthalpie libre de solvation $\Delta\Delta G_{sol}$ car le solvant de ce milieu est l'eau et la variation entropique $T\Delta\Delta S_{vib}$ des conformations structurales (voir Tableau II). Les valeurs de la variation relative de l'enthalpie libre de complexation sont obtenues par le calcul suivant $\Delta\Delta G_{com} = \Delta\Delta H_{MM} - T\Delta\Delta S_{vib} + \Delta\Delta G_{sol}$.

Tableau I: Ensembles d'entraînement et de validation des inhibiteurs de l'oncoprotéine E6 HPV16 utilisés pour la conception du modèle de Relation Quantitative Structure Activité (RQSA).

										
Jeu d'essai										
Ligand	R ₂	R ₃	R _{3'}	R _{4'}	R ₅	R _{5'}	R ₆	R ₇	R ₈	C(μ)
FLAV1	H	OH	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	0,85

FLAV2	H	H	CF ₃	H	H	H		H	H	1,1
FLAV3	OH	OH	H	OH	OH	H	H	OH	H	4
FLAV4	H	H	OCH ₃	H	H	H		H	H	5,2
FLAV5	H	H	OH	H	H	H		H	H	5,2
FLAV6	H	H	H	H	H	H		H	H	6,90
FLAV7	H	H	H	H	H	H		H	H	8,1
FLAV8	H	H	H	H	H	H		H	H	12,5
FLAV9	H	H	OH	OH	OH	H	H	OH	H	23
FLAV10	H	OH	H	H	H	H	OH	H	H	40
FLAV11	H	OH	OH	OH	OH	H	H	OH	H	40
FLAV12	H	H	H	H	H	H	H		H	47,3
FLAV13	H	H	H	H	H	H	H		H	48
FLAV14	H	H	H	OH	OH	H	H	OH	H	382
FLAV15	H	H	H	H	OH	H	H	H	H	540
FLAV16	H	H	OH	OH	OH	H	H	H	H	671
										
Jeu de validation										

Ligand	R ₂	R ₃	R _{3'}	R _{4'}	R ₅	R _{5'}	R ₆	R ₇	R ₈	C (μ)
FLAV17	H	OH	H	H	OH	H	H	OH	H	40
FLAV18	H	H	H	H	H	H	H		H	62,20
FLAV19	H	H			OH	H	H		H	77



Point d'attache

Source : Ingrid

Le modèle RQSA obtenu met en évidence la corrélation entre les potentiels inhibiteurs expérimentaux des flavonoïdes et les variations par rapport à une référence de l'enthalpie libre de complexation ($\Delta\Delta G_{com}$) calculées (voir Figure 1).

En se référant à la Figure 1, on constate que les points sont repartis selon leurs classes respectives. En réalité, les valeurs du calcul de l'enthalpie libre de complexation $\Delta\Delta G_{com}$ du jeu de formation ou d'entraînement se répartissent de la même manière que celle des activités d'inhibition biologique expérimentale pIC_{50}^{exp} . En effet, les ligands les plus actifs se situent au sommet de la courbe, les modérément actifs au milieu et les moins actifs au bas de la courbe. Cela signifie qu'il y a une bonne corrélation entre ses deux grandeurs. Les indices de fiabilité du modèle montrent que la simulation des effets réels du milieu biologique (introduction de effets de solvant et du terme entropique vibrationnel) permet d'expliquer à 98 % la variation de l'activité biologique expérimentale (pIC_{50}^{exp}).

Tableau II : Valeurs calculées de $\Delta\Delta G_{com}$ et de ses composantes ($\Delta\Delta H_{MM}$, $\Delta\Delta G_{sol}$, $T\Delta\Delta S_{vib}$) kcal.mol⁻¹.

Jeu d'essai	$\Delta\Delta H_{MM}$ (kcal/mol)	$T\Delta\Delta S_{vib}$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G_{sol}$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G_{com}$ (kcal/mol)	IC ₅₀ (μM)	pIC_{50}^{exp}
FLAV1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,85	6,07
FLAV2	0,85	-0,62	-1,15	0,31	1,10	5,96
FLAV3	2,48	1,48	0,09	1,10	4,00	5,40
FLAV4	1,94	0,40	-0,54	1,00	5,20	5,28
FLAV5	0,21	0,27	1,07	1,01	5,20	5,28
FLAV6	1,93	-0,18	-0,22	1,90	6,90	5,16
FLAV7	2,45	1,38	0,55	1,62	8,10	5,09
FLAV8	3,66	2,12	0,74	2,28	12,50	4,90
FLAV9	5,95	2,51	-1,24	2,20	23,00	4,64
FLAV10	5,66	0,65	-2,27	2,74	40,00	4,40
FLAV11	1,51	-2,47	-1,09	2,88	40,00	4,40
FLAV12	1,57	1,09	2,36	2,84	47,30	4,33
FLAV13	0,58	-0,14	2,63	3,35	48,00	4,32
FLAV14	7,17	3,17	0,99	4,98	382,00	3,42
FLAV15	9,37	2,52	-2,20	4,65	540,00	3,27
FLAV16	6,29	1,44	0,29	5,14	671,00	3,17

Source : Ingrid

Figure 1 : Graphe de la corrélation entre pIC_{50}^{exp} et l'enthalpie libre de complexation $\Delta\Delta G_{com}$, des complexes E6 HPV16-FLAVs en milieu aqueux. Les points blancs indiquent le nuage de points du jeu d'entraînement et les trois points rouges le nuage de points du jeu de validation. Source : Ingrid

L'activité inhibitrice prévisionnelle (pIC_{50}^{pre}) de chacune des molécules du jeu de validation (voir

Tableau I) a été calculée à partir de notre modèle RQSA matérialisée par la droite d'équation $pIC_{50}^{exp} = -0,5494 * \square\square G_{com} + 5,9983$. Le rapport $pIC_{50}^{pre}/pIC_{50}^{exp}$ a également été évalué pour ces molécules. Ce rapport est proche de 1 pour chacune de ces molécules (voir Tableau III).

Tableau III : Valeurs expérimentales et prédites (à partir des modèles de complexation RQSA) des activités inhibitrices du jeu de validation et leurs rapports.

Ligands	pIC_{50}^{exp}	pIC_{50}^{pre}	$pIC_{50}^{pre} / pIC_{50}^{exp}$
FLAV17	4,4	3,58	0,81
FLAV18	4,21	3,69	0,87
FLAV19	4,11	3,74	0,91

Source : Ingrid

3.2. Modes de liaison des flavonoïdes au sein du site actif de E6 HPV16

L'analyse des interactions des complexes E6 HPV16-FLAV1 et E6 HPV16- FLAV16 corrobore les activités inhibitrices expérimentales obtenues par Srikanth Kolluru *et al.* ainsi que Jonathan J. *et al.* [3, 7].

En effet, la Figure 2 ci-dessous montre le mode de liaison du ligand le plus actif (FLAV1) du jeu d'essai ainsi que celui du FLAV16, le moins actif. Ce mode de liaison révèle une meilleure disposition de l'inhibiteur FLAV1 dans la poche de liaison de E6 HPV16 par rapport à l'inhibiteur FLAV16. Il en résulte que le domaine de liaison de l'atome d'oxygène en position R_4 de la FLAV1 au sein du site actif forme des liaisons hydrogène respectivement avec l'Alanine (Ala61) et la Tyrosine (Tyr60). Cependant, le domaine de liaison de l'atome d'oxygène en position R_4 pour l'inhibiteur FLAV16 ne forme qu'une seule liaison hydrogène avec la Tyrosine (Tyr60). Par ailleurs, l'atome d'oxygène en position R_5 forme une seule liaison hydrogène avec le résidu catalytique Cys51. Tandis que la FLAV16 n'a aucun atome d'oxygène en position R_5 , ce qui entraîne la perte de la liaison hydrogène avec la Cys51.

La supériorité d'interactions, notamment d'hydrogènes de la FLAV1 avec les résidus du site actif de E6 HPV16 contrairement à la FLAV16, pourrait expliquer l'importante affinité de la FLAV1 avec les résidus du site actif de la protéine E6 par rapport aux autres ligands de la série.

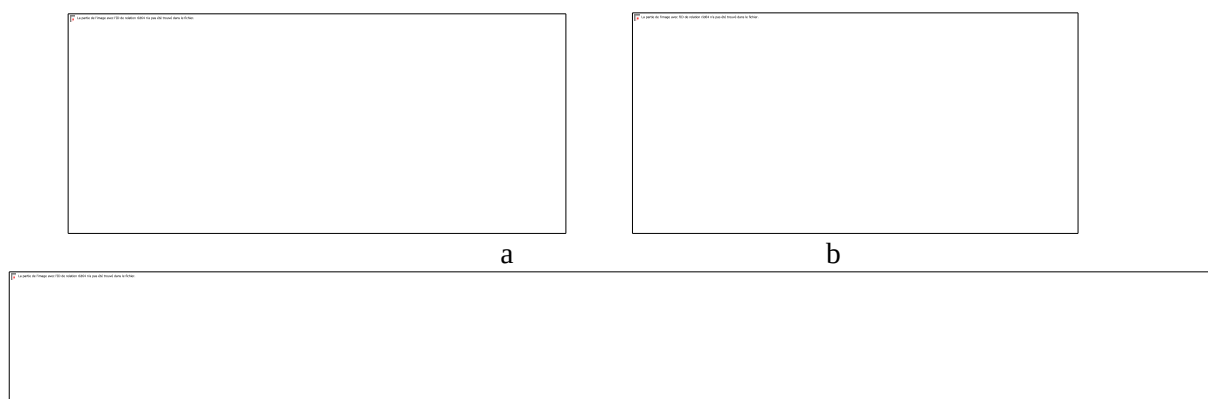


Figure 2 : (a) Schéma 2D montrant les interactions de l'inhibiteur le plus actif, FLAV1, au sein du site actif de E6 HPV16. (b) : Schéma 2D montrant les interactions de l'inhibiteur le moins actif, FLAV16, au sein du site actif de E6 HPV16. Source : Ingrid

4. Conclusion

En sommes, nous pouvons dire que le développement de thérapies ciblées pour le cancer du col de l'utérus, particulièrement celles visant l'oncoprotéine E6 du papillomavirus humain de type 16 (E6 HPV16), représente une avancée significative dans le traitement de cette maladie. Grâce à la conception assistée par ordinateur (CAO), il est possible d'identifier et d'optimiser des inhibiteurs potentiels de manière plus rapide et plus précise.

Comme le démontre le modèle RQSA de complexation obtenu dont l'équation de corrélation $pIC_{50}^{exp} = -0,5494 * \square\square G_{com} + 5,9983$ et les valeurs calculées de $\Delta\Delta G_{com}$, qui peuvent être utilisées pour prévoir les activités inhibitrices de nouveaux analogues flavonoïques contre de E6 HVPV16, pourvu qu'ils partagent le même mode de fixation des molécules du jeu d'essai au sein du site actif de E6 HVPV16.

5. Bibliographie :

- [1]. World Health Organization. Cervical cancer. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/cervical-cancer>.
- [2]. de Sanjosé, S., Brotons, M., & Pavón, M. A. (2018). The natural history of human papillomavirus infection. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 47, 2-13.
- [3]. Srikanth Kolluru *et al.*, « Identification of potential binding pocket on viral oncoprotein HPV16 E6: a promising anti-cancer target for small molecule drug discovery » *BMC Molecular and Cell Biology*.2019 <https://doi.org/10.1186/s12860-019-0214-3>.
- [4]. Gorgulla, C., Boeszoermenyi, A., Wang, Z. F., *et al.* (2020). An open-source drug discovery platform enables ultra-large virtual screens. *Nature*, 580(7805), 663-668.
- [5]. InsightII, Version 2005, Molecular Modeling package and Discover Version 2.98. Simulation package, 200x, Accelrys, Inc, San Diego, California, USA. 2005.
- [6]. Discovery Studio molecular modeling and simulation program, version 2.5, Accelrys, Inc., San Diego, CA, California. USA. 2009.
- [7]. Jonathan J., Cherry *et al.*, (2013) « Structure Based Identification and Characterization of Flavonoids That Disrupt Human Papillomavirus-16 E6 Function » www.plosone.org, December 2013 | Volume 8 | Issue 12 | e84506.
- [8]. Fogolari, F.; Brigo, A.; Molinari, H. (2002). The Poisson-Boltzmann Equation for Biomolecular Electrostatics: A Tool for Structural Biology. *Journal of Molecular Recognition*. 15: 377–92.

Teneurs en Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) des eaux de la lagune Ébrié dans quelques zones à fortes pressions urbaines : Secteurs Plateau, Cocody, Koumassi et Zimbabwe

Sylvie ASSEMIAN-NIANGO^{*1}, Albéric Charles AKA², Ehu Camille AKA³,

(1,2,3) Centre de Recherches Océanologiques (CRO), BP V18 Abidjan, Côte d'Ivoire

*: asviea@yahoo.fr

Résumé

Dans le but de connaître l'état sanitaire de la lagune Ébrié en vue de préserver sa qualité écologique, l'objectif de la présente étude est de déterminer le niveau de contamination par les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) des eaux de cette lagune dans des zones urbaines à fortes pressions anthropiques. Pour ce faire des campagnes ont été menées sur cette lagune de juillet 2022 à février 2023. Des prélèvements saisonniers d'échantillons d'eaux ont été faits en quatre (4) stations réparties sur la lagune Ébrié reliant les communes du Plateau, de Cocody, de Koumassi et de Port-Bouët. La température, la salinité et les teneurs en oxygène dissous des eaux lagunaires ont été mesurés *in situ* à l'aide d'un multiparamètre de marque HANNA HI 9829. Les dosages des orthophosphates et des nitrates ont été faits à l'aide d'un spectromètre de marque HACH DR 900 et ceux des HAP par Chromatographie en Phase Liquide Haute Performance (HPLC) de marque UFLC SHIMADZU. Les teneurs en HAP des eaux variant de 1 à 98 µg/L sont au-delà de la limite réglementaire de 1.0 µg/L (l'Arrêté interministériel N° 168/MSHP/MINEF du 03/08/2020 de la Côte d'Ivoire).

Mots clés : Lagune Ébrié, Zones urbaines, Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, Paramètres physico-chimiques

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) contents of the Ébrié lagoon's waters in some areas with high urban pressure: Plateau, Cocody, Koumassi and Zimbabwe sectors

Abstract

In the point to know the health status of the Ébrié lagoon to preserve its ecological quality, the aim of this study is to determine the level of contamination by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) of the waters of this lagoon in some urban areas with high anthropogenic pressures. To do this, campaigns were carried out on the Ebrié lagoon from July 2022 to February 2023. Seasonal water sampling was carried out at four (4) stations linking localities of Plateau, Cocody, Koumassi and Port-Bouët. Temperature, salinity and dissolved oxygen contents of lagoon waters were measured *in situ* using HANNA HI 9829 multiparameter. Analyzes of orthophosphates and nitrates ions were made using a HACH DR 900 spectrometer. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) assay was done by UFLC SHIMADZU High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The concentrations of PAHs ranging from 1 to 98 µg/L are above the regulatory limit of 1.0 µg/L (Interministerial Order No. 168/MSHP/MINEF of 03/08/2020 of Côte d'Ivoire).

Keywords : Ebrié lagoon, Urban areas, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Physico-chemical parameters

1. Introduction

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques, souvent abrégés en HAP, sont des molécules organiques comportant plusieurs cycles benzéniques. À l'exception du naphtalène, ils sont des composés peu solubles dans l'eau et peu volatils. Ce sont des composés organiques persistants, toxiques, mutagènes et cancérigènes [1], [2]. Ils présentent par conséquent un risque pour la santé humaine et pour l'environnement car ils peuvent causer des problèmes environnementaux majeurs du fait de leur toxicité [3]. Ils se présentent à l'état pur sous forme de solide ou de liquide plus ou moins visqueux. Ce sont des molécules neutres, très réduites et hydrophobes [4]. Les HAP ont trois grandes origines : pyrolytique (combustion de matériel organique par les industries, transports, incinérateurs, incendies, volcans...), pétrogénique (bruts pétroliers et dérivés) et diagénétique (transformation des sédiments en pétrole). Leur formation peut ainsi être naturelle (feux de forêt, volcanisme, suintements...). Cependant la majorité des HAP aujourd'hui retrouvés dans l'environnement provient d'activités humaines [4]. Les études de [5] ont montré leurs présences dans les eaux de la lagune Ébrié dans le secteur de la zone portuaire. En vue de préserver la qualité écologique de la lagune Ébrié, la présente étude a pour objectif de déterminer l'impact des activités urbaines sur les eaux lagunaires en lien avec la présence des HAP.

2. Matériel et méthodes

2.1. Zone d'étude

Selon [6], la lagune Ébrié est située entre les longitudes 3°40' et 3°55' Ouest et les latitudes 5°26' et 5°20' Nord et couvre une superficie de 566 km². C'est un vaste étendu d'eau saumâtre s'étirant d'Est en Ouest sur 130 km et atteignant 7 km de large par endroits [7]. La lagune Ébrié est traversée dans sa partie centrale par le canal de Vridi (300 m de large), seule voie de communication avec l'Océan Atlantique.

2.2 Échantillonnage et analyse des échantillons

Le tableau I présente les coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage. Les prélèvements ont été effectués en quatre (4) stations réparties sur la lagune Ébrié reliant les communes du Plateau, de Cocody, de Koumassi et de Port-Bouët (Figure 2). Au total, seize (16) échantillons d'eaux ont été prélevés de manière saisonnière entre juillet 2022 et février 2023 à raison d'un échantillonnage par saison, couvrant ainsi les différentes saisons climatique (la grande saison sèche en février, la grande saison des pluies en juillet, la petite saison sèche en août et la petite saison des pluies en novembre). Les critères de choix des stations d'échantillonnage ont été motivés par les zones soumises à de fortes pressions anthropiques. Les prélèvements d'échantillons d'eaux ont été faits à l'aide de la bouteille Niskin à 0,20 m en dessous de la surface du plan d'eau lagunaire. Les échantillons destinés à l'analyse des sels nutritifs ont été recueillis dans les flacons polyéthylène et placés dans une glacière contenant des paillettes de glace. Ils ont été ensuite transportés au laboratoire et conservés dans un congélateur à - 4°C. Ceux destinés au dosage des HAP ont été conservés dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière. La température, la salinité, le pH et les teneurs en oxygène dissous des eaux lagunaires ont été mesurés *in situ* à l'aide d'un multiparamètre de marque HANNA HI 9829 (EN 50081-1 et EN 50082-1). Les dosages des orthophosphates et des nitrates ont été faits à l'aide d'un spectromètre de marque HACH DR 900 (HACH, 2014). Les HAP ont été dosés à l'aide d'un Chromatographe en Phase Liquide Haute Performance (HPLC) de marque UFLC SHIMADZU (Méthode AOAC Official 2007.01), (limite de détection : 0,017 mg/L ; limite de quantification : 0,060 mg/L). Les résultats des analyses ont été traités à l'aide des logiciels ARCGIS 10.5 et R.

Tableau I : Coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage

STATIONS	NOMS STATIONS	X	Y	ALTITUDES
ST1	PLATEAU	0387713	0587789	4
ST2	COCODY	0389359	0588404	7
ST3	KOUMASSI	0393870	0587531	3
ST4	ZIMBABWE	0389539	0583508	0

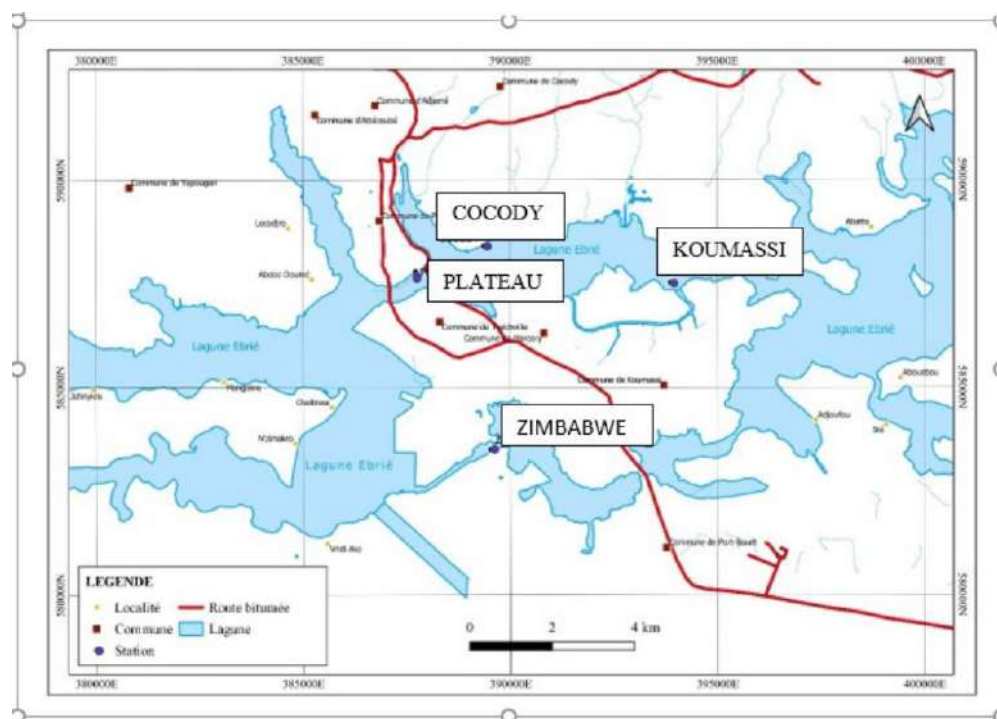


Figure 1 : Localisation des stations d'échantillonnage

3. Résultats et Discussion

3.1 Paramètres physico-chimiques et sels nutritifs

Les températures des eaux lagunaires varient 26,2 °C à la station 3 en petite saison sèche à 30,3 °C à la station 3 en petite saison des pluies (Figure 2). Ces valeurs de températures sont caractéristiques des écosystèmes lagunaires tropicaux. En effet, la température d'une eau de surface est étroitement liée aux variations de la température ambiante et aux variations saisonnières [8]. Les températures minimales des eaux lagunaires observées au cours de la petite saison sèche (moyenne 26,32 °C) sont le fait du phénomène d'upwelling qui est la remontée des eaux froides océaniques dans les eaux lagunaires. Ces mêmes résultats ont été trouvés en lagunes Aby, Ébrié et Grand-Lahou par [9] et en lagune Aby par [10].

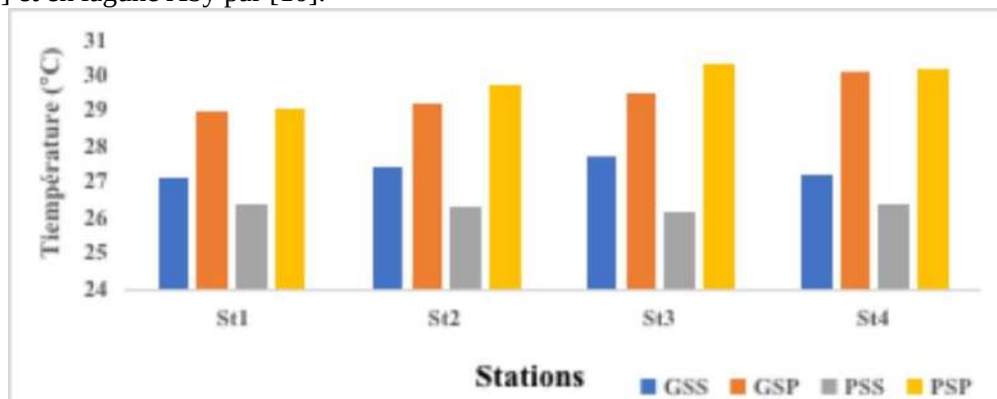


Figure 2 : Variation spatio-temporelle de la température des eaux lagunaires

En outre, la valeur élevée de la salinité à la station 4 (48,1 p. p.m.) des eaux lagunaires au cours de la petite saison des pluies (Figure 3) est due à la fois au phénomène d'upwelling, aux faibles renouvellements des eaux et à la proximité de cette station avec le canal de Vridi. Ce constat a également été fait par [9] au niveau des lagunes de Grand-Lahou, Ébrié et Aby et par [11] au niveau de la côte Sud Liban. Par opposition, les eaux lagunaires moins salines à la station 3 (moyenne 7,33 ‰) sont le fait de l'éloignement de cette station par rapport au canal de Vridi.

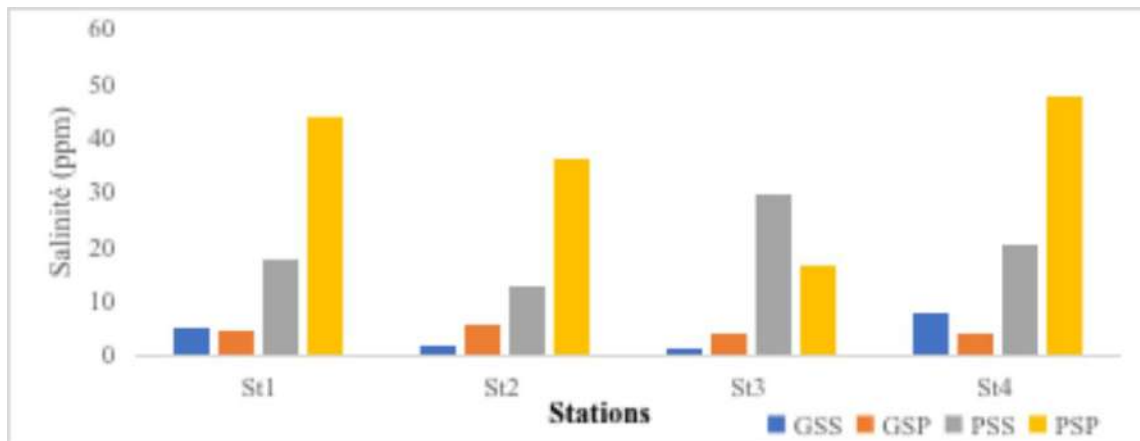


Figure 3 : Variation spatio-temporelle de la salinité des eaux lagunaires

La teneur en oxygène dissous des eaux lagunaires varie de 1,2 mg/L à la station 2 en grande saison des pluies à 5,92 mg/L à la station 1 en petite saison sèche (Figure 4). Les teneurs maximales en oxygène dissous à la station 1 peuvent être dues aux brassages des eaux comme l'a montré [12] en lagune de Grand-Lahou. A l'opposé, les teneurs minimales en oxygène aux stations 2 et 4 pourraient s'expliquer par les rejets d'eaux usées domestiques.

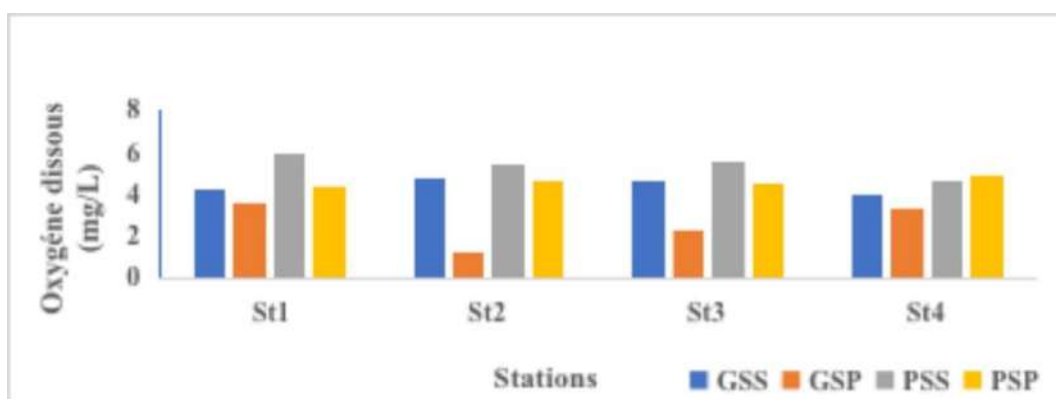


Figure 4 : Variation spatio-temporelle de la teneur en oxygène dissous

Les teneurs en orthophosphates des eaux lagunaires varient de 0,14 mg/L aux stations 3 et 4 respectivement en petite saison des pluies et en grande saison sèche à 0,88 mg/L à la station 2 en grande saison sèche (Figure 5).

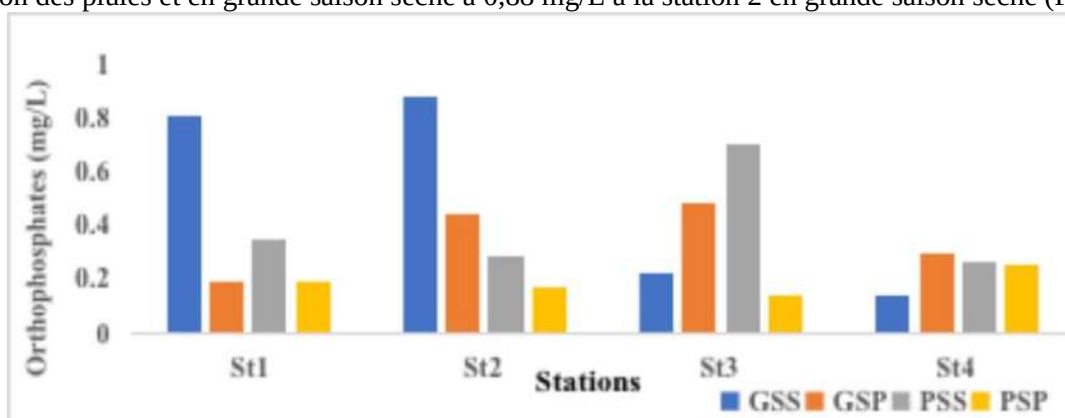


Figure 5 : Variation spatio-temporelle des teneurs en orthophosphates des eaux lagunaires

Celles des nitrates des eaux lagunaires varient de 0,43 mg/L à la station 3 en grande saison des pluies à 6,2 à la station 4 en grande saison sèche (Figure 6).

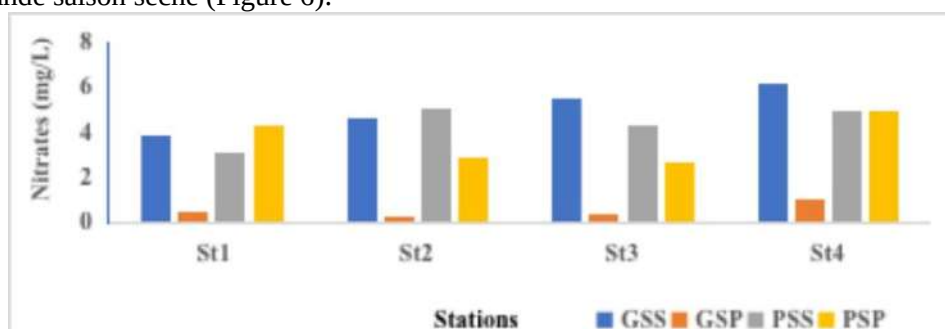


Figure 6 : Variation spatio-temporelle des teneurs en nitrates des eaux lagunaires

Les teneurs élevées des sels au cours de la grande saison sèche sont le fait des eaux usées domestiques et urbaines. Les stations 2 (Blokauss) et 4 (Zimbabwe) étant des zones d'intenses activités domestiques. Les faibles teneurs pendant les saisons pluvieuses sont liées également à la saison d'échantillonnage. En effet, en saison de crue des fleuves, il y a drainage de plusieurs déchets organiques (débris végétaux et animaux, déchets ménagers) par les fleuves, les eaux de pluies et les eaux de ruissellement vers la lagune. Cependant, ces éléments ne vont se décomposer qu'en saison sèche pour libérer les sels nutritifs d'où la faible concentration en saison pluvieuse. [13] a également observé les faibles valeurs de nitrates pendant la grande saison pluvieuse en lagune ouladine à Grand-Bassam.

3.2 Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

Les figures 7 à 10 présentent, en fonctions des saisons, les variations spatiales des teneurs en des eaux lagunaires.

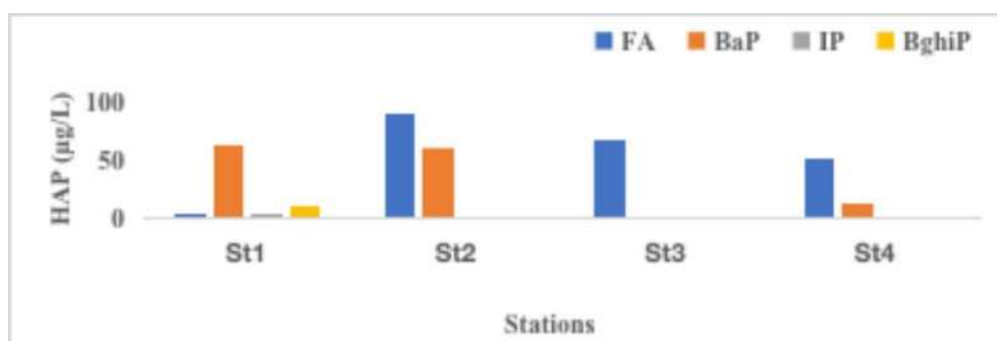


Figure 7 : Variation spatiale des teneurs en HAP des eaux lagunaires au cours de la grande saison sèche

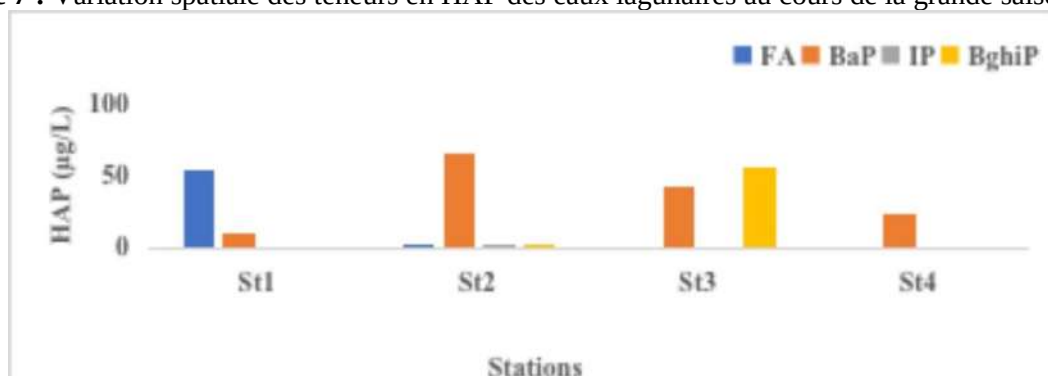


Figure 8 : Variation spatiale des teneurs en HAP des eaux lagunaires au cours de la grande saison des Pluies

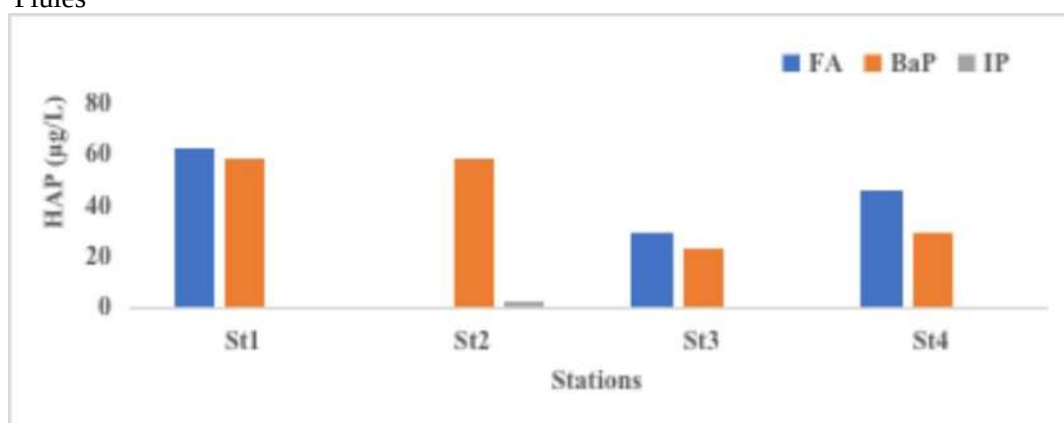


Figure 9 : Variation spatiale des teneurs en HAP des eaux lagunaires au cours de la petite saison sèche

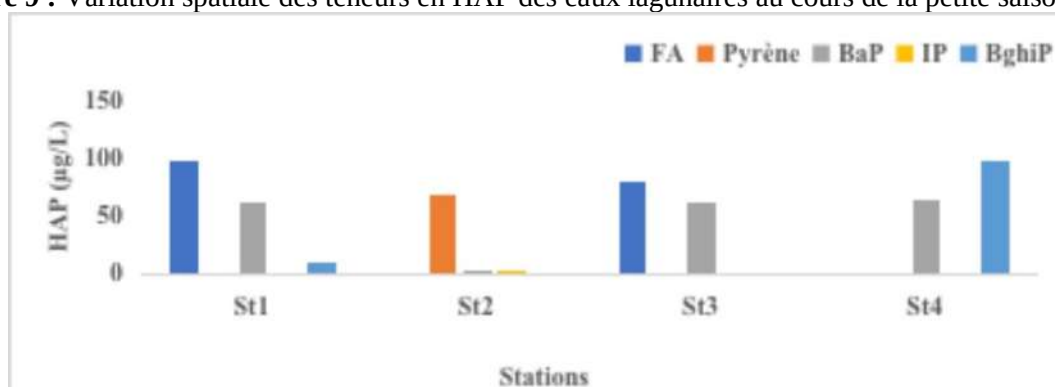


Figure 10 : Variation spatiale des teneurs en HAP des eaux lagunaires au cours de la petite saison des pluies

Sur un total de huit (8) HAP recherchés à savoir le Fluoranthène (FA), le Pyrène, le Benzo(k)fluoranthene, le Benzo(a)anthracène, Benzo(b)fluoranthène, le benzo(a)pyrène (BaP), l'indéno(1,2,3-cd) pyrène (IP) et le

benzo(g, h, i)pérylène (BghiP), les HAP tels que le fluoranthène (FA) (2,1 à 98 µg/L), le pyrène (70 µg/L), le benzo(a)pyrène (BaP) (3 à 67 µg/L), l'indéno(1,2,3-cd)pyrène (IP) (1 à 4 µg/L) et le benzo(g,h,i)pérylène (BghiP) (2 à 98 µg/L) ont été détectés dans les eaux lagunaires. En outre le fluoranthène et le Benzo (a)pyrène sont majoritairement présents en toute saison dans les eaux lagunaires. Le fluoranthène avec une masse molaire de 202 g/mol est un composé semi volatil tandis que le benzo(a)pyrène (BaP) (masses molaires de 252 g/mol), l'indéno(1,2,3-cd)pyrène (IP) (masses molaires de 276 g/mol) et le benzo(g, h, i)pérylène (BghiP) (masses molaires de 276 g/mol) sont des HAPs lourds. Ces HAP lourds sont caractérisés par une faible volatilité et une tendance à s'adsorber sur les particules [14]. Les concentrations de ces HAP sont au-delà de la limite réglementaire de 1,0 µg/L. Les eaux de la lagune Ébrié dans les zones urbaines d'Abidjan ont des teneurs très élevées en HAPs (1 à 98 µg/L) et sont par conséquent polluées.

3.3 Matrices de corrélation entre les paramètres physico-chimiques, les sels nutritifs et les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

Les tableaux 2 à 5 montrent les matrices de corrélations entre les paramètres étudiés au cours des saisons. Ces matrices montrent que les orthophosphates et les nitrates ont une origine océanique en petite sèche. En outre les HAP tels que benzo(a)pyrène, l'indéno(1,2,3-cd)pyrène et le benzo(g,h,i)pérylène (BghiP) (2 à 98 µg/L) corrélés positivement avec les orthophosphates proviennent des rejets urbain. Le fluoranthène et le Benzo (a)pyrène sont majoritairement présents en toute saison dans les eaux lagunaires. Ces HAP vont partir des substances prioritaires

Tableau II : Matrice de corrélations entre les paramètres étudiés en grande saison sèche

	T	S	OD	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	FA	BaP	IP	BghiP
T	1								
S	-0,81	1							
OD	0,66	-0,96	1						
PO ₄ ³⁻	-0,32	-0,28	0,49	1					
NO ₃ ⁻	0,31	0,27	-0,40	-0,92	1				
FA	0,67	-0,56	0,58	-0,12	0,42	1			
BaP	-0,58	0,00	0,23	0,96	-0,86	-0,26	1		
IP	-0,63	0,28	-0,23	0,51	-0,76	-0,91	0,59	1	
BghiP	-0,63	0,28	-0,23	0,51	-0,76	-0,91	0,59	1	1

Tableau III : Matrice de corrélations entre les paramètres étudiés en grande saison des pluies

	T	S	OD	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	FA	BaP	IP	BghiP
T	1								
S	-0,46	1							
OD	0,22	-0,80	1						
PO ₄ ³⁻	0,11	0,33	-0,84	1					
NO ₃ ⁻	0,84	-0,59	0,65	-0,45	1				
FA	-0,65	-0,15	0,58	-0,80	-0,15	1			
BaP	-0,12	0,76	-0,99	0,86	-0,57	-0,66	1		
IP	-0,35	0,99	-0,86	0,45	-0,55	-0,29	0,84	1	
BghiP	0,06	-0,37	-0,22	0,66	-0,32	-0,37	0,23	-0,30	1

Tableau IV : Matrice de corrélations entre les paramètres étudiés en petite saison sèche

	T	S	OD	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	FA	BaP	IP
T	1							
S	-0,58	1						
OD	-0,26	0,00	1					
PO ₄ ³⁻	-0,83	0,88	0,37	1				
NO ₃ ⁻	-0,25	-0,15	-0,72	-0,20	1			
FA	0,59	0,23	0,09	-0,05	-0,76	1		
BaP	0,41	-0,86	0,51	-0,58	-0,28	-0,09	1	
IP	-0,17	-0,69	0,05	-0,37	0,56	-0,86	0,57	1

Tableau V : Matrice de corrélations entre les paramètres étudiés en petite saison des pluies

	T	S	OD	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	FA	Pyrène	BaP	IP	BghiP
T	1									
S	-0,45	1								
OD	0,67	0,32	1							
PO ₄ ³⁻	0,06	0,85	0,69	1						
NO ₃ ⁻	-0,18	0,85	0,38	0,93	1					
FA	-0,39	-0,38	-0,85	-0,50	-0,15	1				
Pyrène	-0,15	0,00	0,07	-0,26	-0,50	-0,57	1			
BaP	0,17	0,03	-0,03	0,30	0,53	0,53	-1	1		
IP	-0,15	0,00	0,07	-0,26	-0,50	-0,57	1	-1	1	
BghiP	0,37	0,63	0,81	0,95	0,83	-0,51	-0,38	0,43	-0,38	1

4.Conclusion

Les températures et les salinités des eaux lagunaires sont caractéristiques des eaux lagunaires ivoiriennes. La lagune Ebrié est le réceptacle des eaux usées domestiques et urbaines. Ces eaux ont des teneurs élevées en sels nutritifs (Orthophosphates et Nitrates) au cours des saisons sèches

Les eaux usées domestiques et urbaines et les entrées d'eau océaniques sont à l'origine des teneurs en hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) des eaux lagunaires. Les concentrations des HAPs des eaux lagunaires sont au-delà de la limite réglementaire de 1,0 µg/L. Les eaux de la lagune Ebrié dans les zones urbaines avec des teneurs très élevées en HAPs (1 à 98 µg/L) et sont polluées.

Recommandations

- Sensibiliser les populations quant aux rejets d'eaux usées et au déversement des ordures dans les eaux lagunaires.
- Améliorer les fumoirs de poissons et
- (Contrôle des activités maritimes

5.Bibliographie

- [1]. Juhsz A.L. and Naidu R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons : a review of the microbial degradation of the benzo(a)pyrene. Int Biodeter Biodegr, 2000, 45 :57-88
- [2]. Semlali A., Chafik A., Talbi M.and Budzinski H. Origin and Distribution of polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Lagoon Ecosystems of Morocco. The Open Environmental Pollution and Toxicology Journal 3 (Suppl 1-M5), 2012 : 37-46
- [3]. Faham L. Techniques de traitement in situ des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les eaux de surface. Maîtrise en Environnement à l'Université de Sherbrooke, 2013.80 p
- [4]. Botta F., Albinet A., Ughetto E., et Leoz-Garzandia E. Bilan des méthodes d'identification des sources applicables au domaine de l'eau et premier choix des profils caractéristiques appropriés, 2014, 46 p
- [5]. S. Assemian-Niango, K.J-M Kouakou, A.A.L. Achy, C.A. Aka. Contamination par les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) des eaux de la lagune Ebrié : zone du port autonome d'Abidjan, 2024. Revue trimestrielle en Sciences Sociale (RSS)-Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique (PASRES).1079-1098
- [6]. S.K.Konan, B.K. Kouakou, M.-J. Ohou, F.K. Konan, K.B. Dongui. Variation saisonnière des paramètres abiotiques de la lagune Aghien (Côte d'Ivoire), 2017. Journal of Applied Biosciences, 120 : 12042-12052, ISSN 1997-5002
- [7]. Anoh K. P. Stratégies comparées de l'exploitation des plans d'eau lagunaire de Côte-d'Ivoire » 2010. *Les Cahiers d'Outre-Mer* 251 (3): 347-63.<https://doi.org/10.4000/com.6038>.
- [8]. Lamizana-Diallo M.B., Kenfac S. et Millogo-Rasolodimby J. Évaluation de la qualité physico-chimique de l'eau d'un cours d'eau temporaire du Burkina Faso- le cas du Massili dans le Kadiogo, 2008 Sud Sciences et Technologie, ISSN 0796-5419, 6 p.
- [9]. Seu-Anoï N. M. Structuration spatiale et saisonnière des peuplements phytoplanctoniques et variabilité des facteurs abiotiques dans trois complexes lagunaires de la Côte d'Ivoire (Aby, Ebrié, Grand-Lahou), 2012. Thèse Unique Université Nangui Abrogoua,Côte d'Ivoire, 135 p.

- [10]. Assemian-Niango S. Étude de la qualité chimique des eaux et contamination par les esters de l'acide phtalique des sédiments d'une lagune tropicale: Lagune Aby (Côte d'Ivoire), 2017. Thèse de Doctorat à l'Université Nangui Abrogoua, 165 p
- [11]. M. Aboud-Abi S., M. Fakhry, M.-T. Kassab et N. Mattar. Les sels nutritifs et le phytoplancton sur la Côte Sud du Liban : Evaluation d'indices écologiques, 2005. Lebanese Science Journal, Vol. 6, N° 2, 27-43
- [12]. Konan K. S. Etude de l'hydrochimie et de la qualité des eaux de la lagune de Grand- Lahou (Côte d'Ivoire), 2010 Thèse Université Abobo-Adjamé, Côte d'Ivoire, 189 p.
- [13]. Kamagaté M. Distribution du phytoplancton dans la lagune ouladine, grand-bassam (côte d'ivoire), 2017. Master de Biodiversité et Valorisation des Ecosystèmes de l'Université Félix Houphouët- Boigny, 56 p
- [14]. Tobiszewski, M., Namieśnik, J. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources, 2012. Environmental Pollution, 162, 110-119
- la qualité physico-chimique et contamination métallique des eaux de surface du bassin versant de Guigou, Maroc. European Scientific Journal, Vol. 10, No 23 ISSN : 1857-7881.

Enquête ethnobotanique et activité antimicrobienne des extraits de *Vitex doniana* (Lamiaceae) et *Terminalia mantaly* H.Perrier (Combretaceae)

A KOKORA Aya Philomène*, KARAMOKO Detto, OULAI Sylvie Florence, SORO Yébéssoul Ibrahima

UFR Sciences Biologique, Département de biochimie-génétique, Université PELEFORO GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire

E. mail : akophi@yahoo.fr

Résumé :

L'Organisation Ouest-africaine de la santé (OOAS) a permis la publication de Pharmacopées nationales grâce au travail conjugué de plusieurs scientifiques comme documents de référence sur la sécurité et l'efficacité de plantes médicinales. L'objectif de cette étude est d'identifier des plantes utilisées dans le traitement de diverses affections dans la région du Poro et d'évaluer par la suite leurs propriétés antibactériennes. Pour ce faire, une enquête ethnobotanique réalisée, au moyen d'un questionnaire et les essais antimicrobiens ont été réalisés *in vitro* sur 7 extraits aqueux et 7 extraits hydroéthanoliques (30/70/) par la méthode de dilution en milieu liquide. Les résultats montrent que toutes les parties de *Vitex doniana* est utilisée contre diverses affections. Les extraits hydroéthanoliques de la racine de *Terminalia mantaly* sont actifs sur *Escherichia coli* ATCC 25923 (CMI= 0,15 mg/mL), *Salmonella typhi* IPP 5534 (CMI= 0,2 mg/mL) et de la pulpe + graine de *V. doniana* est active sur *Candida albicans* ATCC 2091 et *E. coli* (CMI= 0,21 mg/mL). L'activité de ces extraits est soit bactéricide ou soit bactériostatique sur les souches étudiées.

Cette étude se poursuivra par l'optimisation de l'activité antimicrobienne des extraits et la valorisation de l'utilisation de *T. mantaly* dans la région du Poro.

Mots clés : pharmacopée, efficacité, Poro , bactéricide

Ethnobotanical investigation and antimicrobial activity of extracts of *Vitex doniana* (Lamiaceae) and *Terminalia mantaly* H.Perrier (Combretaceae) Abstract :

The West African Health Organization (WAHO) has enabled the publication of national Pharmacopoeias thanks to the combined work of several scientists [1] as reference documents on the safety and effectiveness of medicinal plants. The objective of this study is to identify plants used in the treatment of various conditions in the Poro region and subsequently evaluate their antibacterial properties. To do this, an ethnobotanical survey was carried out using a questionnaire. The antimicrobial tests were carried out *in vitro* on 7 aqueous extracts and 7 hydroethanolic extracts (30/70/) by the liquid dilution method. The results show that all parts of *Vitex doniana* are used against various ailments [2]. Hydroethanolic extracts [3] of *Terminalia mantaly* root are active on *Escherichia coli* ATCC 25923 (MIC= 0.15 mg/mL), *Salmonella typhi* IPP 5534 (MIC= 0.2 mg/mL) and pulp + seed of *V. doniana* is active against *Candida albicans* ATCC 2091 and *E. coli* (MIC= 0.21 mg/mL). The activity of these extracts is either bactericidal or bacteriostatic on the strains studied. This study will continue with the optimization of the antimicrobial activity of the extracts and the promotion of the use of *T. mantaly* in the Poro region.

Keywords : pharmacopoeia, efficiency,, Poro , bactericidal

1. Introduction

L'Organisation Ouest-africaine de la santé (OOAS) a permis la publication de Pharmacopées nationales grâce au travail conjugué de plusieurs scientifiques comme documents de référence sur la sécurité et l'efficacité de plantes médicinales. A ce jour, le Ghana (1992 et 2007), le Nigéria (2008) et la Côte d'Ivoire (2018), ont pu élaborer des Pharmacopées nationales grâce au travail conjugué de plusieurs scientifiques [1]. Notre travail s'inscrit dans ce contexte avec une étude portant sur les plantes *Vitex doniana* et *Terminalia mantaly* H. Perrier.

En effet, *Vitex doniana* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle. Les feuilles, les fruits, les racines, les écorces et les graines de la plante sont utilisées comme médicament pour les maladies du foie, la lèpre, le mal de dos, la conjonctivite, l'éruption cutanée, la rougeole, le rachitisme, comme galactagogue tonique pour aider à la production de lait chez les mères allaitantes, antalgique, régulateur digestif et dans le traitement des troubles oculaires et rénaux [2].

Quant à *Terminalia mantaly* H. Perrier, comme la plupart des combrétacées, présente des propriétés anti-infectieuses [3]. Par ailleurs, plusieurs études scientifiques ont déjà montré que des extraits de l'écorce de cette plante présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antipaludiques [4,5, 6].

Cette étude, tout en identifiant des plantes utilisées dans le traitement de diverses affections dans la région du Poro et d'évaluer par la suite leurs propriétés antibactériennes contribue à rechercher des biomolécules actives de l'écorce, la racine et les fruits de *Vitex doniana* (Lamiaceae) et *Terminalia mantaly* H. Perrier (Combretaceae) pour la mise au point de médicaments traditionnellement améliorés.

2. Matériel et méthodes

2.1. Enquête

L'enquête s'est déroulée dans les villes de Korhogo et de Sirasso. les informations sur l'utilisation des plantes étudiées ont été collectées à partir d'un questionnaire avec les rubriques suivantes : le profil de l'enquêté : âge, sexe, ethnie, activité professionnelle, niveau d'étude et la situation familiale, les différents usages faites des plantes, leurs nos locaux, les organes végétaux utilisés, les maladies et symptômes traitées, les modes de préparation et d'administration et les autres utilisations possibles de ces plantes. L'enquête a été menée du 07 Mars au 10 Avril 2022.

2.2. Préparation des extraits de *V. doniana* et *T. mantaly* H. Perrier

La méthode d'extraction utilisée est celle décrite par [7]. Pour la préparation des différents extraits, 50 g de poudre des différentes parties de plante sont homogénéisés dans 500 mL d'eau distillée ou d'éthanol 70 % (éthanol/eau, v/v, 70/30). Après macération à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 24 heures, le macéré obtenu est essoré à l'aide d'un tissu puis filtré successivement avec du coton hydrophile et du papier Wattman. Les filtrats aqueux et hydroalcooliques ont été évaporés à 50°C pendant 3 à 5 jours et conservés à 5°C à l'abri de la lumière avant la réalisation des tests antimicrobiens.

Les rendements des différents extraits obtenus ont été déterminés à partir de l'équation ci-dessous.

$$R = (mf/mi) \times 100$$

R : rendement (%) ; **mi** : masse initiale de poudre (mg) ; **mf** : masse de l'extrait après évaporation du solvant (mg).

2.3. Détermination de Activité antimicrobienne

La méthode en milieu liquide a permis de déterminer les valeurs des paramètres antibactériens. Plusieurs séries de tube sont préparées avec 2 mL d'extrait de chaque concentration (20 mg/mL à 0,156 mg/mL) et 2 mL de bouillon concentré deux fois déjà inoculé (2.10^6 UFC/mL) dans des tubes à hémolyse.

Deux tubes de chaque série ont servi l'un de témoin de stérilité (4 mL de bouillon MH ou Sabouraud) et l'autre tube de témoin de croissance (4 mL de bouillon inoculé). Après incubation à 30°C ou 37°C pendant 18 à 24 heures, la CMI de chaque extrait a été déterminée. Elle correspond à la plus petite concentration pour laquelle une absence de turbidité est observée. Après la lecture des CMI, la CMB et la CMF sont déterminées par ensemencement à partir du tube correspondant à la CMI. Après 24 heures et 48 heures d'incubation à 37°C et 30°C, la CMB ou la CMF est la concentration pour laquelle aucune croissance visible ou moins de trois colonies ont été observées [8].

2.4. Méthodes de saisie et traitement des données

Les données de cette étude portant sur l'activité antibactérienne ont été saisies et les représentations graphiques ont été réalisées dans le tableur EXCEL version 2016.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats de l'enquête

Les résultats de l'enquête sont présentés par les figures 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 et 10. L'analyse des résultats de l'enquête montre que parmi les plantes sur lesquelles s'est portée l'enquête, seule *V. doniana* a été reconnue comme plante médicinale. Par ailleurs, cette plante est appelée « Gnahou » en Sénoufo et « Koto » en Dioula. Toutes les parties de la plante sont utilisées dans le traitement des pathologies humaines (le paludisme, la plaie interne, la plaie sur la bouche, la lèpre, l'ulcère, le mal de tête et la diarrhée). Ces résultats obtenus viennent confirmer ceux obtenus par d'autres auteurs comme [9, 10, 11, 12] qui ont démontrés l'utilisation des différentes parties de *V. doniana* dans le traitement de plusieurs pathologies humaines. *T. mantaly* est connue comme arbre ornementale et d'ombrage, mais pas comme une plante médicinale exploitée. Cependant, cette plante comme la plupart des espèces de *Terminalia* est bien connue pour ses valeurs thérapeutiques en tant qu'antipaludéen, anti-cancéreux, antigénotoxique, antiinflammatoire, anti VIH et leurs activités antidiabétique, contre la perte de la voix et hépatoprotective [13, 14, 15, 16].

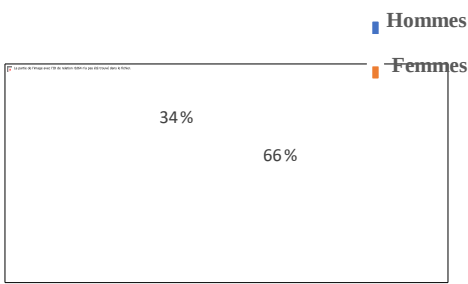


Figure 1: Répartition selon le sexe

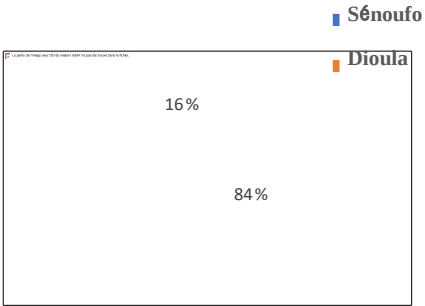


Figure 2: Répartition selon l'ethnie

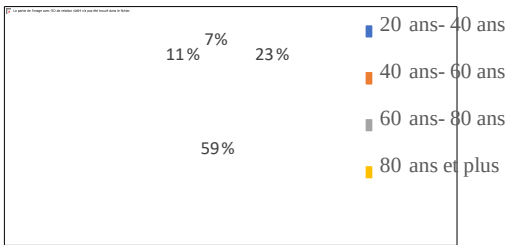


Figure 3: Répartition selon la tranche d'âge

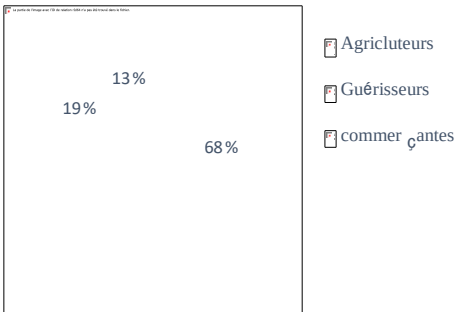


Figure 4: Répartition selon la profession

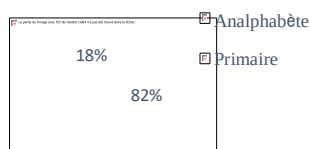


Figure 5: Répartition selon le niveau d'étude



Figure 6: Répartition selon la situation familiale

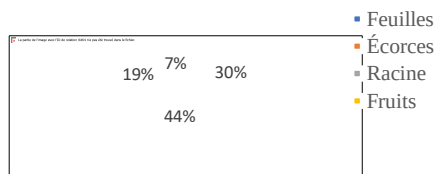


Figure 7: Proportion d'utilisation des organes de *Vitex doniana*

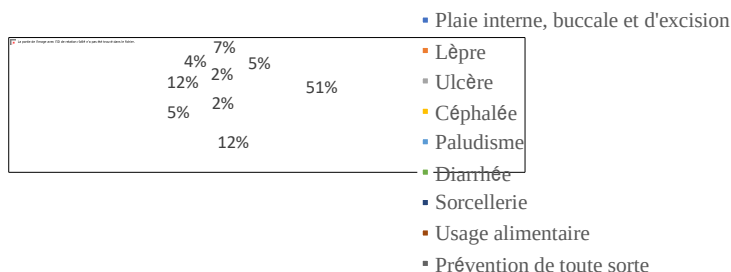


Figure 8: Répartition des pathologies traitées par *Vitex doniana*

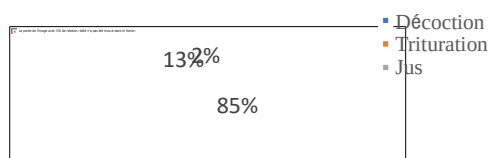


Figure 9 : Proportion des différents modes de préparation traditionnelle des organes de *Vitex doniana*

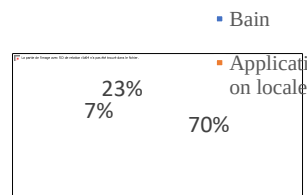


Figure 10 : Proportion des différentes voies d'utilisation traditionnelle des organes de *Vitex doniana*

3.2. Rendements

. Les extraits de la pulpe et de graines de *V. doniana* et de *T. mantaly* ont donné les meilleurs rendements (**Figures 11 et 12**). Les rendements des extractions obtenus dépendent de la partie de la plante utilisée (racine, écorce, pulpe et la graine), mais aussi du pouvoir d'extraction des solvants car plusieurs travaux ont révélé que la macération hydroalcoolique permettait d'avoir des meilleurs rendements que la macération aqueuse [17]. Cependant, les méthodes d'extraction ne permettent pas d'avoir des composés chimiques spécifiques. De ce fait, les rendements ne peuvent pas être corrélés aux valeurs d'activités biologiques mesurées [18].

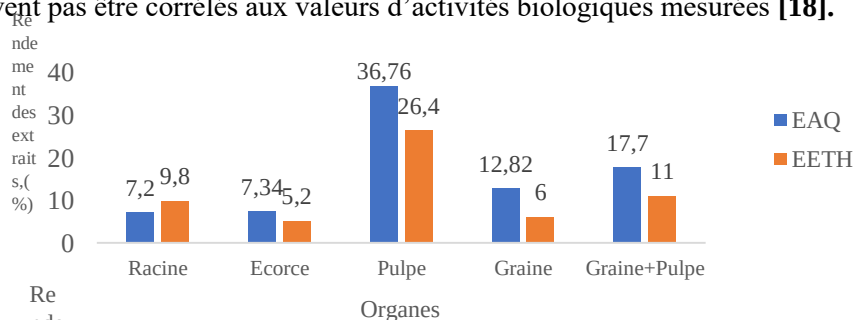


Figure 11: Rendement des extraits de *V. doniana*

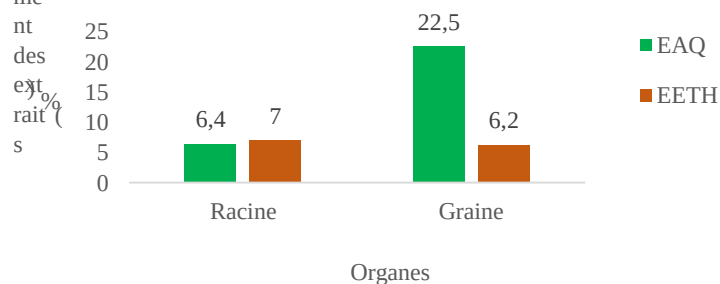


Figure 12: Rendement des extraits de *T. mantaly* H. Perrier**3.3. Activité antimicrobienne**

Les tableaux I présentent les résultats des paramètres antimicrobiens obtenus avec les extraits actifs. Les valeurs des CMI obtenues varient d'un extrait à l'autre et d'une souche à une autre. Ces valeurs se situent entre 0,2 mg/mL et 5 mg/mL. Les plus faibles valeurs de CMI sur les souches bactériennes ont été obtenues avec l'extrait éthanolique de *T. mantaly*. Ainsi, on a obtenu une CMI= 0,15 mg/mL sur *E. coli*, une CMI= 0,52 mg/mL sur *S. aureus* et 0,2 mg/mL sur *S. typhi*. L'extrait ayant présenté une faible valeur de CMI sur la souche de *C. albicans* est l'extrait hydroalcoolique de la graine et la pulpe de *V. doniana*.

Cependant, la plus faible activité a été obtenue avec l'extrait de la pulpe alors qu'en milieu solide, cet extrait a présenté une meilleure activité sur les souches que les extraits de la racine, de l'écorce et de la graine.

L'activité inhibitrice du fruit de *V. doniana* est une première et pourrait s'expliquer par sa richesse en polyphénols, en tanins, en stérols, en triterpènes, des stéroïdes, des sucres (carbohydratés), des saponosides de composés polyphénoliques, des flavonoïdes et des anthraquinones [19, 20]. Les rapports CMB/CMI et CMF/CMI révèlent que l'activité inhibitrice est soit bactéricide ou fongicide, ou soit bactériostatique ou fongistatique [21]. Ils varient entre 1 et 23, 80. . Les extraits ayant une activité fongicide et bactéricide sur toutes les souches sont les extraits hydroalcooliques de la pulpe de *V. doniana* et de la racine aqueuse de *T. mantaly*.

Tableau I : Concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) des extraits de *V. doniana* et *T. mantaly* H. Perrier

Extraits	Souches bactériennes	Paramètres antibactériens		Rapport CMB/CMI et CMF/CMI
		CMI (mg/mL)	CMB et CMF (mg/mL)	
RaqTm	<i>E. coli</i> ATCC 25922	5	5	1
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	4,16±1,44	5	1,20
	<i>S. typhi</i> IPP 5534	0,72±0,47	1,25	1,73
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	2,5	2,5	1
RethV	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,88±0,63	5	5,68
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1,77±1,26	5	2,82
	<i>S. typhi</i> IPP 5534.	2,08±0,7	5	2,40
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	1,66±0,72	2,5	1,50
EethV	<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,5	5	2
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	2,08±0,72	5	2,40
	<i>S. typhi</i> IPP 5534	1,87±1,08	5	2,67
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	0,72±0,47	4,17±1,44	5,79
GethV	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,62	5	8,06
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,67±0,54	2,5	3,73
	<i>S. typhi</i> IPP5534	0,52±0,18	5	9,61
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	1,04±0,36	2,5	2,40
PethV	<i>E. coli</i> ATCC 25922	5	5	1
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	5	5	1
	<i>S. typhi</i> IPP 5534	5	5	1
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	2,5	5	2
GPethV	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,21±0,09	5	23,80
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1,041±0,36	5	4,80
	<i>S. typhi</i> IPP 5534	1,45±0,95	4,17±1,44	2,87
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	0,2±0,09	2,5	12,5
RethTm	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,15	1,67±0,72	11,13
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,52±0,18	0,83±0,36	1,59
	<i>S. typhi</i> IPP 5534	0,2±0,09	0,26±0,09	1,3
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	2,5	2,5	1

4. Conclusion et perspectives

L'étude ethnobotanique réalisée sur *V. doniana* et *T. mantaly* H. Perrier révèle qu'à l'instar de *T. mantaly* H. Perrier, les parties de la plante de *V. doniana* sont très largement utilisées dans le traitement des maladies par les populations locales de la région du Poro. Différents extraits de *V. doniana* et de *T. mantaly* inhibent la croissance *in vitro* de trois souches bactériennes et une levure selon les méthodes de diffusions en milieu solide et liquide. Les plus faibles valeurs de CMI sur les souches bactériennes sont obtenues avec l'extrait éthanolique de *T. mantaly* et sont de 0,15 mg/mL sur *E. coli*, 0,52 mg/mL sur *S. aureus* et 0,2 mg/mL sur *S. typhi* tandis que sur la souche de *C. albicans* la plus faible valeur de CMI a été obtenue avec l'extrait hydroalcoolique de la pulpe + la graine et de *V. doniana*.

5. Références bibliographiques

- [1]. PAO. Pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest, Organisation Ouest Africaine de la Santé, 2020.
- [2]. Dadjo.C. Assessment of Nutritional Variation and Establishment of an Efficient Tissue Culture Propagation Protocol for *Vitex doniana* Sweet (Lamiaceae) from Benin (Western Africa)., Thèse , Université Jomo Kenyatta, Kenya. 2014.
- [3]. Kokora A.P, Moroh. J.L.A, Karamoko. D, Ackah. J. A.A. Bognan, Kra. A. K. Mathieu and Coulibaly A. Optimization of the antibacterial activity of *Terminalia mantaly* H Perrier (Combretaceae) on the *in vitro* growth of *Escherichia coli*. WJPPS. (2019) 8; 1433.
- [4]. Ackah J. A. A. B., Yaye Y. G., Yapi H. F., Kra A. K. M. et Djaman A. J. Antifungal activity of *Terminalia mantaly* on the *in vitro* growth of *Cryptococcus neoformans*. IJBCRR. (2013)3;73.
- [5]. Yaye Yapi Guillaume., Evaluation et essais d'optimisation de l'activité antifongique des extraits de *Terminalia mantaly* H. Perrier, sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Trichophyton mentagrophytes*. Thèse de doctorat, Université Félix HouphouëtBoigny. 2013.
- [6]. Mbouna C. D. J., Kouipou R. M. T., Keumoe R., Keumoe R., Tchokouaha L. R. Y., Fokou P. V. T., Tali B. M. T., Sahal D. et Boyom F. F.,. Potent antiplasmodial extracts and fractions from *Terminalia mantaly* and *Terminalia superba*. Malar J. (2018)17; 9.
- [7]. Zirih G. N., Kra A. M. et Guédé-Guina F., : Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (LAMARCK) O. Kunze (Asteraceae) <<PYMI>>sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Revue de Médecine et de Pharmacie. (2003)17; 18.
- [8]. Doughari J. H.,: Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. Trop J Pharm Res. (2006) 5 ;603.
- [9]. Arbonier M. Trees, shrubs and lianas of West African dry zones. Cirad.
- [10]. Sanogo R., Karadji A. H., Dembele O., Diallo D. Hypertension artérielle. Med. (2009) 24; 6.
- [11]. Gbenou B.O.R. Et Adjakpa J.B. Etude Ethnobotanique de *Vitex doniana* (Sweet) (Verbenaceae) dans la commune de Bonou au Bénin : 2014, Bénin
- [12]. Kam.S.E, Meda.T.N.R, Kabre.Z, Koama.B.K, Ouoba.Y.H, Yameogo.V, Zon.D.M, Zongo.E and Ouedraogo G.A.,. Ethnobotanical Survey of Plants used Traditional Healers for Treatment Urinary Infections in Hauts-Bassins Areas of Burkina Faso. IJSR. (2020) 9; 1118
- [13]. N'guessan K, Kadja B, Zihiri GN, Traoré D, Aké AL.,. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). Sci & Nat. (2009) 6 ; 15.
- [14]. Zihiri G. N., N'guéssan K., Kassy N. J., Coulibaly K. et Djaman A. J. Evaluation and comparison of antifungal activities of *Terminalia catappa* and *Terminalia mantaly* (Combretaceae) on the *in vitro* growth of *Aspergillus fumigates*. JMPR. (2012) 6; 2308
- [15]. Shikha.M, Rajashree.S, Renu.M, Ranjana.V. Antifungal Activity of Alcoholic Leaf Extracts of *Terminalia catappa* and *Terminalia arjuna* on some pathogenic and Allergenic Fungi. IISTE. (2013) 8 ; 27.
- [16]. Séguéna.F, Soro.K, Soro.D et N'guéssan.K. Savoir faire des taxons du jardin botanique de Bingerville, Côte d'Ivoire. JABs. (2013) 68; 5393
- [17]. Dieye.PI, N'diaye.S, Dione.F, Diop.A, Dieng.A, N'diaye.B, Diop.YM, Sarr.SO. Étude corrélée de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de *Jatropha chevalieri* et de *Cordylla pinnata*, et de leurs profils chromatographiques. JABs. (2021)158 ; 16410
- [18]. Diatta BD, Houël E, Gueye M, Niass O, Boetsch G. Activités antimicrobiennes des plantes utilisées comme bâtonnets frotte-dents (cure-dents) par les Peuls de la commune de Tessékéré (Ferlo Nord, Sénégal). IJBCS. (2019)13; 1457
- [19]. Bouquet A.,. Plantes médicinales du Congo-Brazzaville: Uvari- oopsis, Pauridiantha, Fiospyros. Travaux et Documents de l'ORS TOM : 1972, Paris.
- [20]. Suleiman M. M. et Yusuf S. Antidiarrheal Activity of the Fruits of *Vitex doniana* in Laboratory Animals. Pharmaceutical Biology. (2008) 46; 392.
- [21]. Marmonier A. A. Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. Bactériologie Médicale, techniques usuelles, 1990 ; France pp. 227-236.

Etude chimique sur l'isolement et la synthèse des composés acétyléniques de la plante *Conyza bonariensis* acclimatée au Togo

Kodjo ADANDE^{1*}, Stéphanie Ballereau³, Oudjaniyobi SIMALOU¹, Kodjo Eloh², Isabelle Fabing³, Marie-France BAKAÏ², Yves Génisson³, Kafui KPEGBA¹

¹ Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

² Laboratoire de Chimie Organique et Sciences de l'Environnement (LaCOSE), Faculté des Sciences et Techniques, Université de Kara, BP 404, Togo

³ Laboratoire Synthèse et Physico-chimie de Molécules d'Intérêt biologique, Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse Cedex 09, France
Auteur correspondant : isaaricoadande@gmail.com

1. Résumé

Les composés acétyléniques, généralement rependus dans les deux règnes, sont très abondants dans la famille des *Asteraceae*[1]. *Conyza bonariensis* est une plante de cette famille et les études antérieures ont montré l'identification et l'isolement de certains composés acétyléniques dans ses extraits[2], [3]. L'objectif de cette étude consiste à isoler et à synthétiser les composés acétyléniques présents dans la plante acclimatée au Togo. L'analyse chromatographique (CPG/SM et HPLC) de l'huile essentielle et des extraits de la racine de la plante a montré la présence majoritaire de deux composés acétyléniques. Le méthyle ester lachnophyllum a été obtenu par recristallisation de l'huile essentielle et le fractionnement par HPLC préparative de l'extrait hexanique de la racine a permis d'isoler le (4Z)-Lactone lachnophyllum. Par synthèse, le méthyle ester lachnophyllum a été obtenu par la voie du couplage de Cadot-Chodkiewicz ($r = 38\%$) et de Sonogashira ($r = 70\%$). Le couplage cyclisant de Sonogashira a permis d'obtenir le (4Z)-Lactone lachnophyllum ($r = 45\%$). L'analyse UHPLC a montré que les composés acétyléniques synthétisés sont sortis au même temps de rétention que ceux présents dans l'extrait de la plante. Ce qui confirme que les composés synthétiques correspondent aux composés isolés de la plante.

Mots clés : *Conyza bonariensis*, méthyle ester lachnophyllum, (4Z)-Lactone lachnophyllum.

Abstract

Acetylenic compounds, generally widespread in both kingdoms, are very abundant in *Asteraceae* family [1]. *Conyza bonariensis* is a plant of this family and previous studies have shown identification and isolation of some acetylenic compounds in its extracts[2][3]. The main of this study is to isolate and synthesize acetylenic compounds present in the plant acclimated in Togo. Chromatographic analysis (GC/MS and HPLC) of essential oil and extracts of root showed the majority presence of two acetylenic compounds. Lachnophyllum methyl ester was obtained by recrystallization of essential oil and preparative HPLC fractionation of hexanic extract of the root gave (4Z)-Lactone lachnophyllum. By synthesis, lachnophyllum methyl ester was obtained by Cadot-Chodkiewicz ($y = 38\%$) and Sonogashira ($y = 70\%$) coupling. Cyclizing coupling of Sonogashira gave (4Z)-Lactone lachnophyllum ($y = 45\%$). UHPLC analysis showed that synthesized acetylenic compounds emerged at the same retention time as those present in the plant extract. Which confirms that synthetic compounds correspond to compounds isolated from the plant.

Key words : *Conyza bonariensis*, lachnophyllum methyl ester, (4Z)-Lactone lachnophyllum.

1. Introduction

Les composés acétyléniques encore appelés les alcynes, sont des composés qui contiennent dans leur structure carbonée une ou plusieurs triple(s) liaison(s) carbone-carbone d'hybridation sp . La présence de ces insaturations dans leurs structures carbonées, les rend biologiquement et chimiquement actifs[1]. Les composés acétyléniques présentent une grande variété d'activités biologiques, ce qui les rend intéressants pour la médecine, la pharmacologie, la chimie médicinale et l'industrie pharmaceutique[4]. Ce sont des composés qui sont rependus dans le monde du vivant et sont très généralement abondant dans les végétaux surtout dans la famille des *Asteraceae*. *Conyza bonariensis* (L) Cronquist ou encore *Erigeron bonariensis* est une plante invasive de la famille des *Asteraceae* qui fait partie des plantes les plus riches en composés acétyléniques. Les études effectuées sur la composition chimique de ses extraits ont montré la présence des terpénoïdes, des flavonoïdes, des composés acétyléniques dont les plus majeurs sont les dérivées ènynes telles que les *cis*-méthyle ester lachnophyllum et matricaria, les lactones lachnophyllum et matricaria[5], [6], [7]. Ces dérivées ènynes contiennent dans leurs structures carbonées des conjugaisons d'insaturations avec des groupements carbonyles ce qui les rend biologiquement et chimiquement actifs. L'exploration biologique de ces dérivées ènynes constituerait un avantage majeur dans le domaine pharmacologique, biopesticide...C'est ainsi que nous nous sommes intéressés aux dérivées ènynes présentes dans la plante *C. bonariensis* dans le but de les isolés et de proposer leurs voies de synthèse pour des fins biologiques. Plus spécifiquement il s'agira :

- De déterminer la composition chimique des extraits de la plante *C. bonariensis*
- D'isoler et de synthétiser les composés acétyléniques présents dans la plante
-

2. Matériel et méthodes

2.1. Etudes phytochimiques

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne et des racines de la plante *Conyza bonariensis* qui ont été collectées à Dagni Koudzragan au Togo. La biomasse ainsi obtenue a été triée puis les parties aériennes et les racines ont été séparées et séchées sous climatisation à 17 °C. Après 5 jours de séchage, les parties aériennes ont été utilisées pour les différentes extractions. Les racines quant à elles, ont été séchées pendant 21 jours puis pilées pour être réduites en petits morceaux avant leurs utilisations.



Photo 1 : A.) Partie aérienne de *Conyza bonariensis* B.) Racine de *Conyza bonariensis*

2.1.1. Les huiles essentielles

Obtention des huiles essentielles

Une masse de 13,252 Kg de la partie aérienne et de 0,8 Kg des racines ont été distillées avec le dispositif de vapo-hydrodistillation sur une durée d'au-moins 4 heures pour donner les huiles essentielles. Les huiles essentielles ainsi obtenues ont été séchées avec le sulfate de sodium anhydre, conditionnées dans les flacons opaques en verre, protégées avec du papier aluminium et conservées au froid à 4 °C.

Analyse des huiles essentielles par CG/SM

L'analyse des huiles essentielles par chromatographie gazeuse couplée au spectre de masse (CG/SM) a été effectuée par l'équipement Agilent 5973 avec une colonne apolaire HP1-MS de dimension 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit de 1 mL/min. Le détecteur spectre de masse utilisé a été HED/EM (High Energy Dynode/Electron Multiplier 0 – 3000 V) avec une énergie de 70 Ev. Un volume de 1 µL d'une solution de 1000 ppm d'huile essentielle dans de l'hexane (1 µL de HE dans 1 mL d'hexane) a été injectée. Les composants des HE ont été identifiés sont comparés à la base de données NIST98 pour déterminer les structures des composés.

Isolement du (Z)-lachnophyllum méthyle ester par recristallisation de l'huile essentielle

Ce composé a été obtenu en dissolvant l'huile essentielle de la racine de *C. bonariensis* dans l'hexane. Un volume de 1 mL a été dissous dans 10 mL d'hexane et laissé au congélateur à -20 °C. Après 24h, on observe la formation des cristaux qui ont été recueillis. Ces cristaux ont été purifiés avec de l'hexane 6 fois pour obtenir les cristaux purs qui ont été analysés par CG/SM et caractérisés par RMN pour donner le (Z)-lachnophyllum méthyle ester[8].

2.1.2.Obtention des extraits bruts au solvant

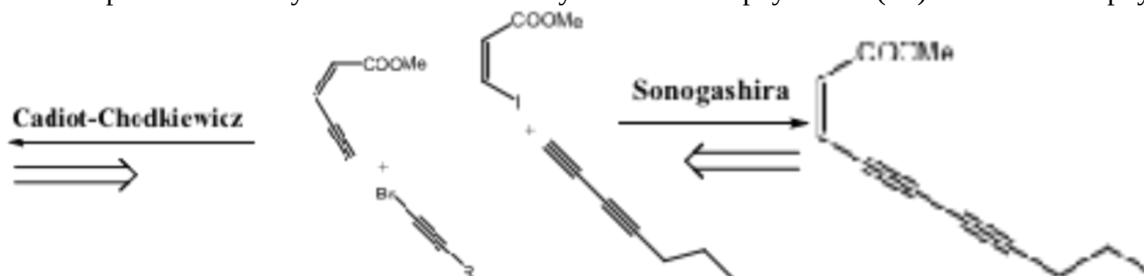
Une masse de (100 g) de poudre (partie aériennes et les racines de *C. bonariensis*) a été mélangée avec un volume (3 x 300 mL) de chloroforme, agité manuellement pendant 5 minutes puis soumis à une agitation ultrasonore pendant 30 minutes. Le mélange ainsi obtenu a été macéré pendant 24 h puis filtré et évaporé. L'extrait chloroformique obtenu a été mis en suspension dans un mélange de solvants MeOH/H₂O (3:1). Le mélange a été partitionné avec l'hexane (3 x 200 mL) pour éliminer les graisses. La phase MeOH/H₂O a été évaporée pour faire partir le méthanol avant d'être partitionnée avec le diéthyle éther (3 x 100 mL). Les phases diéthyle éther et hexanique ont été évaporées pour donner des extraits qui sont conservés au frigo.

Isolation de la lactone lachnophyllum par HPLC préparative

L'analyse LC-MS de la fraction diéthyl-ether a révélé la présence de deux composés majoritaires : cis méthyle ester lachnophyllum et la lactone lachnophyllum. La HPLC préparative a été utilisée pour isoler ce composé. Cette fraction a été séparée sur une colonne avec une phase mobile isocratique constituée d'un mélange MTBE : Hexane (1:4). Le détecteur à barrette de diodes ou diode array detector avec une longueur d'onde d'absorption de 254, 310 et 360 nm couplé avec un détecteur à indice de réfraction a été utilisé. La pompe HPLC a été stabilisée avec un débit de 2 mL/min. Les différentes fractions obtenues ont été soumises à une chromatographie sur couche mince et après à une analyse de résonance magnétique nucléaire (RMN) pour la caractérisation des composés purs isolés.

2.2. Synthèse des composés naturels isolés

Les composés naturels synthétisés sont le méthyle ester lachnophyllum et (4Z)-lactone lachnophyllum.



La synthèse de l'ester a été effectuée en utilisant deux voies de synthèse décrites par le schéma suivant. La voie A représente le couplage de **Cadiot-Chodkiewicz** qui consiste à effectuer un couplage entre un bromoalcyne et un alcyne terminal. La voie B correspond au couplage de **Sonogashira** qui consiste à effectuer un couplage entre un alcyne terminal et un iodoalcène[9], [10].

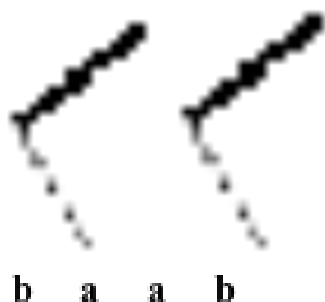
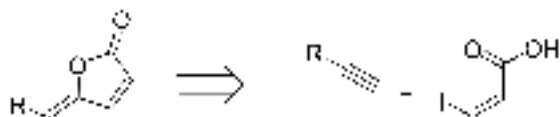


Schéma 1 : Voie retrosynthétique du méthyle ester lachnophyllum



La synthèse de la lactone lachnophyllum a été obtenue en faisant un couplage entre un alcyne terminal et un iodoalcène acide (acide 1-iodoprop-2-énoïque) comme le montre le schéma 2[11].

Schéma 2 : Voie retrosynthétique de la lactone lachnophyllum

3. Résultats et discussion

3.1. Composition chimique des huiles essentielles

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielles de la racine et de la partie aérienne

N°	Nom	Racine	Partie aérienne	IR
1	(-)-Limonène	-	5,80	1036
2	β -trans-Ocimène	-	2,17	1060
3	Aromandendrène	0,0803	-	1343
4	β -Caryophyllène	2,94	12,78	1412
5	trans- α -Bergamotène	-	1,32	1434
6	α -Humulène	1,74	0,63	1450
7	(E)- β -Farnésène	25,75	30,29	1461
8	Germacrène D	5,04	28,77	1480
9	3,5-Decadiyne, 2,2-diméthyl-	1,49	-	1514
10	Bicyclogermacrène	-	11,36	1497
11	cis-Lachnophyllum méthyle ester	50,62	0,92	1524
12	E-Nerolidol	0,88	0,75	1564
13	(+)-Spathulenol	1,66	0,25	1634
14	Oxacyclotétradéca-4,11-diyne	0,44	-	1960
15	trans-Phytol	0,14	-	2119
16	Acide10,12-Octadécadiynoic	0,22	-	2140

L'analyse CG/SM des huiles essentielles de la partie aérienne et de racine a permis d'identifier un certain nombre de composés. Les composés majoritaires sont le *cis*-lachnophyllum méthyle ester (50,62%), le limonène (5,80%), le trans β -farnésène (30,29%), β -caryophyllène (12,78%) et le germacrène D (28,77%). De même Ferreira et al ont récemment identifié le *cis*-lachnophyllum méthyle ester (57.24%) comme composé majoritaire dans le chémotype présent au Brésil à João Pessoa[12].

3.2. Isolation du *cis*-lachnophyllum méthyle ester

La recristallisation de l'huile essentielle de la racine a permis d'isoler ce composé d'aspect cristaux blancs qui se fond très rapidement à température ambiante autour de 28 °C. Les analyses RMN ¹H, ¹³C ont confirmé la structure du composé

Les spectres proton et carbone montrent : ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.23 (d, J = 11.4 Hz, 1H); 6.20 (dt, J = 11.7 Hz, 1H); 3.79 (s, 3H); 2.36 (td, J = 7.0, 0.9 Hz, 2H); 1.69 – 1.53 (m, 2H); 1.02 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 164.8, 130.7, 122.6, 90.1, 86.6, 70.9, 65.2, 51.6, 21.8, 21.6, 13.5.

3.3. Isolation de la lactone lachnophyllum

Le fractionnement par HPLC préparative de la fraction diéthyle éther a permis l'isolation de la lactone lachnophyllum. L'analyse par RMN proton et carbone de l'une des fractions pures a donné un spectre qui correspond à la lactone lachnophyllum. Les caractéristiques des spectres se présentent comme suit :

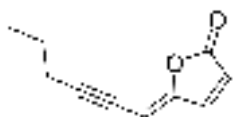
NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1.03 (t, 3H, J = 5.2 Hz, CH₃), 1.62 (sex, 2H, J = 7.2 Hz, CH₂), 2.43 (td, 2H, J = 7.2, 2.4 Hz, CH₂), 5.31 (t, 1H, J = 2.4 Hz, CH), 6.22 (d, 1H, J = 5.2 Hz, CH), 7.37 (d, 1H, J = 5.2 Hz, CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 168.9, 156.0, 142.6, 120.1, 104.6, 95.1, 74.8, 22.1, 21.8, 13.5.

Synthèse du *Cis*-méthyle ester lachnophyllum



Suivant les conditions de Cadiot-Chodkiewicz en utilisant (Z)-Pent-2-èn-4-ynoate de méthyle (0,25 g ; 2,31 mmol), bromopent-1-yne (0,4 g ; 2,72 mmol) ; CuCl (6,9 mg ; 0,069 mmol) ; le chlorhydrate d'hydroxylamine (3,4 mg ; 0,048 mmol) et 30% de n-butylamine dans H₂O (5 mL). Le produit brut obtenu est purifié pour donner le Z-Ester d'aspect solide jaune (157,4 mg, r = 38%)

Suivant de Sonogashira en utilisant (Z)-3-iodoprop-2-énoate de méthyle (50 mg, 0.24 mmol), l'hepta-1,3-diyne (32,5 mg ; 0,35 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (8,45 mg ; 0,012 mmol) ; CuI (2,3mg ; 0,012 mmol) et la triéthylamine (0.7 M). Le produit brut a été purifié le (Z)-ester **19** (29,7 mg ; r = 70%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.23 (d, J = 11.4 Hz, 1H); 6.20 (dt, J = 11.7 Hz, 1H); 3.79 (s, 3H); 2.36 (td, J = 7.0, 0.9 Hz, 2H); 1.69 – 1.53 (m, 2H); 1.02 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 164.8, 130.7, 122.6, 90.1, 86.6, 70.9, 65.2, 51.6, 21.8, 21.6, 13.5.



3.4. Synthèse de la lactone lachnophyllum

Suivant les conditions de Sonogashira en utilisant l'heptandiyne (75 mg ; 0,76 mmol), Acide (Z)-3-Iodoprop-2-énoïque 26 (100 mg ; 0,505 mmol), PdCl₂P(Ph₃)₂ (8,9 mg ; 0,013 mmol), CuI (8,9 mg, 0,013 mmol), Et₃N (2 mL ; 13,6 mmol). La lactone a été obtenue d'aspect huile jaune (37,2 mg; r = 45 %) ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.39 (d, J = 5.4 Hz, 1H); 6.22 (d, J = 5.4Hz, 1H); 5.32 (d, J = 2.6 Hz, 1H); 2.43 (td, J = 7.0, 2.5 Hz, 2H); 1.61 (h, J = 7.2 Hz, 2H); 1.02 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 168.9, 156.1, 142.7, 120.1, 104.6, 95.1, 74.8, 22.1, 21.8, 13.5.

3.5. Confirmation des composés naturels synthétiques dans l'extrait

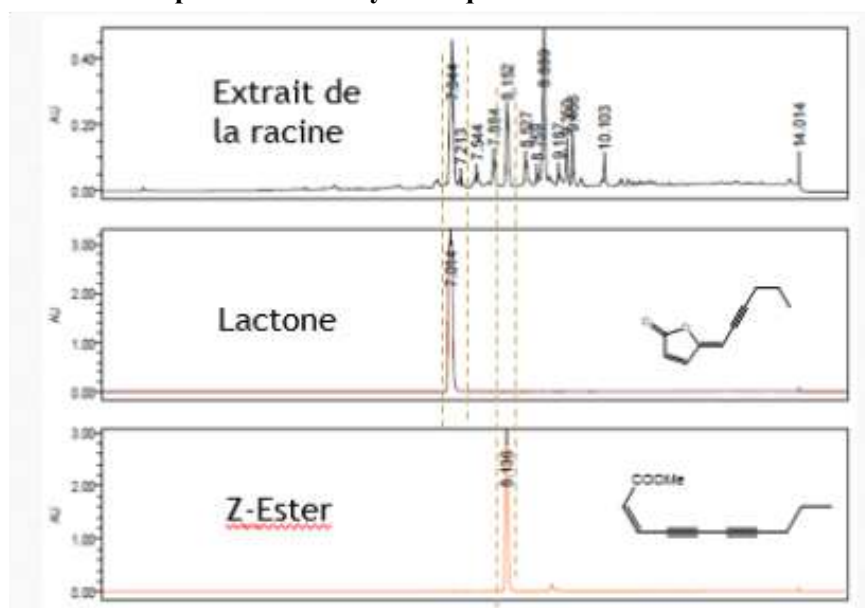


Figure 1 : Chromatogrammes de l'analyse comparative des composés synthétiques et de l'extrait

L'analyse chromatographique (Figure 1) montre que le (4Z)-lactone lachnophyllum et (Z)-méthyle ester lachnophyllum sortent à des temps rétentions de 7,01 min et 8,14 min tout comme ceux présents dans l'extrait heptanique. En dehors la similarité des temps de rétention obtenus, les masses isotopiques de ces composés obtenus du spectre de masse sont également identiques. Alors nous pouvons dire que le (4Z)-lactone lachnophyllum et (Z)-méthyle ester lachnophyllum identifiés dans l'extrait de la plante correspond à ceux synthétisés.

4. Conclusion et perspective

L'utilisation des méthodes d'extraction et des techniques d'analyse chromatographique sur la plante *Conyza bonariensis* a permis d'isoler deux composés acétyléniques. Le (Z)-méthyle ester lachnophyllum a été obtenu par recristallisation de l'huile essentielle de la racine et le (4Z)-lactone lachnophyllum a été isolé par fractionnement par HPLC préparative de l'extrait diéthyl éther de la racine de *C. bonariensis*. L'utilisation des méthodes de synthèse a permis de synthétiser ces composés naturels. Pour la synthèse de l'ester lachnophyllum, la voie de Sonogashira a été meilleure que la voie de Cadot-Chodkiewicz. L'analyse UHPLC effectuée a montré une conformité entre les composés synthétiques et les naturels de la plante. Ce qui confirme l'approche synthèse pour la synthèse de ces composés acétyléniques naturels.

Comme perspective, nous envisageons :

- Synthétiser d'autres analogues de ces composés acétyléniques à l'aide de ces voies de synthèses
- Evaluer les différentes activités biologiques de ces composés synthétiques
-

5. Références bibliographiques

- [1] D. Konovalov, « Polyacetylene Compounds of Plants of the Asteraceae Family (Review) », *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 48, p. 36-53, janv. 2015, doi: 10.1007/s11094-014-1159-7.
- [2] L. C. A. Barbosa, V. F. Paula, A. S. Azevedo, E. A. M. Silva, et E. A. Nascimento, « Essential oil composition from some plant parts of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist », *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 20, n° 1, p. 39-41, 2005, doi: 10.1002/ffj.1392.
- [3] J. Maia, M. Silva, M. Zoghbi, et E. Andrade, « Composition of the Essential Oils of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist », *Journal of Essential Oil Research - J ESSENT OIL RES*, vol. 14, p. 325-326, sept. 2002, doi: 10.1080/10412905.2002.9699871.
- [4] L. P. Christensen et J. Lam, « Acetylenes and related compounds in Cynareae », *Phytochemistry*, vol. 29, n° 9, p. 2753-2785, janv. 1990, doi: 10.1016/0031-9422(90)87075-6.
- [5] R. Negri, « Polyacetylenes from terrestrial plants and fungi: Recent phytochemical and biological advances », *Fitoterapia*, vol. 106, p. 92-109, oct. 2015, doi: 10.1016/j.fitote.2015.08.011.
- [6] L. P. Christensen et J. Lam, « Acetylenes and related compounds in astereae », *Phytochemistry*, vol. 30, n° 8, p. 2453-2476, janv. 1991, doi: 10.1016/0031-9422(91)85085-E.
- [7] S. Opiyo, « A Review Of Chemical Compounds And Bioactivity Of *Conyza* Species », *IOSR Journal of Applied Chemistry*, vol. 16, p. 36-48, juin 2023, doi: 10.9790/5736-1606013648.
- [8] K. Adande, K. Elo, O. Simalou, M.-F. Bakaï, et P. Caboni, « Chemical Composition of Different Extracts of *Conyza bonariensis*: Insecticidal and Nematicidal Activities », *AJAC*, vol. 14, n° 02, p. 95-120, 2023, doi: 10.4236/ajac.2023.142006.
- [9] K. Sonogashira, Y. Tohda, et N. Hagihara, « A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines », *Tetrahedron Letters*, vol. 16, n° 50, p. 4467-4470, janv. 1975, doi: 10.1016/S0040-4039(00)91094-3.
- [10] J. P. Marino et H. N. Nguyen, « Bulky Trialkylsilyl Acetylenes in the Cadot–Chodkiewicz Cross-Coupling Reaction », *J. Org. Chem.*, vol. 67, n° 19, p. 6841-6844, sept. 2002, doi: 10.1021/jo025745x.
- [11] F. Liu et E. Negishi, « Efficient and Stereoselective Synthesis of Freelingyne via Pd-Catalyzed Cross Coupling and Lactonization¹ », *J. Org. Chem.*, vol. 62, n° 24, p. 8591-8594, nov. 1997, doi: 10.1021/jo971360g.
- [12] R. C. Ferreira *et al.*, « Chemical Composition, In Vitro Antitumor Effect, and Toxicity in Zebrafish of the Essential Oil from *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Asteraceae) », *Biomolecules*, vol. 13, n° 10, p. 1439, sept. 2023, doi: 10.3390/biom13101439.

Caractérisation des stéroïdes de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Turraea heterophylla* Sm. (Meliaceae).

Kouadio Kouassi Blaise^{1,2*}, Douhore Gnaoré Yoh Toussaint² ; Oussou Kouamé Raphael¹ ; Konan Dibi Jacques³ ; [Kablan Ahmont Landry Claude](#)⁴; Attioua Koffi Barthélemy³ ; Dongui Bini kouamé¹

¹Laboratoire de Sciences et Technologies de l'Environnement, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon GUEDE, Daloa, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN), UFR-SFA, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

⁴Département de Mathématiques, Physique et chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

(*) : Auteur de correspondance : Kouadio Kouassi Blaise : kouassiblaisekoua434@gmail.com

Turraea heterophylla est une plante médicinale de Côte d'Ivoire utilisée pour traiter le paludisme. L'objectif de cette étude est d'identifier des stéroïdes présents dans les feuilles de cette espèce végétale. En effet, 25g de broyat des feuilles de *T. heterophylla* ont été macérés dans le méthanol-eau pendant 24h. La mise en évidence des grandes familles a été faite par la méthode de Konan et al., 2019 [1]. L'étude deréplivative des molécules a été réalisée par la spectroscopie ultraviolet et la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectroscopie de masse tandem (HPLC-ESI-QTOF-MS/MS) selon la méthode décrite par Konan et al., 2019 [1]. Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence d'alkaloïdes, de saponines, de flavonoïdes, de polyterpènes et stérols. L'étude effectuée en HPLC-ESI-QTOF-MS/MS a permis d'identifier les structures de trois stéroïdes : le villostérol, l'oxo- β -sitostérol et le stigmasterol, déjà isolées des espèces *Turraea pubescens* [2] et *Turraea robusta* [3]. Par contre, ces molécules sont identifiées pour la première fois des feuilles de *Turraea heterophylla* de Côte d'Ivoire. Les feuilles de *T. heterophylla* sont riches en stéroïdes. Nous souhaitons donc poursuivre cette étude afin d'isoler et de caractériser de nouveaux stéroïdes des autres organes de cette plante.

Mots Clés : *Turraea heterophylla* ; étude deréplivative ; stéroïdes

Characterization of steroids from the hydro-metabolic extract of the leaves of *Turraea heterophylla* Sm. (Meliaceae).

Turraea heterophylla is a medicinal plant from Côte d'Ivoire used to treat malaria. The objective of this study is to identify steroids present in the leaves of this plant species. Indeed, 25g of crushed leaves of *T. heterophylla* were macerated in methanol-water for 24 hours. The identification of large families was done using the method of Konan et al., 2019 [1]. The deréplivative study of the molecules was carried out by ultraviolet (UV) spectroscopy and high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectroscopy (HPLC-ESI-QTOF-MS/MS) according to the method described by Konan et al., 2019 [1]. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, saponins, flavonoids, polyterpenes and sterols. The study carried out in HPLC-ESI-QTOF-MS/MS made it possible to identify the structures of three steroids: villostérol, oxo- β -sitosterol and stigmasterol, already isolated from the species *Turraea pubescens* [2] and *Turraea robusta* [3]. On the other hand, these molecules are identified for the first time from the leaves of *Turraea heterophylla* from Côte d'Ivoire. The leaves of *T. heterophylla* are rich in steroids. We therefore wish to continue this study in order to isolate and characterize new steroids from other organs of this plant.

Keywords: *Turraea heterophylla* ; deréplivative study; steroids.

1. Introduction

La famille des Meliaceae est largement utilisée en médecine traditionnelle ivoirienne. Les espèces de cette famille sont utilisées pour traiter le paludisme, les crises hémorroïdaires, l'hypertension artérielle et l'ulcère de Buruli [1,4]. Cependant, leur composition chimique qui peut garantir leur utilisation, n'est pas suffisamment établie. Afin de contribuer à la connaissance de la composition chimique des espèces de cette famille, nous avons choisi d'étudier *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae), un arbuste distribué dans les régions tropicales et centrales du monde [5]. En Côte d'Ivoire, cette espèce est connue comme un puissant aphrodisiaque [6]. Concernant la chimie de cette espèce, la littérature rapporte la présence de tanins, saponines, terpènes, stéroïdes et limonoïdes dans l'écorce des racines [7]. La présente étude concerne les feuilles de cette espèce, et elle vise à réaliser un criblage phytochimique, puis identifier des stéroïdes par la méthode HPLC-ESI-QTOF-MS/MS.

2. Matériel et Méthodes

Les feuilles de *T. heterophylla* ont été collectées en avril 2017 à Gadouan (Daloa, Côte d'Ivoire). Elles ont été séchées à l'abri de la lumière du soleil au laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière de l'UFHB à

température ambiante à 25°C pendant deux semaines. La matière sèche obtenue a été pulvérisée à l'aide d'un broyeur électrique pour faciliter l'extraction des principes actifs.

2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *T. heterophylla*

L'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *T. heterophylla* a été préparé selon la méthode décrite [1]. Le matériel végétal (25,0 g) séché et broyé a été extrait par macération dans un mélange méthanol-eau (8 : 2) pendant 24 heures. Après filtration, le Mac est extrait plusieurs fois avec la même quantité de méthanol-eau pendant 24 heures. Le filtrat obtenu est concentré sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif. Cette opération a fourni 5,1 g d'extrait méthanolique brut. Une partie a servi au criblage phytochimique. Quant à l'autre partie, un prélèvement (5 mg) de l'extrait brut hydro-méthanolique a été dissous dans 1 mL de méthanol (analytique, HPLC), puis à l'aide d'une seringue, 1mL de cet extrait est repris dans 1 mL de méthanol. L'extrait est filtré à nouveau à travers un filtre seringue en nylon 0,5 µm. Enfin, 300 µL est pris dans un flacon avant d'être injecté dans la colonne de la HPLC-QTOF-MS/MS.

2.2. Fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique

L'extrait hydro-méthanolique a subi une contre extraction à partir d'hexane, de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle suivant la méthode rapportée [1]. L'extrait hydro-méthanolique (3,5 g) a été dissous dans 100 mL d'eau et partitionné successivement avec l'hexane (3x 100 mL), le dichlorométhane (4x 100 mL) et l'acétate d'éthyle (5x 85 mL). La phase aqueuse résultante a été séchée puis extraite avec le mélange méthanol/eau (3x 100 mL). Les différentes phases organiques obtenues ont été séparément séchées sur sulfate de sodium anhydre. Après élimination des traces de solvants sous pression réduite, les fractions à l'hexane (F_{HEX} : 1,532 g), au dichlorométhane (F_{DCM} , 1,925 g), à l'acétate d'éthyle (F_{AE} : 2,475 g) et l'extrait aqueux (F_{Aq} : 2,950 g) ont été obtenues.

2.3. Criblage phytochimique

2.3.1. Test des polyphénols par réaction avec le chlorure ferrique

A 2 mL de chaque solution, une goutte de solution de chlorure ferrique alcoolique à 2% a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols [8].

2.3.2. Tests de stérols et de polyterpènes par la réaction de Lieberman et Burchard

Dans une capsule, 5 mL de chaque solution ont été évaporés sur un bain de sable. Le résidu a été dissous à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique, puis transféré dans un tube à essai. Enfin, 0,5 mL d'acide sulfurique concentré y ont été ajoutés. L'apparition, à l'interphase d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, indique la présence de stérols et de terpènes [8].

2.3.3. Tests de flavonoïdes par réaction à la cyanidine

Dans une capsule, 2 mL de chaque solution ont été évaporés comme précédemment. Le résidu froid a été repris avec 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué à moitié. Le tout a été transféré dans un tube à essai. L'ajout de 2 à 3 copeaux de magnésium révèle la couleur rose-orange ou violacée. Ceci indique la présence de flavonoïdes [8].

2.3.4. Tests des tanins catéchiques par le réactif de Stiasny

Dans une capsule, 5 mL de chaque solution ont été évaporés. Au résidu, 15 mL de réactif Stiasny ont été ajoutés. Le mélange est maintenu au bain-marie à 80 ° C pendant 30 min, puis laissé refroidir. L'observation des précipitations en gros flocons caractérise les tanins catéchiques [8].

2.3.7. Tests alcaloïdes avec le réactif Dragendorff (réactif d'iodobismuthate de potassium)

Dans une capsule, 6 mL de chaque solution ont été évaporés. Le résidu est repris dans 6 mL d'alcool à 96%. La solution alcoolique est distribuée dans deux tubes à essai. Dans le premier tube, ajouter 2 gouttes de réactif Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une couleur orange indique la présence d'alcaloïdes [9].

2.3.9. Tests de saponines

Dans un tube à essai, 1 mL d'extrait est bien agité pendant 2 min. L'observation de mousses d'au moins 1 cm de haut indique la présence de saponines [9].

2.4. Méthode par la HPLCESI-QTOF-MS via le logiciel Masshunter Workstation Software

Le traitement automatisé des données brutes obtenues à partir de la HPLCESI-QTOF-MS de l'extrait des feuilles de *T. heterophylla*, suivi d'une analyse par Agilent Masshunter Workstation Software, conduit à identifier les constituants connus de cet extrait brut. A partir des spectres LC-ESI-MS et MS/MS obtenus, une liste de formules brutes a été générée ; puis la structure correspondant à la formule la plus proche de la masse est retenue. Chaque

molécule protonée $[M+H]^+$ a été sélectionnée selon leur grande abondance et leur plus grande régularité de fragmentation. Pour confirmer les structures des molécules, les données ESI-QTOF-MS/MS ont été comparées à celles de la base de données publiques (DNP, Reaxys et SciFinder) et de la littérature. L'analyse de l'extrait de méthanol brut de *T. heterophylla* par le Logiciel Masshunter Workstation a donné le chromatogramme LC-ESI-MS, qui révèle plusieurs pics correspondant aux constituants majeurs.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction et de fractionnement

Tableau 1 : Rendement de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Turraea heterophylla* et ses fractions

Echantillons	Aspects physiques	Masses (g)	Rendements (%)
E _{MeOH-EAU}	Pâteuse	5,1 ± 0,00	25,5 ± 0,00
Fraction _{Hex}	Pâteuse	0,95 ± 0,32	13,2 ± 0,04
Fraction _{DCM}	Pâteuse	1,38 ± 0,35	19,2 ± 0,04
Fraction _{AE}	Pâteuse	1,92 ± 0,38	26,7 ± 0,05
Fraction Aq.	Pâteuse	2,52 ± 0,40	35,0 ± 0,03

L'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *T. heterophylla* a donné un rendement de 25,50 %. Ce rendement indique que les feuilles de *T. heterophylla* contiennent des métabolites secondaires extractibles par l'hydro-méthanol. On note que les rendements les plus importants sont obtenus avec la fraction aqueuse résiduelle (F_{Aq} : 35 ± 0,03%), suivie de la fraction acétate d'éthyle (F_{AE} : 26,7 ± 0,05%). Ces deux fractions renferment environ 62 ± 0,12%, en masse, des métabolites contenus dans l'extrait brut hydro-méthanolique. Le méthanol, l'acétate d'éthyle et l'eau étant des solvants hydrophiles, ceux-ci ont donc la même affinité à extraire les composés hydrosolubles [10]. La différence des rendements pourrait être liée à la durée de l'extraction ou à la granulométrie des broyats, deux facteurs qui ont influencé le rendement d'extraction selon nos résultats [11].

3. 2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur le brut extrait au méthanol-eau des feuilles de *T. heterophylla* (E_{MeOH-EAU}) ciblaient huit familles de métabolites secondaires suivantes : alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, tanins, stérols, polyterpènes, quinones et saponines. Les résultats indiquent que seuls les tanins et les quinones sont absents (Tableau 2). Ces résultats sont similaires à celles précédemment obtenues sur les écorces de tige de la même plante [6 ; 7]. Cependant, l'absence de tanins dans l'extrait méthanolique des feuilles est contraire aux résultats du travail effectué sur les écorces de racine de la même plante [5] ; qui indiquent la présence de tanins. Cette différence s'explique par le fait que les deux organes (feuilles et racines) jouent différents rôles dans la plante et aussi par plusieurs facteurs tels qu'agro-pédologiques, climatiques et géographique. De plus, les familles chimiques caractérisées dans l'extrait hydro-méthanolique (E_{MeOH-EAU}) sont réparties dans les fractions F_{HEX}, F_{DCM}, F_{AE} et F_{Aq}. Le fait que les polyphénols et les flavonoïdes sont présents dans tous les extraits (non polaire et polaire) confirme qu'il y a coexistence des fromes aglycones et glycosides dans les feuilles de *T. heterophylla*. Concernant les stérols et les polyterpènes, ils ne les trouvent que dans solvants apolaires : hexane et dichlorométhane. Cette observation est normale, puisque ces composés sont généralement très solubles dans les solvants lyophiles tels que les hydrocarbures. La richesse de l'extrait hydro- méthanolique des feuilles de *T. heterophylla* pourrait justifier l'utilisation de la décoction dans de nombreux traitements traditionnels [4].

Tableau 2 : Tri-phytochimique de l'extrait brut hydro-méthanolique des feuilles de *T. heterophylla* et de ses fractions

Métabolites secondaires	Tests chimiques	Extrait	Fractions			
		E _{MeOH-EAU}	F _{HEX}	F _{DCM}	F _{AE}	F _{Aq}
Alcaloïdes	Dragendorff-Bouchardât	+	-	-	+	+
Polyphénols	Chlorure ferrique	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	Copeaux de magnésium	+	+	+	+	+

Tanins galliques	Réactif Stiasny	-	-	-	-	-
Tanins catéchiques	Chlorure ferrique (FeCl ₃)	-	-	-	-	-
Stérols et polyterpènes	Liebermann-Bürchard	+	+	+	-	-
Quinones	Ammoniac dilué	-	-	-	-	-
Saponines	Mousse	+	-	-	+	+

+: Présence ; -: Absent ; E_{MeOH-EAU} : extrait hydro-méthanolique ; F_{Hex} : fraction hexanique ; F_{DCM} : fraction dichlorométhane ; F_{AE} : fraction acétate d'éthyle ; F_{Aq} : fraction aqueuse résiduelle

3.3. Identification des structures des stéroïdes

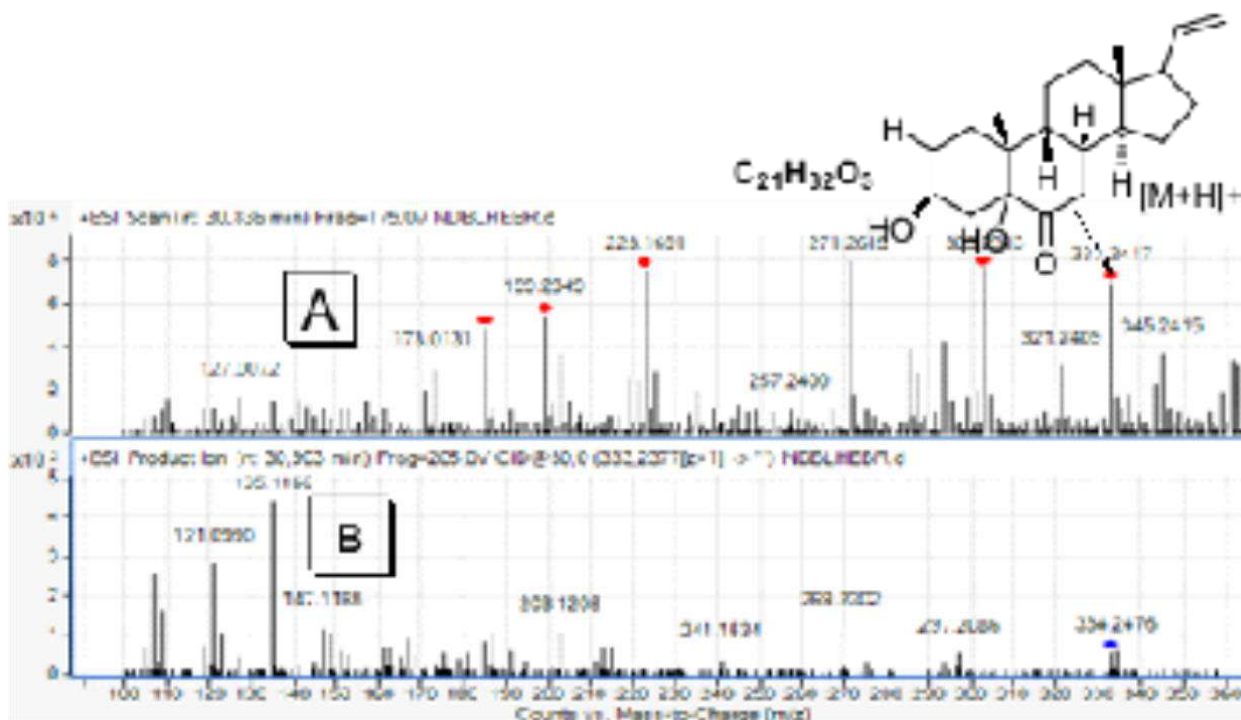
Figure 1 : Chromatogramme HPLC-ESI-Q-TOF-MS de l'extrait hydro-MeOH des feuilles de *Turraea heterophylla*



3.3.1. Villostérol

Dans le chromatogramme HPLC-ESI-QTOF-MS (Figures 1), le pic 1 au temps de rétention RT= 30,836 min a été identifié à villostérol. Pour générer ses spectres ESI-MS et ESI-MS/MS (Figure 2), ce pic a été analysé par Agilent Masshunter Workstation Software.

Figure 2 : Spectre ESI-MS (A) et fragmentation ESI-MS/MS (B) du villostérol.

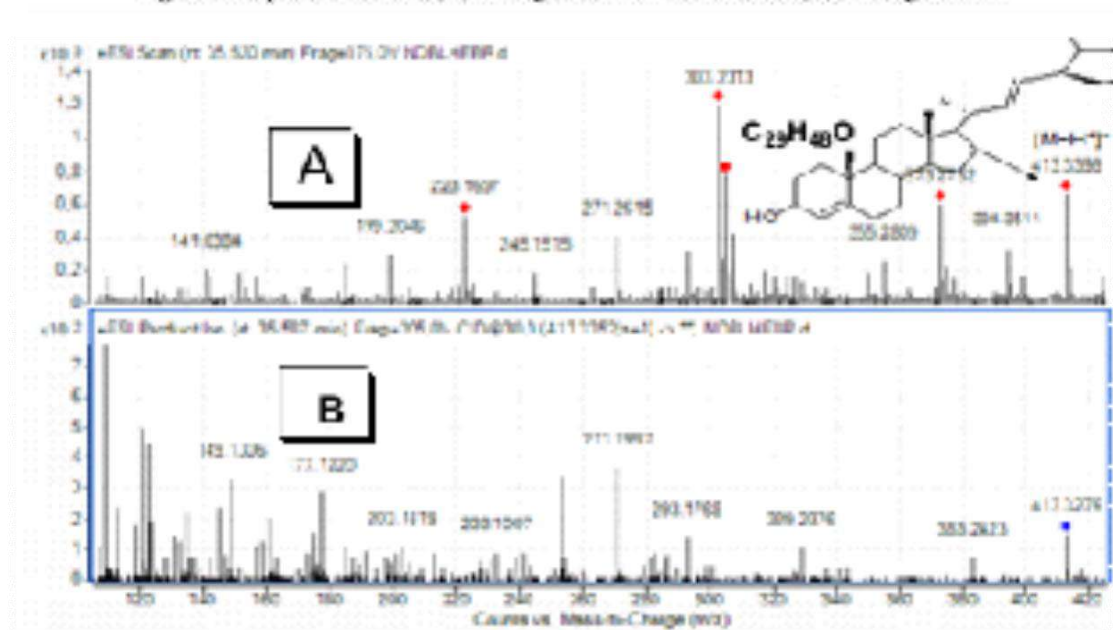


Selon les données du logiciel Masshunter, l'ion moléculaire au pic à m/z 333,2417 $[M+H]^+$ sur le spectre ESI-MS (Figure 2A) correspond à la formule moléculaire $C_{21}H_{32}O_3$ (Cal.332,2351). De plus, plusieurs ions caractéristiques fragments MS/MS (Figure 2B) ont été observés à m/z : 297,2140 $[M+H-36]^+$; 269,2191 $[M+H-36-28]^+$; 241,1951 $[M+H-36-28-28]^+$; 203.1722 $[M+H-36-28-28-40+2H]^+$. A partir cette voie de fragmentation, la structure correspondante a été trouvée dans les bases de données Reaxys et Dictionnaire des produits naturels (DNP) à villostérol. C'est un stéroïde connu précédemment isolé de *Turraea robusta* [3].

3.3.2. Stigmastérol

Les spectres ESI-MS et ESI-MS/MS (Figures 3A et 3B) de le composé qui a donné le pic 2 au temps de rétention $RT=35,520$ min (Figure 3) ont été générés par Agilent Masshunter Logiciel de poste de travail.

Figure 3 : Spectre ESI-MS (A) et fragmentation ESI-MS/MS (B) du Stigmastérol



La formule moléculaire correspondant au pic d'ions moléculaires à m/z 413,3399 $[M+H]^+$ (Figure 3A) a été déduit comme $C_{29}H_{48}O$. (Cal. 412,2705). La structure correspondante a été fondée dans les bases de données Reaxys et Dictionary of Natural Products (DNP), appelée Stigmastérol. Ce stéroïde connu a été déjà isolé des écorces de racine et des écorces de la tige de *Turraea robusta* [3].et de *Turraea pubescens* [2] Plusieurs ions caractéristiques fragments MS/MS (Figure 3B), confirmant cette structure, ont été observés à m/z : 383,3308 $[M+H-30]^+$; 329,2839 $[M+H-30-56+2H]^+$; 293.1900 $[M+H-30-56+2H-36]^+$; 271,2056 $[M+H-30-56+2H- 36-29+7H]^+$.

3. 3. 3. Oxo-β-sitostérol

Le composé correspondant au pic 2, au temps de rétention $RT= 40,322$ min (Figure 1) a été identifié à Oxo-β-sitostérol (Figure 4). Ses spectres ESI-MS et ESI-MS/MS (Figures 4A et 4B) ont été générés par le Logiciel Agilent Masshunter Workstation.

Figure 4 : Spectre ESI-MS (A) et fragmentation ESI-MS/MS (B) d'Oxo- β -sitostérol

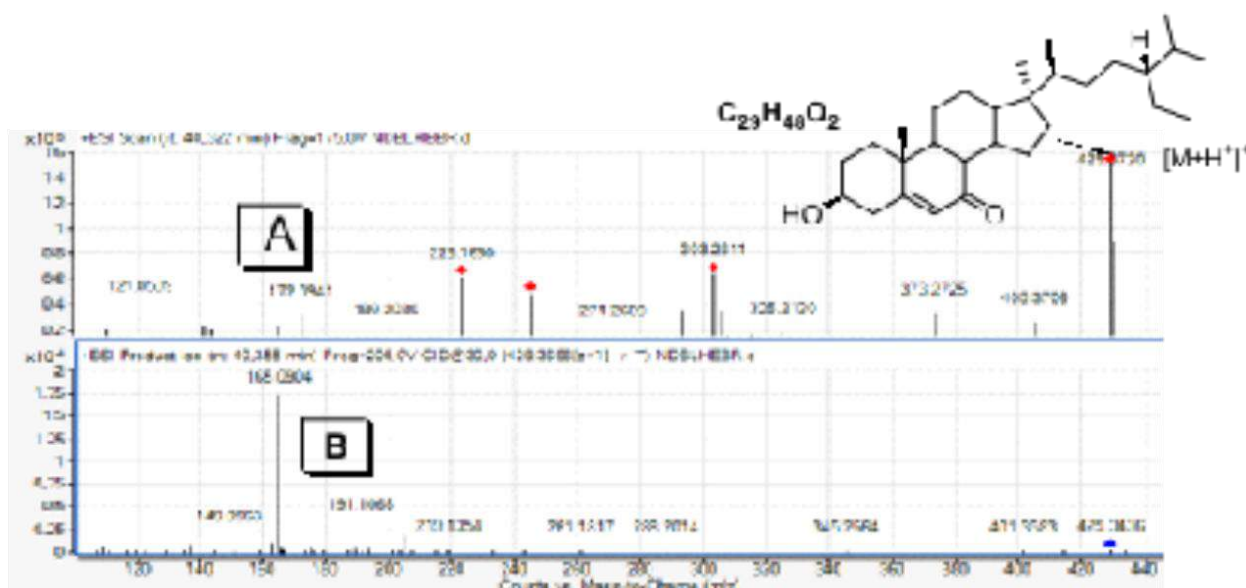


Figure 3 : Spectre ESI-MS (A) et fragmentation ESI-MS/MS (B) du 1, 2-dihydroazadirone

Le pic d'ion moléculaire correspondant à ce composé, a été observé à m/z 429, 3720 $[M+H]^+$ sur le spectre ESI-MS (Figure 4A). Ce composé correspond à la formule moléculaire $C_{29}H_{48}O_2$ (Cal. 428.3654). Plusieurs fragments d'ions caractéristiques MS/MS (Figure 4B) ont été observés à m/z : 401,3414 $[M+H-28]^+$; 345, 2794 $[M+H-28-57+H]^+$; 288,2448 $[M+H-28-57+H-57]^+$; 26,,2213 $[M+H-28-57+H-57-30+4H]^+$. Cette voie de fragmentation correspond à la structure chimique d'Oxo- β -sitostérol (Figure 4) trouvée dans les bases de données Reaxys et Dictionary of Natural Products (DNP). Cette molécule est également un stéroïde connu, déjà isolé des écorces de racine et des écorces de la tige de *Turraea robusta* [3].

4. Conclusion

Ce travail avait pour objectif de réaliser l'étude phytochimique, puis d'identifier les structures de stéroïdes de l'extrait des feuilles de *T. heterophylla*. L'extrait hydro-méthanol des feuilles grâce aux tests de caractérisation chimique, referme des alcaloïdes, des saponines, des polyphénols, des flavonoïdes, des polyterpènes et stérols. L'analyse par la méthode HPLC-ESI-QTOF-MS/MS de cet extrait a permis d'identifier les structures de trois stéroïdes (1-3). De plus, plusieurs pics révélés n'ont pas été identifiés car leurs structures n'étaient pas trouvées dans les bases de données utilisées. La présence de composés identifiés pourrait justifier l'utilisation traditionnelle de *T. heterophylla* comme antipaludique et aphrodisiaque.

5. Références bibliographiques

- [1]. Konan D. Contribution à l'étude chimique et biologique de *Erythrophleum suaveolens* (Guill. et Perr.) Brenan (Fabaceae), Thèse de Doctorat Unique, Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY (Côte d'Ivoire). 2019.
- [2]. Yuan C. M., Tang G. H., Wang X. Y., Zhang Y., Cao M. M., Li X. H. & Hao X. J. New steroids and sesquiterpene from *Turraea pubescens*. *Fitoterapia*. (2013), 90: 119-125.
- [3]. Bentley M. D., Gaul F., Rajab M. S. & Hassanali A. Tetranortriterpenes from *Turraea robusta*. *Journal of Natural Products*. (1992). 55: 84-87.
- [4]. N'Guessan, K., Tra Bi, F.H.; Koné M. W. Etude ethnopharmacologique de plantes antipaludiques utilisées en médecine traditionnelle chez les Abbey et Krobou d'Agboville (Côte d'Ivoire). *Journal of Ethnopharmacolog.* (2009b). 44: 42-50.
- [5]. Bouquet A. ; Debray M. Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. Travaux et documents de Contribution, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer. N°32, Paris (France). .(1974). 231 p.

- [6]. Boua, B.B.; Mamyrbékova, B.; Akhanovna, J.; Kouame, B.A.; Bekro Y.A. Criblage phytochimique et potentiel érectile de *Turraea heterophylla* de Côte d'Ivoire. *Journal of Applied BioSciences*. (2013). 68 : 5394-5403.
- [7]. Akrofi R. Extraction, Isolation et caractérisation de certains limonoïdes et composants de l'écorce de racine de *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae). Thèse de Doctorat, Département de Chimie de l'école des Sciences physiques, Université de Cape Côte (Ghana), (2011). 90 p.
- [8]. Wagner H. Drogen analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen. Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York (Etats-Unis). (1983). 522 p.
- [9]. Harbone J. B. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants. Analys, 3rd Edition, New York (Etats-Unis). (1998). 1380 p.
- [10]. Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle D. Spectrometric identification of organic compounds, seventh Edition, John Wiley and Sons, 512 p.
- [11]. Koné, K.; Soro Y.; Siaka S. Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydroalcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbens* linn (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* (2017). 44 :15-22.

Activités cicatrisantes d'un phytomédicament traditionnel "Daoutra Epigastro" commercialisé en Côte d'Ivoire

ChohoMeney Frederic^{1*}, Kporou Kouassi Elisée¹, Ouattara Sitapha², Aboli Bla Félicité¹

1 Laboratoire d'Agrovalorisation, Groupe de Recherche sur les Produits de la Pharamacopée Traditionnelle (GeRProPhaT), UFR Agroforsterie, Université Jean Lorougnon Guédé, BP.150 Daloa, Côte d'Ivoire.

2 Laboratoire de Biologie Santé, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, BP. 582, Abidjan, 22, Côte d'Ivoire.

*: Auteur correspondant : mail : chohomeney@gmail.com

Résumé

"DAOUTRA EPIGASTRO" est un médicament utilisé en médecine traditionnelle possédant de nombreuses potentialités thérapeutiques dont l'ulcère gastrique. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité cicatrisante du remède chez le rat wistar. Le potentiel cicatrisant du remède sur des plaies a été estimé par le modèle de l'excision de la peau chez le rat. Cette activité est comparée à la cicatrisation naturelle. Les mesures ont été effectuées tous les quatre jours pendant deux (02) semaines. Ensuite, les pourcentages de cicatrisations des plaies ont été calculés. Au 16^{ème} Jour de traitement (dernier jour), une cicatrisation à 100 % a été obtenue avec l'extrait à 300 mg/kg p.c. et à 97,93 % pour 150 mg/kg. A ce même temps le taux de cicatrisation avec la substance de référence (L-mesitran) était de 96,37 %. Ces résultats montrent que « Daoutra Epigastro » peut intervenir dans le traitement des plaies en application topique. La mise au point d'un médicament traditionnel amélioré utilisé dans la prise en charge des plaies à partir de ce remède traditionnel est donc envisageable.

Mots clés : Daoutra Epigastro », phytomédicament, cicatrisant

Abstract

"Daoutra Epigastro" is a drug used in traditional medicine with numerous therapeutic potentialities, including gastric ulcer. The aim of this study was to evaluate the healing activity of the remedy in wistar rats. The healing potential of the remedy on wounds was estimated using the rat skin excision model. This activity was compared to natural wound healing. Measurements were taken every four days for two (02) weeks. The wound healing percentages were then calculated. On the 16th day of treatment (last day), 100 % wound healing was obtained with the 300 mg/kg bw extract and 97.93 % with the 150 mg/kg extract. At the same time, the healing rate with the reference substance (L-mesitran) was 96.37 %. These results show that "Daoutra Epigastro" can be used in the topical treatment of wounds. The development of an improved traditional remedy for wound management based on this traditional remedy is therefore conceivable.

Keywords : « Daoutra Epigastro », phytomedicine, wound healing

INTRODUCTION

La peau constitue une barrière naturelle qui protège l'organisme contre les agressions extérieures, qu'elles soient d'ordre physique, chimique ou infectieux [1]. Lorsque l'intégrité de la peau est altérée, cela conduit à la formation d'une plaie. La cicatrisation est un processus biologique complexe qui se produit spontanément lorsqu'une plaie se forme. Ce processus aboutit à la création d'un tissu cicatriciel, qui n'est pas fonctionnel [2]. Actuellement, le traitement des plaies suscite encore de nombreuses discussions. Bien que de nombreux produits cicatrisants efficaces soient disponibles, certains chercheurs continuent d'étudier l'effet cicatrisant de nouvelles substances, souvent issues de la médecine traditionnelle. Les plantes médicinales constituent pour ce faire une alternative aux médicaments. En Côte d'Ivoire, pour le traitement des plaies, plusieurs plantes médicinales et médicaments traditionnels à base de plante sont utilisés [3]. Au nombre de ces remèdes traditionnels figure "Daoutra Epigastro" utilisé dans le traitement de l'ulcère gastroduodénal et des plaies chroniques. Cependant, aucune donnée scientifique sur l'efficacité de ce remède dans le traitement des plaies n'est disponible.

Une étude préalable sur ce remède a mis en évidence son contenu phytochimique, son potentiel antioxydant et son atoxicité par administration orale à des doses inférieures à 500 mg/kg pc avec une DL50 supérieur à 3000 mg/kg pc [4], [5].

L'objectif du travail était d'évaluer l'effet cicatrisant de "Daoutra Epigastro" sur des plaies induites chez les rats Wistar.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué d'un remède à base de plantes dont le nom commercial est « DAOUTRA EPIGASTRO » élaboré et commercialisé en Côte d'Ivoire par une organisation non gouvernementale "LE DAOUTRA" (Figure 1A). La forme lyophilisée de couleur marron foncée (Figure 1B) de ce remède à base de plantes a été utilisée pour les différents travaux.

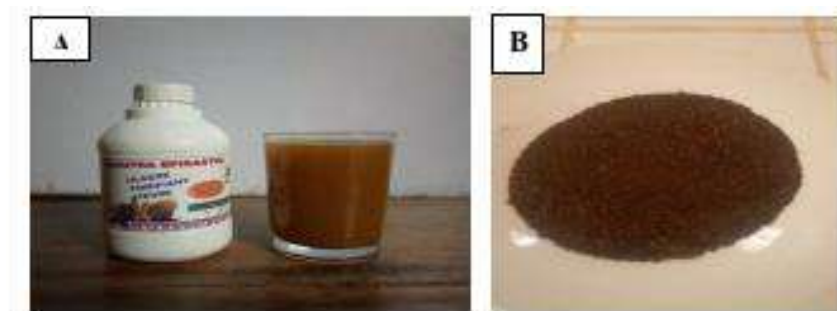


Figure 1 : "DAOUTRA EPIGASTRO" (A : Forme commerciale ; B: Forme lyophilisée du remède)

Composition du remède

Le tableau I résume les différentes plantes entrant dans la composition du remède "DAOUTRA EPIGASTRO". Ces plantes ont été identifiées par un botaniste Prof KOUASSI Kouadio Henri ; Département de Biologie et Physiologie Végétale, Faculté d'Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé.

Tableau 1: Composition du remède

N°	Nom scientifique	famille botanique	Organes utilisés
1	<i>Nauclea latifolia</i>	Rubiaceae	Ecorce de tronc
2	<i>Xylopi aethiopica</i>	Annonaceae	Fruits
3	<i>Capsicum frutescens</i>	Solanaceae	Fruits
4	<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizomes
5	<i>Cassia sieberiana</i>	Fabaceae	Ecorce de tronc

Matériel animal

Des rats de souche Wistar, âgés de 8 à 10 semaines et d'un poids moyen de 122 à 154,5 g ont été achetés à l'Unité d'Expérimentation Animale (UEA) de la Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire). Les rats ont été logés dans des cages en plastique, 6 rats par cage, et acclimatés dans les locaux du Groupe d'Excellence de Recherche sur les Produits de la Pharmacopée Traditionnelle (GeRProPhaT) de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLog), pendant une semaine dans des conditions standard de température ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) et d'humidité relative ($70\% \pm 5\%$) et un cycle lumière-obscurité de 12 heures, et nourris avec de la nourriture et de l'eau standard.

METHODES

Préparation du résidu sec du remède

La solution aqueuse du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » a été répartie dans des assiettes en porcelaine stérilisées puis séchée à l'étuve pendant 72 heures à 55°C . L'extrait sec obtenu a été récupéré dans des flacons puis stocker pour des utilisations ultérieures [6].

Evaluation de l'activité cicatrisante

L'effet cicatrisant du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » sur des plaies expérimentales a été déterminée selon la méthode décrite par [7].

De ce fait, quatre groupes homogènes en poids de 6 rats chacun ont été constitués. Tous les groupes de rats ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intrapéritonéale de 0,25 mL du mélange Kétamine/Diazépam (50mg/mL)/(5mg/mL) [8]. Une fois les rats anesthésiés, ils ont été placés en décubitus ventral sur la paillasse. Ils y étaient maintenus à l'aide du scotch transparent à l'extrémité des membres supérieurs et inférieurs. Les poils de leurs régions cervicales ont été rasés tout en prenant soin d'éviter les lésions cutanées. La peau a été ensuite désinfectée à l'aide de l'alcool chirurgical de 70° . Des excisions d'environ 4 cm^2 de peau ont été pratiquées au niveau du cou des rats. Un morceau de peau carré de 2 cm de côté a été découpé à l'aide de pinces et de ciseaux, jusqu'au *fascia superficialis*. Après la réalisation des plaies, celles-ci ont été traitées selon le groupe (6 rats/groupe). Puis, les animaux ont été placés dans une cage individuelle, dans un endroit calme et chaud afin de laisser passer l'effet de l'anesthésie. Les plaies n'ont pas été protégées par un pansement. Les plaies des rats sont traitées une fois par jour tel que suit :

- Groupe 1 (contrôle négatifs) : rats traités à l'eau distillée,
- Groupe 2 (contrôle positif) : rats traités avec 0,4 g de L-MESITRAN (pommade cicatrisante de référence),
- Groupe 3 : rats traités avec 150 mg/kg pc. du remède,
- Groupe 4 : rats traités avec 300 mg/kg pc. du remède.

Les mesures des plaies ont été faites le premier jour puis chaque quatre jours jusqu'à la guérison complète d'un lot. L'aspect, la couleur et l'odeur des plaies ont été surveillés pendant toute la durée du traitement. Le pourcentage de diminution ou de rétrécissement des plaies est calculé selon la formule suivante [7] :

$$\% \text{ de diminution} = \frac{\text{Surface de la plaie } M_{J_1} - \text{Surface de la plaie } M_{J_n}}{\text{Surface de la plaie } M_{J_1}} \times 100$$

M_{J_1} : Mesure au premier jour

M_{J_n} : Mesure au nième jour

RÉSULTATS

La cicatrisation progressive des plaies au cours du traitement est illustrée par la figure 2. Au 16^e jour de traitement le remède à la dose de 300 mg/kg pc. a induit une cicatrisation rapide de la plaie comparativement aux autres lots. Les pourcentages de cicatrisations sont représentés par la figure 3 ; avec un pourcentage plus élevé pour la dose 300 mg/kg pc. quelque soit la période d'observation.

Au 16^{ème} Jour, une cicatrisation à 100 % a été obtenue avec l'extrait à 300 mg/kg et à 97,93 % pour 150 mg/kg. A ce même temps le taux de cicatrisation avec la substance de référence (L-mesitran) était de 96,37 %.



Figure 2 : Photographies des plaies à différents jours de traitement

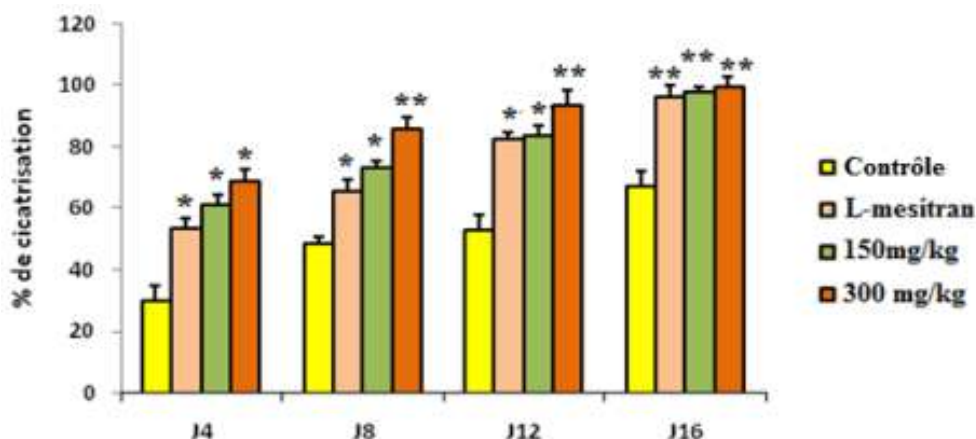


Figure 3 : Pourcentages de contraction des plaies au cours du traitement

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM, n=6 rats pour chaque lot. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,01$: différence très significative (**); $p < 0,05$: différence significative (*).

DISCUSSION

Du 4^e au 12^e jour, le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » à toutes les doses testées a montré une guérison accélérée de la plaie par rapport à la L-MESITRAN (Cicatrisant de référence). Cet effet de guérison s'est fait selon un processus incluant la phase de disparition de l'inflammation avec des plaies devenant rouges (J2 à J4), la phase de prolifération marquée par la présence des croûtes noires sur les plantes (J4 à J12), et la phase de remodelage ou maturation au cours de laquelle la cicatrice est devenue plane, pâle et lisse (J12 à J16) et une phase de remodelage (3-6 mois) [9]. Au cours de ces différentes phases, le processus est régulé par les facteurs de croissance (PDGF, TGF et FGF) sécrétés par les macrophages, les cellules endothéliales, les fibroblastes et les plaquettes [10], [11].

Les auteurs [12] ont décrit que la guérison d'une plaie aiguë issue d'une écorchure ou d'une abrasion se faisait au bout de 4 semaines sans traitement. Cependant, avec l'extrait sec du remède, cette guérison pourrait être obtenue au bout de 3 semaines. L'activité cicatrisante du remède est dose-dépendante car le pourcentage de cicatrisation est fonction de la concentration du remède appliquée. Des études antérieures portant sur des extraits végétaux de *Opilia celtidifolia* [13], *Elaeis guineensis* [14], [15] ont démontré leur effet cicatrisant.

En outre, de nombreuses plantes sont utilisées dans l'élaboration de plusieurs médicaments utilisés dans le traitement de la cicatrisation des plaies. En effet, le Cicatrol[®], qui favorise la cicatrisation, la régénération de l'épiderme et empêche l'infection des plaies grâce à son pouvoir antibactérien, est une association de plusieurs plantes (*Shorea robusta*, *Ficus infectoria*, *Azadiachta indica*, *Pongamia pinnata* et *Cassia tora*) [9]. Le pouvoir cicatrisant du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » pourrait être attribué à la présence de phytoconstitués notamment les flavonoïdes et les tanins ayant la capacité d'accélérer le processus de régénération tissulaire par stimulation de la production de collagène et de fibronectine [12], [16]. Cet effet peut de même être associé aux mucilages, considérés comme des constituants cellulaires normaux très recherchés pour leurs propriétés cicatrisantes [7]. L'accélération de la cicatrisation serait également liée à une action synergique des plantes entrant dans la composition du remède.

CONCLUSION

Cette étude démontre que le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » est un puissant cicatrisant. De ce fait, l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré (MTA) pour le traitement des plaies à partir de ce remède est donc envisageable.

CONSIDERATION ETHIQUE

Les procédures et protocoles expérimentaux utilisés dans cette étude étaient conformes aux lignes directrices de la législation du Conseil européen 87/607/CEE pour la protection des animaux de laboratoire. Tous les efforts ont été faits pour minimiser la souffrance des animaux et réduire le nombre d'animaux utilisés.

RÉFÉRENCES

- [1] Méliissopoulos A, Levacher C. Peau, Structure et Physiologie. Assessment of Cellulight Mechanism of Action in vitro: Measure of Fat Cells Size and of Lipolysis in Human Adipose Tissue Explants (2nd edn). TEC & DOC/Lavoisier: Paris, 2012.
- [2] Velnar T, Bailey T, Smrkolj V.. The wound healing process; an overview of the cellular and molecular mechanisms. Journal International Medical Research. (2009) 37(5): 1528-1542. DOI: https://doi.org/10.1177/14732300090370_0531.
- [3] Atto V., Zahu I O. S., Kpahie Z. F. et Bi N. S. A. Evaluation de l'activité cicatrisante de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Terminalia superba* (Combretaceae). Int. J. Biol. Chem. Sci. (2022) 16(6) : 2494-2505.
- [4] Choho, M. F., Kporou, K. E., Ouattara S., Gbogbo M., Kroa E., Kouakou G. S., & Djaman A. J. Caractérisation phytochimique et activité antioxydante d'un médicament à base de plantes « Daoutra Epigastro » utilisé en tradithérapie des gastrites en Côte d'Ivoire, *Revue RAMReS – Série Pharm. Méd. Trad. Afr.* (2022) 21(1) : 40-49.
- [5] Choho M. F., Kporou K. E., Ouattara S., Kroa E., N'guessan J. D., Djaman A. J. Hematological, Biochemical and Histological Analysis on Wistar Rats Treated by an Herbal Medicinal Product "DAOUTRA EPIGASTRO" Marketed in Daloa City (Côte d'Ivoire). *Sch Acad J Pharm.* (2023). 12(4): 86-95.
- [6] Fatto D. N. M. Activités analgésique morphinique, antioxydante, anti-inflammatoire et qualité de «SARENTA»: un remède traditionnel à base de plantes. Thèse de Doctorat en pharmacie, UFR sciences pharmaceutique et biologique, Université Félix-Houphouët Boigny (Abidjan, Côte D'ivoire). 2017.
- [7] Azame T. L., Tembe F. E., Njinkio N. B. & Fokunang C. N. Screening phytochimique, activité cicatrisante et toxicité aigüe de la Sève des racines de *Musanga Cecropioides* et de l'extrait aqueux de la plante entière de *Acmella Caulirhiza* sur des Rats de la Souche Wistar. *Health sciences and diseases.* (2020) 21(1) : 1-10.
- [8] Epa C., Elion I., Etou O., Attibayéba, Ongoka P. R. & Abena A. A. (2015). Effet anti-inflammatoire et cicatrisant des extraits aqueux et éthanolique des écorces du tronc de *Buchholzia coriacea* Engl. (Capparidaceae). *Journal of Applied Biosciences.* (2015) 94 : 8858-8868.
- [9] Kada S. Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques, Thèse de Doctorat en Biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1(Algérie). 2018.
- [10] Sutar I., Baldemir A., Coskun N., Keles H. & AKkol E. K. Wound healing acceleration effect of endemic Ononis species growing in Turkey. *Ethnopharmacology*, (2011), 135(1) : 63-70.
- [11] Ghashghaii A., Hashemnia M., Nikousefat Z., Zangeneh M. M. & Zangeneh A. (2017). Wound Healing Potential of Methanolic Extract of *Scrophularia striata* in Rats. *Pharmaceutical Sciences*, 23(4) : 256-263.
- [12] Priya K. S., Gnanamani A., Radhakrishman N. & Babu M. (2002). Healing potential of *Datura alba* on burn wounds in albino rats. *Ethnopharmacology*, (2002) 83(3) : 193-199.
- [13] Karabinta K. D. A. Propriété cicatrisante des feuilles de *Opilia celtidifolia* (Guill. et Perr.) Endl. ex Walp.(Opiliaceae). Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako (Mali). 2010.
- [14] Sene M., Barboza F. S., Top B., Ndiaye M., Sarr A., Fall A. D. & Guata Y. G. Activité cicatrisante de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* (2020) 14(3): 674-684.
- [15] Masuram B., Deepak K. V., Venkatesh S., Ravind R., Deepak N. & Arul A. Ethanolic Extract of Oral *Areca catechu* Promotes Burn Wound Healing in Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* (2014) 25(2): 145-148.
- [16] Suriyamoorthy S., Subramaniam K., Raj-Durai S. J., wahaab F. & Chitraselvi R.P.E. Evaluation of wound healing activity of *Acacia caesia* in rats. *Wound Medicine*, (2014) 7: 1-7.

Effets de *Bacillus Subtilis* et *Saccharomyces Cerevisiae* sur les performances de croissances et le bien-être du Tilapia du Nil (*Oreochromis Niloticus*)

Amanahan Mauricette Prisca ANGOUA^{1*}, Jean-Luc Aboya MOROH¹, Detto KARAMOKO¹, Aya Philomène KOKORA¹, Ahou Roseline N'DRI¹, Marius Ebale Yves-Magloire ANGORATCHI¹, Emmanuelle ROQUE-D'ORBCASTEL³, Yvan BETTAREL³, Adama COULIBALY²

1 : Département de Biochimie-Génétique, UFR Sciences-Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

2 : Laboratoire de Biologie Santé, UFR Biosciences, Université Felix Houphouët Boigny, Abidjan 01 BP V34, Abidjan, Côte d'Ivoire

3 : Unité Mixte de recherche MARine Biodiversité Exploration and Conservation (UMR MARBEC), CC

09334095, Montpellier, France

*mauricetteangoua@gmail.com

Résumé :

Face à l'usage des antibiotiques en aquaculture et aux problèmes qu'ils causent, les probiotiques s'affichent comme une alternative écologique pour une aquaculture durable. L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet de *Saccharomyces cerevisiae* et *Bacillus subtilis* sur les performances de croissance et de bien-être du Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Quatre lots de 45 juvéniles ont été mis en culture, et nourris respectivement aux granulés classiques, granulés classiques + *S. cerevisiae*, granulés classiques + *B. subtilis* et granulés classiques + *S. cerevisiae* + *B. subtilis*. Au bout de 90 jours de traitement, les poids et tailles des poissons ont été déterminés. Les paramètres de bien-être ont été évalués par les différents indices somatiques et la numération de formule sanguine. Les résultats montrent que les poids et tailles des traitement T2 (103,94g/18,55cm), T3 (108,90g/18,98cm) et T4 (116,11g/19,15cm) sont significativement supérieurs à ceux de T1 (94,71g/18,12cm). Le facteur de condition $K > 1$ dans tous les traitements, justifie le taux moyen de survie (90%). Les paramètres hématologiques se situent tous dans la plage recommandée pour poissons en bonne santé, indiquant l'innocuité et le potentiel probiotique des souches. La supplémentation en probiotiques, surtout leur combinaison, est promoteur de croissance et de bien-être du Tilapia.

Mots clés : Probiotique ; *Bacillus subtilis* ; *Saccharomyces cerevisiae* ; *Oreochromis niloticus*.

Effects of *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance and well-being of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Abstract

Faced with the use of antibiotics in aquaculture and the problems they cause, probiotics are emerging as an ecological alternative for sustainable aquaculture. The aim of this study is to determine the effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus subtilis* on the growth and welfare performance of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Four batches of 45 juveniles were cultured and fed respectively with conventional pellets, conventional pellets + *S. cerevisiae*, conventional pellets + *B. subtilis* and conventional pellets + *S. cerevisiae* + *B. subtilis*. After 90 days of treatment, weights and sizes have been determined. Well-being parameters were assessed by the various somatic indices and the complete blood count. Results show that, T2 (103.94g/18.55cm), T3 (108.90g/18.98cm) and T4 fish (116.11g/19.15cm) are significantly higher than those of T1 (94.71g/18.12cm). The condition factor $K > 1$ in all treatments, justifies the average survival rate (90%). The haematological parameters are all within the recommended range for healthy fish, indicating the safety and probiotic potential of the strains. Supplementation with probiotics, especially their combination, promotes the growth and well-being of Tilapia.

Key words: Probiotic; *Bacillus subtilis*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Oreochromis niloticus*.

1 Introduction

Le poisson constitue une source importante de protéines animales accessible et abordable à des millions de personnes dans le monde entier, et en particulier dans les pays en voie développement [1]. En raison de la croissance démographique et de l'urbanisation rapide de ces pays, les pêches sont insuffisantes pour satisfaire la demande en produits halieutiques. Pour répondre à cette demande croissante en protéine, d'énormes dépenses sont engagées annuellement pour l'importation de poisson dans la majorité de ces pays, et la tendance des gouvernements est à l'intensification de l'aquaculture [2, 3]. Cette dernière expose cependant les poissons à des facteurs de stress qui entraînent chez eux, une diminution de la performance et une susceptibilité accrue aux maladies infectieuses. Ce qui a pour conséquence des mortalités massives entraînant une diminution de la disponibilité des poissons avec des pertes économiques conséquentes [4]. Pour pallier ces problèmes, les antibiotiques ont été utilisés massivement comme stratégie de contrôle et de prévention des maladies. Ce qui a conduit les éleveurs à leur usage systématique, même en absence d'infection microbienne [5]. Du fait de leur faible biodisponibilité, on estime que 80 % des antibiotiques administrés aux poissons en aquaculture sont rejetés

dans l'environnement via les selles et les urines avec leurs activités intactes. Ce qui peut affecter les animaux sauvages à proximité des fermes aquacoles [6].

Ces impacts négatifs de l'aquaculture sont une situation préoccupante puisque ce secteur d'activité d'élevage est en pleine croissance au point où selon la FAO, elle constituera la principale source d'approvisionnement en poisson d'ici 2030 [7]. A cet égard, les probiotiques se présentent comme une alternative efficace prometteuse face aux traitements chimiques et antibiotiques en aquaculture [8].

Les probiotiques utilisés en aquaculture sont principalement les bactéries, gram-positives et gram-négatives, tandis que le groupe non bactérien comprend les bactériophages, les microalgues et les levures. Ils peuvent être de type mono-souche, multi-souches et multi-espèces [9, 10].

Parmi les nombreuses souches probiotiques identifiées, les espèces *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae* sont les plus couramment utilisées en aquaculture. Ces deux espèces jouent des rôles positifs dans l'amélioration des performances de croissance, d'utilisation des aliments, le statut immunitaire, la résistance face aux maladies chez diverses espèces de poissons [11-15].

L'objectif de cette étude est de comparer l'effet de l'administration de *B. subtilis* et *S. cerevisiae* pris individuellement et en mélange chez des juvéniles d'*Oreochromis niloticus* sur les performances de croissance, les paramètres hématologiques et biologiques de santé.

2 Matériel et Méthodes

2.1 Dispositif expérimental

Cette étude a été effectuée dans le Laboratoire de l'Université Peleforo Gon Coulibaly de Korhogo, Côte d'Ivoire. Le dispositif expérimental se compose d'un ensemble de 12 aquariums d'une capacité totale de 300 L (150×50×40 cm). Chaque aquarium est équipé d'un bulleur électrique servant à la fois de filtre. 552 cent cinquante-deux juvéniles mâles d'*O. niloticus* (47,52±10,45g) ont été collectés auprès du CNRA (Centre National de Recherche Agronomique) de Bouaké, et distribués au hasard pour une densité de 45 individus par aquarium. Les expériences ont été réalisées en triplicata. Les poissons ont été acclimatés durant deux semaines et nourris avec l'aliment de base (BioMar) stérilisé au préalable. Durant l'expérience, les paramètres de l'eau : température, pH, oxygène, Taux de solides dissout (TDS) et conductivité ont été mesurés quotidiennement. De façon bijournalière, le quart du volume total de l'eau des bacs était renouvelé [16-18]. L'entretien hebdomadaire consistait à une vidange complète des aquariums suivi d'un nettoyage rigoureux des parois. La photopériode naturelle a été observée tout comme la température.

2.2 Régime

L'aliment de base (BioMar) est un aliment flottant du commerce pour Tilapia du Nil. Les souches probiotiques *S. cerevisiae* et *B. subtilis* ont été préalablement mise en culture en bouillon, et incorporés par pulvérisation sur l'aliment stérilisé via l'utilisation de l'eau salée stérile comme agent liant. Les concentrations de probiotiques obtenues après incorporation étaient d'environ $2,43 \cdot 10^6$ UFC/g et $7,43 \cdot 10^6$ UFC/g respectivement pour *B. subtilis* et *S. cerevisiae*. Les poissons ont reçu 4 différents régimes alimentaires distincts qui constituent les différents traitements pour cette étude. Les traitements sont : T1 (granulés classiques) ; T2 (granulés classiques + *S. cerevisiae*) ; T3 (granulés classiques + *B. subtilis*) et T4 (granulés classiques + *S. cerevisiae* + *B. subtilis*). Pour le traitement T4, les aliments incorporés des différentes souches ont été donnés aux poissons de façon alternée. Afin d'assurer la viabilité microbienne, les régimes ont été préparés chaque semaine et conservés à température ambiante. La viabilité des probiotiques a été testée par culture sur milieu gélosé. Les tilapias ont été nourris avec les différents régimes alimentaires sous une période de 90 jours après acclimatation en raison de (2) rations égales par jour.

2.3 Mesure des paramètres

2.3.1 Paramètres hématologiques

Trois poissons par bacs ont été échantillonnés et anesthésiés dans une solution de clous de girofles (4g/L d'eau) [19]. Le sang des poissons fut prélevé au niveau de la veine vertébrale caudale, puis renversé dans des tubes imprégnés d'Acide éthylène diamine tétra-acétique d'EDTA [20]. Les paramètres hématologiques mesurés étaient : les globules blancs (WBC), les lymphocytes, les monocytes, les neutrophiles, les globules rouges (RBC), l'hémoglobine (HB), les hématocrites (PCV), le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et les plaquettes.

2.3.2 Performance de croissance, utilisation des aliments, indices somatiques

A la fin de la période expérimentale, les poissons ont été échantillonnés et euthanasiés avec une solution surdosée de clou de girofle (1,5g/100ml d'eau). Leurs poids, tailles ainsi que les poids de leurs organes : foie, viscère, gonades ont été relevés pour le calcul des paramètres de performances de croissance, d'utilisation des aliments et des indices somatiques, à l'aide de formules standards :

2.4 Analyse des données

Les données ont été analysées à l'aide de XLSTAT 2016. Toutes les données ont été présentées sous forme de moyenne $\pm$ écart type. Une analyse de variance unidirectionnelle, ANOVA a été réalisée pour explorer la variance statistique ($p < 0,05$), suivie des tests de Tukey ou de Duncan.

3 Résultats et Discussions

3.1 Résultats

3.1.1 Performances de croissance et d'utilisation des aliments

L'effet de la supplémentation de *B. subtilis* et *S. cerevisiae* durant 90 jours sur les performances de croissances d'*O. niloticus* sont présentés dans le tableau 3. Avant le démarrage de l'expérience il n'y avait pas de différence significative ($p > 0,05$) entre la masse et taille des poissons dans les différents traitements.

De façon générale, les gains de poids moyen (GDP), quotidien (GPQ), les poids et tailles finales ainsi que le taux de croissance spécifique (TCS) des poissons supplémentés en probiotiques étaient supérieurs à ceux du témoin. Avec une différence significative entre les poids et tailles moyens finaux des poissons nourris avec les régimes additionnés aux probiotiques comparé au régime témoin. Les résultats des traitements T3 et T4 sont statistiquement ($p > 0,05$) identiques. Le taux de survie n'a pas montré de différence significative entre les traitements.

Tableau 1 : Paramètres de croissance et survie des poissons

	T1 : Contrôle	T2 : <i>S. cerevisiae</i>	T3 : <i>B. subtilis</i>	T4 : <i>S. cerevisiae</i> + <i>B. subtilis</i>
Poids initial(g)	48,96 $\pm$ 10,25 ^a	47,44 $\pm$ 12,21 ^a	46,50 $\pm$ 8,82 ^a	47,07 $\pm$ 10,21 ^a
Taille initiale	14,51 $\pm$ 1,39 ^a	14,51 $\pm$ 1,39 ^a	14,51 $\pm$ 1,39 ^a	14,51 $\pm$ 1,39 ^a
Poids finale(g)	94,71 $\pm$ 18,61 ^a	103,94 $\pm$ 28,05 ^b	108,90 $\pm$ 24,24 ^{bc}	116,11 $\pm$ 41,00 ^c
Taille finale(cm)	18,12 $\pm$ 1,40 ^a	18,55 $\pm$ 1,76 ^{ab}	18,98 $\pm$ 1,61 ^b	19,15 $\pm$ 2,25 ^b
GDP(g)	46,02 $\pm$ 4,82 ^a	55,97 $\pm$ 11,18 ^a	62,44 $\pm$ 7,23 ^a	74,93 $\pm$ 39,21 ^a
GPQ(g/jr)	0,48 $\pm$ 0,05 ^a	0,59 $\pm$ 0,12 ^a	0,66 $\pm$ 0,08 ^a	0,79 $\pm$ 0,41 ^a
TCS(AGR)%/Jr	0,70 $\pm$ 0,08 ^a	0,82 $\pm$ 0,12 ^a	0,90 $\pm$ 0,08 ^a	0,99 $\pm$ 0,31 ^a
Survie%	95,65% ^a	89,86% ^a	92,75% ^a	87,68% ^a

les valeurs d'une même ligne ayant au moins une lettre en commun ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$). Moyenne $\pm$ Ecart type, Test de Duncan ($P < 0,05$). Gains de poids=GDP, Gains de poids quotidien=GPQ, Taux de croissance spécifique=TCS.

3.1.2 Paramètres biologiques de santé

Les résultats sur les indices biologiques sont présentés dans le tableau 4. L'indice hépato-somatique varie significativement entre les différents traitements avec le maximum observé au T3. L'indice viscéro-somatique au T4 est significativement supérieur comparé aux autres traitements. L'indice gonado-somatique et le facteur de condition K n'enregistrent aucune différence significative.

Tableau 2 : Paramètres biologiques de santé, indices somatiques

	T1 : Contrôle	T2 : <i>S. cerevisiae</i>	T3 : <i>B. subtilis</i>	T4 : <i>S. cerevisiae</i> + <i>B. subtilis</i>
IHS %	1,56 $\pm$ 0,42 ^a	1,93 $\pm$ 0,58 ^{ab}	2,09 $\pm$ 0,56 ^b	1,83 $\pm$ 0,46 ^{ab}
IVS %	3,26 $\pm$ 0,52 ^a	2,98 $\pm$ 0,66 ^a	2,89 $\pm$ 0,45 ^a	4,05 $\pm$ 0,68 ^b
IGS %	0,43 $\pm$ 0,10 ^a	0,46 $\pm$ 0,13 ^a	0,39 $\pm$ 0,11 ^a	0,48 $\pm$ 0,15 ^a
Facteur de condition K	1,59 $\pm$ 0,03 ^a	1,62 $\pm$ 0,004 ^a	1,60 $\pm$ 0,03 ^a	1,62 $\pm$ 0,01 ^a

Les valeurs d'une même ligne ayant au moins une lettre en commun ne sont pas significativement différentes ($P>0,05$). IHS : indice hépato-somatique, IVS=indice viscéro-somatique, IGS=indice Gonado-somatique. Moyenne±Ecartype, Test de Tukey ($P<0,05$)

2.2. Discussion

L'intérêt de l'utilisation des probiotiques en aquaculture a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies. De nombreuses études ont notamment fait état de leur utilisation chez les espèces aquacoles comme moyen d'amélioration de : la croissance, l'immunité, la résistance aux maladies, des caractéristiques sensorielles [21]. Les probiotiques peuvent être administré en souche unique ou multiple, mais la plupart des études à propos ont principalement concerné l'utilisation des souches uniques [22]. Ainsi la présente étude a été effectuée dans le but de comparé les effets de la prise individuelle et en mélange de deux souches probiotiques fréquemment utilisées en aquaculture (*B. subtilis* et *S. cerevisiae*).

Les résultats sur les performances de croissance : poids final, taille finale, GDP, GPQ et TCS de tous les régimes complétés aux probiotiques ont montré de meilleurs résultats comparés au régime témoin. Ces résultats indiquent que la combinaison de *B. subtilis*, *S. cerevisiae* au T4 a conduit à un poids final significativement supérieur aux autres régimes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Lara-Flores, Olvera-Novoa [23], Darafsh, Soltani [24] et Karssa, Sodeno [25] qui ont rapporté que le tilapia du Nil nourri avec un régime contenant un mélange de bactéries (*Streptococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*) et de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) favorise de bien meilleures performances de croissance chez les poissons. Cette croissance, selon certains auteurs [26, 27] peut s'expliquer par une meilleure digestibilité et disponibilité des nutriments : acides aminés essentiels, acides gras et vitamines du fait des probiotiques. En outre, les probiotiques ont la capacité de coloniser et modifier le tractus gastro-intestinal, entraînant de multiples bienfaits sur les performances de croissance et sur la santé des poissons [28, 29].

Bien que le régime alimentaire complété par *S. Cerevisiae* (T2) ait amélioré les performances de croissance, il a montré une efficacité inférieure à celle observée dans les régimes T3 et T4 complétés par la souche *B. subtilis*. Ces résultats sont identiques à ceux de Dowidar, ElAzeem [30], Darafsh, Soltani [24] et Zaineldin, Hegazi [31] dont les travaux soutiennent que les performances de croissances sont bien meilleures chez les poissons nourris à *B. subtilis* ou à la combinaison de *B. subtilis* + *S. cerevisiae*.

Ce travail fait partie des rares ayant comparé l'effet de l'application de probiotiques chez les poissons en souche unique et en combinaison. En général, la plupart des travaux effectués sur le mélange de souches probiotiques ont concernés principalement l'utilisation de probiotiques commerciaux [30, 32-39] sans toutefois une étude comparative des souches uniques composantes du mélange.

Les paramètres hématologiques et les indices somatiques sont généralement utilisés pour évaluer l'état général de santé et le bien-être des poissons [40]. L'ajout des probiotiques *B. subtilis*, *S. cerevisiae* dans les granulés utilisés dans cette expérience n'a pas affecté les valeurs des paramètres hématologiques entre les traitements. Ainsi les paramètres hématologiques évalués dans cette étude se situent dans l'intervalle recommandée pour poissons en bonne santé [40-42].

Les indicateurs de santé des poissons ont révélé une croissance somatique significativement plus élevée avec les indices viscéro-somatiques (IVS) et hépato-somatiques (IHS) dans les régimes incorporés en probiotiques. La constante de Fulton (K) des poissons des différents régimes est supérieure à 1 ($p>0,05$), exprimant ainsi le bien-être et l'embonpoint des poissons soumis aux différents régimes durant l'expérimentation [43]. Ce qui pourrait justifier aussi le taux de survie de 90 % en moyenne au niveau des différents régimes expérimentaux. Les faibles valeurs de l'IGS observées dans tous les traitements peuvent traduire un retard dans la maturité ou le repos sexuel des poissons.

CONCLUSION

Dans cette étude, les poissons nourris avec les régimes alimentaires complétés aux probiotiques (*B. subtilis* et *S. cerevisiae*) ont présenté des poids et tailles supérieurs comparés au témoin. Notons aussi que ceux nourris avec la souche *B. subtilis* seule ou en mélange avec la levure *S. cerevisiae* ont entraîné des performances de croissance relativement supérieures qu'avec la levure utilisée seule.

Le bien-être et l'état général de bonne santé des poissons évalués à partir des paramètres hématologiques et des indices somatiques, rassurent sur le fait que les deux souches probiotiques utilisées ne présentent aucun aspect toxique pour les poissons.

Analyse des extraits d'écorces de racines de *strychnos innocua* par UHPLC-MS/MS

Mawaté Florance Brukum¹, El Omri Abdelhakim², Kafui Kpegba¹, Kodjo Selom Evenamede¹, Amegnona Agbonon³, Oudjaniyobi Simalou¹

1 : Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé-Togo ;

2 : Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, COBRA (UMR 6014), Rouen 76000, France

3 : Laboratoire de Physiologie/pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé-Togo.

E-mail : brukumfleur@yahoo.fr

RESUME

Strychnos innocua est une plante de la famille des *Loganiaceae*, utilisée à des fins pharmacologiques diverses [1]. Au Togo, elle est utilisée traditionnellement pour le traitement de la drépanocytose [2]. L'objectif de ce travail est d'identifier les molécules présentes dans les extraits d'écorces de racines en adaptant le flux de travail à la métabolomique non ciblée. Les techniques analytiques et les outils bioinformatiques ont été combinés dans une méthodologie à haut débit permettant de dérépliquer les extraits de plantes. Les extraits méthanolique et hydroéthanolique ont été analysés par UHPLC-MS/MS, avec un spectromètre de masse ESI-Orbitrap. Les données brutes ont été prétraitées à l'aide du logiciel MZMine2 et ensuite, les données MS/MS ont été exportées [3]. Nous avons pu annoter 155 composés dans les extraits d'écorces de racines grâce à des bases de données. Plusieurs métabolites secondaires ont été ainsi annotés dans les extraits d'écorces de racines de *S. innocua* tels que : Sweroside, Bakankoside, Luteolin 4'-O-glucoside, 6'-O-P-Coumaroylgenipin gentiobioside, Yohimbine et Swertiamarin. Il ressort que les extraits d'écorces de racines sont riches en composés d'irridoïdes. La combinaison de toutes ces techniques ont permis de mieux cartographier les différents extraits d'écorce de racines du *Strychnos innocua*.

Mots clés : *Strychnos innocua*, métabolomique, réseaux moléculaires.

Abstract

Strychnos innocua is a plant in the *Loganiaceae* family, used for a variety of pharmacological purposes [1]. In Togo, it is traditionally used to treat sickle cell anaemia [2]. The aim of this work is to identify the molecules present in root bark extracts by adapting the workflow to non-targeted metabolomics. Analytical techniques and bioinformatics tools have been combined in a high-throughput methodology enabling plant extracts to be dereplicated. Methanolic and hydroethanolic extracts were analysed by UHPLC-MS/MS, using an ESI-Orbitrap mass spectrometer. The raw data were pre-processed using MZMine2 software and then the MS/MS data were exported [3]. We were able to annotate 155 compounds in the root bark extracts using databases. Several secondary metabolites were annotated in *S. innocua* root bark extracts, including Sweroside, Bakankoside, Luteolin 4'-O-glucoside, 6'-O-P-Coumaroylgenipin gentiobioside, Yohimbine and Swertiamarin. Root bark extracts were found to be rich in irridoid compounds. The combination of all these techniques enabled us to better map the various extracts of *Strychnos innocua* root bark.

Key words: *Strychnos innocua*, metabolomics, molecular networks.

1) Introduction

Les plantes médicinales contiennent des métabolites secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans le domaine de la pharmacologie. Ces plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments ; elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments [4]. Elles constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques qui sont souvent trop chers à acheter pour les pays en voie de développement [5].

La flore togolaise contient une multitude de plantes utilisées par la population dans le traitement de diverses pathologies. Parmi ces plantes, on retrouve *Strychnos innocua*. *Strychnos innocua* Del. (Orange singe), appartient à la famille des *Loganiaceae* [1]. Au Togo, d'après les enquêtes ethnobotaniques les racines de cette plante sont utilisées traditionnellement dans la prise en charge de la drépanocytose [2]. Les études récentes réalisées ont confirmé l'activité antidrépanocytaire de cette plante [6].

Ces dernières années, l'évolution des méthodes analytiques et des outils de traitement ont permis d'explorer les sources biologiques, les produits naturels pouvant présenter un réel intérêt industriel et pharmaceutique. Ainsi, pour mieux explorer les extraits polaires d'écorces de racines de *strychnos innocua* actifs sur la falciformation des cellules, une prospection des métabolites secondaires a été réalisée par UHPLC- MS/MS. L'objectif de ce travail est d'adapter le flux de travail de la métabolomique non ciblée à la caractérisation de cette espèce. Les techniques analytiques et les outils bio-informatiques ont été combinés dans une méthodologie à haut débit utile pour dérépliquer les extraits d'écorces de racine de cette plante.

2) Matériel et méthodes

2.1) Matériel végétal

La plante *Strychnos innocua* a été récoltée en Avril 2021 à Kanté dans la région de la Kara. Elle est identifiée par le département de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Les écorces de racines de la plante sont récoltées, lavées et séchées au laboratoire à la température ambiante. Elles sont ensuite broyées avec un moulin de marque Thomas Muler série 4, référence 3375 E20.

2.2) Préparation des extraits

Les extraits hydroéthanoliques et méthanoliques d'écorces de racines de *Strychnos innocua* sont obtenus par macération pendant 72 heures.

2.3) Analyse par chromatographie liquide à ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLUHP-SM/SM)

2.3.1) Analyse des échantillons

La chromatographie liquide est réalisée à l'aide d'un système de chromatographie CLUHP (Vanquish, Thermo Scientific). Les échantillons sont placés dans un échantillonneur automatique thermostaté à 6°C, qui permet une injection automatique de 2 µL de chaque échantillon en suivant les séquences définies. Les différents métabolites de nos extraits sont ensuite séparés selon leur polarité à travers une colonne C18 de phase inverse (ACQUITY UHPLC HSS T3 Column, 100Å, 1.8 µm, 2.1 mm X 100 mm équipée d'un préfiltre en 0.2 µm), thermostatée à 45°C. Les solvants de grade CL-SM utilisés comme phases mobiles sont un mélange eau + 0,1 % d'acide formique (noté en voie A) et un mélange acétonitrile + 0,1 % d'acide formique (noté en voie B). Le débit de solvant est défini à 0,4 ml/min avec un gradient non linéaire.

Les différents métabolites séparés sont ensuite détectés à l'aide d'un spectromètre de masse hybride quadrupole / Orbitrap (Exploris™ 120, Thermo Scientific) équipé d'une source d'ionisation *electrospray*. Les échantillons sont analysés en mode d'ionisation positif et négatif, pour une gamme de m/z 100 à 1500.



Figure 1: Appareil de la chromatographie liquide à Ultra Haute Performance couplée à la spectrométrie de masse (Orbitrap)

2.3.2) Traitement des données obtenues par CLUHP-SM/SM

Les données brutes obtenues en CLUHP-SM/SM sont importées sous MZMine2 pour traitement. Les masses sont détectées via l'algorithme *Exact mass* dans l'onglet mass puis utilisées pour la construction de chromatogrammes via l'algorithme *ADAP chromatogram builder* [7]. Les chromatogrammes sont créés après cette opération et

forment des listes de *features* caractérisées par les rapports *m/z*, les temps de rétention, l'aire de pic et les données de fragmentation associées.

Les listes de *features* obtenues après toute cette démarche sont ensuite analysées. Les formules chimiques sont attribuées automatiquement via le module *Formula prediction* selon des paramètres suivant les sept règles d'or [8]. Les adduits et les fragments en source sont annotés avec les modules correspondants, qui comparent les données de SM1 et de SM2.

Après export, les données sont importées sur la plateforme GNPS pour création de réseaux moléculaires selon l'algorithme *Feature Based Molecular Networking*.

3) Résultats et discussion

3.1. Rendements des extractions

Les rendements des extractions des phytoconstituants obtenus après épuisement au mélange éthanol-eau et au méthanol ont permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Rendement d'extraction des extraits d'écorces de racines de *Strychnos innocua*

	Ecorces de racines
Ethanol-Eau (80-20)	21,86 %
Méthanol	16,67 %

Les résultats indiquent que le taux d'extraction le plus élevé est obtenu avec le mélange éthanol-eau pour les deux différentes extractions. Selon Stalikas *et al.*, [9] l'efficacité de l'extraction est influencée par la nature chimique des phytoconstituants, la méthode d'extraction utilisée, la taille des particules de l'échantillon, le solvant utilisé, ainsi que la présence de substances interférentes. L'utilisation combinée de l'eau et d'un solvant organique peut faciliter également l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et/ou dans le solvant organique [10].

3.2. Analyse par CLUHP-SM/SM

Les extraits hydroéthanolique et méthanolique des écorces de racines ont été analysés par CLUHP-SM/SM. La **Figure 2** résume l'ensemble du processus de traitement des données de l'analyse. Les données ont été traitées à l'aide de MZmine2. Au cours de ce traitement, les bruits de fond, les éléments du blanc, les adduits, les isotopes et les complexes ont été éliminés. Après cette étape, les données des extraits hydroéthanolique et méthanolique des écorces de racines et les données du blanc ont été alignées. Les données alignées ont été ensuite exportées pour construire les réseaux moléculaires à l'aide de la plateforme en ligne GNPS. L'alignement et la construction des réseaux moléculaires ont permis d'annoter les *features* qui correspondent aux composés présents dans nos différents extraits. Les annotations ont été fournies conformément à la « Metabolomics Standard Initiative », dans laquelle le niveau 1 correspond à l'identification du composé, le niveau 2 aux annotations putatives, le niveau 3 aux annotations de classes chimiques putatives et le niveau 4 aux molécules inconnues.

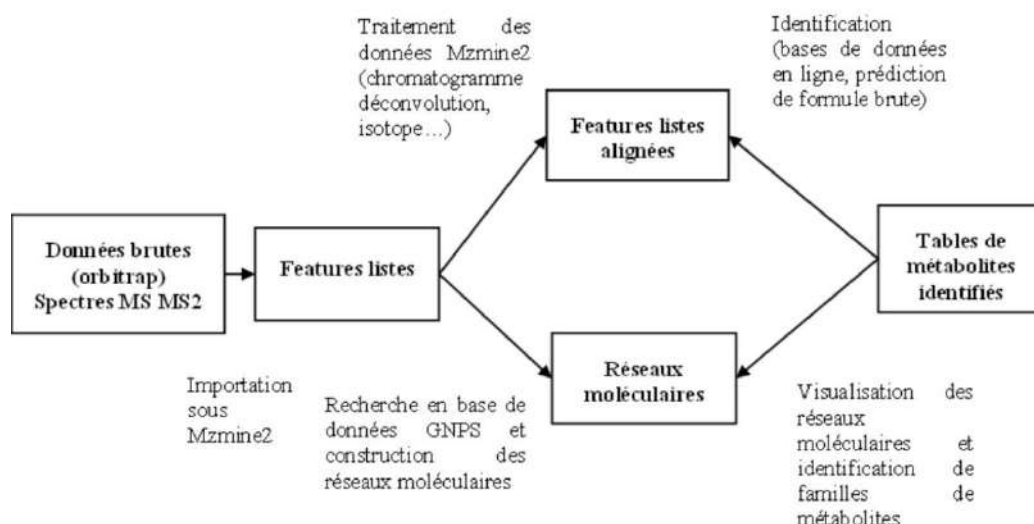


Figure 2: Processus de traitement de données obtenues par CLUHP-SM/SM

3.3. Molécules identifiées dans les extraits d'écorces de racines

L'analyse comparative des extraits hydroéthanolique et méthanolique d'écorces de racines par CLUHP-SM/SM, a été effectuée en mode d'ionisation positif et négatif. Cela a permis d'obtenir le chromatogramme (données en mode positif) de la **Figure 3**. La **Figure 4** montre le réseau moléculaire obtenu grâce à GNPS et visualisé dans Cytoscape, avec les données en mode positif. Les annotations ont été attribuées par comparaison avec des bases de données en ligne (KEGG, HMDB) et complétées par l'étude du réseau moléculaire (GNPS). L'annotation a permis d'identifier parmi ces features environ 155 métabolites. Les métabolites identifiés ont été classés selon leurs aires de pic décroissant et les composés majoritaires dans les extraits hydroéthanolique et méthanolique ont été consignés dans le **Tableau 2**. Tous les composés majoritaires dans l'extrait méthanolique se retrouvent dans l'extrait hydroéthanolique. La famille chimique de tous les métabolites a été ensuite déduite et a permis de réaliser la **Figure 5**.

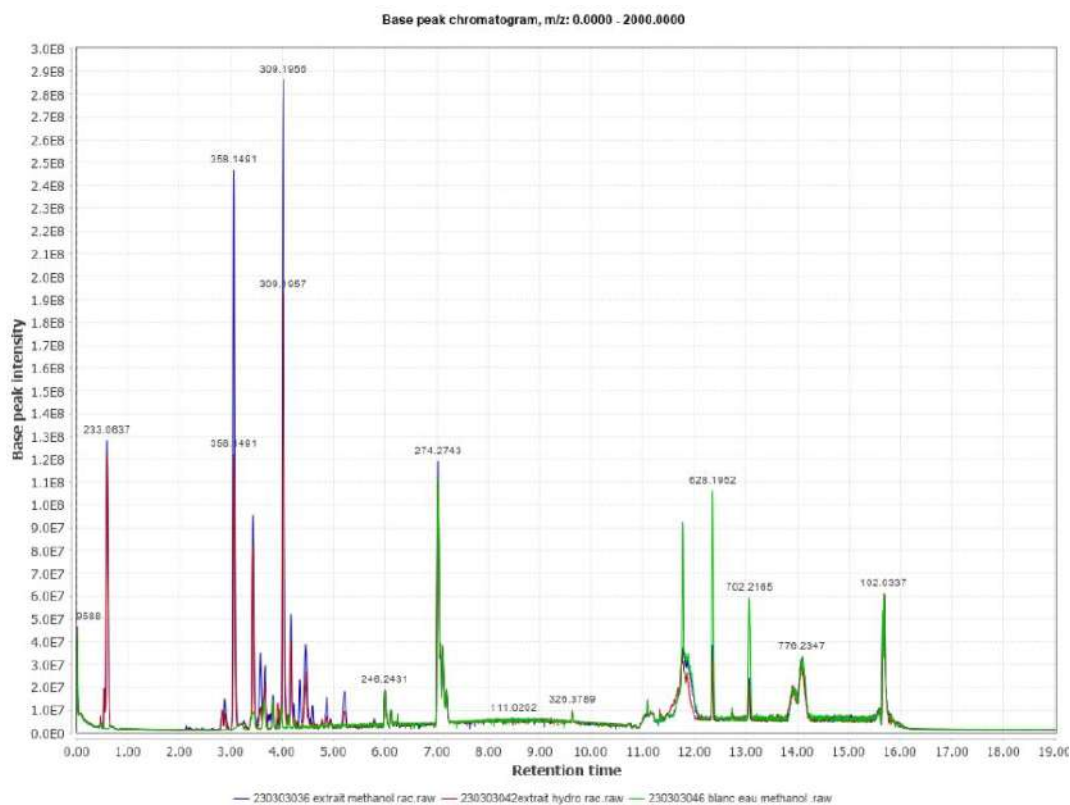


Figure 3: Chromatogramme des extraits hydroéthanolique et méthanolique

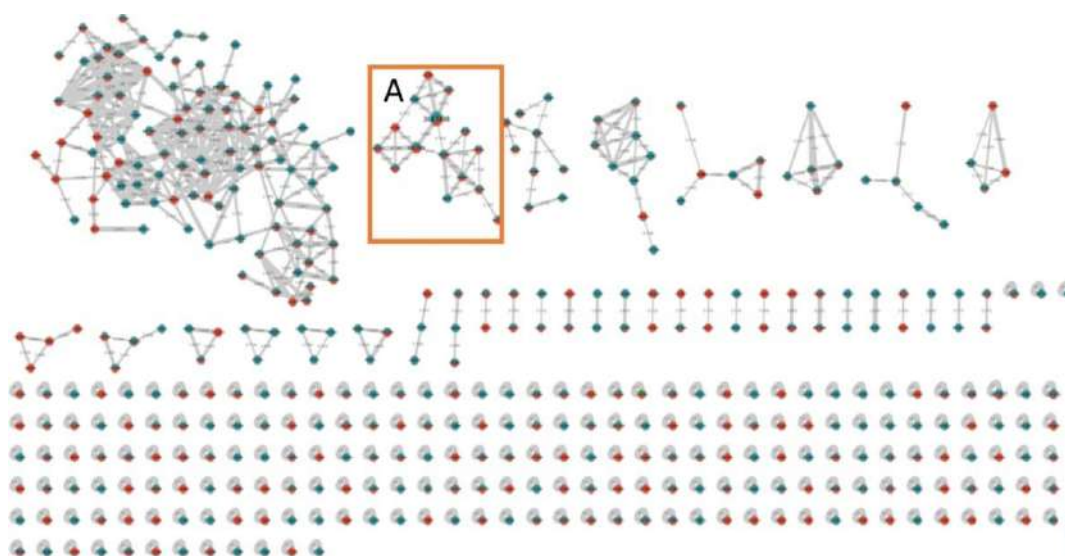


Figure 4: Réseaux moléculaires construits par GNPS des données en mode positif de nos extraits

Tableau 2 : Métabolites majoritaires identifiés à partir de l'analyse des extraits hydroéthanolique (HE) et méthanolique (MeOH) d'écorces de racines de *S. innocua*.

N° du pic	Tr	Nom du métabolite proposé	m/z Observé	Mode	Formule brute	Famille chimique	Extrait	NA
1	0,60	alpha-D-Mannoheptulopyranose	209,0667	M-H	C ₇ H ₁₄ O ₇	Carbohydrate	HE; MeOH	2
2	0,62	Quinic acid	191,0561	M-H	C ₇ H ₁₂ O ₆	Acide carboxylique	HE; MeOH	2
3	3,05	Swertiamarin	373,1136 375,1288	M-H M+H	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	Iridoïde	HE; MeOH	2
4	3,06	Bakankoside	358,1498	M+H	C ₁₆ H ₂₃ NO ₈	Alcaloïde	HE; MeOH	1
5	3,43	Sweroside	359,1339	M+H	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	Iridoïde	HE; MeOH	1
6	3,43	Gardenoside	403,1242	M-H	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	Iridoïde	HE; MeOH	2
7	3,59	6'-O-P-Coumaroylgenipin gentiobioside	695,2193	M-H	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₇	Iridoïde	HE; MeOH	2
8	3,67	Pinocembrin 7-rhamnosylglucoside	563,1767 565,1918	M-H M+H	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₃	Flavonoïde	HE; MeOH	2
9	3,77	7-acetyloxy-5-hydroxy-7-methyl-1-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-4a,5,6,7a-tetrahydro-1H-cyclopenta[c]pyran-4-carboxylic acid	433,1347	M-H	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₂	Iridoïde	HE; MeOH	2
10	3,92	Cinchonine	295,1806	M+H	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O	Alcaloïde	HE; MeOH	2
11	4,29	Barlerin	447,1505	M-H	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₂	Iridoïde	HE	2

12	4,45	Cyclopenta[c]pyran-4-carboxylic acid, 1,4a,5,7a-tetrahydro-7-(hydroxymethyl)-1-[[6-O-[6-O-[(2Z)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxo-2-propen-1-yl]-beta-D-glucopyranosyl]-beta-D-glucopyranosyl]oxy]-, methyl ester	695,2193 697,2345	M-H M+H	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₇	Iridoïde	HE; MeOH	2
13	4,46	6''-O-[(E)-Cinnamoyl]gentiobiosylgenipin	681,2394	M+H	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₆	Iridoïde	HE; MeOH	2
14	4,87	6''-O-trans-Feruloylgenipin gentiobioside	725,2299	M-H	C ₃₃ H ₄₂ O ₁₈	Iridoïde	HE; MeOH	2

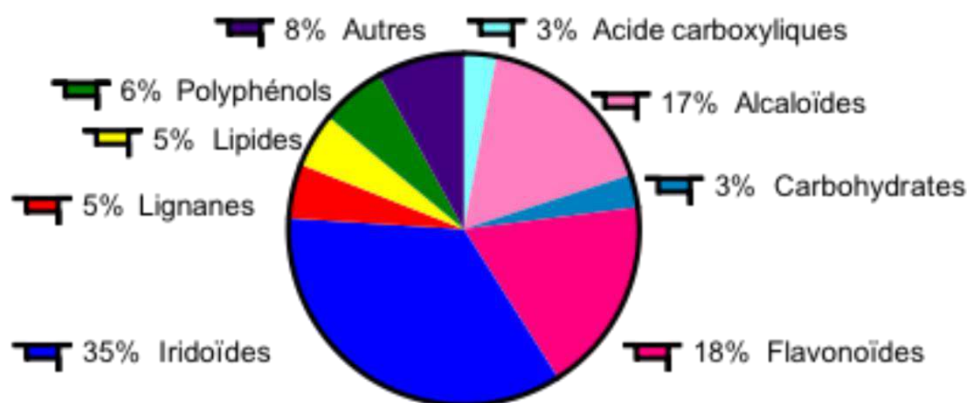


Figure 5: Diagramme circulaire des familles chimiques des métabolites identifiés dans les extraits hydroéthanolique et méthanolique d'écorces de racines basé sur l'analyse CLUHP-SM/SM.

Les composés identifiés dans les extraits d'écorces de racines (**Tableau 2**) indiquent la présence des composés de la famille des carbohydates (alpha-D-Mannoheptulopyranose), iridoïdes (plus précisément des secoiridoïdes à savoir Sweroside, Gardenoside, Swertiamarin, Barlerin...), alcaloïdes (Cinchonine...), flavonoïdes (Pinocembrin 7-rhamnosylglucoside, Dalpanin...), stéroïdes (2alpha-(Hydroxymethyl)-5alpha-androstane-3beta,17beta-diol). Ces résultats sont en accord avec le screening phytochimique réalisé sur la poudre de la racine [6].

Le Gardenoside est un composé naturel, présent dans les fruits du Gardenia, qui possède des propriétés hépatoprotectrices. Il supprime la douleur des lésions de constrictions chroniques en régulant les récepteurs P2X3 et P2X7 et a un effet inhibiteur sur la stéatose cellulaire induite par les acides gras libres (AGL) [11,12]. D'après la **Figure 5**, les différents extraits d'écorces de racines sont plus riches en familles d'iridoïdes plus précisément des hétérosides d'iridoïdes (secoiridoïdes). Les iridoïdes sont des monoterpènes caractérisés par un squelette cyclopenta[c]pyrane, parfois désigné par le terme iridane [13]. Les représentants majoritaires de cette famille sont les hétérosides d'iridoïdes, comme les secoiridoïdes. Ces derniers dérivent biogénétiquement des iridoïdes par ouverture oxydante de la liaison C7-C8 de la génine. De nombreux travaux se sont intéressés aux activités biologiques et pharmacologiques d'iridoïdes et de secoiridoïdes. D'après ces travaux, ces composés possèdent de multiples activités à savoir : antiallergique, hypotensive, anti tumoral, antiviral, anti-inflammatoire, hypoglycémiant, antibactérienne, hépatoprotectrice et antibiotique [14–16].

4) Conclusion

Cette étude a permis une caractérisation complète des extraits polaires d'écorces de racines de *Strychnos innocua* en utilisant des techniques analytiques (UHPLC-MS/MS). L'analyse des extraits polaires d'écorces de racines par UHPLC-MS/MS a permis d'annoter 155 composés à l'aide des bases de données et des réseaux moléculaires

obtenus. Deux des composés identifiés ont été annotés au niveau 1 sur base de comparaisons standards. L'analyse des résultats a révélé la présence de plusieurs composés comme les iridoïdes, les secoiridoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols. De plus, les écorces de racines sont assez riches en familles d'iridoïdes (35%). Ces résultats obtenus après exploration des différents extraits ont permis de dresser une carte détaillée des écorces des racines *Strychnos innocua* et de cibler les composés qui pourraient être responsables de l'activité antifalcémiant de ces extraits. Des études seront réalisées en vue d'isoler les molécules biologiquement actives.

Références bibliographiques

- [1] L. Angenot, J.N. Wauters, *Strychnos innocua* (Loganiaceae), Plantes Médicinales Phythér. (1974) 314–317.
- [2] E. Adjanohoun, V. Adjakidje, M.R.A. Ahyi, K. Akpagana, P. Chibon, A. El-Hadji, J. Eyme, M. Garba, J.N. Gassita, M. Gbeassor, Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Agence de coopération culturelle et technique, (ACCT), Paris, 671 p., (1986) From the data bank PHARMEL 2 (ref. HP 10), (n.d.).
- [3] T. Pluskal, S. Castillo, A. Villar-Briones, M. Orešič, MZmine 2: modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data, BMC Bioinformatics 11 (2010) 1–11.
- [4] N. Maurice, L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle, (1997) 12–14.
- [5] I. Krache, Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *tamus communis* L. et *teucrium polium* L. sur des rats blancs albino wistar, Mémoire, Université de Farhat Abbas-Setif, 2008.
- [6] M.F. Brukum, K. Kpegba, K.S. Evenamede, A. Agbonon, O. Simalou, Antioxidant and anti-sickling activity of extracts from the stem and roots barks of *Strychnos innocua* (Del.), Int. J. Pharm. Pharm. Sci. (2023) 18–23. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2023v15i9.48625>.
- [7] O.D. Myers, S.J. Sumner, S. Li, S. Barnes, X. Du, One Step Forward for Reducing False Positive and False Negative Compound Identifications from Mass Spectrometry Metabolomics Data: New Algorithms for Constructing Extracted Ion Chromatograms and Detecting Chromatographic Peaks, Anal. Chem. 89 (2017) 8696–8703. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b00947>.
- [8] T. Kind, O. Fiehn, Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry, BMC Bioinformatics 8 (2007) 105. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-105>.
- [9] C.D. Stalikas, Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, J. Sep. Sci. 30 (2007) 3268–3295. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>.
- [10] Q.D. Do, A.E. Angkawijaya, P.L. Tran-Nguyen, L.H. Huynh, F.E. Soetaredjo, S. Ismadji, Y.-H. Ju, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, J. Food Drug Anal. 22 (2014) 296–302.
- [11] M. Yu, B. Su, X. Zhang, Gardenoside suppresses the pain in rats model of chronic constriction injury by regulating the P2X3 and P2X7 receptors, J. Recept. Signal Transduct. 38 (2018) 198–203. <https://doi.org/10.1080/10799893.2018.1468782>.
- [12] H. Liang, L. Zhang, H. Wang, J. Tang, J. Yang, C. Wu, S. Chen, Inhibitory effect of gardenoside on free fatty acid-induced steatosis in HepG2 hepatocytes, Int. J. Mol. Sci. 16 (2015) 27749–27756. <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/11/26058>.
- [13] J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4^e éd.), Lavoisier, 2009.
- [14] B. Dinda, D.R. Chowdhury, B.C. Mohanta, Naturally Occurring Iridoids, Secoiridoids and Their Bioactivity. An Updated Review, Part 3, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 57 (2009) 765–796. <https://doi.org/10.1248/cpb.57.765>.
- [15] I.M. Villasenor, Bioactivities of iridoids, Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents Med. Chem. Former. Curr. Med. Chem.-Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents 6 (2007) 307–314.

Contribution à l'étude de la variabilité chimique de l'huile essentielle de *Dacryodes edulis* en fonction de l'organe (Agboville-Côte d'Ivoire)

Konan Marius¹, Wognin Esse Leon², Kambiré Didjour Albert³, Acafou Yapi Thierry¹, Soro Yaya², Touré Kidjégbo Augustin⁴, Tomi Félix⁵ et Boti Jean Brice².

¹ Laboratoire de Chimie Organique Biologique, UFR-SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, BPV 34 Abidjan, Côte d'Ivoire.

² Groupe de recherche Chimie de l'Eau et des Substances Naturelles, Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

³ UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Péléforo Gon Coulibaly, Korhogo BP 1328, Côte d'Ivoire.

⁴ Laboratoire des Mathématiques et des Nouvelles Technologies de l'Information, Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

⁵ Université de Corse-CNRS, UMR 6134 SPE, Equipe Chimie ET Biomasse Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France.

Résumé : Cette étude est une contribution à la valorisation des plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire. Nous avons étudié la variabilité chimique de l'huile essentielle de *Dacryodes edulis* en fonction de l'organe récolté à Agboville en Côte d'Ivoire. Les HE ont été obtenues par hydrodistillation et les constituants ont été identifiés par combinaison des données de la CPG(Ir), la CPG-SM et la RMN-¹³C. L'HE des feuilles, fruits et tiges de *Dacryodes edulis* de Côte d'Ivoire est composé d'un grand nombre de constituants chimiques connus. De façon générale, la composition chimique de cette HE est dominée par les monoterpènes hydrocarbonés, et diffère d'un organe à un organe et au sein d'un même organe. Les composés majoritaires de l'HE de chaque organe sont :

- L' α -pinène (1,0-45,9%), l' α -phellandrène (0,1-43,0%), le limonène (1,2-39,5%), le terpinolène (0,2-32,6%) et (E)- β -caryophyllène (2,0-29,4%) pour les échantillons de feuilles ;
- Le limonène (6,9-45,2%), l' α -pinène (5,5-44,5%), le β -pinène (0,7-23,9%) et le terpinolène (0,2-24,7%) pour les fruits ;
- L' α -pinène (7,3-27,4%), le p-cymène (10,0-22,0%), l' α -phellandrène (6,8-17,2%) et le γ -terpinolène (3,6-12,1%) pour les échantillons de tiges.

Mots clés : Etude ; variabilité ; huile essentielle ; *Dacryodes edulis*

Contribution to the study of the chemical variability of the essential oil of *Dacryodes edulis* as a function of the organ (Agboville-Côte d'Ivoire)

Abstract: This study is a contribution to the development of aromatic and medicinal plants in Côte d'Ivoire. We studied the chemical variability of *Dacryodes edulis* essential oil depending on the organ harvested in Agboville in Côte d'Ivoire. The EOs were obtained by hydrodistillation and the constituents were identified by combination GC(IR), GC-MS and NMR-¹³C data. The essential oil of the leaves, fruits and stems of *Dacryodes edulis* from Côte d'Ivoire is composed of a large number of known chemical constituents. In general, the chemical composition of this EO is dominated by hydrocarbon monoterpenes, and differs from one organ to another and within the same organ. The main compounds of the EO of organ each are:

- α -pinene (1.0-45.9%), α -phellandrene (0.1-43.0%), limonene (1.2-39.5%), terpinolene (0.2-32.6%) and (E)- β -caryophyllene (2.0-29.4%) for leaf samples;
- Limonene (6.9-45.2%), α -pinene (5.5-44.5%), β -pinene (0.7-23.9%) and terpinolene (0.2-24.7%) for fruits;
- α -pinene (7.3-27.4%), p-cymene (10.0-22.0%), α -phellandrene (6.8-17.2%) and γ -terpinolene (3.6-12.1%) for stem samples.

Keywords: Study; variability; essential oil; *Dacryodes edulis*

1. Introduction

L'utilisation des plantes comme source de nourriture et de médicament, fait partie intégrante de plusieurs coutumes dans le monde entier et en particulier en Côte d'Ivoire. Les produits naturels représentent une source

importante de matières premières destinée aux différents secteurs d'activités tels que le domaine pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, et phytosanitaire [1]. La découverte des ressources naturelles du monde végétal reste donc cruciale pour le développement de nouveaux remèdes [2-11]. De ces ressources naturelles sont extraits des métabolites secondaires dont les huiles essentielles.

La vulgarisation de la production d'huiles essentielles ne peut être envisagée que si la caractérisation de ces substances naturelles est réalisée. Elle passe par la connaissance de la composition chimique, qui constitue un facteur déterminant en vue de leur commercialisation. La problématique étant la valorisation des substances naturelles organiques et plus particulièrement la mise en évidence d'une éventuelle spécificité des nouvelles huiles essentielles de Côte d'Ivoire [12-23].

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de d'étudier la variabilité chimique de l'huile essentielle de *Dacryodes edulis* en fonction de l'organe récoltée à Agboville (Côte d'Ivoire). Spécifiquement, nous déterminerons, concomitamment, les compositions chimiques des huiles essentielles des feuilles, des fruits et des tiges. Cette étude a été réalisée dans la plantation de monsieur BOKA Yapi, dans le but de contribuer à la connaissance de la composition chimique des organes du safou qu'il cultive. Les résultats obtenus lui seront très utiles pour la valorisation du safoutier.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal, constitué des fruits, des feuilles et des tiges de safou, a été récolté à GRAND MORIE, un village situé à une dizaine de kilomètre de la ville d'Agboville.

Nous disposons de dix-huit (18) échantillons composés de :

- Cinq (05) échantillons de fruits récoltés sur cinq pieds distincts porteurs de fruits. Ces fruits diffèrent de par la couleur, la taille et la morphologie ;
- Onze (11) échantillons de feuilles récoltés sur 11 pieds distincts, différents les uns des autres de par la texture et la taille ;
- Deux (02) échantillons de tiges obtenus après le retrait des feuilles.

Fr-09

2.2. Méthodes d'extraction et de calcul des rendements

Méthode d'extraction

L'extraction des différentes huiles essentielles des espèces végétales étudiées a été réalisée avec un appareil de type Clevenger pendant trois heures. L'HE est récupérée et séchée à l'aide de sulfate de sodium (Na₂SO₄) anhydre, puis la masse est déterminée en vue du calcul du rendement. Les échantillons d'HE sont ensuite conservés dans un réfrigérateur et à l'abri de la lumière.

Rendement d'extraction

Les calculs de rendement d'extraction des HE des fruits, des feuilles et des tiges de *Dacryodes edulis* ont été faits

selon la formule ci-dessous :

$$\text{Rendement} (\%) = \frac{\text{Masse d'huile essentielle obtenue (g)}}{\text{Masse de matière végétale (g)}} \times 100 = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \times 100$$

2.3. Analyse des huiles essentielles par CPG

Analyse par CPG(Ir)

Les analyses par CPG des échantillons d'HE sont réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Clarus 500 équipé d'un injecteur diviseur, de deux colonnes capillaires de silice fondue (50 m x 0,22 mm, épaisseur de film 0,25 µm) apolaire BP-1(polydiméthylsiloxane) et polaire BP-20 (polyéthylène glycol) et de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID). La température du four est programmée de 60 à 220 °C (80 min) à 2 °C / min, puis maintenue isotherme à 220 °C pendant 20 min ; Température de l'injecteur : 250 °C ; Température du détecteur : 250 °C ; Gaz vecteur : dihydrogène (H₂) (1,0 ml/min) ; Split : 1/60. Les indices de rétention (Ir) sont déterminés par rapport aux temps de rétention (Tr) d'une série de n-alcanes (C7-C28) avec interpolation linéaire (logiciel "Target Compounds" de Perkin-Elmer). Les proportions relatives (en pourcentage) des constituants des échantillons sont obtenues par normalisation de surface de pic sans utiliser de facteurs de correction.

Analyse par CPG-SM

Les échantillons HE sont analysés avec un spectromètre Perkin Elmer Clarus SQ8S Turbo Mass (quadripolaire), directement couplé à un chromatographe Perkin Elmer Autosystem Clarus 580, doté d'un injecteur automatique

et équipé de deux colonnes capillaires de silice fondue Colonnes (50 x 0,22 mm épaisseur de film de 0,25 µm), BP-1 (polydiméthylsiloxane) et BP-20 (polyéthylène glycol). Le gaz vecteur est l'hélium (He) avec un débit de 0,8 mL/min. L'injection se fait en mode Split avec un rapport de division de 1/60. La quantité d'échantillon injectée est de 0,5 µL. La température de l'injecteur est de 250 °C, celle du four est programmée de 60 °C à 220 °C (80 min) avec un gradient de 2 °C/min et ensuite maintenue à une valeur isotherme pendant 20 min. La température de la source d'ions est de 250°C. L'ionisation moléculaire s'effectue par bombardement des molécules avec un faisceau électronique d'énergie : 70 eV. Les spectres de masse par impact électronique sont acquis sur la plage de masse 40-400 Da.

Analyse des huiles essentielles par la RMN-¹³C

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AVANCE 400, 9,4 Tesla, opérant à 100,623 MHz pour le carbone-13. Les spectres ont été enregistrés avec une sonde de 5 mm. Le solvant est le chloroforme deutéré (CDCl₃) contenant du tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en parties par millions (ppm, échelle δ) par rapport au TMS pris comme référence interne.

Quantification des constituants chimiques

Les constituants chimiques identifiés par la SM et la RMN-¹³C sont repérés sur le chromatogramme par leurs indices de rétention, sur colonnes polaire et apolaire, ce qui permet de les quantifier. Les teneurs sont prises sur la colonne apolaire, sauf dans le cas des composés présentant des coélutions sur la colonne apolaire, pour lesquels les teneurs sont prises sur la colonne polaire.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

Aspect et rendement

Aspect des huiles essentielles

Les HE des feuilles, des fruits et des tiges de *Dacryodes edulis* obtenues sont incolores avec une forte odeur. Contrairement aux HE des feuilles qui sont de couleur jaune foncé, celles des fruits et tiges sont plus claires.

Rendement d'extraction

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Rendement en huile essentielle des échantillons de *Dacryodes edulis*

Organes	Fruits	Feuilles	Tiges
Rendements (%)	0,0079-0,0264	0,0194-0,0560	0,0156-0,0616

Composition chimique des huiles essentielles étudiées

La composition chimique des HE a été déterminée par combinaison de la CPG(Ir), la CPG-SM et la RMN ¹³C. Les compositions chimiques de l'HE des échantillons de *Dacryodes edulis* sont consignées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : composition chimique de l'HE des échantillons de feuille, de fruit et de tige

N°	Composés	Ir apol	Ir pol	Feuilles	Tiges	Fruits	Identification
1	(E)-Hex-2-èn-1-al	830	1 227	0,1-0,4	-	-	Ir - SM
2	Hex-3-èn-1-ol	841	1 387	0,1-1,6	0,0-tr	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
3	(E)-Hex-2-èn-1-ol	850	1 409	0,1-1,4	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
4	Hexan-1-ol	854	1 354	0,1-1,4	0,0-tr	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
5	α-Thujène	927	1 024	Tr-1,0	0,7-1,6	0,1-1,1	Ir - SM - RMN ¹³ C
6	α-Pinène	935	1 021	1,0-45,9	7,3-27,4	5,5-44,5	Ir - SM - RMN ¹³ C
7	Camphène	947	1 072	0,0-0,3	0,1-0,3	0,0-0,7	Ir - SM
8	6-méthyl-hept-5-èn-2-one	966	1 342	0-0,1	tr-0,2	0,0-tr	Ir - SM
9	Sabinène	969	1 117	0,0-2,4	0,2-0,5	0,3-1,0	Ir - SM - RMN ¹³ C
10	β-Pinène	975	1 128	0,1-8,2	0,0-5,1	0,7-23,9	Ir - SM - RMN ¹³ C
11	2-Pentylfurane	981	1 236	0,0-0,3	0,1-0,1	-	Ir - SM
12	Myrcène	985	1 168	0,3-4,4	1,4-3,5	0,8-4,4	Ir - SM - RMN ¹³ C
13	2-(2-pentényl)-Furane	988	1 308	0,1-0,5	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
14	α-Phellandrène	1 002	1 173	0,1-43	6,8-17,2	0,7-26,3	Ir - SM - RMN ¹³ C
15	δ-3-Carène	1 008	1 154	0,0-2,3	0,7-0,8	0,1-2,1	Ir - SM - RMN ¹³ C

16	α -Terpinène	1 013	1 187	0,2-8,3	2,1-6,4	0,2-3,5	Ir - SM - RMN ¹³ C
17	p-Cymène	1 016	1 277	0,6-7,1	10,0-22,0	0,4-11,1	Ir - SM - RMN ¹³ C
18	Limonène	1 025	1 206	1,2-39,5	2,9-8,8	6,9-45,2	Ir - SM - RMN ¹³ C
19	β-Phellandrène	1 025	1 216	0,3-7,2	2,6-3,9	0,8-7,1	Ir - SM - RMN ¹³ C
20	(Z)- β -Ocimène	1 028	1 238	0,0-0,0-	tr-0,2	-	Ir - SM
21	(E)- β -Ocimène	1 040	1 255	0,0-0,2	0,2-0,8	0,1	Ir - SM - RMN ¹³ C
22	γ-Terpinène	1 052	1 251	0,2-11,3	3,6-12,1	0,2-5,4	Ir - SM - RMN ¹³ C
23	Octan-1-ol	1 058	1 559	0,0-tr	-	0,0-0,2	Ir - SM
24	cis-Oxyde de linalol	1 062	1 464	0,0-0,2	0,3-0,3	0,0-tr	Ir - SM
25	p-Cymenène	1 076	1 442	0,3-5,5	2,2-4,8	0,1-0,9	Ir - SM - RMN ¹³ C
26	Terpinolène	1 082	1 289	0,2-32,6	5,3-9,0	0,2-24,7	Ir - SM - RMN ¹³ C
27	Linalol	1 088	1 540	0,0-0,3	0,1-0,1	0,0-0,6	Ir - SM - RMN ¹³ C
28	Nonanal	1 098	1 400	0,0-0,4	0,0-tr	-	Ir - SM
29	cis-p-Menth-2-èn-1-ol	1 112	1 630	0,0-0,1	0,0-tr	0,0-0,1	Ir - SM
30	trans-p-Menth-2-èn-1-ol	1 128	1 671	0,0-0,3	tr-0,1	0,0-0,1	Ir - SM
31	trans-Verbénol	1 132	1 689	0,0-0,2	tr-tr	0,0-0,1	Ir - SM
32	Bornéol	1 153	1 697	0,0-0,5	0,3-0,4	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
33	4-Méthylacétophénone	1 158	1 764	0,0-0,4	0,1-0,5	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
34	Mentha-1,8-dièn-4-ol	1 162	1 677	0,0-0,6	0,1-0,2	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
35	p-Cymèn-8-ol	1 164	1 810	0,0-1,2	0,8-2,0	0,1-1,2	Ir - SM - RMN ¹³ C
36	Terpinèn-4-ol	1 166	1 605	0,0-11,7	0,7-2,7	0,1-1,2	Ir - SM - RMN ¹³ C
37	α -Terpinéol	1 176	1 699	tr-2,9	0,6-1,8	0,1-1,3	Ir - SM - RMN ¹³ C
38	Verbénone	1 185	1 604	0,0-0,7	0,3-0,6	0,0-0,3	Ir - SM - RMN ¹³ C
39	cis-Carvéol	1 201	1 858	0,0-0,4	0,1-0,3	-	Ir - SM
40	Néral	1 213	1 678	0,0-0,1	0,0--0,1	0,1-1,7	Ir - SM - RMN ¹³ C
41	Carvone	1 219	1 736	0,0-0,4	0,2-1,1	-	Ir - SM
42	Carvotanacétone	1 224	1 666	0,0-0,3	0,2-0,2	-	Ir - SM
43	Géranol	1 238	1 850	0,0-0,1	-	0,0-0,7	Ir - SM - RMN ¹³ C
44	Géranial	1 247	1 729	0,0-0,2	0,0-0,1	0,2-2,7	Ir - SM - RMN ¹³ C
45	Périllaldéhyde	1 249	1 759	0,0-tr	0,0-0,1	0,0-0,2	Ir - SM
46	Phellandral	1 254	1 708	0,0-0,2	0,1-0,2	-	Ir - SM
47	Thymol	1 272	2 189	0,2-8,6	0,4-0,6	1,0-8,8	Ir - SM - RMN ¹³ C
48	Carvacrol	1 280	2 217	0,0-0,4	0,2-0,3	0,0-0,1	Ir - SM
49	δ -Elemène	1 338	1 473	0,0-0,8-	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
50	Acétate de géranyle	1 363	1 759	0,0-0,1	-	0,0-0,4	Ir - SM
51	Cyclosativène	1 371	1 484	0,0-0,3	tr-tr	-	Ir - SM
52	α -Ylangène	1 374	1 473	0,0-1,3	0,0-0,1	0,0-0,5	Ir - SM - RMN ¹³ C
53	α -Copaène	1 379	1 495	0,4-1,9	0,5-1,2	0,1-0,6	Ir - SM - RMN ¹³ C
54	β -Bourbonène	1 386	1 500	0,0-0,1	-	-	Ir - SM
55	β -Cubebène	1 391	1 539	0,2	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
56	β -Elémène	1 391	1 726	0,1-3,5	- tr	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
57	Tétradécane	1 402	1 400	0,0-0,1	-	-	Ir - SM
58	α -Ionone	1 410	1 939	0,0-0,3	-	-	Ir - SM
59	cis- α -Bergamotène	1 413	1 571	0,0-0,6	tr-0,1	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
60	(E)-β-Caryophyllène	1 421	1 601	2,0-29,4	0,6-2,4	0,1-2,0	Ir - SM - RMN ¹³ C
61	β -Copaène	1 429	1 604	tr-0,6	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
62	Géranylacétone	1 432	1 858	0,0-0,6	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
63	trans-α-Bergamotène	1 436	1 590	0,0-8,7	0,6-0,8	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
64	α -Himachalène	1 450	1 641	0,0-0,8	-0,1	0,0-0,1	Ir - SM - RMN ¹³ C
65	α-Humulène	1 454	1 671	0,3-13,0	0,1-0,3	0,1-0,3	Ir - SM - RMN ¹³ C
66	β -Santalène	1 458	1 641	0,0-0,2	-	-	Ir - SM
67	allo-Aromadendrène	1 460	1 633	0,0-0,3	-	-	Ir - SM

68	4,5-diépi-Aristolochène	1 469	1 682	0,0-0,3	-	-	Ir - SM
69	α -Curcumène	1 472	1 759	0,0-0,3	0,0-tr	0,0-0,1	Ir - SM
70	γ -Gurjunène	1 473	1 656	0,1-1,4	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
71	γ -Muuroène	1 477	1 681	0,1-0,6	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
72	Germacrène D	1 479	1 711	0,6-5,7	0,0-tr	0,0-0,1	Ir - SM - RMN ¹³ C
73	Sélina-4,11-diène	1 481	1 671	0,0-0,8	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
74	β-Sélinène	1 485	1 726	0,2-4,9	0,1-0,1	0,1-0,7	Ir - SM - RMN ¹³ C
75	Valencène	1 490	1 719	0,0-0,9	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
76	α -Zingibérène	1 493	1 725	0,0-0,3	-	tr-0,2	Ir - SM
77	α -Sélinène	1 494	1 721	0,2-3,3	0,0-tr	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
78	α -Muuroène	1 496	1 720	0,0-1,0	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
79	(E,E)- α -Farnésène	1 499	1 753	0,2-2,1	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
80	δ -Amorphène	1 503	1 729	0,0-0,9	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
81	(Z)- γ -Bisabolène	1 509	1 733	tr-0,5	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
82	γ -Cadinène	1 512	1 752	0,0-0,2	-	-	Ir - SM
83	trans-Calamenène	1 515	1 834	0,0-0,4	-	-	Ir - SM
84	δ -Cadinène	1 517	1 760	0,6-2,9	0,1-0,2	0,1-0,2	Ir - SM - RMN ¹³ C
85	Zonarène	1 520	1 699	0,0-0,2	-	-	Ir - SM
86	Sélina-4(15),7(11)-diène	1 533	1 793	0,0-0,7	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
87	β -Elémol	1 537	2 080	0,0-0,1	-	0,1-0,2	Ir - SM
88	Sélina-3,7(11)-diène	1 541	1 811	0,0-0,2	-	-	Ir - SM
89	7-épi-trans-Hydrate de sesquisabinène	1 550	1 998	0,0-0,3	-	-	Ir - SM
90	Germacrène B	1 554	1 829	0,1-1,3	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
91	Oxyde de caryophyllène	1 573	1 981	0,1-1,8	tr-0,4	0,1-0,2	Ir - SM - RMN ¹³ C
92	Tétradécanal	1 596	1 925	0,1-1,0	tr-tr	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
93	1,10-diépi-Cubénol	1 614	2 057	0,0-0,5	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
94	τ -Muurool	1 629	2 185	0,0-0,8	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
95	β -Eudesmol	1 638	2 226	0,0-0,2	-	0,0-0,1	Ir - SM
96	α -Cadinol	1 641	2 230	0,1-1,4	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
97	Bulnésol	1 657	2 197	0,0-0,3	-	-	Ir - SM
98	Pentadécanal	1 699	2 032	0,2-7,2	0,2-0,3	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
99	(2E,6E)-Farnésol	1 704	2 356	0,0-0,9	-	-	Ir - SM - RMN ¹³ C
100	Hexadécanal	1 845	2 169	0,0-0,3	-	-	Ir - SM
101	Heptadécanal	1 945	2 267	0,0-0,7	0,2-0,2	0,1-0,6	Ir - SM - RMN ¹³ C
102	(E)-Phytol	2 102	2 612	0,0-0,2	-	-	Ir - SM
	Monoterpènes hydrocarbonés			34,8-65,5	81,3-88,8	76,1-97,4	
	Monoterpènes oxygénés			2,0-13,8	6,2-9,9	1,8-17,6	
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			13,7-49,1	1,9-5,2	0,3-4,9	
	Sesquiterpènes oxygénés			0,6-4,0	0,0-0,4	0,0-0,6	
	Autres composés			1,6-12,5	0,5-0,6	0,0-0,9	
	Total identifié			93,4-98,6	97,3-97,5	97,3-99,9	

Ordre d'élution et pourcentages donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20) ; Ir : indices de rétention sur colonnes apolaire (Ir apol) et polaire (Ir pol) ; tr = traces ; SM : composé identifié par CPG-SM RMN ¹³C : composé identifié par RMN ¹³C

3.2 Discussion

Rendement

Les échantillons étudiés présentent des rendements d'extraction très faibles et homogènes. Ces rendements varient de 0,0079 à 0,0264 % pour les fruits, de 0,0194 à 0,0560% pour les feuilles et de 0,0156 à 0,0616 pour les tiges. Notons que le plus faible rendement a été enregistré au niveau des fruits (0,0079 %) et le plus élevé au niveau des tiges (0,0616 %) (**Tableau 1**).

Composition chimique des huiles essentielles des échantillons étudiés

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Dacryode edulis* a été réalisée par la combinaison des méthodes chromatographique (CPG (Ir)) et spectroscopiques (CPG-SM et RMN ¹³C). Elle a permis l'identification de 102 constituants représentant 93,4 à 99,9% de la composition chimique totale selon les échantillons (Tableau 2).

Les huiles essentielles des feuilles sont dominées par les monoterpènes hydrocarbonés (34,0-65,5%), suivis, de sesquiterpènes hydrocarbonés (13,7-49,1%), de monoterpènes oxygénés (2,0-13,8%), d'autres composés (1,6-12,5%) et de sesquiterpènes oxygénés (0,6-4,0%). Les onze échantillons d'huile essentielle de feuilles analysés présentent des compositions chimiques différentes. L'observation du Tableau 2 montre la variabilité chimique intra-feuille de l'HE.

Les échantillons d'huile essentielle des fruits étudiés sont également dominés par les monoterpènes hydrocarbonés (76,1-97,4%) suivis par les monoterpènes oxygénés (1,8-17,6%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (0,3-4,9%), les autres composés (0,0-0,9%) et les sesquiterpènes oxygénés (0,0-0,6%). On observe une différence de composition chimique dans des HE des différents fruits récoltés sur le plan quantitatif. Ainsi, nous observons une variabilité chimique intra-fruit.

Quant aux échantillons d'huile essentielle de tiges, ils sont dominés par les monoterpènes hydrocarbonés (81,25-88,84%), suivis par les monoterpènes oxygénés (6,2-9,9%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (1,94-5,20%), les autres composés (0,50-0,60%) et les sesquiterpènes oxygénés (0,0-0,35%). La composition chimique de ces échantillons diffère d'un échantillon à un autre. Les compositions chimiques synoptiques des échantillons sont différentes les unes des autres. Aussi émet-on l'hypothèse d'une variabilité chimique intra-tige.

Les échantillons d'huile essentielle de feuilles ont une teneur plus faible en monoterpène hydrocarboné que les ceux des fruits et de tiges. Cependant, ils ont une proportion plus importante en sesquiterpène hydrocarboné que ceux de feuilles et de fruits.

Confirmation statistique de la variabilité chimique intra et inter organe de l'huile essentielle

Au vu de tous ces résultats, nous avons soupçonné l'existence d'une variabilité chimique intra-organe. Pour la confirmer ou l'infirmer nous avons confronté les résultats des profils chromatographiques et spectroscopiques à des outils qui possèdent le pouvoir descriptif et discriminant sur des données quantitatives et / ou qualitatives : c'est l'Analyse Factorielle des Données Multidimensionnelles (AFDM). Pour se faire, nous avons réalisé deux analyses statistiques ; la première a confronté les teneurs des familles biochimiques et les organes et la seconde s'est appuyée sur les mêmes organes ainsi que les composés majoritaires. Les résultats de ces analyses sont présentés sous forme de dendrogramme et de projection des échantillons dans le premier plan factoriel (figures 1 et 2).

La Figure 1 visualise trois groupes distincts (clusters 1, 2 et 3). Le cluster 1 est celui qui factorise les échantillons d'HE issus de l'organe Fruit. On y observe la dispersion des échantillons, d'où la confirmation de la variabilité intra-fruit. Le cluster 2 regroupe les échantillons d'HE issus de l'organe Tige. Les échantillons ne sont pas regroupés au même endroit, d'où la possibilité d'une variabilité chimique intra-tige. Quant au cluster 3, il concerne les échantillons d'HE provenant de l'organe Feuille. C'est le groupe le moins contracté.

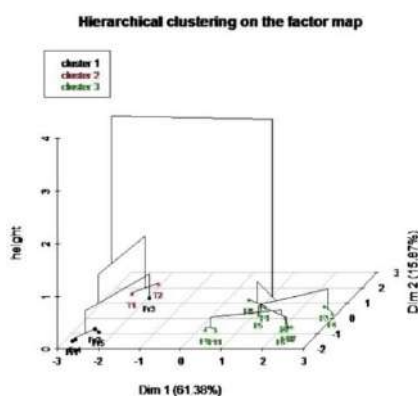


Figure 1 : Dendrogramme des échantillons d'huile essentielle des feuilles, des fruits et des tiges projetés dans le premier plan factoriel de l'AFDM en prenant en compte les familles biochimiques

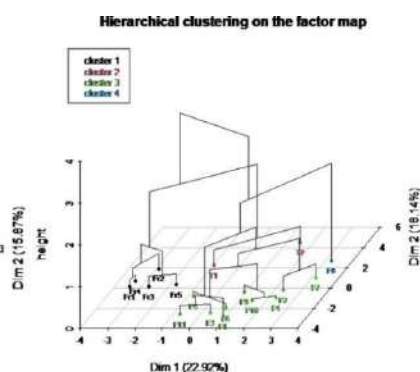


Figure 2 : Dendrogramme des échantillons d'huile essentielle des feuilles, des fruits et des tiges projetés dans le premier plan factoriel de l'AFDM en prenant en compte les composés majoritaires

Aussi, observe-t-on une variabilité chimique intra-feuille.

Les clusters qui ont servi de base à la confirmation de la variabilité chimique intra-organe sont très distincts les uns des autres. On y dévoile ainsi une variabilité chimique inter-organe pour l'HE.

La **Figure 2** confirme les conclusions liées à la **Figure 1**. Nous venons ainsi de mettre en évidence la possibilité d'existence de trois types d'HE : Feuille, Fruit et Tige.

Étude comparée des composés majoritaires des organes étudiés avec ceux de la littérature

En tenant compte des composés majoritaires, nous avons mené une étude comparative entre les échantillons de Côte d'Ivoire et ceux de la littérature (**Tableau 3**).

Les échantillons d'huile de feuilles de la Côte d'Ivoire sont dominés par quatre monoterpènes hydrocarbonés : α -pinène, α -phellandrène, limonène, terpinolène; et un sesquiterpène hydrocarboné : (E)- β -caryophyllène. Ceux du Nigéria sont dominés par deux compses : β -caryophyllène et acide hexadécanoïque.

L' α -pinène est en faible taux (ici la valeur) dans les échantillons de feuilles du Nigéria. L'acide hexadécanoïque présent dans les échantillons du Nigeria n'existe pas dans ceux de la Côte d'Ivoire. Par contre le (E)- β -caryophyllène existe en quantité considérable dans les échantillons des deux pays.

Les échantillons de fruits étudiés en Côte d'Ivoire sont dominés par le limonène et l' α -pinène, suivis par l' α -phellandrène, le β -pinène. Celui du Nigéria est dominé le myrcène et celui du Cameroun par l' α -pinène, suivis par

le β -pinène, et l' α -phellandrène. Le limonène qui est l'un des composés majoritaires de l'HE de Côte d'Ivoire, est en très faible proportion dans les échantillons du Nigeria et du Cameroun. Le (E,E)-2,4-décadiénal présent dans les échantillons du Cameroun n'existe pas dans ceux du Nigeria et de la Côte d'Ivoire. L' α -pinène est aussi présent dans l'échantillon de fruits du Nigéria en proportion non négligeable.

Au niveau de la tige, même si l' α -pinène est l'un des composés majoritaires dans les échantillons d'HE des trois pays, nous observons une différence quantitative et qualitative dans les compositions des huiles essentielles. Le sabinène figurant parmi les composés majoritaires du Gabon est absent dans ceux du Nigeria et de la Côte d'Ivoire. De même, l' α -phellandrène qui est l'un des composés majoritaires des échantillons de Côte d'Ivoire est absent dans ceux des du Gabon et du Nigéria.

Tableau 3 : Comparaison des composés majoritaires des organes avec ceux de la littérature

Organes		Composés majoritaires		Pays	Composés majoritaires
Feuilles	ECHANTILLONS DE NOTRE ETUDE	α -pinène (45,9%), α -phellandrène (43,0%), limonène (39,5%), terpinolène (32,6%), (E)- β -caryophyllène (29,4%)	ECHANTILLONS DE LA LITTÉRATURE	Nigéria [24]	β -caryophyllène (26,4 %), acide hexadécanoïque (12,7%), (E)- α -bergamotène (5,0 %), α -humulène (4,8 %)
Fruits		limonène (45,2%), α -pinène (44,5%), α -phellandrène (26,3%), β -pinène (23,9%)		Nigéria [24]	myrcène (45,3 %), doublet α -terpinéol et germacrène D (12,5 %), α -pinène (8,8 %)
				Cameroun [25]	α -pinène (22,3%), β -pinène (13,7%), α -phellandrène (10,8%), limonène (7,2%) ; (E,E)-2,4-décadiénal (6,7 %),

					p-cymène (3,7 %)
				Gabon [26]	Sabinene (21.76%), terpinene-4-ol (19.79%), α -pinène (17,47%) et p-cymène (11,29)
Tiges		α -pinène (27,4%), p-cymène (22,0%), α -phellandréne (17,2%), γ -terpinène (12,1), Limonène (8,8%)		Nigéria [24]	terpinen-4-ol (25,6), doublet α -pinène et α -thujène (25,2 %), limonène (12,5 %), γ -terpinène (8,6 %)

4. Conclusion et perspectives

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une contribution à la valorisation des plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire. Nous avons choisi d'étudier la variabilité chimique de l'huile essentielle de *Dacryodes edulis* en fonction de l'organe récolté à Agboville en Côte d'Ivoire.

Au total dix-huit échantillons dont onze échantillons de feuilles, cinq échantillons de fruits et deux échantillons de tiges ont été récoltés. Les HE de ces différents organes ont été obtenues par hydrodistillation et les constituants ont été identifiés par la CPG(Ir), la CPG-SM et la RMN-¹³C. Les composés ont été identifiés avec des proportions variant de 93,4 % à 98,6 % pour l'HE des feuilles, 97,3 % à 97,5 % pour l'HE des tiges et de 97,3 % à 99,9 % pour l'HE des fruits.

Au vu de ces résultats, nous avons constaté que l'HE des feuilles, fruits et tiges de *Dacryodes edulis* de Côte d'Ivoire est composé d'un grand nombre de constituants chimiques connus. De façon générale, la composition chimique de l'HE de *Dacryodes edulis* de Côte D'Ivoire est dominée par les monoterpènes hydrocarbonés. La composition chimique de *Dacryodes edulis* diffère d'un organe à un organe et au sein d'un même organe. Les composés majoritaires de ces huiles sont :

- L' α -pinène (1,0-45,9%), l' α -phellandréne (0,1-43,0%), le limonène (1,2-39,5%), le terpinolène (0,2-32,6%) et (E)- β -caryophyllène (2,0-29,4%) pour les échantillons de feuilles ;
- Le limonène (6,9-45,2%), l' α -pinène (5,5-44,5%), le β -pinène (0,7-23,9%) et le terpinolène (0,2-24,7%) pour les échantillons de fruits ;
- L' α -pinène (7,3-27,4%), le p-cymène (10,0-22,0%), l' α -phellandréne (6,8-17,2%) et le γ -terpinolène (3,6-12,1%) pour les échantillons de tiges.

L'étude comparée des principaux constituants de l'HE de *Dacryodes edulis* de Côte d'Ivoire avec les autres pays nous a permis de constater que cette huile est à caractère monoterpénique dominé généralement par l' α -pinène. Cependant, les compositions chimiques des huiles essentielles extraites de différents organes dans pays différents sont variables.

Cette variabilité chimique s'explique par plusieurs facteurs dont le cycle végétatif. Des études ultérieures permettront de mettre en évidence l'influence de ce facteur en faisant ressortir une classification éventuelle entre les HE issues des arbres avec fruits et celles des arbres sans fruits.

DE même, les indices d'acidité, d'iode, de réfraction et de saponification seront déterminés pour la mise en place d'un produit dérivé de cette espèce.

Références bibliographiques

- [1] Dufaut, ch., Véronique, L. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse, VUEF édition.
- [2] Tehami W., Benali M., et al. (2016). Determination of primary and functional metabolism of *Salvia argentea* and evaluation of its leaves and roots antioxydant activity. *Der Pharma Chemica*, 8(22) : 1-6.
- [4] Abderrahim EL HAIB, (2011), valorisation des terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, UT3 Paul Sabatier, 158 pages
- [5] Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Wittier P., (1995), Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, 4e Ed. Masson, Paris, p. 109-112
- [6] Kovats E; (1958). Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. *Helv. Chim. Acta* 41 (7) : 1915-1932

- [7] Van Den DOOL H, Derkratz P; (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of chromatography*, 11: 463-471.
- [8] Tomi F, Bradesi P, Bighelli A, Casanova J. (1995). Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* Vol. 1, p. 25-34.
- [9] Corticchiato M, Casanova J. (1992). Analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13 : application aux huiles essentielles, *Analisis*, vol. 20, p. 51-58. *Chem.*
- [10] Tomi F, Casanova J. (2006). 13C-NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae. *Acta Horticulturae*, vol. 723, p. 185-192.
- [11] Bighelli A, Casanova J. (2009). Analytical methods for Cymbopogon oils in essential oil-bearing grasses, the genus Cymbopogon. *Taylor & Francis: London*, p. 195215.
- [12] Boti J.B, Koukoua G, N'Guessan T.Y, Muselli A, Bernardini AF, Casanova J. (2005). Composition of leaf, stem bark and root bark oils from *Isolona cooperi* investigated by GC/RI, GC/MS and 13C-NMR spectroscopy. *Phytochem Anal*, vol. 16, p. 357-363.
- [13] Boti J.B, Yao AP, Koukoua G, N'Guessan YT, Casanova J. (2006a). Components and chemical variability of *Isolona campanulata* Engler & Diels leaf oil. *Flavour Fragr J* vol. 21, p. 166-170.
- [14] Yapi T.A, Boti J.B, Ahibo A.C, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. (2013). Combined analysis of *Xylopia rubescens* Oliv leaf oil using gas chromatography with flame ionization detection, gas chromatography with mass spectrometry and 13C nuclear magnetic resonance: structure elucidation of new compounds. *Flavour Fragr J*, vol. 28, p. 373-379.
- [15] Ouattara Z.A, Boti J.B, Ahibo A.C, Casanova J, Tomi F, Bighelli A. (2013). Analysis of *Cleistopholis patens* Leaf and Trunk Bark Oils Using Combined GC(FID); GC(RI), GC Flame Ionisation Detection, GC-Retention Index, GC-MS and 13C-NMR. *Phytochemical analysis*, vol. 24, p. 574-580.
- [16] Boti J.B, Muselli A, Tomi F, Koukoua G, N'Guessan Y.T, Costa J, Casanova J. (2006b). Combined Analysis of *Cymbopogon giganteus* Chiov. Leaf Oil from Ivory Coast by GC (RI), GC/MS and 13C-NMR. *C R Chimie*, vol. 9, p. 164-168.
- [17] Boti J.B, Yao A.P, Tomi F, Koukoua G, N'Guessan Y.T, Casanova J. (2007). Chemical variability of *Conyza sumatrensis* and *Microglossa pyrifolia* from Côte d'Ivoire. *Flavour Fragr J*, vol. 22, p. 27-31.
- [18] Ouattara ZA, Boti JB, Ahibo AC, Tomi F, Bighelli A. 2011. *Artabotrys oliganthus* Engl. & Diels from Ivory Coast: Composition of leaf, stem bark and fruit oils. *J Essent Oil Bearing Plants*, vol. 14, p. 95-100.
- [19] Yapi T.A, Boti J.B, Tonzibo Z.F, Ahibo A.C, Tomi F, Bighelli A. (2012). *Pachypodanthium staudtii* Engl & Diels from Côte d'Ivoire: composition of leaf, stem bark and roots oils. *European Journal of Scientific Research* vol. 69, p. 137-142.
- [20] Yapi T.A, Boti J.B, Ahibo A.C, Bighelli A, Castola V, Casanova J, Tomi F. (2012). Chemical variability of the leaf essential oil of *Xylopia aethiopica*. (Dunal) A Rich from Côte d'Ivoire. *Chem Biodiv*, vol. 9, p. 2802-2809.

Isolement, caractérisation et évaluation du potentiel antioxydant des différents extraits et biomolécules des racines de *Paullinia pinnata* (sapindaceae)

Jeanne Bervis ADJADI^{1,2}, Amian Brise Benjamin KASSI¹, Daouda BALLO¹, David VIRIEUX², Jean-Luc PIRAT², Doubou DANHO¹, Ané ADJOU¹.

¹ Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), Université Félix HOUPHOUET BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

² ICGM, Univ Montpellier, ENSCM, CNRS, Montpellier, France

Auteur correspondant : E-mail : bervis2013@gmail.com

Résumé : Les maladies cardiovasculaires figurant aujourd'hui parmi les premières causes de décès dans le monde [1], suscite de plus en plus la recherche de nouveaux remèdes antioxydants. C'est dans ce contexte que l'étude chimique et l'évaluation du potentiel antioxydant des différents extraits de *Paullinia pinnata* (Sapindaceae), une plante utilisée dans le traitement traditionnel des maladies cardiovasculaires ont été effectuées. L'évaluation du potentiel antioxydant a été réalisée par la méthode du piégeage des radicaux libre d'ABTS. L'étude phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle de racines de *Paullinia pinnata* a permis d'isoler l'epicatechine, le proanthocyanidine A-2, l'epicatechin-(2 β →O→7, 4 β →8)-epicatechin-(4 β →8)-epicatechin (cinnamtannin B-1). Ces composés ont été isolés pour la première fois dans le genre *Paullinia pinnata* de Côte d'Ivoire. Leurs structures sont élucidées par analyses spectroscopiques (NMR et SM) en comparaison avec les données de la littérature.

Mots clés : Maladies cardiovasculaires, *Paullinia pinnata*, potentiel antioxydant

Abstract: Cardiovascular diseases, which are now among the leading causes of death in the World [1], are increasingly prompting the search for new antioxidant remedies. It is in this context that the chemical study and evaluation of the antioxidant potential of the different extracts of *Paullinia pinnata* (Sapindaceae), a plant used in the traditional treatment of cardiovascular diseases were carried out. The assessment of antioxidant potential was carried out by the ABTS free radical scavenging method. Phytochemical study of extract ethyl acetate of *Paullinia pinnata* roots isolated epicatechin, laproanthocyanidin A-2, epicatechin-(2 β →O→7,4 β →8)-epicatechin-(4 β →8)-epicatechin (cinnamtannin B-1). These compounds were first isolated from the genus *Paullinia pinnata* from Côte d'Ivoire. Their structures are elucidated by spectroscopic analyses (NMR and MS) in comparison with data from the literature.

Key words: Cardiovascular diseases, *Paullinia pinnata*, antioxidant potential

1-Introduction :

Les maladies cardiovasculaires, ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins sont responsables de nombreux problèmes de santé publique et figurent aujourd'hui parmi les premières causes de décès dans le monde [1]. Pour faire face à ce problème, l'OMS encourage les pays africains à élaborer des stratégies régionales prenant en compte la médecine traditionnelle, afin d'entreprendre des recherches sur les plantes médicinales et de promouvoir leurs utilisations optimales dans les systèmes de prestation des soins de santé [2]. Les plantes médicinales sont depuis toujours une source essentielle pour la découverte de nouveaux médicaments [3]. En effet, elles renferment des composés ayant des propriétés pharmacologiques (antioxydante, hypertensive, antidiabétique etc...) qui agissent directement sur l'organisme [4] et procurent des effets curatifs appréciables qu'aucune chimie synthétique et combinatoire ne peut nous offrir. De ce fait, de nouvelles molécules antioxydantes d'origines naturelles sont recherchées [5] pour la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires [5]. C'est dans ce cadre qu'une récente étude réalisée sur les plantes à propriétés cardiovasculaires de Côte d'Ivoire a montré que *Paullinia pinnata* possédait une bonne activité antioxydante et une forte teneur en polyphénol totaux [6]. Vu les nombreuses vertus thérapeutiques de *Paullinia pinnata* [7-8-9-10-11], il est important d'approfondir les études phytochimiques. La présente étude vise d'une part à isoler et caractériser des biomolécules des extraits des racines de *Paullinia pinnata* issues de la Côte d'Ivoire et d'autre part à évaluer le potentiel antioxydant par la méthode du piégeage des radicaux libre d'ABTS des différents extraits et biomolécules isolées afin de justifier son utilisation dans la médecine traditionnelle.

2-Méthodes

2-1-Récoltes et préparation du matériel végétal

Les écorces de racines de *Paullinia pinnata* ont été collectées à Adiapodoumé (sud de la Côte d'Ivoire) en Novembre 2019. Elles ont été identifiées et authentifiées par monsieur TEHE en comparaison avec des herbiers disponibles (N085 DOUGOUNE 2006) au Centre National de Recherche Agronomique sis à Adiapodoumé (Côte

d'Ivoire). Les écorces ont été séchées à 25°C pendant 3 semaines au laboratoire à l'abri de la lumière. Les écorces sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur. Le broyat obtenu est conservé à 10°C jusqu'à utilisation ultérieure.

2-2-Extraction

500 g de poudre de racine de *Paullinia pinnata* sont macérés dans 1500 mL de méthanol (MeOH) sous agitation permanente pendant 24 h. L'opération est répétée 3 fois avec les mêmes marcs. Après filtration, les extraits obtenus sont réunis, puis concentrés à 40°C à l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est ensuite repris avec de le méthanol aqueux (MeOH à 10%). La solution obtenue est successivement extraite avec l'hexane (3 × 100 mL), le dichlorométhane (3 × 100 mL) et l'acétate d'éthyle (3 × 100 ML). Les différentes fractions organiques sont récupérées et concentrées à l'évaporateur rotatif sous pression réduite, puis conservées au réfrigérateur pour utilisation ultérieure.

2-3-Isolement et caractérisation

Pour le fractionnement, l'extrait brut d'acétate d'éthyle (310 mg) a été soumis à une chromatographie colonne sur gel de silice Merck 40-63 µm. L'acétate d'éthyle avec deux à trois gouttes d'acide formique et le mélange acétate d'éthyle /MeOH dans les proportions (95/5 à 90/10), ont été utilisés comme éluants. Quatre fractions (F1 à F4) ont été obtenues. Sur la base de leurs profils CCM, La fraction F1 a été retenue pour être purifiée. La purification de la fraction F1 a été faite sur colonne gel de Sephadex LH-20 en utilisant le mélange CH₂Cl₂/MeOH en proportion 2/1 comme éluant. Trois composés AJPP1 (3 mg), AJPP2 (5 mg) et AJPP3 (10 mg) ont pu être isolés avec des rendements respectifs de 0,6%, 1 %, et 2 %.

2-4- Analyses spectroscopiques et chromatographiques

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de Silicagel 60 F254 (Merck). Après développement dans des cuves en verre, les plaques ont été révélées à l'aide d'une lampe à ultra-violet à 2 longueurs d'onde (254 nm et 366 nm) et avec une solution d'acide sulfurique. La séparation des composés a été effectuée sur colonne ouverte de gel de silice Merck 40-63 µm et sous pression réduite avec silice greffée RP-C18. La purification a été faite sur colonne de gel de sephadex LH-20. Les spectres de masse des composés isolés ont été effectués par ionisation electrospray en mode positif, à l'aide d'un spectromètre de masse de type micrO-TOF-Q-II 10300 équipé d'une source ESI. Les spectres RMN 1D et 2D ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance 600 MHz. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm. Le solvant deutéré utilisé est le méthanol deutéré (δH = 3.31ppm ; δC = 49.00 ppm).

2-5- Détermination de l'activité antioxydante

Le test TEAC a été réalisé selon la méthode décrite par Teow et al [12] avec quelques modifications. Le radical-cation de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{o+}) a été produit en mélangeant une solution de 8 mmol/L d'ABTS (87,7 mg dans 20 mL d'eau distillée) et une solution de 3 mmole.L⁻¹ de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (0,0162 g dissout dans 20 mL eau distillée). Le mélange a été ensuite incubé pendant 16 heures à l'obscurité, à température ambiante (30 ± 2°C). Une solution fille a été préparée extemporanément avant chaque série de dosages, en diluant la solution mère d'ABTS avec du méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,7±0,02 à la longueur d'onde de 734 nm pour cette solution fille. Une valeur de 0,1 mL d'échantillon (standard ou extrait) diluée dans le méthanol, a été mise en présence de 3,9 mL de la solution diluée d'ABTS^{o+}. Après mélange, l'ensemble a été vigoureusement agité puis incubé pendant 6 min à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance du mélange a été lue au spectrophotomètre UV- visible à 734 nm. Les résultats ont été exprimés en µmol.g⁻¹ TE (Trolox Equivalent) en comparant le pourcentage de dégradation de l'ABTS^{o+} par le trolox à celui de l'échantillon. La figure 1 montre la courbe d'étalonnage du trolox. Le pourcentage de dégradation de l'ABTS^{o+} (A) a été exprimé comme suit :

$$A(\%) = \frac{A_{734}^{\text{blanc}} - A_{734}^{\text{extrait}}}{A_{734}^{\text{blanc}}} \times 100$$

Avec :

A_{734}^{blanc} = absorbance du blanc

A_{734}^{extrait} = absorbance de l'extrait après incubation

Les analyses ont été tripliquées.

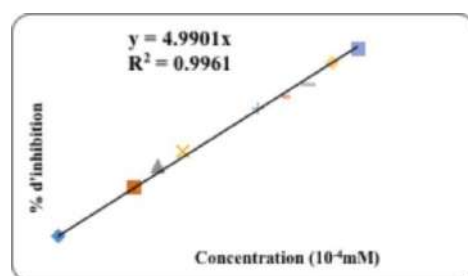


Figure 1 : Courbe d'étalonnage du trolox (ABTS)

3-Résultats et discussion

3-1- Détermination des composés AJPP1, AJPP2 et AJPP3

Le composé AJPP1 se présente sous forme d'un solide, soluble dans le méthanol (CH_3OH). Les spectres ^1H RMN et ^{13}C RMN ont été réalisés dans le méthanol deutéré (CD_3OD). Son spectre de masse basse résolution (ESI-MS) indique le pic de l'ion moléculaire $[\text{M}-\text{H}]^+$ à $m/z = 289,1$ Ce qui donne une masse exacte de 290,1 g/mol. Cette masse correspond à la formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$. Le spectre IR présente une bande d'absorption large caractéristique de la fonction alcool $\nu\text{OH} = 3271\text{cm}^{-1}$, des bandes caractéristiques aux intensités des noyaux aromatiques $\nu\text{C}=\text{C} = 1452\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$ et une bande caractéristique de la fonction éther $\nu\text{C}-\text{O} 1062\text{cm}^{-1}$. Les caractéristiques ^1H RMN et ^{13}C RMN sont reportées dans le tableau 1. Le spectre ^1H RMN montre des caractéristiques d'un squelette de type flavonoïde [13] que l'on peut identifier par un doublet à $\delta\text{H} = 6,97\text{ ppm}$ ($J = 1,9\text{Hz}$) correspondant au proton H-2', un doublet dédoublé à $\delta\text{H} = 6,80\text{ ppm}$ ($J = 8,3/2\text{ Hz}$) correspondant au proton H-6' et un doublet à $\delta\text{H} = 6,76\text{ ppm}$ ($J = 8,3\text{ Hz}$) correspondant au proton H-5'. Ces trois signaux présentent un système de couplage ABX caractéristique du cycle B d'un flavonoïde. On observe également un doublet à $\delta\text{H} = 5,92\text{ ppm}$ sous forme de doublet ($J = 2,3\text{ Hz}$) correspondant au proton H-8 un doublet à $\delta\text{H} = 5,94\text{ ppm}$ sous forme de doublet ($J = 2,3\text{ Hz}$) correspondant au proton H-6. Ces deux signaux présentent un système de couplage AB caractéristique du cycle A d'un flavonoïde. Le spectre ^{13}C RMN indique la présence de quinze (15) carbones caractéristiques d'un flavonoïde dont deux (2) carbones quaternaires aromatiques (C-1' et C-10), cinq (5) carbones quaternaires aromatiques oxygénés (C3', C4', C5, C7 et C9) cinq (5) carbones CH aromatiques (C-8, C-6, C-2', C-5' et C-6'), deux carbones CH oxygénés (C-2 et C-3) et un carbone CH₂. On observe des déplacements chimiques à $\delta\text{C} = 95,89\text{ ppm}$ et $\delta\text{C} = 96,40\text{ ppm}$ correspondant au CH aromatiques du cycle A (C-8 et C-6) respectivement. Également à $\delta\text{C} = 119,39\text{ ppm}$, $\delta\text{C} = 115,33\text{ ppm}$ et, $\delta\text{C} = 115,89\text{ ppm}$ correspondent respectivement aux CH du cycle B (C-2', C-5' et C-6'). On observe la présence d'un pic à $\delta\text{C} = 100,08\text{ ppm}$ attribué au carbone C-10 ; à $\delta\text{C} = 132,29\text{ ppm}$ attribué au carbone C-1', signal à $\delta\text{C} = 145,80$, $\delta\text{C} = 145,97\text{ ppm}$ attribué respectivement aux carbones C-3' et C-4' les signaux à $\delta\text{C} = 157,39\text{ ppm}$, $\delta\text{C} = 157,39\text{ ppm}$ et $\delta\text{C} = 158,02\text{ ppm}$ sont attribués respectivement aux carbones C-5, C-7 et C-9. Le spectre COSY présente deux protons non équivalents à $\delta\text{H} = 2,74\text{ (dd, } J = 16,63/3,12\text{ Hz)}$ et $\delta\text{H} = 2,84\text{ (dd, } J = 16,67/4,69\text{ Hz)}$ correspondant au CH₂ du cycle C qui corrélient avec le proton H-3 à $\delta\text{H} = 4,2\text{ ppm}$ et faiblement avec le proton H-2 à $\delta\text{H} = 4,82\text{ ppm}$. On observe des corrélations entre les protons H-2 et H-3, également entre les protons H-5' et H-6'. Le spectre HMBC permet d'établir les corrélations entre le proton H-2 et les carbones C-1', C-2' et C-5', également entre le H-4 et les carbones C-3, C-2, C-10. Le résultat des analyses spectrales en RMN 1D (^1H , ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC et NOESY) peut être comparé à celui de la littérature [14]. Le composé AJPP1 est très probablement une épicatechine. La position cis des protons H-2 ($\delta\text{H} = 4,82\text{ J} = 5,0\text{ Hz}$) et H-3 ($\delta\text{H} = 4,2\text{ ppm}$) a été déduite par la valeur de leur faible constante de couplage qui est de 5 Hz [15, 16, 17]. Par contre, cette constante de couplage est environ 7-10 Hz dans la catéchine [15, 16, 17]. Le composé AJPP1 est donc l'épicatechine (figure 2) puisque, cela est également confirmé par la valeur du déplacement chimique du carbone C-2 observée à 79,90 ppm. Il est connu que, dans l'épicatechine, le déplacement chimique du carbone C-2 est légèrement inférieur à 80 ppm alors que ce carbone résonne légèrement au-dessus de 80 ppm dans la catéchine [16- 17-18-19]. Les effets NOE observés sur le spectre NOESY entre H-2/H-3 confirment la stéréochimie de l'épicatechine par la présence de corrélation NOE entre ces deux protons. Dans la catéchine, les deux protons du cycle pyranique sont en position trans et ils ne montrent pas d'effets NOE entre eux [17-20]. Ce composé est rapporté pour la première fois dans le genre Paullinia.

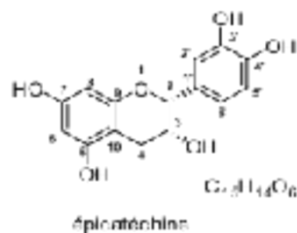


Figure 2 : Structure de la molécule de de l'épicatechine (AJPP 1)

Tableau 1 : *Déplacement chimique des protons et carbones de l'épicatechine (AJPP 1)*

Position	¹ H RMN δ (ppm), J en Hz	¹³ C RMN δ (ppm)	J mod
2	4,82 (d, J=5,0 Hz)	79,90	CH
3	4,2 (m)	67,50	CH
4	2,74 (dd, J = 16,6 /3,1 Hz) 2,86 (dd, J = 16,6 /4,7 Hz)	29,27	CH ₂
5	-	157,70	C
6	5,94 (d, J = 2,3 Hz)	96,40	CH
7	-	157,39	C
8	5,92 (d, J = 2,3 Hz)	95,89	CH
9	-	158,02	C
10	-	100,08	C
1'	-	132,29	C
2'	6,97 (d, J = 1,97 Hz)	119,39	CH
3'	-	145,80	C
4'	-	145,97	C
5'	6,76 (d, J = 8,3 Hz)	115,33	CH
6'	6,80 (dd, J = 8,3 /2,0 Hz)	115,89	CH

Le composé AJPP2 se présente sous forme d'un solide jaune pâle, soluble dans le méthanol (CH₃OH). Les spectres ¹H RMN et ¹³C RMN ont été réalisés dans le méthanol deutéré (CD₃OD). Le spectre IR présente une bande d'absorption large caractéristique de la fonction alcool ν OH = 3390 cm⁻¹, des bandes caractéristiques aux intensités des noyaux aromatiques ν C=C = 1450-1616 cm⁻¹ et une bande caractéristique de la fonction éther ν C-O = 1072cm⁻¹. Son spectre de masse basse résolution (ESI-MS) indique le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+ Na]⁺ à m/z = 599,4 ce qui donne une masse exacte de 576,4 g/mol. Cette masse correspond à la formule brute C₃₀H₂₃O₁₂ suggérant deux unités de flavan-3-ol avec l'existence d'une liaison de type A (liaison interflavanique double) [21]. En effet, la masse moléculaire de deux unités de flavan 3-ol avec des liaisons interflavaniques simples (type B), serait de 578 g/mol [22]. Il s'agit donc d'un dimère proanthocyanidine de type A. Pour faciliter la compréhension des attributions en RMN, nous désignons de la façon suivante les deux unités flavanoliques par T et Q.

Les caractéristiques ¹H RMN et ¹³C RMN sont reportés dans le tableau 2. Le spectre ¹H RMN montre deux zones de protons aromatiques, une zone (de δ H = 7,14ppm à δ H= 6,81 ppm) correspondant au couplage ABX attribué aux les protons des cycles B et E successivement des monomères T et Q suivie d'une autre zone (de δ H = 6,01 ppm à δ H = 6,01 ppm) correspondant au couplage AB pour deux protons méta-couplés attribué aux protons des cycles A et D successivement des monomères T et Q. Ce même spectre présente une zone aliphatique correspondant aux protons des cycles C et F successivement des monomères T et Q. Le spectre ¹³C RMN indique la présence de trente (30) carbones caractéristiques d'un dimère de flavan-3-ol dont dix (10) carbones quaternaires aromatiques oxygénés, cinq (5) carbones quaternaire, neuf (9) carbones CH aromatiques, trois (3) carbones CH oxygènes, un (1) carbone CH non oxygéné, un (1) carbone quaternaire oxygéné, et un (1) carbone CH₂. On observe des déplacements chimiques à δ C = 98,32 ppm, δ C = 96,64 ppm δ C = 96,52 ppm et δ C= 107,27 ppm correspondant aux CH aromatiques du cycle A du monomère T (C-6 et C-8) et du cycle F du monomère Q (C-6 et C-8) respectivement. Également à δ C = 115,68 ppm, δ C = 116,06 ppm et, δ C = 119,76 ppm, δ C = 115,95 ppm, δ C = 115,64 ppm et, δ C = 120,38 ppm,

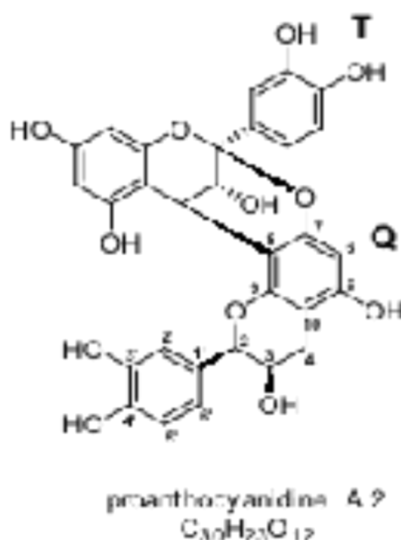


Figure 3 : Structure de la molécule de du proanthocyanidine A-2 (AJPP 2)

correspondent respectivement aux CH des cycles B du monomère T (C-2', C-5' et C-6') et du cycle E du monomère Q (C-2', C-5' et C-6'). On observe la présence deux pic à $\delta C = 104,28$ ppm et à $\delta C = 102,44$ ppm attribués respectivement au carbone C-10T du cycle A et C-10Q du cycle A. Le signal à $\delta C = 132,46$ ppm attribué au carbone C-1'T et celui à $\delta C = 131,20$ ppm attribué au carbone C-1'Q. Les déplacements chimiques à $\delta C = 145,65$ ppm, $\delta C = 146,77$ ppm, $\delta C = 146,0$ ppm et $\delta C = 146,30$ ppm attribués respectivement aux carbones C-3'T, C-4'T du cycle B, C-3'Q et C-4'Q du cycle E. Les signaux à $\delta C = 157,0$ ppm, $\delta C = 158,13$ ppm, $\delta C = 154,25$ ppm, $\delta C = 156,60$ ppm, $\delta C = 152,30$ ppm et $\delta C = 152,13$ ppm sont attribués respectivement aux carbones C-5T, C-7T, C-9T du cycle A du monomère T et C-5Q, C-7Q et C-9Q du cycle D du monomère Q. Le spectre COSY présente deux protons non équivalents à $\delta H = 2.76$ [dd, H-4Q, $J = 17.2 / 2.3$ Hz], $\delta H = 2.95$ [dd, H-4Q, $J = 17.2 / 4.9$ Hz] correspondant au CH₂ du cycle F du monomère Q qui corrélient avec le proton H-3Q à $\delta H = 4,2$ ppm et faiblement avec le proton H-2Q à $\delta H = 4,92$ ppm. On observe une corrélation entre les protons H-4T et H-3T, entre H-2Q et H-2'Q. On observe des tâches de corrélations entre H-2'Q et H-6'Q, H-5'Q et H-6'Q et également entre H-2'T et H-6'T, H-5'T et H-6'T. Le spectre HMBC permet d'établir les corrélations entre le proton H-2Q et les carbones C-4Q, C-1'Q, C-2'Q et C-6'Q et faiblement avec les carbones C-7Q et C-9Q. On observe des tâches de corrélations entre le proton H-4T et les carbones C-3T, C-2T, C-7Q, C-8Q, C-9Q et C-10Q. En comparant le déplacement chimique du carbone C-2T ($\delta C = 100,19$ ppm) à celui du composé AJPP1 ($\delta C = 79,90$ ppm), nous observons un déblindage du carbone C-2 suggérant que ce carbone est lié à deux oxygènes. Le blindage du carbone C-7Q ($\delta C = 152,30$ ppm) par rapport au carbone C-7T suppose que le monomère T est reliée au monomère Q avec une deuxième liaison de type (2→O→7) [16-23-24]. La jonction entre les deux unités de flavan-3-ol se justifie par la corrélation HMBC entre le proton H-4T et le carbone C-8Q. Egalement on observe des corrélations entre le H-4T et les carbones C-2T, C-3T, C-7Q, C-9Q et C-10Q. Le résultat des analyses spectrales RMN 1D (1H, 13C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC et NOESY) en comparaison avec les données de la littérature [25] a permis d'identifier le composé AJPP2 comme le proanthocyanidine A-2 (figure 3). Ce composé a été isolé pour la première fois dans le genre Paullinia.

Tableau 2: Déplacements chimiques des protons et carbones de la proanthocyanidine A-2

Position	RMN ¹ H δ (ppm), J en Hz	RMN ¹³ C δ (ppm)	J mod
C-2T	-	100,19	C
C-3T	4,06 (d, J = 3,4)	68,08	CH
C-4T	4,41 (d, J = 3,4)	29,26	CH
C-5T	-	157,00	C
C-6T	6,01 (d, J = 2,4)	98,32	CH
C-7T	-	158,13	C
C-8T	6,07 (d, J = 2,4)	96,64	CH
C-9T	-	154,25	C
C-10T	-	104,28	C

C-1'T	-	132,46	C
C-2'T	7,14 (d, J = 2,2)	115,68	CH
C-3'T	-	145,65	C
C-4'T	-	146,77	C
C-5'T	6,81 (d, J = 8,3)	116,06	CH
C-6'T	7,02(dd, J = 8,3/2,2)	119,76	CH
C-2Q	4,92 (brs)	81,77	CH
C-3Q	4,24 (m)	66,98	CH
C-4Q	2,74 (dd, J = 17,2/4,9) 2,84 (dd, J = 17,2/2,3)	29,90	CH ₂
C-5Q	-	156,60	C
C-6Q	6,10 (s)	96,52	CH
C-7Q	-	152,30	C
C-8Q	-	107,23	C
C-9Q	-	152,13	C
C-10Q	-	102,44	C
C-1'Q	-	131,20	C
C-2'Q	7,15 (d, J = 2,1)	115,95	CH
C-3'Q	-	146,00	C
C-4'Q	-	146,30	C
C-5'Q	6,81 (d, J = 8,2)	115,64	CH
C-6'Q	6,98(dd, J = 8,2/2,1)	120,38	CH

Le composé AJPP3 se présente sous forme d'un solide blanc, soluble dans le méthanol (CH₃OH). Les spectres RMN 1H et 13C ont été réalisés dans le méthanol deutéré (CD₃OD). Son spectre de masse haute résolution (ESI-HR) indique le pic de l'ion pseudo-moléculaire [M+H]⁺ à m/z =865,19 ce qui donne une masse exacte de 864,19 g/mol. Cette masse correspond à la formule brute C₄₅H₃₆O₁₈. La masse moléculaire de AJPP3 correspond à la condensation de trois unités de flavan-3-ol et suppose l'existence d'une liaison de type A (liaison interflavanique double) [21]. En effet, la masse moléculaire de trois unités de flavan-3-ol avec des liaisons interflavaniques simples (type B), serait de 866 g/mol [22]. Il

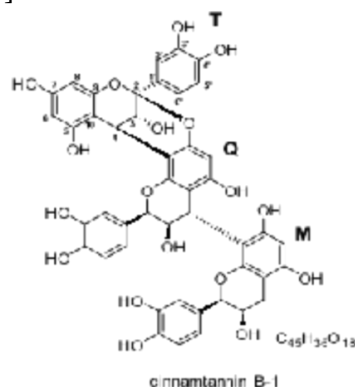


Figure 4 : Structure de la molécule du cinnamtannin B-1

Il s'agit donc d'un trimère proanthocyanidine contenant une liaison de type A et une liaison de type B. Pour faciliter la compréhension des attributions en RMN, nous désignons de la façon suivante les trois unités flavanoliques par T, Q et M. Ces trois unités sont caractéristiques d'un trimère possédant des cycles A, B, C pour le monomère T, les cycles D, E, F pour le monomère Q et les cycles G, H, I pour le monomère M. Les caractéristiques RMN 1H et 13C sont reportés dans le tableau 3. Le spectre RMN 1H montre trois zones de protons aromatiques. Une zone (de δ H= 7,34 ppm à δ H= 6,75 ppm) correspondant au couplage ABX attribué aux les protons des cycles B, E et H respectivement des monomères T, Q et M, caractéristique de protons 3', 4'-disubstitués de flavan-3-ol suivie d'une autre zone (de δ H=6,11ppm à δ H=5,71ppm) correspondant au couplage AB pour trois protons méta-couplés attribué aux protons des cycles A, D et G respectivement des monomères T, Q et M. Ce même spectre présente une zone aliphatique correspondant aux protons des cycles C, F et I respectivement des monomères T, Q et M. Le spectre RMN 13C indique la présence de quarante cinq (45)

carbones caractéristiques d'un trimère de flavan-3-ol dont quinze (15) carbones quaternaires aromatiques oxygénés, huit (8) carbones quaternaire, treize (13) carbones CH aromatiques, cinq (5) carbones CH oxygénés, deux (2) carbones CH non oxygénés, un (1) carbones quaternaires oxygéné et un (1) carbone CH₂. On observe sur le spectre COSY les corrélations entre les protons H-3T et H-4T, H-4Q et H-3Q, H-2Q et H-3Q, H-2Q et H-4Q, H-4M et H-3M. Le spectre HMBC permet d'établir les corrélations entre le proton H-2Q et les carbones C-1'Q, C-2'Q et C-6'Q. On observe des corrélations entre le proton H-6Q et les carbones C-5Q, C-7Q, C-8Q et C-10Q. On observe des tâches de corrélations entre le proton H-4T et les carbones C-2T, C-3T, C-5T, C-9T, C-10T. Relativement aux monomères Q et M, nous observons que le proton H-2T est absent. De plus, en comparant les déplacements chimiques des carbone C-2Q ($\delta_C = 78,84$ ppm) et C-2M ($\delta_C = 80,27$ ppm) à celui de C-2T ($\delta_C = 99,92$ ppm) nous observons un déblindage du carbone C-2T suggérant que ce carbone est lié à deux oxygènes. Le blindage du carbone C-7Q ($\delta_C = 151,06$ ppm) par rapport au carbone C-7T ($\delta_C = 157,80$ ppm) suppose que le monomère T est reliée au monomère Q avec une deuxième liaison de type (2→O→7) [16, 23, 24]. Le carbone C-4Q ($\delta_C = 38,26$ ppm) est déblindé d'environ 8 ppm comparativement au C-4M ($\delta_C = 29,84$ ppm), suite à sa substitution par le noyau aromatique du cycle G du monomère M. Les corrélations observés en HMBC entre le proton H-4Q et les carbones C-7M, confirment la nature de la liaison (4→8) entre les deux unités flavanoliques. On observe sur le spectre COSY un couplage entre le proton H-4Q et le proton H-3Q ($\delta_H = 4,13$, d, $J = 1,43$ Hz) lui-même couplé avec le proton H-2Q ($\delta_H = 5,72$ ppm, brs). On constate une faible constante de couplage entre les protons H-2Q et H-3Q ($J_{H2-H3} = 1,43$ Hz) et le déplacement chimique du carbone C-2Q à 78,84 ppm (< 80 ppm) montrent que le monomère Q est une épicatechine. La jonction entre les trois unités de flavan-3-ol se justifie par la corrélation HMBC entre le proton H-F4 et le carbone C-G8, de même que le proton H-C4 et le carbone C-D8. Le résultat des analyses spectrales en RMN 1D (¹H, ¹³C) et 2D COSY, HSQC, HMBC) en comparaison avec les données de la littérature [13] a permis d'identifier le composé AJPP3 comme l'épicatechine-(2β→O→7, 4β→8)-épicatechine-(4β→8)-épicatechine (cinnamtannin B-1) (figure 4). Ce composé a été isolé pour la première fois en 1983 dans la cannelle de Ceylan, *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) [26].

Tableau 3: Déplacement chimique des protons et carbones du cinnamtannin B-1 (AJPP 3)

Position	RMN ¹ H δ (ppm), J en Hz	RMN ¹³ C δ (ppm)	J mod
C-2T	-	99,92	C
C-3T	3,29 (d, $J = 3,5$)	67,15	CH
C-4T	4,18 (d, $J = 3,5$)	28,84	CH
C-5T	-	156,76	C
C-6T	5,98 (d, $J = 2,4$)	98,28	CH
C-7T	-	157,80	C
C-8T	6,03 (d, $J = 2,3$)	96,44	CH
C-9T	-	154,13	C
C-10T	-	104,93	C
C-1'T	-	132,43	C
C-2'T	7,02 (d, $J = 1,7$ Hz)	115,73	CH
C-3'T	-	145,44	C
C-4'T	-	146,58	C
C-5'T	6,85	116,12	CH
C-6'T	6,86	119,86	CH
C-2Q	5,71 (brs)	78,84	CH
C-3Q	4,13 (d, $J = 1,4$)	72,53	CH
C-4Q	4,59 (brs)	38,26	CH ₂
C-5Q	-	155,74	C
C-6Q	5,8 (s)	96,04	CH
C-7Q	-	151,06	C
C-8Q	-	106,39	C
C-9Q	-	151,73	C
C-10Q	-	106,70	C
C-1'Q	-	131,75	C
C-2'Q	7,33 (d, $J = 1,99$)	116,70	CH
C-3'Q	-	145,87	C

C-4'Q	-	146,26	C
C-5'Q	7,19 (d J = 1,74)	115,73	CH
C-6'Q	7,2 (dd, J = 8,3/2,1)	121,34	CH
C-2M	4,40 (s)	80,27	CH
C-3M	3,87	67,50	CH
C-4M	2,85	29,84	CH ₂
C-5M	-	155,99	C
C-6M	6,11 (s)	96,55	CH
C-7M	-	155,52	CH
C-8M		108,83	C
C-9M		155,78	C
C-10M		100,02	C
C-1'M		133,15	C
C-2'M	7,13 (dd, J = 5,1/1,6)	115,46	CH
C-3'M		145,30	C
C-4'M		145,73	C
C-5'M	6,77	115,99	CH
C-6'M	6,75	119,40	CH

3-1- Détermination de l'activité antioxydante

Tableau 4 : Activité antioxydante des extraits et molécules de *Paullinia pinnata*

Extraits	Activité antioxydant (μmol/ g d'extrait sec Trolox Equivalent)
EHPP	60
Aq pp	247
EDPP	316
EAEP	372
AJPP2	556
MeOH PP	802
ACIDE ASC	6901
AJPP3	10850

Ces résultats ont montré que tous les extraits et les molécules isolées manifestent un pouvoir antioxydant. La molécule AJPP3 (cinnamtannin B-1) présente une meilleure activité antioxydante comparée à celles des autres extraits et à celui de l'acide ascorbique.

4-Conclusions

Paullinia pinnata est une plante médicinale possédant de nombreuses vertus thérapeutiques. L'analyse phytochimique des extraits acétate d'éthyle et aqueux des racines de *Paullinia pinnata* a permis d'isoler et d'identifier quatre (4) composés à savoir l'épicatéchine, deux proanthocyanidines: le proanthocyanidine A-2 et le cinnamtannin B-1. L'évaluation du potentiel antioxydant a permis de montrer que les différents extraits et les trois molécules isolées ont un potentiel antioxydant. La molécule du cinnamtannin B-1 (AJPP3) a un pouvoir antioxydant supérieur à celui de l'acide ascorbique. Ces composés sont pour la première fois isolés dans l'espèce *Paullinia pinnata* de Côte d'Ivoire. L'attribution complète des quatre structures a été établie à partir des données spectrales IR, RMN (1H et 13C) et par spectrométrie de masse.

A l'issu de ce travail, qui vise à étudier les plantes médicinales utilisées traditionnellement dans le traitement des maladies cardiovasculaires dans le but de sécuriser leur utilisation, contribue à une meilleure connaissance de la composition chimique de plantes médicinales de Côte d'Ivoire (*Paullinia pinnata*) à travers la découverte de biomolécules à propriétés antioxydants. L'évaluation des activités (in vitro et in vivo) antidiabétique, anti-hypertensif, anti-inflammatoire et la toxicité des extraits et molécules isolées permettra de montrer l'efficacité et le mode de conservation des extraits en vue de garantir l'utilisation des médicaments traditionnels par la population.

5- Références bibliographiques

[1]. Organisation Mondiale de la Santé. Maladies cardiovasculaire. (2022).

- [2]. Eddouks, M. Ouahidi, M. L. Farid, O. Moufid, A. Khalidi, A. et Lemhadri A. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc Phytothérapie; 2007, 5: 194–203(4), 194–203
- [3]. Organisation Mondiale de la Santé. Maladies cardiovasculaire ; Promouvoir le rôle de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé : Stratégie de la Région africaine (document AFR/RC50/9) ; 28 Aout-02 Septembre 2000
- [4]. Iserin, P. Moulard, F. Rachel, R. Biaujeaud, M. Ringuet, J. Bloch, J. Ybert, E. Vican, P. Masson, M. Moulard, F. Restellini, J-P. Et Botrel, A. ; Larousse : encyclopédie des plantes médicinales ; identification, préparation, soins ; 2001 ; 2 éd, Paris, pp.155-291
- [5]. Bougandoura, N. et Bendimerad, N. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.). Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques ; n° 09/ Juin 2013
- [6]. Zamblé, A. Carpentier, M. Kandoussi, A Sahpaz, S. Petrault, O. Ouk, T. and Martin-Nizard, F. *Paullinia pinnata* extracts rich in polyphenols promote vascular relaxation via endothelium-dependent mechanisms. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2006; 47(4); 599–608
- [7]. Annan, K. Govindarajan, R. and Kisseih, E. Wound Healing and cytoprotective actions of *Paullinia pinnata* L. Pharmacognosy Journal June 2010, Vol 2
- [8]. Tamokou, J. D. Chouna, J. R. Fischer-Fodor, E. Chereches, G. Barbos, O. Damian, G. and Silaghi-Dumitrescu, R. anticancer and antimicrobial activities of some antioxidant-rich Cameroonian. Medicinal Plants, PLoS ONE; 2006, 8(2) ; e55880
- [9]. Kofi, A. Raghavan, G. and Emelia, K. Wound Healing and Cytoprotective Actions of *Paullinia pinnata* L.; Pharmacognosy Journal; 2010; 2 (10):345-350 24
- [10]. Iful, E.S. Studies on the antivenom activities of the aqueous extracts of *Paullinia pinnata* and *Detarium microcarpum* against *Echis Carinatus* (Carpet Viper) Venom, Ph.D., University of Jos. 2008

Profils CCM et potentiel antioxydant des tubercules de *Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae) et leurs farines (tubercules dégraissés)

ALLOKA Gbaka Alice épouse KOUAME^{1*}, BAGUIA-BROUNE Fatou Diane Micheline², NGAMAN-KOUASSI Kohué Christelle Chantal³, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna, BEKRO Yves-Alain

^{1,2,3}Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (www.lablcbosn.com),
UFR-SFA/Université NANGUI ABROGOUA, Abidjan et 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire
*kouamealicegbaka@gmail.com

Résumé

Contexte : Depuis l'antiquité, les tubercules de *Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae) appelés "souchet" en français ou "tchongon" en langues africaines sont utilisés pour leurs propriétés nutritives et médicinales [1]. Cependant, les données relatives à la composition phytochimique des résidus (farines) obtenus après l'extraction de l'huile restent insuffisantes.

Objectifs : Cette étude a été réalisée dans le but de déterminer la composition phytochimique et le potentiel antioxydant des tubercules et leurs farines.

Méthodologie : Les métabolites secondaires des extraits sélectifs ont été identifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) [2] et les tests DPPH• [3] et FRAP [4] ont servi pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts.

Résultats acquis : Le criblage phytochimique a montré la présence de terpènes, stérols, hydrostéroïdes, flavonoides, coumarines et anthocyanes dans les extraits sélectifs des tubercules et leurs farines. Tandis que, les tanins ont été seulement mis en évidence dans les extraits sélectifs des tubercules. Les extraits bruts des tubercules et leurs farines ont également présenté une activité antioxydante DPPH• et FRAP.

Conclusion et perspectives : La présence de ces phytocomposés pourrait justifier l'usage thérapeutique des tubercules et révéler également le potentiel antioxydant de la farine de souchet. Une analyse CLHP des farines issues des tubercules est en perspective.

Mots clés : *Cyperus esculentus* ; farines, composition phytochimique, Côte d'Ivoire

TLC profiles and antioxidant potential of *Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae) tubers and their flours (defatted tubers)

Abstract

Context : Since antiquity, the tubers of *Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae) called "souchet" in French or "tchongon" in African languages have been used for their nutritional and medicinal properties [1]. However, data relating to the phytochemical composition of the residues (flours) obtained after oil extraction remain insufficient. Goals : The secondary metabolites of the selective extracts were identified by thin layer chromatography (TLC) [2] and the DPPH• [3] and FRAP [4] tests were used to evaluate the antioxidant activity of the raw extracts.

Resultats : Phytochemical screening showed the presence of terpenes, sterols, hydrosteroids, flavonoids, coumarins and anthocyanins in selective extracts of whole tubers and their flours. While, tannins were only highlighted in selective extracts of tubers. Raw extracts of tubers and their flours also showed antioxidant activity DPPH• and FRAP.

Conclusion and prospect : The presence of these phytocompounds could justify the therapeutic use of tubers and also reveal the antioxidant potential of tiger nut flour. An HPLC analysis of flours from tubers is in perspective.

Mots clés : *Cyperus esculentus* ; flours ; phytochemical composition ; Côte d'Ivoire

1. Introduction

L'intérêt pour les cultures peu connues et inexploitées avec une valeur nutritionnelle et médicinale potentielle est actuellement très élevé. L'une de ces cultures est le *Cyperus esculentus*, qui est une culture sous-exploitée de la famille des Cypéracées produisant des tubercules globuleux savoureux et nutritifs [1]. Cette plante vivace est communément appelée "souchet comestible". Ces tubercules qu'elle produit sont également appelés souchets en français ou "tchongon" en langues locales ivoiriennes (dida, malinké ou baoulé) [5]. Le tubercule blanchi de la plante est consommé en Égypte et en Espagne en boisson lactée appelée "Horchata de Chufa" après trempage dans l'eau [6]. L'huile traditionnellement extraite du tubercule est utilisée en Espagne pour l'alimentation [7] et en cosmétique [8]. Le lait de *Cyperus esculentus* constitue une source incommensurable d'éléments minéraux dominés par le phosphore et le potassium ; et serait riche en vitamines C et E [9]. Au-delà de l'aspect nutritionnel, le tubercule de *Cyperus esculentus* est bénéfique pour les personnes souffrant de gastro-entérite ou d'autres troubles digestifs (flatulence, indigestion, diarrhée, dysenterie, constipation, douleurs abdominales) [1]. De plus, il serait indiqué dans le traitement des maladies cardiaques et de la thrombose [10, 11]. Après l'extraction de la matière grasse ou du lait des tubercules, la farine résiduelle obtenue n'est pas suffisamment caractérisée. Dans une perspective de valorisation de la farine résiduelle, cette étude a été initiée. Le but est de déterminer la

composition phytochimique et le potentiel antioxydant des tubercules cultivés en Côte d'Ivoire ainsi que leurs farines résiduelles.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de tubercules de *Cyperus esculentus* (TS, TK et TD) et de farines résiduelles (FRS, FRK et FRD). Ces farines sont obtenues après extraction de l'huile des tubercules provenant respectivement des villes de Sinématiali (du village Klokakaha, 9° 35' Nord, 5° 23' Ouest), de Korhogo (du village Lélékaha, 9° 27' 41" Nord 5° 38' 19" Ouest) et de Dabakala (du village Sokala-Sobara, 8° 21' Nord, 4° 31' Ouest). Ces sites de récoltes sont les principales zones de production des tubercules de *C. esculentus*. La plante de *C. esculentus* et ses tubercules ont été authentifiés au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny (herbier N°UCJ004623).

2.2 Matériel chimique et appareillages

Les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique. Ils ont été achetés dans les entreprises commerciales Ryca-Pharma, Carlo Erba et Polychimie. Le matériel technique est composé d'un broyeur électrique (NASCO), d'un extracteur Soxhlet (Gerhardt), d'un évaporateur rotatif (BÜCHI (Wather Bathb-480)), d'un séchoir à cheveux, d'une lampe UV 254/365 nm (Vilber Lourmat, 230V~50/60HZ) et des plaques chromatographiques en gel de silice 60 F254 sur support aluminium (Merck).

2.3 Méthodes

2.3.1 Préparation de la poudre des tubercules et leurs farines résiduelles

Les tubercules (TS, TK et TD) récoltés ont été nettoyés à l'eau potable, séchés à 50°C dans une étuve pendant 24 h, puis broyés. Ensuite, une cartouche de Whatman remplie de 15 g de poudre de tubercule est introduite dans la chambre d'extraction d'un Soxhlet, connectée par le haut à un réfrigérant et par le bas à un ballon à col rodé contenant 130 ml de n-hexane. Le Soxhlet est chauffé à reflux dans une calotte chauffante pendant 2 h [12]. Chaque farine résiduelle (FRS, FRK et FRD) est laissée séchée sous une hotte, ensuite maintenue dans une étuve (50°C) pendant 2 h, puis est pesée [13]. Cette opération est répétée deux fois. Le rendement de la farine résiduelle (FR) est calculé selon la formule 1 :

$$FR (\%) = \frac{m_0}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

m_0 : masse de la farine obtenue (g); m_1 : masse initiale de la poudre (g)

2.3.2 Préparation des extraits

• Préparation des extraits bruts

Une masse (5 g) de chaque échantillon (TS, TK, TD, FRS, FRK et FRD) est macérée dans 60 ml de MeOH (80%). L'opération est répétée 2 fois. Les macérats rassemblés sont concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif puis séchés dans une étuve à 50°C. Ainsi, les concentrés secs des tubercules entiers (TS, TK et TD) et des farines (FRS, FRK et FRD) sont obtenus pour évaluer l'activité antioxydante. Le rendement (Rdt) des extraits bruts est calculé selon la formule 2.

$$(2) \quad Rdt (\%) = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

m_0 - masse d'extrait (g) ; m_1 - masse de poudre végétale (g)

• Préparation des extraits sélectifs

Chaque échantillon (5g) est macéré à la température ambiante pendant 1 h successivement dans 20 mL d'hexane, de chloroforme ($CHCl_3$), d'acétate d'éthyle (AcOEt) et de n-butanol (n-BuOH). Après chaque extraction, le mélange obtenu est filtré sur Büchner et l'opération est répétée deux fois avec le même marc. Les macérats réunis sont concentrés avec l'évaporateur rotatif, puis séchés à l'étuve (50°C) et pesés pour obtenir des extraits à l'hexane (TS^I , TK^I , TD^I , FRS^I , FRK^I et FRD^I), au chloroforme (TS^{II} , TK^{II} , TD^{II} , FRS^{II} , FRK^{II} et FRD^{II}), à l'acétate d'éthyle (TS^{III} , TK^{III} , TD^{III} , FRS^{III} , FRK^{III} et FRD^{III}) et au n-butanol (TS^{IV} , TK^{IV} , TD^{IV} , FRS^{IV} , FRK^{IV} et FRD^{IV}), qui ont servis à réaliser le criblage phytochimique par CCM [14]. Le rendement (Rdt) des extraits sélectifs est calculé selon la formule 3.

$$(3) \quad Rdt (\%) = \frac{m}{m'} \times 100$$

m - masse d'extrait sélectif (g) ; m' - masse de l'échantillon

2.3.3 Analyse qualitative par CCM des extraits sélectifs

Le criblage phytochimique a été réalisé sur des chromatoplaques (60 F254, support- aluminium, 20×20, Fluka-Silica gel/DC) suivant les méthodes tirées de la littérature [2] [15]. Les développants utilisés ont été choisis après plusieurs essais de différents solvants. Ainsi, les mélanges retenus en fonction des extraits testés sont présentés dans le **Tableau I**.

Tableau I : Développants utilisés en fonction des extraits testés

Extraits	Développant pour les tubercules TS, TK et TD	Développant pour les farines résiduelles FRS, FRK et FRD
Hexanique	CHCl ₃ /Hexane/ AcOEt (4/1,5/0,5 ; v/v/v)	Hexane/AcOEt (1,5/8,5 ; v/v)
Chloroformique	CHCl ₃ /AcOEt/Hexane (5/5/2,5 ; v/v/v)	CHCl ₃ /AcOEt/AcOH (6/5/0,5 ; v/v/v)
Acétate éthylique	CHCl ₃ /AcOEt/AcOH (3/2,5/0,25 ; v/v/v)	CHCl ₃ /AcOEt/AcOH (3/2,5/0,5 ; v/v/v)
n-butanolique	BuOH/ AcOH /H ₂ O (3/2,5/0,5 ; v/v/v)	AcOEt /MeOH//H ₂ O/NH ₄ (7,4/1/0,5/4 gouttes)

Selon le type de métabolites secondaires à identifier, plusieurs réactifs spécifiques ont été utilisés : le réactif de Godin pour les stérols, terpènes et flavonoïdes ; le réactif de Liebermann-Bürchard et la solution de vanilline sulfurique à 2% pour les stérols et terpènes ; la solution de KOH à 5% (v/v) pour les coumarines ; la vapeur de l'ammoniac pour les coumarines et flavonoïdes ; la solution de AlCl₃ à 1% les flavonoïdes et FeCl₃ à 2% (v/v) pour les tanins et les composés phénoliques.

2.3.4 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts

• Méthode DPPH•

Dans des tubes à essai secs et stériles sont introduits 2 ml d'extrait et 1 ml de la solution éthanolique de DPPH•. Le mélange est agité et incubé pendant 30 min à l'obscurité. Après incubation, l'absorbance de la masse réactionnelle est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Aqualytic Al800) contre un blanc constitué de 2 ml d'éthanol pur et 1 ml de la solution de DPPH•. La quercétine et la catéchine ont été utilisés comme témoins positifs [16]. Le pourcentage de réduction (PR) du radical DPPH• est calculé selon l'expression (3) :

$$PR = \frac{(Ab - Ae)}{Ab} \times 100 \quad (3)$$

PR : pourcentage de réduction ; Ab : absorbance du blanc ; Ae : absorbance de l'échantillon

La concentration médiane (CR₅₀) de l'échantillon traduit son efficacité et correspond à la concentration nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du radical DPPH•. Elle est déterminée graphiquement à l'aide du logiciel Graphpad Prism 5.

• Méthode FRAP

Le réactif utilisé est un mélange composé de tampon acétate de sodium (300 mM, pH= 3,6), de TPTZ (2, 4, 6-Tri (2-pyridyl) -s-triazine) à 10 mM, préparé dans une solution de HCl à 40 mM et de FeCl₃ (20 mM) dans un rapport volumique 10 : 1 : 1. Après incubation à 37°C pendant 15 min dans un bain-marie, 4,35 ml du réactif TPTZ sont ajoutés à 0,15 ml de chaque extrait (2 mg/ml). Après 4 min d'incubation, l'absorbance du complexe (TPTZ-Fe³⁺) est lue à 593 nm à l'aide du spectrophotomètre. Les concentrations de réduction du cation Fe³⁺ en Fe²⁺ sont obtenues à partir de la droite d'étalonnage d'un extrait standard FeSO₄·H₂O à différentes concentrations (1,563 ; 3,125 ; 6,25 ; 12,5 ; 25 mM) préparé dans les mêmes conditions que les extraits [17][18]. Les résultats sont exprimés en micromole équivalent de sulfate de fer par gramme de matière sèche (µMEFE/g MS).

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction des extraits

L'extraction des matières grasses des tubercules a fourni des rendements de farines résiduelles de 75,15% (FRS) pour les tubercules TS provenant de la ville de Sinematiali ; 73,81% (FRK) pour TK de Korhogo et 70,53% (FRD) pour TD de Dabakala (**Figure 1**). Ces pourcentages montrent des valeurs élevées et supérieures à 70%.

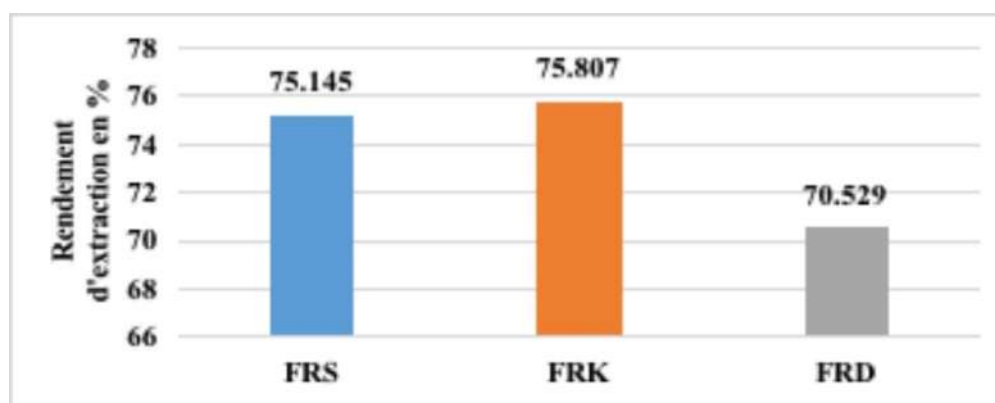
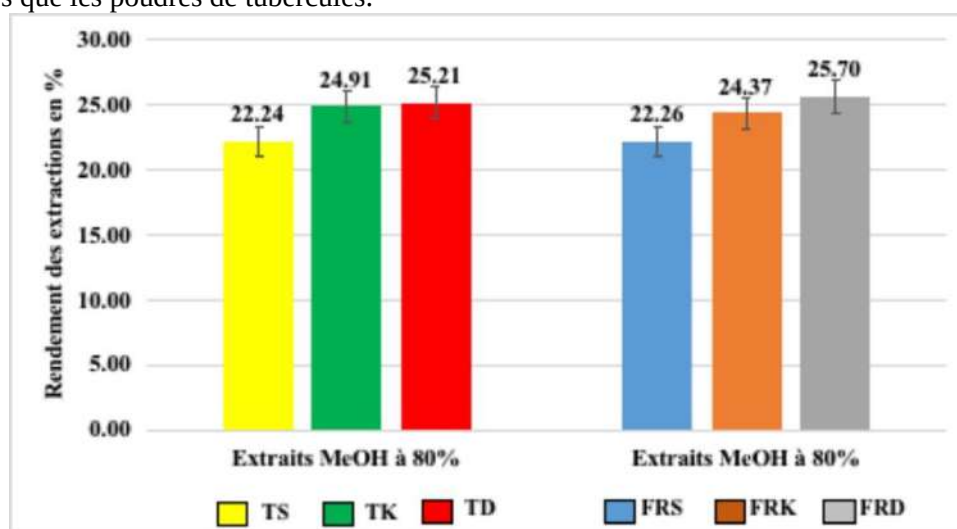


Figure 1 : Rendement des farines résiduelles

Par ailleurs, la macération dans le MeOH à 80 % de chaque farine résiduelle a donné des rendements d'extraits bruts de 22,26 ; 24,37 et 25,70 %, respectivement pour FRS, FRK et FRD (**Figure 2**). Ces pourcentages sont semblables à ceux obtenus pour les extraits bruts de poudres de tubercules dont les valeurs sont : 22,24 pour TS, 24,91 % pour TK et 25,21 % pour TD. Ce qui indique que les farines résiduelles pourraient renfermer autant de phytocomposés que les poudres de tubercules.



TS, TK et TD : poudres de Tubercules ; FRS, FRK et FRD ; Farines résiduelles

Figure 2 : Rendement des extraits bruts des poudres de tubercules et de leurs farines résiduelles

En ce qui concerne l'extraction sélective, la quantité de matière extraite par l'hexane à partir des tubercules (15,53 %, TKS ; 18,92 %, TLK et 20,32 % ; TSD) (**Tableau II**) est très importante par rapport à celle extraite de la farine (0,26 % FRS ; 0,31 % FRK et 0,37% FRD) (**Tableau II**). Ce qui est normal puisque la farine est déjà dépourvue d'huile.

Tableau II: Rendements des extraits sélectifs

Extraits	Rendement, (%)					
	Tubercules			Farines		
Extrait à l'hexane	TS ^I	TK ^I	TD ^I	FRS ^I	FRK ^I	FRD ^I
	1,53	18,92	20,32	0,26	0,31	0,37
Extrait au chloroforme	TS ^{II}	TK ^{II}	TD ^{II}	FRS ^{II}	FRK ^{II}	FRD ^{II}
	1,83	2,41	1,92	0,88	1,86	0,58
Extrait à l'acétate d'éthyle	TS ^{III}	TK ^{III}	TD ^{III}	FRS ^{III}	FRK ^{III}	FRD ^{III}
	1,10	1,24	0,90	0,37	0,56	0,44
Extrait au n-butanol	TS ^{IV}	TK ^{IV}	TD ^{IV}	FRS ^{IV}	FRK ^{IV}	FRD ^{IV}
	1,19	1,71	1,62	0,71	0,86	0,89

Les rendements des extraits sélectifs au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et n-butanol obtenu à partir de tubercules sont également plus élevés que ceux obtenus à partir de leurs farines résiduelles (**Tableau II**). Ceci peut s'expliquer par le fait que les tubercules contiennent plus de composés solubles dans le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol que leurs farines résiduelles.

3.2. Profil CCM des extraits sélectifs

Le criblage phytochimique a été réalisé sur les extraits sélectifs (hexaniques, chloroformiques, acétate d'éthyle et n-butanoliques). Les résultats obtenus sont consignés dans les Tableaux III, IV, V et VI. Ils indiquent le profil phytochimique par groupes de composés détectés dans les extraits sélectifs des poudres de tubercules (TS, TK et TD) et leurs farines résiduelles (FRS, FRK et FRD) en fonction de la nature (polarité) du solvant d'extraction.

Dans la totalité des extraits sélectifs (Tableaux III - VI) étudiés, la présence des hydroxystéroïdes a été révélée par le mélange des solvants acide picrique et acide perchlorique [19]. Tous les extraits à l'hexane contiennent les terpènes et les stérols dont la coexistence a été révélée par les réactifs de Liebermann-Buchard, Vanilline sulfurique et Godin respectivement. Cependant dans les extraits à l'hexane des farines résiduelles (FRS^I, FRK^I et FRD^I), il y a plus de taches correspondant aux terpènes que dans les extraits à l'hexane des poudres de tubercules (TS^I, TK^I et TD^I). En revanche, les farines résiduelles (FRS^I, FRK^I et FRD^I) contiennent moins de stérols que les poudres de tubercules (TS^I, TK^I et TD^I).

Tableau III : Groupes de phytocomposés détectés dans les extraits à l'hexane

Extrait		Rf, couleur, phytocomposé identifié
Poudres de tubercules	TS ^I	Stérols ^{bch} : [0,15] J ^{2b} ; [0,21] B ^{c1} -Vi ^{h1} ; [0,21] Jp ⁱ ; [0,25] J-V ^{2b} ; [0,31] J ^{2b} ; [0,34] B ^{c1} -J ; [0,43] B ^{c1} ; [0,76] J-V ^{2b} ; [0,91] B ^{c1} ; [0,96] J ^{2b} -B ^{h1} ; Terpènes ^b : [0,088] Vi ² -V ^{c1} -Vi ^{h1} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,10] R-Vi ¹ ; [0,54] R-Vi ¹ ; [0,70] R-Vi ¹ ; [0,88] Gr ¹ ; [0,94] J ¹ ; [0,96] J ^{d1}
	TK ^I	Stérols ^{bc} : [0,15] J ^b ; [0,25] J ^b -V ^b ; [0,31] J ^b -B ^c ; [0,34] B ^c ; [0,43] B ^c ; [0,76] J ^b -V ^b ; [0,91] B ^c ; [0,96] J ^b -B ^c ; Terpènes ^{cbh} : [0,06] V ^c -Vi ^{bh} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,10] R-Vi ^{d1} ; [0,54] R-Vi ¹ ; [0,70] R-Vi ¹ ; [0,88] Gr ¹ ; [0,96] J ^{d1}
	TD ^I	Stérols ^{bc} : [0,15] J ^{b2} ; [0,25] J ^{b2} -V ^{b2} ; [0,31] J ^{b2} -B ^c ; [0,34] B ^c ; [0,76] J ^{b2} -V ^{b2} ; [0,91] B ^c ; [0,96] J ^{b2} -B ^c ; Terpènes ^b : [0,06] Vi ^{bc} -Vi ^h ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,10] R-Vi ¹ ; [0,53] R-Vi ¹ ; [0,68] R-Vi ^{d1} ; [0,88] Gr ¹ ; [0,96] J ^{d1}
Farines résiduelles	FRS ^I	Triterpène lupane ^b : [0,06] J ² ; Stérols ^b : [0,10] J ² ; [0,54] J ² ; [0,88] B ^{a2} -J ² ; [0,96] J ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,10] R-Vi ¹ ; [0,54] R-Vi ¹ ; [0,70] R-Vi ¹ ; [0,88] Gr ¹ ; [0,94] J ¹ ; [0,96] J ^{d1} ; Terpènes ^{cbh} : [0,44] Vi ^{lh} -O ² ; [0,80] Vi ^{lh} -O ² ; [0,85] Vi ^{lh} -O ² ; [0,90] Vi ^{lh} -O ² -B ^{b2}
	FRK ^I	Triterpène lupane ^b : [0,06] J ² ; Stérols ^b : [0,10] J ^{b2} ; [0,54] J ² ; [0,88] B ^{a2} -J ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,10] R-Vi ^{d1} ; [0,54] R-Vi ¹ ; [0,70] R-Vi ¹ ; [0,88] Gr ¹ ; [0,96] J ^{d1} ; Terpènes ^{cb} : [0,44] Vi ^{lh} -O ² ; [0,80] Vi ^{lh} -O ² ; [0,85] Vi ^{lh} -O ² ; [0,90] Vi ^{lh} -O ² -B ^{b2} ;
	FRD ^I	Triterpènes lupanes ^b : [0,06] J ² ; [0,88] J ² ; Stérols ^b : [0,10] J ² ; [0,54] J ² ; [0,88] J ^{b2} -B ^{a2} ; [0,96] J ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,10] R-Vi ¹ ; [0,53] R-Vi ¹ ; [0,68] R-Vi ^{d1} ; [0,88] Gr ¹ ; [0,96] J ^{d1} ; Terpènes ^{cbh} : [0,06] Vi ^{lh} -O ² ; [0,44] Vi ^{lh} -O ² ; [0,66] B ^{b2} ; [0,78] Vi ^{lh} -O ² ; [0,85] Vi ^{lh} -O ² ; [0,90] B ^{b2} -Vi ^{lh} -O ²

J : jaune ; V : vert ; B : bleu ; Vi : violet ; a : sans révélateur ; b : Liebermann-Burchard ; c : Vanilline sulfurique ; d : Acide picrique / Acide perchlorique ; h : Godin ; 1 : visible ; 2 : UV/365 nm.

Concernant les extraits au chloroforme (**Tableau IV**), à l'acétate d'éthyle (**Tableau V**) et au n-butanol (**Tableau IV**), ils ont montré la présence de coumarines, de flavonoïdes et d'anthocyanes respectivement. Les coumarines et les anthocyanes ont été mis en évidence par les vapeurs d'ammoniac (NH₃) et KOH méthanolique à 5%. Quant aux flavonoïdes, ils ont été révélés par le réactif de Neu, les vapeurs d'ammoniac (NH₃) et la solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃). Les Tableaux IV-V correspondant aux extraits au chloroforme et acétate d'éthyle montrent une importante présence de coumarines et d'anthocyanes dans les poudres des tubercules que dans leurs farines

résiduelles. En ce qui concerne les flavonoïdes, ils sont abondants dans tous les extraits (Tableaux IV-V). Les tanins ont été décelés seulement dans l'extrait à l'acétate d'éthyle des poudres de tubercules.

Tableau IV: Groupes de phytoconstitués détectés dans les extraits au chloroforme

Extrait		Rf, couleur, phytoconstitué identifié
Poudres de tubercules	TS ^{II}	Coumarines ^{geb} : [0,21] B ^{a2} -V ^f ; [0,38] J ^b ; [0,71] J ^c ; [0,8] V ^{a2} -J ^g -B ^f ; Psoralènes ^{eg} : [0,5] B ^{a2} ; Flavonoïdes ^{fg} : [0,06] J ^{a2} V ^{a2fg} ; [0,13] B ^{a2} -V ^{fg} ; [0,15] V ^{a2} -O ^{rfg} ; [0,21] B ^{a2} -V ^f ; [0,5] B ^{a2} ; [0,57] B ^{a2} ; [0,63] B ^{a2} ; [0,71] O ^r ; [0,75] V ^{a2} ; [0,80] V ^{a2} ; [0,90] B ^f ; [0,94] B ^f ; Angélicine : [0,06] J ^{a2} -V ^f ; 6-hydroxy-5,7-diméthoxycoumarine ^g : [0,06] J ^{a2} ; [0,57] B ^{a2e} ; 5,7-dialkoxycoumarine ^g : [0,5] B ^{a2eg} ; Anthocyanes ^g : [0,5] B ^{a2} ; [0,57] B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,54] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,84] M ¹ ; [0,90] V ⁱ¹ ; [0,94] M ¹ ; Coumarines ^{eg} : [0,06] J ^{a2} -V ^f ; [0,08] J ^{a2} -B ^g ; [0,13] V ^{a2g} -V ^f ; [0,21] B ^e ; [0,44] J ^e ; [0,63] V ^{a2} -B ^f ; [0,8] B ^e ; 5-méthoxyangélicine : [0,75] J ^{ge} ; 6-hydroxy-5,7-diméthoxycoumarine ^g : [0,06] J ^{a2} ; Psoralène : [0,63] V ^{a2} -B ^f ; Flavonoïdes ^{fg} : [0,06] V ^{a2f} -J ^{a2g} ; [0,08] J ^{a2} -V ^{a2} ; [0,09] V ^{a2f} -J ^g ; [0,13] O ^r -V ^{a2g} ; [0,15] V ^{a2fg} ; [0,38] V ^{a2} -O ^r ; [0,5] V ^{a2f} -J ^g ; [0,57] O ^r -V ^{a2g} ; [0,63] V ^{a2} ; [0,90] B ^{a2} ; [0,94] B ^{a2} -B ^f ; Anthocyanes ^g : [0,5] B ^{a2} ; [0,57] B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,63] M ¹ ; [0,84] M ¹ ; [0,90] M ¹ ; [0,94] B ^{a2} -M ^{d1}
	TK ^{II}	Coumarines : [0,06] J ^{a2} -V ^f ; [0,21] V ^g -B ^{a2eg} ; [0,44] J ^e ; [0,75] V ^{a2} -J ^{ge} ; [0,86] V ^{a2} -B ^{ge} ; Angélicine : [0,65] B ^{a2} -J ^e ; 5-méthoxyangélicine : [0,75] V ^{a2} -J ^{ge} ; Psoralène ^{eg} : [0,21] B ^{a2eg} ; [0,5] B ^{a2eg} ; 6-hydroxy-5,7-diméthoxycoumarine ^g : [0,06] J ^{a2} ; [0,57] B ^{a2e} ; 7,8-dihydroxycoumarine : [0,13] B ^{a2} -V ^{ge} ; 5,7-dialkoxycoumarine : [0,5] B ^{a2eg} ; Flavonoïdes ^{fg} : [0,06] V ^{a2f} -J ^{a2g} ; [0,13] B ^{a2} -V ^{fg} ; [0,15] V ^{a2} ; [0,19] O ^r ; [0,21] B ^{a2} -V ^{fg} ; [0,5] B ^{a2} -O ^r ; [0,57] B ^{a2} -V ^f ; [0,80] V ^{a2} ; [0,86] B ^f ; [0,90] B ^f ; [0,94] B ^f -V ^{fg} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,54] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,84] M ¹ ; [0,90] M ¹ ; [0,94] M ¹ ; Anthocyanes ^g : [0,5] B ^{a2} ; [0,57] B ^{a2}
	TD ^{II}	Coumarines ^{eg} : [0,06] J ^{a2} -V ^f ; [0,08] J ^{a2} -B ^g ; [0,13] V ^{a2g} -V ^f ; [0,21] B ^e ; [0,44] J ^e ; [0,63] V ^{a2} -B ^f ; [0,8] B ^e ; 5-méthoxyangélicine : [0,75] J ^{ge} ; 6-hydroxy-5,7-diméthoxycoumarine ^g : [0,06] J ^{a2} ; Psoralène : [0,63] V ^{a2} -B ^f ; Flavonoïdes ^{fg} : [0,06] V ^{a2f} -J ^{a2g} ; [0,08] J ^{a2} -V ^{a2} ; [0,09] V ^{a2f} -J ^g ; [0,13] O ^r -V ^{a2g} ; [0,15] V ^{a2fg} ; [0,38] V ^{a2} -O ^r ; [0,5] V ^{a2f} -J ^g ; [0,57] O ^r -V ^{a2g} ; [0,63] V ^{a2} ; [0,90] B ^{a2} ; [0,94] B ^{a2} -B ^f ; Anthocyanes ^g : [0,5] B ^{a2} ; [0,57] B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,63] M ¹ ; [0,84] M ¹ ; [0,90] M ¹ ; [0,94] B ^{a2} -M ^{d1}
Farines résiduelles	FRS ^{II}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,05] V ^{g2} ; [0,08] V ^{g2} ; [0,15] J ⁱ² -V ^{g2} -J ⁱ² ; [0,19] J ^{a2} -J ⁱ² ; [0,25] J ^{a2} -J ⁱ² ; [0,35] J ⁱ² ; [0,53] V ⁱ² -J ⁱ² ; [0,60] J ⁱ² -J ⁱ² ; [0,70] V ⁱ² -B ⁱ² ; [0,88] V ⁱ² -V ^{g2} ; [0,94] B ^{a2} -B ⁱ² ; Coumarines ^e : [0,15] V ² ; [0,28] V ² ; [0,53] J ^{a2} -V ^{e2} ; [0,60] V ² ; [0,66] V ² ; [0,75] V ² ; [0,83] V ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,54] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,83] M ¹ ; [0,90] V ⁱ¹ ; [0,94] M ¹
	FRK ^{II}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,08] V ^{g2} ; [0,13] V ^{g2} ; [0,19] J ^{a2} -V ⁱ² -V ^{g2} ; [0,35] V ² ; [0,40] V ^{g2} ; [0,48] V ⁱ² ; [0,53] J ^{a2} -V ^{g2} ; [0,58] J ⁱ² ; [0,60] V ^{g2} ; [0,68] V ^{g2} ; [0,73] J ⁱ² ; [0,78] V ^{g2} ; [0,83] B ⁱ² ; [0,85] V ^{g2} ; [0,89] V ⁱ² ; Coumarines ^e : [0,13] V ² ; [0,26] J ^{a2} ; [0,30] V ² ; [0,40] V ² ; [0,58] V ² ; [0,71] B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,54] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,83] M ¹ ; [0,90] M ¹ ; [0,94] M ¹ ; Anthocyanes ^g : [0,91] B ²
	RSD ^{II}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,08] V ² ; [0,13] V ² ; [0,15] V ² ; [0,19] V ⁱ² -V ^{g2} ; [0,38] V ^{g2} ; [0,55] J ^{a2} -V ⁱ² -V ^{g2} ; [0,60] V ^{g2} -J ⁱ² ; [0,66] V ⁱ² -V ^{g2} ; [0,69] J ⁱ² ; [0,75] J ⁱ² ; [0,81] V ^{g2} -B ⁱ² ; [0,85] V ^{g2} ; [0,90] V ⁱ² ; Coumarines ^e : [0,13] V ² ; [0,24] J ^{a2} ; [0,60] V ² ; [0,85] V ² ; [0,90] B ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,08] V ⁱ¹ ; [0,13] M ¹ ; [0,39] M ¹ ; [0,60] M ¹ ; [0,63] M ¹ ; [0,83] M ¹ ; [0,90] M ¹ ; [0,94] B ^{a2} -M ^{d1}

J : jaune ; V : vert ; R : rose ; B : bleu ; Bf : bleu fluoresçant ; Vf : vert fluoresçant ; Or : orange ; Vi : violet ; a : sans révélateur ; b : Liebermann-Burchard ; d : Acide picrique / Acide perchlorique ; e : KOH ; f : Neu ; g° : NH₃ ; i° : AlCl₃° ; 1 : visible, 2 : UV/365 nm.

Tableau V: Groupes de phytoconstitués détectés dans les extraits à l'acétate d'éthyle

Extrait		Rf, couleur, phytoconstitué identifié
Poudres de tubercules	TS ^{III}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,05]V ^{a2f} ; [0,075]B ^{fi} -V ^f , [0,08]V ^{a2} ; [0,15]V ^f -B ^{a2} ; [0,24]B ^{fi} -Or ^{a2f} , [0,30]V ^{gf} -B ^{a2} -J ^{pi} ; [0,35]V ^{gf} -J ^{a2} ; [0,39]Or ^{a2} ; [0,45]Or ^f -J ^{a2} ; [0,58]B ^{fi} ; [0,64]V ^g -Or ^f -B ^{a2} ; [0,71]B ^{a2f} ; [0,88]R ^{a2f} ; [0,91]B ^{a2if} ; Coumarine ^{egj} : [0,05]V ^{a2e} -J ^j ; [0,075]V ^{a2e} -J ^g ; [0,24]O ^{a2} -B ^{eg} ; [0,3]B ^{a2} -V ^{eg} -J ^{pi} ; [0,39]O ^{a2} -V ^{fe} ; [0,45]J ^{a2j} -V ^{fe} ; [0,57]B ^{eg} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,04]M ¹ ; [0,15]M ¹ ; [0,55]M ¹ ; [0,95]M ¹ ; Psoralène ^{eg} : [0,64]B ^{a2eg} ; [0,91]B ^{a2eg} ; Hydroxy- et alkoxy coumarines : [0,64]B ^{a2e} -V ^g -J ^j ; [0,71]B ^{a2g} ; [0,91]B ^{a2g} ; Tanins ^k : [0,56]Gr ¹ ; [0,88]Gr ¹ ; Anthocyanes ^g : [0,39]B ² ; [0,45]B ² ; [0,79]B ² ; [0,99]B ²
	TK ^{III}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,05]V ^{a2f} ; [0,075]B ^{fi} -V ^f , [0,08]V ^{a2} ; [0,15]V ^g -B ^{a2f} ; [0,24]Or ^{a2f} ; [0,3]V ^{a2f} ; [0,35]J ^{a2} -V ^f ; [0,45]J ^{a2} -Or ^f ; [0,64]B ^{a2} -V ^g -Or ^f ; [0,71]B ^g ; [0,75]B ^{a2f} ; [0,86]B ^{a2} ; [0,88]B ^{if} ; [0,91]B ^{if} ; Coumarines ^{eg} : [0,05]V ^{a2e} ; [0,08]V ^{a2e} -J ^g ; [0,19]B ^e ; [0,24]B ^e -O ^{a2} ; [0,30]V ^{a2} -J ^g ; [0,37]B ^{a2} -V ^{fe} ; [0,5]J ^{a2} -V ^{fe} ; [0,58]V ^e ; [0,64]B ^{a2} -V ^{fe} ; [0,7]B ^e ; [0,86]B ^{a2e} ; Hydroxy- et alkoxy coumarines : [0,75]B ^{2a} -B ^{flg} ; Angélicines : [0,37]B ^{a2} -V ^{fe} ; [0,75]B ^{2a} -V ^e ; Tanins ^k : [0,56]Gr ¹ ; [0,88]Gr ¹ ; Anthocyanes ^g : [0,39]B ^{a2} ; [0,45]B ^{a2} ; [0,79]B ^{a2} ; [0,99]B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,04]M ¹ ; [0,15]M ¹ ; [0,56]M ¹ ; [0,85]M ¹ ; [0,96]M ¹
	TD ^{III}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,075]B ^{fi} -V ^{a2gf} ; [0,15]B ^{a2f} ; [0,24]V ^g -Or ^{a2f} ; [0,3]B ⁱ -Or ^{a2f} ; [0,35]J ^{a2} -V ^f ; [0,37]B ^{a2} ; [0,45]J ^{a2} -Or ^f ; [0,64]B ^{a2} -V ^g -Or ^f ; [0,79]J ^{a2} -Or ^f ; [0,88]B ^g ; [0,91]B ^{a2i} -Or ^g -B ^f ; Coumarines ^{eg} : [0,075]V ^{a2} -V ^{fe} ; [0,15]B ^{a2} -V ^{fe} ; [0,24]O ^{a2} -V ^e -J ^g ; [0,32]V ^{fe} -J ^g ; [0,35]J ^{a2} -V ^{fe} ; [0,45]V ^{fe} ; [0,48]B ^e -J ^g ; [0,53]B ^e -V ^g ; [0,79]J ^{a2} -B ^e ; [0,91]B ^{eg} ; Angélicine : [0,37]B ^{a2} -V ^{fe} ; 6-hydroxy-5,7-diméthoxycoumarine ^g : [0,45]J ^{a2j} ; Hydroxy- et alkoxy coumarines : [0,64]B ^{2aeg} ; Psoralène ^{eg} : [0,64]B ^{a2eg} ; Tanins ^k : [0,56]Gr ¹ ; [0,88]Gr ¹ ; Anthocyanes ^g : [0,45]B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,04]M ¹ ; [0,15]M ¹ ; [0,56]M ¹ ; [0,85]M ¹ ;
Farines résiduelles	FRS ^{III}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,04]J ^{g2} -J ⁱ² ; [0,13]J ^{a2} -J ^{g2} ; [0,36]V ⁱ² ; [0,44]R ^g -J ^{g2} -J ⁱ² ; [0,46]J ^{fi} -J ⁱ² ; [0,49]B ⁱ² ; [0,50]J ⁱ² ; [0,53]B ⁱ² ; [0,55]V ⁱ² -J ⁱ² ; [0,65]J ^{a2} -B ⁱ² ; [0,69]J ^{g2} ; [0,81]B ⁱ² ; [0,86]B ⁱ² -J ^{g2} ; Coumarines ^e : [0,24]J ^{a2} ; [0,34]J ^{a2} ; [0,36]V ² ; [0,44]V ² ; [0,58]V ² ; [0,71]V ² ; [0,88]B ^{a2} ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,04]M ¹ ; [0,15]M ¹ ; [0,56]M ¹ ; [0,95]M ¹ ;
	FRK ^{III}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,06]J ⁱ² ; [0,36]B ^{a2} -V ⁱ² ; [0,46]J ⁱ² ; [0,50]BV ⁱ² ; [0,56]J ⁱ² ; [0,65]B ^{a2} -B ⁱ² ; [0,69]J ^{g2} ; [0,79]V ⁱ² ; [0,91]B ^{a2} -J ⁱ² -B ⁱ² ; Coumarines ^e : [0,10]V ² ; [0,65]V ² ; [0,75]V ² ; [0,88]V ² ; [0,96]V ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,04]M ¹ ; [0,15]M ¹ ; [0,56]M ¹ ; [0,85]M ¹ ; [0,95]M ¹ ;
	FRD ^{III}	Flavonoïdes ^{fgi} : [0,06]J ^{g2} -J ⁱ² ; [0,13]J ^{a2} -V ^{fi} -J ^{g2} ; [0,34]J ⁱ² ; [0,36]V ⁱ² ; [0,46]J ^{fi} -J ⁱ² -J ⁱ² ; [0,51]J ^{a2} -J ^{fi} -JV ⁱ² ; [0,56]B ⁱ² -J ⁱ² ; [0,64]B ^{a2} -B ⁱ² ; [0,69]J ⁱ² -J ^{g2} ; [0,78]J ⁱ² ; [0,81]J ^{g2} ; [0,91]B ⁱ² ; Coumarines ^e : [0,25]V ² ; [0,30]J ^{a2} ; [0,38]V ² ; [0,61]V ² ; [0,73]V ² ; [0,84]B ^{a2} -V ^{e2} ; [0,96]V ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,04]M ¹ ; [0,15]M ¹ ; [0,56]M ¹ ; [0,85]M ¹ ;

J : jaune ; V : vert ; B : bleu ; Rg : rouge ; Vi : violet° ; Or : orange ; Bf : bleu fluoresçant ; Vf : vert fluoresçant ; M : marron ; Gr : grise ; a : sans révélateur ; e : KOH ; f : Neu ; g° : NH₃ ; i° : AlCl₃° ; k : FeCl₃ ; 1 : visible 2 : UV/365 nm.

Tableau VI : Groupes de phytoconstitués détectés dans les extraits à n-butanol

Extrait		Rf, couleur, phytoconstitué identifié
Poudres de	TS ^{IV}	Flavonoïdes : [0,025]Bi ² ; [0,24]Bi ^{2g} ; [0,38]Bi ² ; [0,49]Bi ² ; [0,74]Bi ² ; [0,99]Bi ² ; Anthocyanes ^g : [0,59] ; [0,66]B ² ; [0,74]B ² ; [0,77]B ² ; [0,98]B ² ; B ² ; Hydroxystéroïdes ^d : [0,14]Vi ² ; [0,28]Vi ² ; [0,83]R ² ; [0,95]Gr ²

tubercules	TK^{IV}	Flavonoïdes^{ig} : [0,025] B ⁱ² ; [0,24] B ^{i2g} ; [0,38] B ⁱ² ; [0,49] B ⁱ² ; [0,74] B ⁱ² ; [0,99] B ⁱ² ; Anthocyanes^g : [0,59] B ² ; [0,66] B ² ; [0,74] B ² ; [0,77] B ² ; [0,98] B ² ; Hydroxystéroïdes^d : [0,14] Vi ¹ ; [0,28] Vi ¹ ; [0,83] R ¹ ; [0,95] Gr ¹
	TD^{IV}	Flavonoïdesⁱ : [0,025] B ⁱ ; [0,24] B ⁱ ; [0,38] B ⁱ ; [0,49] B ⁱ ; [0,74] B ⁱ ; [0,99] B ⁱ ; Anthocyanes^g : [0,025] B ² ; [0,49] B ² ; [0,78] B ² ; [0,99] B ² ; Hydroxystéroïdes^d : [0,14] Vi ¹ ; [0,28] Vi ¹ ; [0,83] R ¹ ; [0,95] Gr ¹
Farines résiduelles	FRS^{IV}	Flavonoïdes^{fg} : [0,08] V ^{g2} ; [0,10] J ^{f2} ; [0,18] V ^{g2} ; [0,21] B ^{a2-B^{f2}} ; [0,28] J ^{f2-V^{g2}} ; [0,90] V ^{g2} ; [0,98] V ^{g2} ; Coumarines^e : [0,10] V ² ; [0,21] V ² ; [0,33] V ² ; Hydroxystéroïdes^d : [0,14] Vi ² ; [0,28] Vi ² ; [0,84] R ¹ ; [0,95] Gr ²
	FRK^{IV}	Flavonoïdes^{fg} : [0,08] V ^{g2} ; [0,10] J ^{f2} ; [0,18] V ^{g2} ; [0,21] B ^{f2} ; [0,28] V ^{g2-J^{f2}} ; [0,90] V ^{g2} ; [0,98] V ^{g2} ; Coumarines^e : [0,10] V ¹ ; [0,21] B ^{a2-V^{e2}} ; [0,33] V ¹ ; Hydroxystéroïdes^d : [0,14] Vi ¹ ; [0,28] Vi ¹ ; [0,84] R ¹ ; [0,95] Gr ¹
	FRD^{IV}	Flavonoïdes^{fg} : [0,08] V ^{g2} ; [0,10] J ^{a2-J^{f2}} ; [0,18] V ^{g2} ; [0,21] B ^{f2} ; [0,29] V ^{g2-J^{f2}} ; [0,90] V ^{g2} ; [0,98] V ^{g2} ; Coumarines^e : [0,10] V ² ; [0,21] B ^{a2-V^{e2}} ; Hydroxystéroïdes^d : [0,14] Vi ¹ ; [0,28] Vi ¹ ; [0,84] R ¹ ; [0,95] Gr ¹

B : bleu ; J : jaune ; Jp : jaune-pâle ; V : vert ; B : bleu ; Vi : violet° ; R : rose ; Gr : gris° ; fl : fluorescent° ; a : sans révélateur ; g° : a : sans révélateur ; d : Acide picrique / Acide perchlorique ; e : KOH ; f : Neu g° : NH₃ ; i° : AlCl₃° ; 1 : visible, 2 : UV/365 nm.

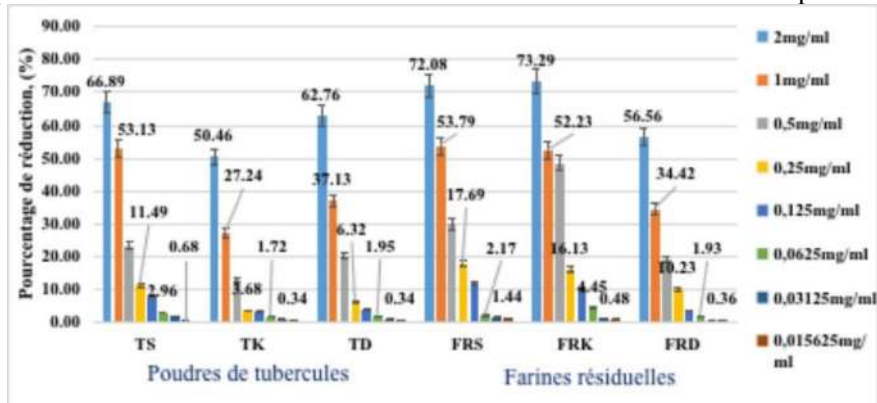
Ainsi, les métabolites secondaires ont été identifiés dans tous les extraits étudiés. Cependant, les alcaloïdes, les glycosides cyanogéniques et les saponines n'ont pas été détectés dans les tubercules récoltés en Côte d'Ivoire, contrairement à l'espèce du Nigéria [20]. Cette différence pourrait être attribuée au sol dans lequel les tubercules ont été cultivés, les conditions météorologiques et les pratiques agricoles. Néanmoins, les métabolites secondaires trouvés dans cette étude peuvent justifier les propriétés biologiques et pharmacologiques (diurétique, réduction des maladies cardiaques, réduction du risque du cancer de côlon et du diabète, l'activation de la circulation sanguine, antioxydant etc.) attribuées aux tubercules de *C. esculentus* [5] [21, 22]. En effet, les flavonoïdes sont des antioxydants connus [23, 24]. En plus de leur pouvoir antioxydant, ils sont des antiulcéreux, antispasmodiques, analgésiques [25], anti-allergiques, anti-inflammatoires, hypotenseurs, anticancéreux et prophylactiques de la cataracte [26, 27]. Les coumarines ont des propriétés antibactériennes, photomutagènes et phototoxiques [28], antitumorales [28, 29] anticoagulantes et antimicrobiennes [30]. Les stérols et les terpènes ont des propriétés bactéricides [31]. Les anthocyanes se caractérisent par leurs propriétés anti-oxydantes, bénéfiques pour la santé et, en particulier, contre le vieillissement cellulaire, améliorant l'élasticité et la fermeté de la peau. La recherche médicale met également en évidence les propriétés bénéfiques de ces pigments polyphénoliques dans la prévention des accidents cardio-vasculaires et de la maladie d'Alzheimer [32, 33].

3.3. Activité antioxydante des extraits bruts par les méthodes DPPH[•] et FRAP

Les activités antioxydantes des extraits bruts de poudres des tubercules de *C. esculentus* (TS, TK et TD) et leurs farines résiduelles (FRS, FRK et FRD) ont été évaluées par spectrophotométrie selon deux protocoles expérimentaux in vitro à savoir les tests DPPH[•] et de FRAP.

3.3.1. Profils DPPH

La **Figure 3** présente les profils antioxydants des poudres de tubercules et leurs farines résiduelles. La réduction du DPPH[•] par les poudres de tubercules et les farines résiduelles sont concentration-dépendant (**Figure 3**).



TS, TK et TD : Tubercules ; FRS, FRK et FRD : Farines résiduelles

Figure 3: Pourcentage de réduction des poudres de tubercules et de leurs farines résiduelles

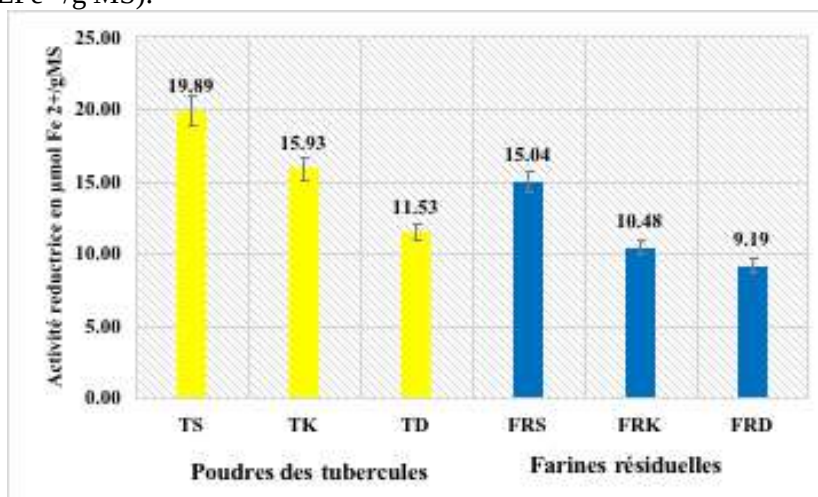
Les pourcentages de réduction (PR) augmentent avec la concentration de chaque échantillon testé de 0,34 à 66,89% et 0,36 à 73,29% respectivement pour les poudres de tubercules et leurs farines résiduelles. Les valeurs de PR montrent une augmentation de 0,34-66,89 % à 0,36 à 73,29% après l'isolement de matière grasse à partir des poudres de tubercules (TS, TK et TD). Par ailleurs, pour apprécier l'efficacité antioxydante des échantillons, la concentration qui réduit 50% du DPPH• (CR₅₀) a été déterminée par le logiciel Graphpad Prism 5 puis comparée aux CR₅₀ de la catéchine et la quercétine (**Tableau VII**). Plus la CR₅₀ est faible, plus l'efficacité antioxydante est prononcée [34]. Ces résultats montrent que la CR₅₀ des farines résiduelles FRK (0,7 mg/ml) et FRS (1,25 mg/ml) sont les plus faibles par rapport aux valeurs des poudres de tubercules (TS : 1,44 mg/ml ; TD : 1,53 mg/ml et TK : 1,92 mg/ml) et de la farine résiduelle FRD : 1,70 mg/ml. Au regard des valeurs des CR₅₀ (**Tableau VII**), et comparativement aux antioxydants de référence, nous pensons que les farines résiduelles présentent une efficacité antioxydante non négligeable, laquelle serait due à la coprésence des composés phénoliques.

Tableau VII : CR₅₀ des poudres de tubercules, des farines résiduelles et des antioxydants de référence, (mg/ml)

Echantillons	Poudres de tubercules			Farines résiduelles			Catéchine	Quercétine
	TS	TK	TD	FRS	FRK	FRD		
CR ₅₀	1,44	1,53	1,92	1,25	1,15	1,70	0,00174	0,00169

3.3.2. Profils FRAP

De manière générale, les poudres de tubercules (19,89 ; 15,93 et 11,53 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$, respectivement chez TS, TK et TD) présentent les meilleures activités antioxydantes suivies de leur farine (FRS : 15,04 ; FRK : 10,48 et FRD : 9,19 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$).

**Figure 4: Pourcentage de réduction des ions Fe³⁺ en Fe²⁺ par les poudres de tubercules de *C. esculentus* et leurs farines résiduelles**

Ce qui est contraire aux résultats obtenus pour le test DPPH• où les farines résiduelles sont plus actives. Cette différence peut s'expliquer par le mécanisme de réduction. En effet, le mécanisme du test DPPH• est le transfert d'hydrogène alors que le test FRAP est basé sur un transfert d'électrons [35]. L'activité antioxydante des poudres de tubercules peut être attribuée à la présence de phytoconstituants réducteurs qu'elles renferment. En outre, ces poudres de tubercules ont exhibé un fort pouvoir réducteur en comparaison de celui ginseng (7,39 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$) et du citron (5,76 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$) [36]. Cependant, ces valeurs obtenues dans cette étude sont inférieures à celles du noyau d'avocat (45,79 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$), de la pulpe de goyave (54,12 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$) [36] et de la vitamine C (3078 $\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g MS}$) utilisée comme témoin de référence.

4. Conclusion

Le présent travail a montré que les poudres de tubercules de *Cyperus esculentus* et leurs farines résiduelles contiennent des stérols, terpènes, coumarines, flavonoïdes et d'anthocyanes. Les tanins ont été mis en évidence seulement dans la poudre des tubercules. Les tests antioxydants (tests DPPH• et FRAP) des échantillons étudiés ont révélé un profil antioxydant non négligeable. Les résultats obtenus indiquent que les poudres de tubercules de

Cyperus esculentus et leurs farines résiduelles contiennent des phytoconstituants qui peuvent être responsables de diverses activités biologiques attribuées à la plante. Cette étude nous permet de conclure qu'après l'extraction de l'huile des tubercules, la farine résiduelle obtenue peut être utile et considérée comme un complément bénéfique pour l'organisme humain.

5. Références bibliographiques

- [1]. Dodet M., Diversité génétique et phénologie de *C. esculentus* L. (Cyperaceae) pour une gestion intégrée de l'espèce dans les cultures de haute lande. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne, France, 2006.
- [2]. Békro Y-A., Janat A., Békro M., Boua B.B., Tra Bi F.H. et Éhilé E., Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpiniaceae), Sciences & nature, (2007) 4 (2), pp. 217-225.
- [3]. Blois M.S., Antioxydant determination by the use of a stable free radical, Nature publishing group, (1958) 181 (46), pp.1199-1200.
- [4]. Benzie I.F.F. & Strain J.J., The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power : The FRAP Assay. Analytical biochemistry, (1996) 239, pp. 70-76.
- [5]. Ban-Koffi, G.J. Nemlin, S. Lefevre et A. Kamenan, Caractérisation physico-chimique et potentialités thérapeutiques du pois sucré (*C. esculentus* L. (Cyperaceae)). Agronomie Africaine, (2005) 17(1), pp. 63-71.
- [6]. Linssen J. P. H., Cozijnsen J. L. & Pilnik W., Chufa (*C. esculentus*): a new source of dietary fibre, Journal of the Science of Food and Agriculture, (1989) 49(3), pp. 291-296.
- [7]. Sánchez-Zapata E., Fernandez-Lopez J. & Perez-Alvarez J. A., Tiger Nut (*C. esculentus*) commercialization : health aspects, composition, properties and food applications, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, (2012) 11(4), pp. 366-377.
- [8]. Umeri S.C. & Enebeli J.N., Malt caramel from tubers of *C. esculentus*, Bioresource Technology, (1996) 57(2), pp. 215-216.
- [9]. Gambo A. & Da'u A., Tiger nut (*C. esculentus*): composition, products, uses and health benefits - a review. Bayero, Journal of Pure and Applied Sciences, (2014) 7(1), pp. 56-61.
- [10]. Adejuyitan J.A., Tiger nut processing: its food uses and health benefits, American Journal of Food Technology, (2011) 6(3), pp. 197-201.
- [11]. Bamishaiye E.I. & Bamishaiye O.M., Tiger nut: as a plant, its derivatives and benefits, African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, (2011) 11(5), pp. 5157-5170.
- [12]. Bamba S., Mamyrbekova B. J. A., Virieux D., Kabran G. R. M., Pira J. L. & Békro Y. A., Analysis of a Rutaceae fat matter from Côte d'Ivoire, Der chemical Sinica (2015) 6 (4), pp. 47-50.
- [13]. KENFACK L. B. M., propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des protéines de tourteaux, de concentrats et d'isolats de ricinodendron heudelotii (bail.) pierre ex pax et de Tetracarpidium conophorum (Müll. Arg), Thèse doctorale, Institut National Polytechnique de Lorraine, France, 2010.
- [14]. Kabran G.R., Ambeu N. C., Mamyrbékova-Békro J. A. et Békro Y. A. CCM des extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. European Journal of Scientific Research, (2011). 63(4), pp. 592-603.
- [15]. Brou K. G., Mamyrbekova-Békro J. A., Dogbo D. O., Gogbeu S. J. & Békro Y. A., On the qualitative phytochemical composition of crude hydromethanolic extracts of the leaves of 6 varieties of *Manihot esculenta* Crantz of Côte d'Ivoire. European Journal of Scientific Research, (2010) 45 (2), pp. 200-211.
- [16]. Savatovic S. M., Četkovic G. S., Čanadonovic-Brunet J. M. & S. M. Djilas, Kinetic behavior of the DPPH radical-scavenging activity of tomato waste extracts, Journal of the Serbian Chemical Society, (2012) 77(10), pp. 1381-1389.
- [17]. Benzie I.F.F. & Strain J.J., The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay, Analytical biochemistry, (1996) 239, pp.70-76.
- [18]. Gong J., Huang J., Xiao G., Chen F., Lee B., You Y., Liu S. & Zhang Y., Antioxidant Capacities of Fractions of Bamboo Shaving Extract and Their Antioxidant Components, Molecules, (2016) 2(996), pp. 1-14.
- [19]. Jork H., Werner F., Walter F. & Hans W., Thin-Layer Chromatography- Volume 1a, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Analytica Chimica Acta: (1990) 2375, pp. 11-512.
- [20]. Chukwuma E. R., Obioma N. & Ononogbu I. C., The Phytochemical Composition and Some Biochemical Effects of Nigerian Tigernut (*C. esculentus* L.) Tuber, Pakistan Journal of Nutrition, (2010) 9 (7), pp. 709-715.
- [21]. Allouh M. Z., Daradka H. M. & Abu G. J. H., Influence of *C. esculentus* tubers (Tiger Nut) on male rat copulatory behavior, BMC Complementary and Alternative Medicine, (2015) 331 (15), pp. 1-7.
- [22]. Onuoha N. O., Ogbusua N. O., Okorie A. N & Ejike C. E. C. C., Tigernut (*C. esculentus* L.) "milk" as a potent "nutri-drink" for the prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity in a murine model, Journal of Intercultural Ethnopharmacology, (2017) 6 (3), pp. 290-295.
- [23]. Harborne J. et Williams C., Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, (2000) 55(6), pp. 481-504.
- [24]. D'abrosca D., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C. et Fiorentino A. (2007). '*Limoncella apple*', an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104: 1333-1337.

- [25]. Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A. A. et Capasso F. (1999). Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65(4): 337-353.
- [26]. Bruneton J., Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ème} Edition, Lavoisier Tec. & Doc. Paris 1999, France.

Action antibactérienne et antibiofilm d'un extrait de la plante *Ageratum conyzoides* Linn. dans le processus de la cicatrisation

KOTOUTOU Akoua Okpeh^{1*}, AKPALO Amivi Edefia¹, SIBABI Halidatou¹

¹Département de biochimie, LabCOSNat, Université de Lomé, Lomé, Togo

*vkotoutou@gmail.com

Résumé :

Contexte : Le problème de résistance des souches bactériennes aux antibiotiques est un problème de santé publique notamment dans le processus de cicatrisation.

Objectif : L'objectif de cette étude est de vérifier l'action antibactérienne et antibiofilm d'un extrait de la plante *Ageratum conyzoides* Linn. présumé palier le problème de résistance bactérienne aux antibiotiques.

Méthodes : Des tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait aqueux d'*Ageratum conyzoides* Linn. Des bactéries (11) identifiées, fréquemment rencontrées dans les lésions cutanées, ont été soumises à un antibiogramme par écouvillonnage avec l'extrait en présence d'antibiotiques de référence. Les cinétiques d'inhibition des bactéries par l'extrait ont été déterminées puis des observations au microscope suivies de dosages colorimétriques ont été effectués pour évaluer l'activité antibactérienne et celle antibiofilm de l'extrait.

Résultats : L'extrait aqueux d'*Ageratum conyzoides* Linn. après étude ; est un extrait de plante antibactérien et antibiofilm, à large spectre d'action. Ces effets sont dose dépendant.

Conclusion : Au vu de nos résultats, l'extrait aqueux d'*Ageratum conyzoides* pourrait aider à résoudre le problème de résistance bactérienne à certains antibiotiques. Des applications in vivo sont envisagées en perspectives pour confirmer notre hypothèse.

Mots clés : cicatrisation ; infection bactérienne; *Ageratum conyzoides* Linn; Inhibition.

Antibacterial and antibiofilm action of an *Ageratum conyzoides* Linn. plant extract in the healing process

Abstract:

Context: The problem of antibiotic resistance in bacterial strains is a public health problem. This severely affects the wound healing process.

Objective : The objective of this study was to verify the antibacterial and antibiofilm action of an *Ageratum conyzoides* Linn. plant extract presumed to alleviate the problem of bacterial resistance to antibiotics.

Methods : Phytochemical tests were carried out on the aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn.

We identified eleven bacteria , frequently encountered in skin lesions; they were subjected to an antibiogram by swabbing with the extract in the presence of reference antibiotics. The inhibition kinetics of bacteria by the extract were determined. Microscopic observations followed by colorimetric assays were carried out to evaluate the antibacterial activity of the extract and that of the antibiofilm.

Results : The studied aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn. is an antibacterial and antibiofilm plant extract, with a broad spectrum of action. Its effects are dose dependent.

Conclusion: In view of our previous results, the studied aqueous extract of *Ageratum conyzoides* could help to resolve the problem of bacterial resistance to certain antibiotics. In vivo applications are planned to confirm our hypothesis.

Keywords: wound healing; bacterial infection; *Ageratum conyzoides* Linn; inhibition

1. Introduction

The problem of antibiotic resistance in bacterial strains is a public health issue. In its 2020 report, the WHO declared antimicrobial resistance to be one of the top 10 public health threats facing humanity.

This severely affects the wound-healing process in the sense that an infected wound heals with greater difficulty. To achieve this, researchers have turned to plant-based materials, and various plants have been shown to have an antibacterial effect [4]. This is the case of *Ageratum conyzoides* Linn. a plant from the Asteraceae family whose antibacterial character has been proven in previous studies [2].

The objective of this study was to verify the antibacterial and antibiofilm action of an *Ageratum conyzoides* Linn. plant extract presumed to alleviate the problem of bacterial resistance to antibiotics.

2. Materials and Methods

Aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn.

Leaves of the plant *Ageratum Conyzoides* Linn. were harvested at the beginning in September 2022 at Agou (GPS coordinates : 6.84452,0.715896); towns located in the Plateaux region of southern Togo.

Extraction was carried out as previously described by Akpalo et al in 2020 .[1].

2.1. Phytochemical quantitative tests

Determination of polyphenol content using Folin-Ciocalteu reagent [3].

Determination of flavonoid content using colorimetric aluminium trichloride(AlCl₃) [7].

Determination of tannin content by the Folin-Ciocalteu method combined with casein method.[3]

2.2. Antibigram by swabbing

The antibiogram was performed on the strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Enterobacter cloacae*; Staphylococques with négative coagulase; *Proteus mirabilis*; Enterocoques; *serratia fonticola*; Streptocoques ; and *Candida spp.*

The aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn. at 250 mg/mL and 500 mg/mL was the antibiotic to be tested; gentamycin(C), amikacin(AK), imipenem; Povidone iodine were the positive controls and the saline serum the negative control.

Calculation of the activity index

$$Ai = \frac{\text{Mean of the inhibition diameters}}{\text{Mean of the inhibition diameter of the reference (antibiotics or povidone-iodine)}}$$

2.3. Kinetics of inhibition

The kinetics of inhibition consisted in placing the bacterial strains in the presence of the aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn. and seeding the inoculum in a given series of times ,

2.4. Biofilm Testing

The biofilm of *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa* and a mixte of *S.aureus*: *P.aeruginosa*; *E.coli* and *Serratia fonticola* were formed in a 96well plate; their degradation and inhibition in the presence of the extract were studied by spectrophotometry (Shukla *et al.*, 2022).

Degradation and inhibition percentages were calculated by the following formulas:

$$= \frac{\text{Control Optical Density} - \text{Extract Optical Density at T time(T24h; T48h;T72h)}}{\text{Control Optical Density}}$$

% biofilm degradation at Ttime:

100

X

Microscopic observations of biofilms degradations and inhibitions were also performed.

3. Results and Discussion

3.1. Phytochemical quantitative tests

Table1: Results of Phytochemical quantitative tests

extract	Levels in <i>Ageratum conyzoides</i> Linn	Reference compound used for determination
Tannins	82,734 ±0,758mgEAG/g	Gallic acid
Flavonoids	164,133 ± 6,565mgEO/g	Quercetin
Total polyphenols	94,75± 1,13mgEAG/g	Gallic acide

Values are expressed as Means ± MSE, n=3.

Units : total polyphenols and tannins are expressed in mg Gallic Acid Equivalent/g *Ageratum conyzoides* Linn. extract (mgEAG/g) while flavonoids are expressed in mg Quercetin Equivalent/g *Ageratum conyzoides* Linn. (mgEQ/g).

3.2. Antibigram by swabbing

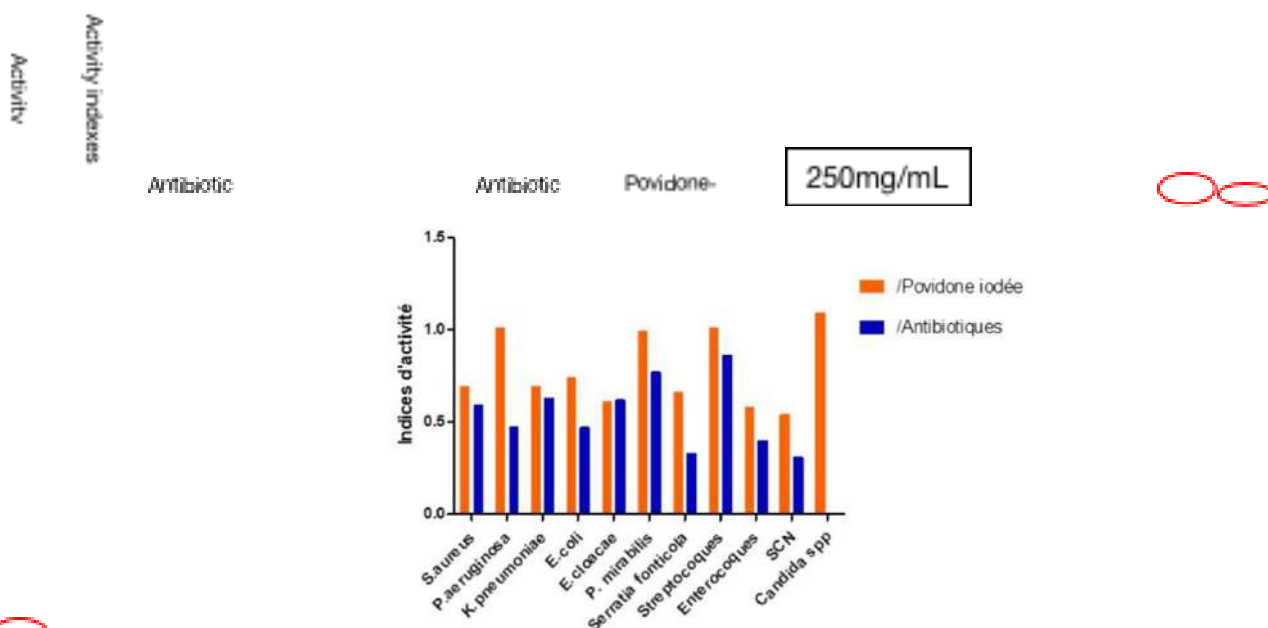


Figure1: Antibigram results

The activity indexes of the extract compared to povidone-iodine are higher than that compared to antibiotics for strains, showing the extract activity is closed to that of povidone.

We also note that the antibacterial activity of the extract is dose-dependent. At 250mg/mL of the extract, *P.aeruginosa* activity index is less than one(1) while at 500mg/mL it is more than one(1).

3.3. Kinetics inhibition

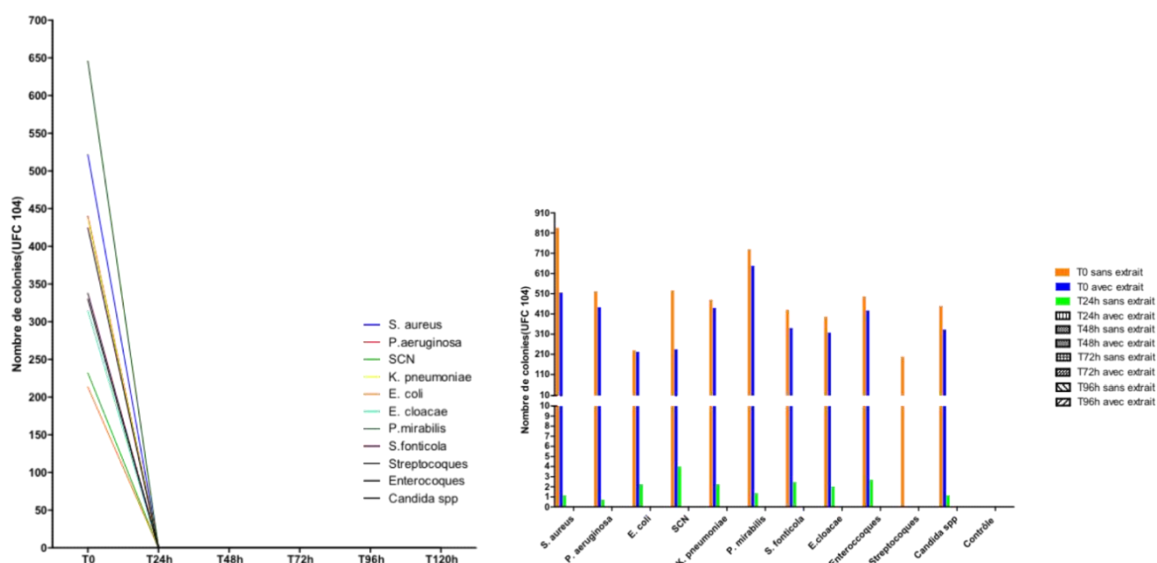


Figure 2: Results of Kinetics inhibition of aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn.

After 24 hours, due to a second addition of the extract, all the strains inhibited are no longer grow back.

3.4. Biofilm testing

- Biofilm degradation

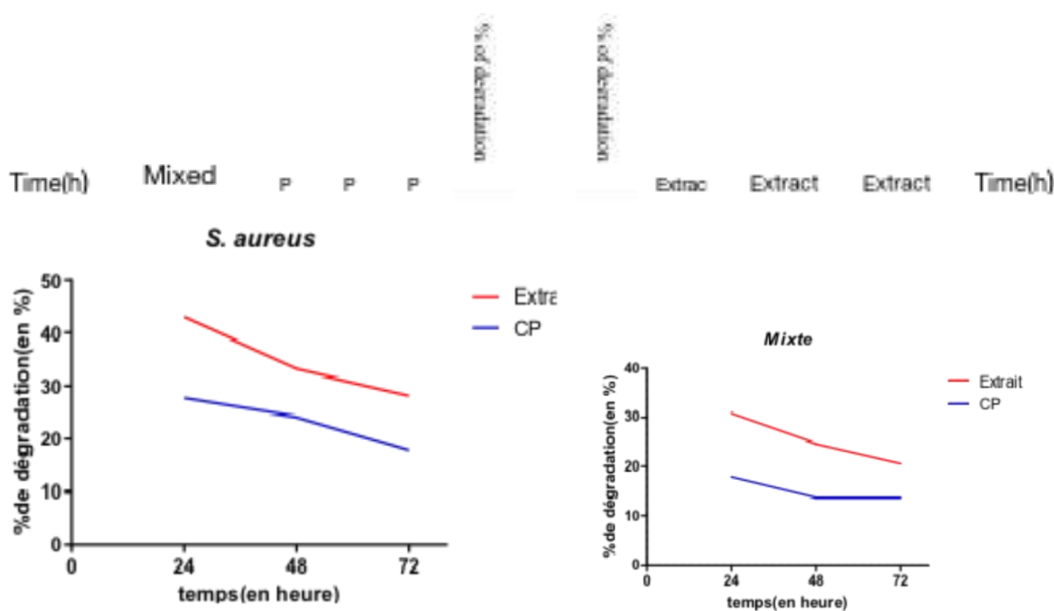


Figure 3: Results of biofilm Kinetic degradation

At the level of *S. aureus* and mixed strains, the extract degrades biofilms better than the positive control. There is a degradation of up to 40% of the biofilms by the extract while the maximum percentage of degradation by Salicylic Acid is 27%.

	Négativ e control	<i>S.aureu</i> <i>s</i>	Positiv e control	Négativ e control	<i>P.aeruginos</i> <i>a</i>	Positiv e control	Négativ e control	Mixte	Positiv e control
% inhibitio n		12.79%	10.46%		18.23%	25.78%		14.72 %	18.40%

➤ Biofilm Inhibition

Table2 : Results of biofilm inhibition

The aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn. inhibits 12.79% of the biofilm of *S. aureus*; 18.23% the biofilm of *P. aeruginosa* and 14.72% the mixed biofilm.

Conclusion and perspectives

In view of our previous results, the studied aqueous extract of *Ageratum conyzoides* Linn could help to resolve the problem of bacterial resistance to certain antibiotics. In vivo applications are planned to confirm our hypothesis.

References

- 1- Akpalo AE., Saloufou IK., Elo K., Kpegba K. 2020 : Wound healing biomolecules present in four proposed soft aqueous extractions of *Ageratum conyzoides* Linn. Int J Biol Chem Sci.14(2):638-51.
- 2- Akpalo AE., Kotoutou AO., Karou SD. Antimicrobial activity of aqueous extract of *ageratum conyzoides* Linn. On bacterial strains present in skin lesions infectious. J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo), 2020, 22(3) : 593-603.
- 3- Folin,O.,ant Ciocalteu,V.On tyrosine and tryptophane determinations in proteins.Journal of biological Chemistry.1927;73(2),637-650.
- 4- Garg S, Roy A. A Current Perspective of Plants as an Antibacterial Agent : A Review. Curr Pharm Biotechnol. 2020 ;21(15) :1588-1602
- 5- Odeleye O.P., Oluyeye, J.O., Aregbesola, O.A., Odeleye, P.O., 2014. « Evaluation of preliminary phytochemical and antibacterial activity of *Ageratum conyzoides* (L) on some clinical bacterial isolates ». The International Journal Of Engineering And Science 3(6), 01-05.
- 6- Yhishen,J.,Mengcheng,T.,and Jianming,W.The determination of flavonoid contents in mulberry and thier scavening effects on superoxide radicals.Food chemistry.1999; 64(4);555-559

Variabilité chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de tiges de *Solenostemon monostachyus*

KOUAMÉ Akissi Christelle Euphrasie^{1*}, OUATTARA Zana Adama¹, KAMBIRÉ Didjour Albert², MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna¹, TOMI Félix³, BÉKRO Yves-Alain¹

¹

² Laboratoire de Chimie Bio-organique et de substances naturelles, UFR-SFA Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

³ UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Péléforo Gon Coulibaly, Korhogo BP 1328, Côte d'Ivoire

⁴ Laboratoire Sciences Pour l'Environnement, Université de Corse-CNRS, UMR 6134 SPE, Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France

*christykouame48@gmail.com

Résumé

L'étude des plantes peut aboutir à des réponses thérapeutiques adéquates, joignant à une accessibilité optimale, une alternative aux médicaments issus de la synthèse chimique [1]. L'objectif de ce travail est d'étudier la variabilité chimique et les propriétés antioxydantes des huiles essentielles (HE) de Tiges de *Solenostemon monostachyus* ivoirien. Vingt-et-deux échantillons d'HE ont été analysés par la combinaison de CPG (Ir), CPGSM et RMN ¹³C [2] et leur potentiel antioxydant évalué par la méthode de réduction du DPPH [3]. L'analyse des HE a conduit à l'identification de 91 constituants (84,5 - 99,1%) avec un acide gras (acide palmitique) jamais découvert dans les HE de *S. monostachyus* et une variation drastique des principaux constituants. Devant cette variation, les 22 compositions d'huile ont été soumises à une étude statistique pour la première fois. Trois groupes distincts ont été mis en évidence. L'évaluation du potentiel antioxydant a montré une activité antioxydante modérée des huiles. Ce travail a fourni des informations scientifiques capitales sur les HE de tiges de cette plante médicinale. Des tests antimicrobiens et de toxicités sont prévus dans l'optique d'aller vers des médicaments traditionnels améliorés.

Mots clés: *Solenostemon monostachyus* ; huile essentielle ; variabilité chimique ; potentiel antioxydant

Chemical variability and antioxidant activity of essential oils from *Solenostemon monostachyus* stems

Abstract

Plants study can lead to appropriate therapeutic responses, combining optimal accessibility with an alternative to drugs derived from chemical synthesis [1]. The aim of this study was to investigate the chemical variability and antioxidant properties of essential oils (EO) from stems of the Ivorian *Solenostemon monostachyus*. Twenty-two essential oil samples were analyzed using a combination of GC (RI), GC-MS and ¹³C-NMR [2] and their antioxidant potential assessed by the DPPH reduction method [3]. Analysis of the EO led to the identification of 91 constituents (84.5 - 99.1%) with one fatty acid (palmitic acid) never found in *S. monostachyus* EO and a drastic variation in the main components. In view of this variation, the 22 oil compositions were subjected to statistical study for the first time. Three distinct groups were identified. Evaluation of antioxidant potential showed moderate antioxidant activity of the oils. This work has provided vital scientific information on the EO from the stems of this medicinal plant. Antimicrobial and toxicity tests are planned with a view to developing improved traditional medicines.

Keywords: *Solenostemon monostachyus*, essential oil, chemical variability, antioxidant potential

1. Introduction

Solenostemon monostachyus de la famille des lamiacées, est une plante herbacée annuelle ou vivace, aromatique, légèrement succulente, atteignant 100 cm de haut. Cette plante consommée comme herbe potagère est largement utilisée en médecine traditionnelle est employée pour traiter les coliques, les convulsions, la fièvre [4], l'hypertension, les ulcères d'estomac, et le paludisme [5].

A notre connaissance, Il existe très peu d'études phytochimiques concernant les extraits au solvant de *S. monostachyus* ainsi que les composés volatils. L'analyse phytochimique qualitative des feuilles de a révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de saponines, de phytates, de flavonoïdes, de coumarines, de polyphénols [6] et de glycosides cardiaques [7]. En ce qui concerne les composés volatils, l'HE des feuilles de *S. monostachyus* d'origine camerounaise présente un profil dominé par le β -pinène (13,0%) et l'oct-1-én-3-ol (12,6%) [8]. Les (HE) de feuilles et de tiges de l'espèce nigériane sont composées majoritairement de β -caryophyllène (71,42 - 46,75 %) et de α -caryophyllène (7,0 - 20,22%) tandis que celles des fleurs sont principalement constituées de 1-octen-3-ol (40,24%) [9].

Devant le grand intérêt médicinal de cette plante dans notre pays, et le peu de travail scientifique retrouvé dans la littérature sur ses HE, nous avons décidé d'y réaliser une étude chimique afin d'élargir notre spectre de connaissance et fournir des informations scientifique relatives à l'HE de l'espèce ivoirienne. L'objectif de ce

travail est donc d'étudier la composition chimique de l'HE de tiges de *S. monostachyus* à travers une étude de variabilité en fonction des sites de récolte. L'activité antioxydante *in vitro* de cette huile essentielle a également été testée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée avec un total de 22 échantillons d'HE de tiges de *S. monostachyus*. Les tiges ont été récoltées dans 22 villes de la Côte d'Ivoire d'avril à septembre 2018. La plante a été authentifiée au Centre National de Floristique. Les HE ont été obtenus par hydrodistillation à l'aide d'un clevenger pendant 4 heures.

2.2. Analyse chimique

Les échantillons d'HE de tiges de *S. monostachyus* ont été analysés par la combinaison de trois techniques conventionnelles d'analyse des HE : la chromatographie en phase gazeuse associée aux indices de rétention (CPG (Ir)), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG-SM) et Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³C).

2.3. Identification des composants individuels

L'identification des composants individuels a été réalisée : (i) par comparaison de leurs indices de rétention CPG sur des colonnes apolaires et polaires, avec ceux de composés de référence [10] ; (ii) par comparaison informatique avec des bibliothèques spectrales de masses commerciales [11]; (iii) par comparaison des signaux dans les spectres ¹³C-RMN des échantillons avec ceux des spectres de référence compilés dans la bibliothèque spectrale, à l'aide d'un logiciel [12]. Cette méthode a permis l'identification des composants individuels des HE à des teneurs aussi faibles que 0,4-0,5%.

2.4. Analyse statistique

L'étude de la variabilité chimique des HE a été réalisée avec deux outils statistiques : l'Analyse en Composante Principale (ACP) et la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA).

2.5. Activité antioxydant

L'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1-Diphényl-2picrylhydrazyle) selon la méthode décrite par Blois [3] avec une légère modification. Le Pourcentage de Réduction (PR) du radical DPPH est calculé suivant cette formule [14] :

Ab :
Ae :



absorbance du DPPH;
absorbance de l'échantillon

L'efficacité des HE contre le DPPH est mise en évidence par la détermination graphique de la PR50 : la concentration qui réduit 50% du radical [15].

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction

L'hydrodistillation des HE de tiges de *S. monostachyus* de Côte d'Ivoire a fournie des HE de couleur jaune pâle avec une odeur puissante. Les rendements calculés sur la base du matériel séché varient de 0,006 à 0,03%. Ses rendements sont faibles comparés à celui de l'espèce du Nigeria dont le rendement est de 0,13 % [9].

3.2. Composition chimique

Quatre échantillons (n° 1, 8, 9, 17) d'HE de tiges de *S. monostachyus* pris dans 4 différentes villes de la Côte d'Ivoire : échantillon n° 1 (Gagnoa, Centre-Ouest), échantillon n° 8 (Grand-Bassam, Sud), échantillon n° 9 (Abidjan, Sud) et échantillon n° 17 (N'Bahiakro, Centre) ont été analysés par CPG (Ir), CPG-SM et RMN ¹³C. Un total de 80 composés a été identifié, représentant respectivement 92,4%, 92,6%, 93,5% et 96,2% de la composition chimique globale des échantillons (**Tableau I**).

Les 4 échantillons d'huile ont présenté des profils chromatographiques différents et des compositions complexes constituées de monoterpènes, de sesquiterpènes, qui constituent la majorité des composés (45,4 à 78,2%), et la présence d'autres composés tels que les alcanes et deux acides gras saturés (l'acide dodecanoïque et l'acide hexadécanoïque). Ces 4 compositions chimiques déterminées sont caractérisées par des variations qualitative et quantitative des composés principaux et secondaires. En effet, l'acide hexadécanoïque (35,5 – 14,0%) et l' α -santalène (8,8 – 6,5%) sont les principaux composés des échantillons n° 1 et 9. Les principaux composants de

l'échantillon n° 8 sont le cypérène (17,6%) et le benzoate de benzyle (12,7%). L'échantillon n° 17 est dominé par le β -élémol (17,8%) suivi de l' α santalène (13,7%). Notons que la présence de l'acide hexadécanoïque (35,5 – 2,1%) à des teneurs parfois très élevées (échantillons n° 1, 8 et 9) est très inhabituel pour les HE de cette espèce. Car, à notre connaissance la présence de l'acide hexadécanoïque n'a jamais été signalée ni dans les HE des organes de cette espèce ni même dans les HE du genre solenostemon ce qui confère à ce travail une certaine originalité.

Tableau I: Composition chimique de quatre échantillons d'HE de tiges de *S. monostachyus*

	N			1			8		17		Identification	
	1			0,3			-					
	Composés			Ira		Irp		9				
	hexanal			776		1089		-		Ir, SM		
2	α -pinène	933	1022	-	0,1	-	-	Ir, SM				
3	camphène	946	1073	-	0,3	-	-	Ir, SM				
4	oct-1-èn-3-ol	963	1452	0,7	1,0	3,8	0,2	Ir, SM				
5	β -pinène	971	1117	0,2	0,6	0,4	-	Ir, SM				
6	myrcène	982	1167	-	0,2	-	-	Ir, SM				
7	Δ -3-carène	1 007	1155	-	0,0	-	-	Ir, SM				
8	<i>p</i> -cymène	1 013	1268	-	0,2	0,1	-	Ir, SM				
9	β -phellandrène	1 022	1216	-	0,4	-	-	Ir, SM				
10	nonanal	1 083	1393	-	0,1	-	-	Ir, SM				
11	linalol	1 085	1549	0,5	0,4	2,3	0,2	Ir, SM				
12	(<i>E</i>)-non-2-ènal	1 136	1 535	-	0,1	0,3	-	Ir, SM				
13	bornéol	1 151	1702	1,1	0,4	4,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C				
14	terpinèn-4-ol	1 161	1600	-	0,2	0,3	-	Ir, SM				
15	α -terpinéol	1 175	1697	-	0,1	0,5	-	Ir, SM				
16	décanal	1 185	1 499	-	-	0,1	-	-		Ir, SM		
17	dodécane	1 200	0,9	1,2	6,3	0,8	Ir, SM					
18	oxyde de thymyl méthyle	1 214	1589	-	1,0	-	-	-		Ir, SM		
19	géraniol	1 235	1837	-	0,2	0,8	0,3	Ir, SM				
20	phellandral	1 252	1708	-	0,6	0,9	-	Ir, SM				
21	acétate de bornyle	1 270	1583	0,3	1,9	0,6	-	Ir, SM				
22	tridécane	1 299	1299	0,6	0,7	4,6	0,5	Ir, SM				
23	acide decanoïque	1 349	-	0,9	0,5	-	Ir, SM					
24	α -cubébène	1 349	1450	1,0	-	-	-	Ir, SM				
25	α -copaène	1 375	1492	0,3	0,5	1,4	1,0	Ir, SM				
26	β -bourbonène	1 383	1498	-	-	0,2	0,2	Ir, SM				
27	β -élémente	1 387	1592	-	0,1	0,2	1,7	Ir, SM				
28	isolongifolène	1 387	1514	-	0,4	-	-	Ir, SM				
29	cypérène	1 399	1527	6,7	17,6	5,6	2,1	Ir, SM				
30	α -barbatène	1 408	1566	0,6	0,6	0,5	0,4	Ir, SM				
31	α -santalène	1 418	1575	8,8	6,7	6,5	13,7	Ir, SM				
32	thujopsène	1 429	1609	-	0,3	0,3	-	Ir, SM				
33	<i>trans</i> - α -bergamotène	1 431	1585	1,0	1,0	0,7	1,3	Ir, SM				
34	sesquisabinène A	1 434	1638	-	0,3	-	0,5	Ir, SM				
35	(<i>Z</i>)- β -Farnésène	1 435	1628	-	0,7	-	0,2	Ir, SM				
36	β -barbatene	1 439	1633	2,7	1,7	1,5	1,8	Ir, SM				
37	β -santalène	1 448	1627	-	0,1	-	-	Ir, SM				
38	α -humulène	1 449	1666	0,8	1,8	6,0	7,6	Ir, SM				
39	β -santalène	1 454	-	-	-	0,3	Ir, SM					
40	rotundène	1 456	1620	0,3	0,4	0,2	0,2	Ir, SM				
41	β -ionone	1 464	1935	0,1	0,3	0,4	0,2	Ir, SM				
42	<i>ar</i> -curcumène	1 477	1758	0,2	0,7	0,8	0,9	Ir, SM				
43	γ -gurjunène	1 472	1662	-	0,1	-	0,3	Ir, SM				
44	sélina-4,11-diène	1 472	-	0,1	-	-	Ir, SM					

45	germacrène D	1 475	1708	-	-	-	2,0	Ir, SM
46	β-chamigrène	1 480	1701	-	0,4	0,9	0,2	Ir, SM
47	valencène	1 487	1719	-	0,3	0,2	Ir, SM	
48	α-sélinène	1 489	1724	-	0,5	0,9	0,5	Ir, SM
49	cuparène	1 493	1821	0,6	0,7	0,4	0,5	Ir, SM
50	β-bisabolène	1 499	1728	0,4	0,5	0,8	1,4	Ir, SM
51	γ-cadinène	1 505	1736	-	2,7	0,1	0,3	Ir, SM
52	photosantalol	1 508		-	-	-	0,7	Ir, SM
53	guaia-1(10),11-diène	1 513		-	1,2	0,4	1,8	Ir, SM
54	α-bulnesène	1 517	1691	-	0,2	-	-	Ir, SM
55	β-élémol	1 533	2078	1,3	3,3	3,7	17,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
56	acide dodecanoïque	1 543	2498	1,8	1,0	0,5	0,5	Ir, SM
57	(E)-nérolidol	1 547	2040	0,9	0,7	0,5	0,5	Ir, SM
58	oxyde de caryophyllène	1 569	1977	2,0	0,7	1,9	1,0	Ir, SM, RMN ¹³ C
59	guaiol	1 583	2085	-	0,9	1,1	4,6	Ir, SM
60	oxyde d'humulène II	1 593	2035	2,6	0,9	5,7	0,9	Ir, SM, RMN ¹³ C
61	1,10-di-épi-cubénol	1 601	2056	0,8	0,2	0,3	0,4	Ir, SM
62	éremoligénol	1 613	2182	-	-	-	0,2	Ir, SM
63	γ-eudesmol	1 617	2164	-	0,3	0,1	1,8	Ir, SM
64	τ-cadinol	1 624	2167	3,4	1,0	1,3	1,7	Ir, SM
65	β-eudesmol	1 633	2224	-	0,5	0,3	1,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
66	oxyde d'aromadendrene II	1 635	2006	0,5	0,5	-	0,3	Ir, SM
67	α-eudesmol	1 640	2213	-	0,4	0,2	1,4	Ir, SM
68	intermédeol	1 641	2252	0,5	0,4	0,2	-	Ir, SM
69	bulnésol	1 652	2206	0,1	0,1	-	0,6	Ir, SM
70	α-bisabolol	1 666	2210	-	0,2	0,1	1,6	Ir, SM
71	eudesm-7(11)-èn-4-ol	1 678	2292	0,1	0,3	0,5	0,7	Ir, SM
72	benzoate de benzyle	1 722	2 619	-	12,7	0,1	0,2	Ir, SM
73	phytone	1 830	2125	3,1	1,4	2,1	1,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
74	acide hexadécanoïque	1 940	35,5	7,2	14,0	2,1		Ir, SM, RMN ¹³ C
75	abietatriène	2 033	2488	-	0,4	-	0,6	Ir, SM
76	α-kaurène	2 037	2380	-	0,1	-	-	Ir, SM
77	(E)-phytol	2 099	2608	4,1	4,0	2,7	7,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
78	cis-abiéénol	2 111		0,6	0,4	0,4	0,8	Ir, SM
79	docosane	2 200	0,6	1,9	2,0	5,8		Ir, SM
80	tricosane	2 299	2300	0,1	-	0,6	0,6	Ir, SM
				0,5				
Monoterpènes hydrogénés				1,8 0,5 0,0				
				Monoterpènes oxygénés 2,5 6,1 13,6 0,8				
				Sesquiterpènes hydrogénés 23,3 38,8 26,7 37,5				
				Sesquiterpènes oxygénés 22,1 28,9 22,1 40,7				
Autres				39,9 12,9 27,9 9,8				
Total				92,4 92,6 93,5 96,2				

Ira et Irp : Indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20)

Devant une variation qualitative et quantitative des composés principaux et secondaires mis en évidence par l'étude des 4 premiers échantillons, nous avons analysé 22 échantillons d'HE de tiges de *S. monostachyus* afin de réaliser non seulement une étude de variabilité de l'HE de tiges mais aussi de confirmer la présence de certains composés qui n'ont été observé que pour un nombre limité d'échantillon.

3.3. Variabilité chimique de l'HE de tiges de *S. monostachyus*

L'étude de la variabilité chimique de l'HE de tiges de *S. monostachyus* a été réalisée à partir de 22 échantillons d'HE venant de 22 villes de la Côte d'Ivoire. L'analyse des 22 échantillons d'HE par CPG (Ir) et CPG-SM,

RMN¹³C a conduit à l'identification de 91 composés représentant 84,5% à 99,1% de la composition totale. Les HE présentent une composition chimique variable dominée par les sesquiterpènes (77,8 - 98,0%). La présence de l'acide hexadécanoïque est également remarquée dans l'ensemble des échantillons à des teneurs relativement élevées (2,1 - 59,2%). La teneur des principaux composants varie considérablement d'un échantillon à un autre : acide hexadécanoïque (2,1 - 59,2%), β -élémol (0 - 27,9%), cypérène (0 - 17,6%), α -santalène (0 - 14,6%), (*E*)-phytol (0,5 - 13,1%) et α humulène (0 - 10,2%). La représentation graphique des échantillons sur le plan factoriel de l'ACP, générés par les composantes principales I et II, décrit 86,06% de la variance totale de la population (respectivement 67,10% et 18,96%), dont 3 groupes peuvent être distingués (**Figure 1**). Ce résultat est confirmé par la CAH (**Figure 2**).

Ces 3 groupes (**Figure 1**) se différencient entre eux par leurs principaux composés et leur teneur (**Tableau II**) :

- Le **groupe I** qui est constitué de 8 échantillons (n° 1, 3, 5, 11, 14, 15, 21 et 22) est caractérisé par l'acide hexadécanoïque (M=43,0%, ET=9,4%), suivi du (*E*)-phytol (M=7,2 %, ET=3,9%).

- Le **groupe II** constitué de 4 échantillons (n° 17, 18, 19 et 20), est dominé par le β -élémol (M = 23,1% ; ET = 4,6%), l'acide hexadécanoïque (M=10,3%, ET=6,3%).

- Les dix (10) échantillons (n° 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13 et 16) du **groupe III** sont dominés par l'acide hexadécanoïque (M=13,1%, ET=5,3%) tout comme le groupe I mais avec une teneur plus faible. Nous notons également la présence de l' α -santalène (M = 8,6 % ; ET = 2,7%) et du (*E*)-phytol (M = 8,3 % ; ET = 3,3%).

Le groupe I et le groupe III sont communs à toutes les régions à l'exception du Centre et du Nord pour le groupe III. En revanche, tous les échantillons d'HE du groupe II se retrouvent au Centre. Ainsi, ces quatre compositions du groupe II dépendent du lieu de récolte.

La composition chimique de l'HE de tiges de *S. monostachyus*, décrite ici diffère de celle décrite au Nigeria. En effet, la composition de l'HE de tiges du Nigeria est constituée principalement du β caryophyllène (46,75 %), d' α -caryophyllène (20,22 %), d'oxyde de caryophyllène (10,45 %) et de 1octène-3-ol (10,31 %), qui ne correspond à aucun des trois groupes de composition chimique obtenus dans notre étude pour les tiges de *S. monostachyus* de Côte d'Ivoire [9].

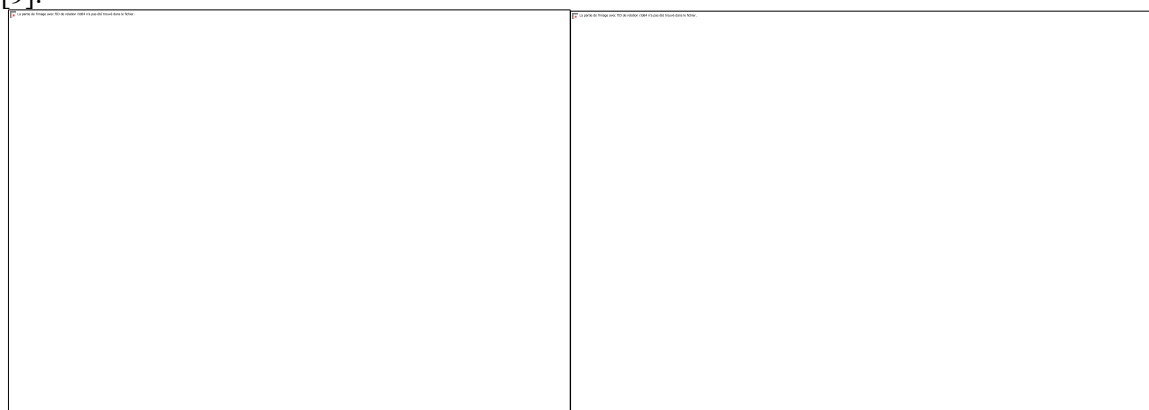


Figure 1: ACP des 22 échantillons d'HE de tiges de *S. monostachyus*. **Figure 2:** Dendrogramme des 22 échantillons d'HE de tiges de *S. monostachyus*.

S. monostachyus

monostachyus

Tableau II: Pourcentages moyens et écarts types des principaux constituants identifiés dans les 3 groupes

Composés	Groupe I			Groupe II			Groupe III		
	M% $\pm$ ET	Min	Max	M% $\pm$ ET	Min	Max	M% $\pm$ ET	Min	Max
α -santalène	2,8 $\pm$ 2,8	-	8,8	6,1 $\pm$ 5,6	-	13,7	8,6 $\pm$ 2,7	5,8	14,6
β -élémol	6,4 $\pm$ 7,3	-	18,3	23,1 $\pm$ 4,6	17,8	27,9	3,1 $\pm$ 2,1	1,4	8,7
acide hexadécanoïque	43,0 $\pm$ 9,4	28,5	59,2	10,3 $\pm$ 6,3	2,1	16,7	13,1 $\pm$ 5,3	2,3	20,6
(<i>E</i>)-phytol	7,2 $\pm$ 3,9	0,5	11,8	5 $\pm$ 1,7	3,6	7,4	8,3 $\pm$ 3,3	2,7	13,1

M% $\pm$ ET : Pourcentage moyen et écart-type ; (-) : non détecté

3.4. Profil antioxydant des HE de tiges de *Solenostemon monostachyus*

L'histogramme de la **figure 3** montre l'activité antioxydante des extraits d'HE de tiges vis-à-vis du DPPH. Pour toutes les concentrations nous notons des PR < 50 % quel que soit l'échantillon.



Figure 1: Profil antioxydant des HE de tige de *S. monostachyus* et de la quercétine

L'HE de tiges de *S. monostachyus* a démontrée une faible activité antiradicalaire comparativement à la quercétine. Ce résultat pourrait s'expliquer par la structure des molécules présentes dans nos échantillons qui ne prédisposent pas à une réaction radicalaire avec le DPPH.

4. Conclusion

La variabilité chimique de l'huile essentielle de feuilles de *S. monostachyus* poussant à l'état sauvage en Côte d'Ivoire a été étudiée à l'aide de 22 échantillons d'huile. La combinaison de la CPG (Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C a permis l'identification de 91 constituants représentant 84,5% à 99,1% de la composition totale des échantillons. L'étude statistique par ACP et CHA a mis en évidence trois groupes chimiques distincts. Le groupe I était dominé par l'acide hexadécanoïque, suivi du (*E*)-phytol ; le groupe II par le β -élémol et le groupe III par l'acide hexadécanoïque suivi de l' α -santalène et du (*E*)-phytol. Les échantillons d'huile de tiges de *S. monostachyus* ont été testés pour leur capacité d'inhibition du radical DPPH. Les valeurs des pourcentages de réductions des huiles étaient faibles et inférieurs à 50%. Par conséquent, ces HE de tiges présentaient un potentiel faible comparativement à la quercétine prise comme référence.

5. Bibliographie

- [1] World Health Organization. WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. Geneva: World Health Organization. (2013) 76P
- [2] Tomi, F.; Bradesi, P.; Bighelli, A. et Casanova, J. Computer-aided identification of individual components of essential oil using carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Analyses*. (1995) 1: 25-34.
- [3] Blois, M. Antioxydant determination by the use of a stable free radical. *Journal nature*. (1958) 181: 1199-1783.
- [4] Lemmens, R.H.M.J. *Solenostemon monostachyus* (P.Beauv.) Briq., In: Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. (Editeurs). PROTA 2: Vegetables/Légumes. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen: 2004, Pays Bas. [5] Adebayo J.O. et Krettli, A.U. Potential antimalarials from Nigerian plants: A review. *Journal of Ethnopharmacol*. (2011) 133: 289 -302.
- [6] N'Guessan, H.A.; Dago, D.C.E.; Mamyrbékova-Békro, J.A. et Békro, Y.A. CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*. (2011) 66 (4): 575-585.
- [7] Toshio, M.; Peter, R. et Conrad, H.E. Structures of six coleons (diterpenoids) from *Solenostemon monostachyus* (P. Beauv.) Briq. (Labiatae). *Helvetica Chimica Acta*. (1980) 63 (1): 95-101.
- [8] Mvé-Mvé-Mba, E.; Menut, C.; Lamaty, G.; Amvam, Z.P.H.; Tchoumboungang, F. et Bessière, J.M. Aromatic plants of tropical central Africa. Part XIX. Volatile components from leaves of two Lamiaceae from Cameroon: *Leucas deflexa* Hook and *Solenostemon monostachyus* (P. Beauv.) Briq., *Flavour and Fragrance Journal*. (1994) 9 : 315-317.
- [9] Essien, E.E.; Thomas, P.S. et Choudhary, M.I. Aroma Profile of Essential Oils of *Solenostemon monostachyus* P. Beauv from Nigeria. *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences*. (2017) 5 (2): 3437.
- [10] König, W.A.; Hochmuth, D.H. et Joulain D. Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, Library of MassFinder 2.1. Institute of Organic Chemistry: 2001, Hamburg.
- [11] Adams, R.P. Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. *Allured: Carol Stream*, (2001); 798.
- [12] Tomi, F.; Bradesi, P.; Bighelli, A. et Casanova, J. Computer-aided identification of individual components of essential oil using carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Analyses*. (1995) 1: 25-34.
- [13] Rezzi, S.; Bighelli A.; Castola, V. et Casanova, J. Direct Identification and Quantitative Determination of Acidic and Neutral Diterpenes Using ^{13}C -NMR Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. (2002) 56: 312-317.
- [14] Sharififar, F.; Moshafi, M.H.; Mansouri, S.H.; Khodashenas, M. et Khoshnoodi, M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*. (2007) 18: 800-805.

- [15] Tanoh, S.K.; N'gaman-Kouassi, C.C.; Boa, D.; Mamyrbekova-Békro, A.J. et Békro, Y-A. Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Cote d'Ivoire médicinales. *Nature et technologie*. (2019) 22: 1-7.

Etude du potentiel antioxydant des feuilles de *Newbouldia laevis*

Rawendé Sédégo^{1,3}, Lassané Tarpaga¹, Téeda Hamidou Ganamé², Benjamin Ouédraogo^{2,3}, Bakouan Youssouf¹, Jules Yoda³ Bintou Sessouma¹, Karifa Bayo¹.

¹Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LC2M) Université Joseph KI-ZERBO UFR SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

²Laboratoire de Chimie Analytique Environnementale et Bio-Organique (LCAEBiO) Université Joseph KI-ZERBO UFR SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

³CNRST/IRSS Département Médecine Pharmacopée Traditionnelle et Pharmacie, Institut de Recherche en Sciences de la Santé (MEPHATRA-PH/IRSS), 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

Courriel : sedego.abd.7078@gmail.com

Résumé :

Newbouldia laevis (*N. laevis*) est une plante très utilisée par les phytothérapeutes pour ses vertus thérapeutiques [1], [2]. L'objectif de notre étude est de mettre en évidence le potentiel antioxydant des macérats des feuilles de *N. laevis*. Ainsi, le profil phytochimique des feuilles de *N. laevis* a été évalué par des tests colorimétriques et chromatographiques. Les propriétés antioxydantes des différentes fractions ont été réalisées par les méthodes DPPH et FRAP. Le criblage phytochimique a révélé la présence des groupes chimiques notamment les flavonoïdes, les tanins et les quinones dans les différentes fractions [3], [3]. Les polyphénols et flavonoïdes totaux ont été déterminés par les méthodes de Folin-Ciocalteu et du trichlorure d'aluminium. Les résultats ont montré des teneurs significatives en polyphénols totaux (61,152 µg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait) et en flavonoïdes totaux (238,399 µg équivalent de quercétine/mg d'extrait) pour la fraction butanol. Ce résultat diffère de ceux de la littérature où c'est la fraction acétate qui contient la plus forte teneur en polyphénols totaux. La même fraction butanolique a montré un potentiel antioxydant et antiradicalaire remarquable (52,393 ± 2,059 µg équivalent de Trolox par mg et 33,749 ± 1,170 µg/mL respectivement). Ces fractions sont de bons candidats pour l'isolement de molécules antioxydantes.

Mots clés : *Newbouldia laevis*, antioxydants, flavonoïdes, polyphénols.

Abstract:

Newbouldia laevis (*N. laevis*) is a plant widely used by phytotherapists for its therapeutic virtues. The aim of our study was to highlight the antioxidant potential of *N. laevis* leaf macerates. The phytochemical profile of *N. laevis* leaves was assessed using colorimetric and chromatographic tests. The antioxidant properties of the various fractions were assessed using the DPPH and FRAP methods. Phytochemical screening revealed the presence of chemical groups including flavonoids, tannins and quinones in the various fractions. Total polyphenols and flavonoids were determined by the Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride methods. The results showed significant levels of total polyphenols (61.152 µg gallic acid equivalent/mg extract) and total flavonoids (238.399 µg quercetin equivalent/mg extract) for the butanol fraction. This result differs from those reported in the literature, where the acetate fraction contains the highest content of total polyphenols. The same butanol fraction showed remarkable antioxidant and free radical scavenging potential (52.393 ± 2.059 µg Trolox equivalent per mg and 33.749 ± 1.170 µg/mL respectively). These fractions are good candidates for the isolation of antioxidant molecules.

Key words: *Newbouldia laevis*, antioxidants, flavonoids, polyphenols.

INTRODUCTION

L'homme a toujours cherché à connaître la nature dans sa diversité afin de l'utiliser au profit de son bien-être. En effet l'homme se sert de la nature pour se nourrir, se soigner et prévenir certaines maladies. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, environ 80% de la population des pays en voie de développement font recours à la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaire [4], [5]. Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Toutes ces raisons ont poussé le monde scientifique dans ces dernières années à mettre l'accent sur l'étude des plantes médicinales afin de faciliter leur utilisation traditionnelle.

Ces plantes qui sont utilisées à des fins thérapeutiques constituent un réservoir naturel de métabolites secondaires [6], [7]. Ainsi ces métabolites secondaires sont doués d'activités biologiques [8].

Ces substances chimiques, sont rencontrées dans presque tous les organes de la plante. Parmi les métabolites secondaires, les composés phénoliques présentent un grand intérêt lié à leur pouvoir antioxydants et anticancérigène. En effet, il été montré que les flavonoïdes sont doués de propriétés biologiques diversifiées parmi lesquelles la prévention de diverses pathologies liées au stress oxydatif [9]. Par ailleurs des recherches ont permis de déduire que les composés phénolique jouent un rôle important dans la protection contre les maladies [10].

Au Burkina Faso comme dans le reste de l'Afrique, de nombreuses plantes sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner plusieurs maladies soit sous forme de décoction, d'infusion ou de macérât. C'est le cas de *Newbouldia laevis* (*N. laevis*) utilisé par les phytothérapeutes grâce à ses propriétés pharmacologiques.

Ce travail a pour objectif principal de contribuer d'une part à la connaissance phytochimique des extraits des feuilles de *N. laevis* d'une part et d'autre part d'étudier leur potentiel antioxydant. Plus spécifiquement de nous allons caractériser quelques groupes chimiques présents dans ces fractions ; évaluer les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins totaux dans l'ensemble des fractions préparées et évaluer éventuellement l'activité antioxydante des extraits obtenus.

1- MATÉRIELS ET MÉTHODES

2-1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *N. laevis* récoltées à Ouagadougou, capitale du Burkina Faso, aux coordonnées GPS 12°21'22"N 1°30'55"W. Le *N. laevis* a été identifié le 7 décembre 2021 sous le numéro 18017 et l'échantillon 6977. Il a été séché pendant deux semaines à température de laboratoire et à l'abri de la lumière. La matière végétale sèche a ensuite été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur.

2-2-Détermination du taux d'humidité résiduelle (THR) de la matière végétale

Prendre une prise d'essai P_0 triplicata ($P_0 = 1g$) dans un verre de montre et séché dans une étuve réglée à 105°C pendant 03h. Après refroidissement dans un dessiccateur, peser la prise d'essai étuvée et noter la masse P obtenue. Répéter l'étuvage pendant 30 minutes jusqu'à obtention d'une masse constante. Le taux d'humidité résiduelle est ensuite calculé à l'aide de la formule ci-dessous :

$$THR (\%) = \frac{P_0 - P}{P_0} \times 100$$

2-3- Méthode d'extraction

L'extraction des feuilles de *N. laevis* a été réalisée selon un protocole décrit par Ilboudo et al. (O. Ilboudo et al., 2016). En effet, 100 g de la poudre végétale ont été dégraissés à l'hexane. Après filtration et séchage, 50 g de cette poudre ont été macérés dans 500 mL d'un solvant hydroalcoolique (Ethanol-Eau 80/20 v/v) pendant 72 heures. Après filtration, le filtrat obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif jusqu'à un volume minimum. Le volume restant a ensuite été lyophilisé. 4,5 g de cet extrait brut ont été redissous dans 150 mL d'eau distillée suivi d'une extraction liquide-liquide avec des solvants de polarité croissante. Les différentes fractions obtenues ont été concentrées à sec et conservées au réfrigérateur (environ 4°C).

2-4- Dosage des polyphénols

2-5- Détermination des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques ont été dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard. 1mL de l'acide gallique et 1mL de carbonate de sodium sont ajoutés à 2mL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée). 1mL de l'extrait de plante est mélangé avec les mêmes réactifs comme décrit plus haut. Après incubation pendant 30 minutes à température ambiante, l'absorbance sera mesurée à 765nm. La moyenne de trois lectures a été utilisée et les résultats ont été exprimés en μg équivalent acide gallique (GAE) par milligramme d'extrait brut (μg GAE/mg).

2-6- Détermination des flavonoïdes totaux

La détermination des flavonoïdes totaux est faite selon la méthode de N. Strivastava en mélangeant 0,5mL de $AlCl_3$ 2% dans le méthanol à 0,5mL d'extrait de la plante. Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance sera lue à 420nm. L'apparition de la couleur jaune indique la présence des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes de l'échantillon, exprimée en microgramme (μg) d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait brut (μg EQ/mg), a été obtenue en faisant la moyenne de trois lectures différentes.

2-7- Evaluation des activités antioxydantes par la méthode DPPH

La méthode de mesure du pouvoir antioxydant par le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) repose sur la capacité d'un composé à réduire radical DPPH°. La capacité des extraits à réduire les radicaux libres de la DPPH a été déterminée par la méthode de KIM et al (2003). Ainsi 4mg de DPPH ont été dissout dans 100mL de méthanol et

10mg de chaque extrait dans 1mL de méthanol. Une série de dix (10) dilutions successives ont réalisées, à partir de la concentration mère.

Méthode de réduction du radical ABTS

Protocole

Une masse de 19,2 mg d'ABTS a été dissoute dans 5 mL d'eau distillée. 3,312 mg de persulfate de potassium y sont ajoutés et le mélange est gardé à l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 heures. 4,5 mL de ce mélange est ensuite dilué dans 220 mL de méthanol analytique.

Dilution et évaluation de l'activité antioxydante

A partir de la concentration mère des échantillon (1mg/mL) une série de douze (12) dilutions successives a été réalisée. Le trolox a été utilisé comme substance de référence. L'ensemble est mis à l'abri de la lumière pendant 10 minutes à 25°C et les absorbances sont lues à 734 nm au spectrophotomètre.

Méthode FRAP

Le test de FRAP a été effectué pour étudier le pouvoir réducteur selon la méthode de Piljac-Zegarac J et al. [11] avec quelques modifications.

Pour préparer le réactif FRAP, 0,312 g de TPTZ est dissout dans 100 mL d'une solution de HCl de concentration 40 mM. Ainsi, une solution de concentration finale en TPTZ de 10 mM est obtenue. Parallèlement, une solution tampon d'acétate est préparée. Pour ce faire, 2,56 g d'acétate de sodium sont dissouts dans 5,36 mL d'acide acétique (80 % pur) puis on complète avec de l'eau distillée jusqu'à 250 mL. En outre, une solution de chlorure de fer III ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) de concentration 20 mM est préparée en dissolvant 0,54g de FeCl_3 dans 100 mL d'eau distillée. Enfin, les solutions TPTZ-tampon acétate- FeCl_3 sont mélangées dans les proportions 1/10/1 (v/v/v) pour obtenir le réactif FRAP prêt à être utilisé pour les dosages.

2- RÉSULTATS

Taux d'humidité résiduelle

Le taux d'humidité résiduelle (THR) a été de (5.64±0.90) %. L'humidité, ainsi que la chaleur, les rayonnements, les microorganismes et les enzymes, constituent des causes de dégradation du matériel végétal. La teneur admise dans une drogue pour sa bonne conservation ne doit pas excéder 10% [12], [13], [14]. Le THR étant inférieur à 10% suggère que notre matériel végétal pourrait être conservé avec moins de risques de contamination et/ou d'altération des principes actifs.

3-1- Rendement d'extraction

La préparation des extraits à partir des feuilles de *N. laevis* a permis d'obtenir plusieurs fractions. Les résultats des différents rendements sont résumés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Les rendements du fractionnement liquide-liquide de la macération hydroalcoolique

Extrait ou Fractions	Masse (g)	Rendement (%)
Extrait brut	13.65	27.3
DCM	0,289	3,21
AcOET	0,3189	3,54
BuOH	2,2712	25,235
H ₂ O	3,433	38,141

L'analyse des résultats de ce tableau montre que le meilleur rendement d'extraction à l'issu du fractionnement est obtenu avec la fraction résiduelle (aqueuse) nous notons que le rendement augmente avec la polarité.

3-2-Screening phytochimique

Les différentes fractions ont été caractérisées par CCM et des tests colorimétriques dans l'optique de mettre en évidence les principaux groupes chimiques d'intérêt. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Résultats du criblage phytochimiques

Groupes chimiques recherchés						
Fractions	Flavonoïdes	Tanins	Quinones	Alcaloïdes	Saponines	Stérols/triterpènes
DCM	+	-	-	+	+	+
AcOET	+	+	+	+	+	+

BuOH	+	+	+	+	+	+
H₂O	+	+	+	-	-	-

Le screening phytochimique a mis en évidence dans les fractions la présence des groupes chimiques notamment les flavonoïdes, les tanins, les quinones, les alcaloïdes, les saponines, les stérols et les triterpènes. Au regard ces résultats les fractions acétate d'éthyle et butanolique seraient intéressantes pour l'évaluation des propriétés antioxydantes, des teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes totaux et tanins totaux.

3-3-Teneurs en composés phénoliques des extraits

L'ensemble des résultats obtenus sont représentés par le **tableau 3**.

Tableau 3 : Teneurs en composés phénoliques totaux (TCP) et en flavonoïdes totaux (TFT) des différentes fractions des feuilles de *N. laevis*

Fractions	TFT	TCP
	En µg EAG/mg des fractions	En µg EQ/mg des fractions
DCM	222,95 ± 3,82	118,91 ± 0,11
AcOET	504,17 ± 5,59	444,82 ± 5,08
BuOH	367,42 ± 1,40	247,36 ± 0,26
H₂O	70,30 ± 2,95	115,57 ± 0,64

Il ressort de ces résultats que la fraction acétate d'éthyle renferme les meilleures teneurs en composés phénoliques totaux et flavonoïdes totaux avec des valeurs estimées respectivement à 444,828 ± 5,081 et 504,173 ± 5,595 µg EAG/mg. La teneur élevée en polyphénols dans les fractions acétate d'éthyle est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires [15].

3-4-Teneur en tanin totaux

Il ressort que la fraction Acétate d'éthyle renferme la meilleure teneur en tanins totaux avec une valeur estimée à de 23,614 ± 0,938 µg EQ/mg d'extrait.

3-5-Teneur en activité antioxydante par les méthodes de DPPH et FRAP

Le tableau suivant représente les résultats obtenus lors de l'estimation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH et sont exprimés en µg ET/mg d'extrait.

Tableau 4 : Teneurs en antioxydants des fractions de *N. laevis* selon la méthode de DPPH et FRAP.

Fractions	DPPH	FRAP
	En µg EAG/mg des fractions	En µg EQ/mg des fractions
DCM	55,48 ± 0,28	106,79 ± 2,72
AcOET	278,67 ± 0,51	634,27 ± 4,90
BuOH	229,56 ± 1,81	616,72 ± 4,42
H₂O	170,70 ± 0,93	192,72 ± 4,35

Les meilleures activités antioxydantes par la méthode DPPH et FRAP ont été obtenues par la fraction AcOET estimées respectivement à 278,67 ± 0,51 et 634,27 ± 4,90 µg d'ET/mg d'extrait. Ces résultats sont en accord avec les teneurs en composés phénoliques totaux et conformément aux données de la littérature [16], [17].

3-6-Activité anti-radicalaire

Dans le but d'étayer les propriétés antioxydantes des différentes fractions de *N. laevis*, leurs propriétés anti-radicalaires ont été évaluées selon les méthodes DPPH et ABTS.

Tableau 5 : Activité anti-radicalaire du standard et des différentes fractions de *N. laevis*

Extraits/standard	Méthodes	
	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	ABTS IC ₅₀ (µg/mL)
DCM	62,054 ± 0,512	11,622 ± 0,303
AcOET	4,164 ± 0,085	2,61 ± 0,071
BuOH	11,454 ± 0,13	5,465 ± 0,022
H ₂ O	12,738 ± 0,153	10,416 ± 0,28

Trolox	3,093 ± 0,081	0,838 ± 0,027

L'analyse du tableau 4 montre que les activités antiradicalaires sont plus prononcées avec les fractions à l'acétate d'éthyle et au butanol. Les fractions butanol et acétate d'éthyle ont enregistré les plus faibles IC₅₀ montrant que les feuilles de *N. laevis* sont dotées des propriétés anti-radicalaires. Ces résultats pourraient s'expliquer par la présence remarquable des composés phénoliques notamment les flavonoïdes des fractions acétate et butanolique.

3- CONCLUSION

Le screening chimique réalisé sur les différentes fractions montre la présence des flavonoïdes, les tanins, les quinones, les alcaloïdes, les saponines, les stérols et les triterpènes. En outre les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins totaux, les fractions acétate d'éthyle et butanolique ont montré les meilleures teneurs. Les fractions acétate d'éthyle et butanolique ont présenté également les meilleurs pouvoirs antioxydants. Cependant les deux fractions pourront utiliser pour poursuivre la purification afin d'aboutir à la détermination structurale des composés desdites fraction.

- [1] A. Cossi *et al.*, « Analyse des connaissances traditionnelles et des déterminants relatifs à l'utilisation de *Newbouldia laevis* (P.Beauv.) Seemann ex Bureau (Bignoniaceae) au Sud-Bénin », janv. 2018.
- [2] R. Ngono, M. Abondo, J. Ngoupayo, B. Tchaleu, F.-V. Beyene, et A. P. Minyem Ngombi Epouse Afuh, « Standardization of *Newbouldia laevis* Powdered Pulps Minyem Ngombi et al Article Original Standardization of *Newbouldia Laevis* Powdered Pulps Standardisation des écorces de tronc de *Newbouldia laevis* », oct. 2018.
- [3] I. U. Okagu, J. C. Ndefo, et M. O. Agbo, « Trado-Medical uses, Chemical Constituents and Biological Activities of *Newbouldia laevis* (Bignoniaceae): A Review », *Pharm. Sci.*, p. 1, mai 2021, doi: 10.34172/PS.2021.29.
- [4] *Encyclopedie des plantes médicinales : [identification, préparations, soins.* 2002.
- [5] « Pharmacopée d'Afrique de l'Ouest »
- [6] « Phenolic Content and Antioxidant Activity of Six Acanthaceae from Burkina Faso », *Science Alert*.
- [7] S. W. Richard, L. Marius, S. Noya, G. Innocent Pierre, et N.-O. O. Germaine, « Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of *Lepidagathis anobrya* Nees (Acanthaceae) », *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. AJTCAM*, vol. 8, n° 4, p. 420-424, 2011.
- [8] J. H. Salem, « Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique », p. 271.
- [9] S. C. Renaud, R. Guéguen, J. Schenker, et A. d'Houtaud, « Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France », *Epidemiol. Camb. Mass*, vol. 9, n° 2, p. 184-188, mars 1998.
- [10] F. M. Nsemi, « Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques », p. 296.
- [11] J. Piljac-Žegarac, « Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honeys », *J. ApiProduct ApiMedical Sci.*, vol. 1, n° 2, p. 43-50, avr. 2009.
- [12] A. Kassahun, « Chemical Composition and Physico-Chemical Analysis of *Eucalyptus Globulus* Leave and Oil », *Sci. J. Chem.*, vol. 7, n° 2, p. 36, 2019.
- [13] J. Yoda, B. Ouedraogo, S. Siaka, F. B. Kini, A. Djandé, et A. Saba, « Phytochemical investigation of five herbal teas useful in mental disorders treatment », *Int. J. Chem. Stud.*, vol. 8, n° 5, p. 2393-2397, sept. 2020.
- [14] B. Ouedraogo, J. Yoda, F. Kini, J. Claude Ouedraogo, M. Lompo, et S. Ouedraogo, « Research of Bioactive Chemical Markers in Trunk Bark Extracts of *Anogeissus leiocarpa*, a Traditional Herbal Remedy for Hypertension », *Am. J. Appl. Chem.*, vol. 8, n° 1, p. 6, 2020.
- [15] N. Ghedadba, H. Bousselsela, L. Hambaba, B. Souhila, et Y. Mouloud, « Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of the leaves and flowered tops of *Marrubium vulgare* L. », *Phytotherapie*, vol. 12, p. 15-24, janv. 2014.
- [16] N. Bougandoura et N. Bendimerad, « Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. », *Rev. Nat. Technol.*, vol. 5, n° 2, p. 14-19, juin 2013.
- [17] P. Siddhuraju et K. Becker, « The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts », *Food Chem.*, vol. 101, n° 1, p. 10-19, janv. 2007.

Synthèse et Activités des dérivés Coumarines hydrazides-hydrazones

Dro Monlé Méléne^{1*}, Kouassi Allegra¹, Coulibaly Souleymane¹, Ballo Daouda¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

Auteur correspondant : * E-mail : dromonlemelene@gmail.com

Résumé

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur l'exploration des propriétés antifongiques des coumarines, des composés organiques naturels reconnus pour leurs applications médicinales diverses. L'objectif de cette étude était de synthétiser une série de nouvelles molécules coumarines N-acylhydrazone dans le but de développer des agents antifongiques efficaces. La synthèse de dix (10) dérivés a été réalisée en cinq (5) étapes, avec des rendements allant de 40 à 60 %. Les produits obtenus ont été purifiés par lavage et caractérisés par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN ¹H et ¹³C) ainsi que par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS). Cette approche a permis d'obtenir des composés purs, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la conception de molécules hydrazides-hydrazones. Ces nouvelles entités chimiques seront soumises à des tests d'activité antifongique pour évaluer leur efficacité dans le traitement des infections fongiques. De plus, nous envisageons d'étudier en détail leurs différentes conformations, ce qui pourrait fournir des informations cruciales pour la conception rationalisée de composés plus actifs et sélectifs. En somme, cette étude représente une avancée significative dans la recherche sur les composés coumariniques à visée médicinale mais également à de futures investigations visant à exploiter pleinement le potentiel thérapeutique des hydrazides-hydrazones.

Mot-clés : Coumarines, Hydrazide-Hydrazone, activité anti-fongique

Synthesis and Activity of Coumarin Hydrazide-hydrazone derivatives

Abstract

In this investigation, our focus was directed towards elucidating the antifungal properties inherent to coumarins, naturally occurring organic compounds renowned for their diverse medicinal applications. The objective of this study was to synthesize a novel series of N-acylhydrazone coumarin derivatives with the explicit objective of engineering efficacious antifungal agents. The synthesis of ten (10) derivatives was accomplished through a meticulously five (5)-step process, with yields ranging between 40% to 60%. Post-synthesis, the products were purified by washing, followed by comprehensive characterization employing both proton and carbon nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H and ¹³C NMR) in conjunction with high-resolution mass spectrometry (HRMS). This synthetic allowed to obtain pure compounds, thereby forging new avenues for the rational design of hydrazide-hydrazone molecules. Subsequently, these novel chemical entities will be subjected to antifungal activity assays to assess their efficacy in combatting fungal infections. Furthermore, we intend to delve into a detailed exploration of their diverse conformations, anticipating that such investigations will furnish pivotal insights conducive to the rationalized design of compounds exhibiting heightened activity and selectivity.

In summation, this study constitutes a notable advancement in medicinal coumarin research, while concurrently laying the groundwork for forthcoming endeavors aimed at harnessing the full therapeutic potential of hydrazide-hydrazone derivatives.

Keywords : Coumarins, Hydrazide-Hydrazone, anti-fungal activity

1. Introduction

Les coumarines sont des métabolites hétérocycliques secondaire issus des plantes. Leur squelette est composé d'anneaux fusionnés de benzène et d' α -pyrone [1]. Des études cliniques et expérimentales ont montré que les coumarines possèdent des activités pharmacologiques remarquables telles que des activités anticancéreuses [2], [3], antioxydantes [4], anti-inflammatoires [5], antibactériennes [6], mais aussi des propriétés cytotoxiques [7]. Grâce à ces nombreuses propriétés pharmacophores, les coumarines présentent un intérêt particulier et sont considérées comme des cibles prometteuses pour diverses stratégies de synthèse. En conséquence, plusieurs composés contenant le fragment coumarine ont été synthétisés par différents procédés chimiques [7], [8].

Cependant lors de nos recherches bibliographiques sur les coumarines, nous avons constaté peu d'études traitant du 2-(3-oxochromeno[2,3-c]pyrazol-2(3H)-yl)acetohydrazone et de ses dérivés.

C'est dans ce cadre que nos recherches se sont orientées vers les dérivés de ce synthon dans l'optique d'évaluer leur potentielle efficacité antifongique et leurs différentes conformations.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériels

Les différents réactifs et solvants ont tous été obtenus auprès de Sigma Aldrich et ont été utilisés sans purification supplémentaire, sauf indication contraire. Les réactions chimiques ont été suivies par chromatographie analytique sur couche mince (CCM) sur des plaques Merck 60 F254 et visualisées à l'aide de lampe ultraviolet (6W, 254nm

,365nm). Les spectres RMN sont enregistrés sur un spectromètre Advance 300 Mhz. Le pic du solvant résiduel pris comme référence est le DMSO-*d*₆ de déplacement chimique 2,50 ppm à température ambiante. Les assignations RMN ¹H, les déplacements chimiques sont donnés en ppm sur l'échelle δ. Les abréviations suivantes ont été utilisées pour décrire les spectres des protons ; s (singulet), d (doublet), dd (doublet de doublets), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet) et qualifiées en outre d'app (apparent), br (signal large) les constantes de couplage, *J* sont indiquées en Hz. Les points de fusion des composés solides ont été mesurés à l'aide d'un banc Köfler allant jusqu'à 266°C.

2.2 Méthodes de synthèse

Méthode de synthèse de l'éthyl 2-oxo -2*H*-chromene-3-carboxylate (1)

Dans un ballon de 100 mL contenant (47,90 mmol, 1 éq) d'aldéhyde salicylique, on ajoute (47,90 mmol, 1 éq) de malonate de diéthyle puis quelques gouttes de pipéridine. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante et suivi puis par CCM pendant 1 heure. De l'acide chlorhydrique (HCl à 10%) est ensuite ajouté au brut réactionnel et le précipité obtenu est filtré, séché puis purifié par chromatographie sur gel de silice par un éluant Hexane/acétate d'éthyle (90/10). On obtient l'éthyl 2-oxo -2*H*-chromene-3-carboxylate (1) avec un rendement de 95%.

Méthode de synthèse du chroméno [2,3-*c*]pyrazol-3(2*H*)-one (2)

Dans un ballon contenant 5 mL d'éthanol, sont ajouté (1 mmol, 1 éq) du composé 1 puis (9,16 mmol, 2 éq) d'hydrazide hydraté goutte à goutte. Le mélange a été agité et chauffé entre 60 et 70°C pendant 30 minutes. Le précipité formé a été filtré, lavé avec 2 mL d'éthanol puis recristallisé dans l'éthanol pour donner 87% de chroméno [2,3-*c*]pyrazol-3(2*H*)-one (2) sous forme de poudre jaunâtre.

Méthode de synthèse de méthyl 2-(3-oxochromeno[2,3-*c*]pyrazol-2(3*H*)-yl)acétate (3)

Dans un ballon de 50 mL contenant 5 mL de DMF, on dissout (1 mmol, 1 éq) du composé 2 puis (4 mmol, 4 éq) du composé 1. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 1 heure puis du chloroacétate de méthyle est ajouté ; le tout est chauffé à 70°C. La réaction est suivie par CCM et de l'eau est ajoutée au mélange réactionnel en fin de réaction. Le précipité obtenu est filtré, séché puis purifié par chromatographie sur gel de silice par un éluant Hexane/acétate d'éthyle (80/20) pour donner le méthyl 2-(3-oxochromeno[2,3-*c*]pyrazol-2(3*H*)-yl)acétate (3) avec un rendement de 70%.

Méthode de synthèse de 2-(3-oxoxchromeno[2,3-*c*]pyrazol-2(3*H*)-yl)acetohydrazide (4)

Dans un ballon contenant 10 mL d'éthanol, ont été ajouté (1 mmol, 1 éq) du composé 3 puis (4 mmol, 4 éq) d'hydrazide hydraté goutte à goutte. Le mélange a été agité et chauffé entre 60 et 70°C pendant 6 heures. Le précipité formé a été filtré, lavé avec 5 mL d'éthanol pour obtenir 78% du 2-(3-oxoxchromeno[2,3-*c*]pyrazol-2(3*H*)-yl)acetohydrazide sous forme de poudre beige.

Procédure générale pour la synthèse des dérivés de la N'-benzylidene-2-(3-oxochromeno[2,3-*c*]pyrazol-2(3*H*)-yl)acetohydrazide (5)

Dans un ballon de 50 mL contenant 5 mL de méthanol, on dissout (1 mmol, 1 éq) du composé 4 et (1 mmol, 1 éq) de différents aldéhydes aromatiques. Ensuite, deux gouttes d'acide acétique ont été ajoutées au mélange réactionnel puis porté à reflux pendant 24 heures. A la fin de la réaction et après refroidissement à température ambiante du milieu réactionnel, le précipité formé a été filtré, séché pour donner les composés 6a-j avec des rendements compris entre 40 et 60%.

3. Résultats et discussion

Les dérivés N-acylhydrazone à base coumarine ont été synthétisés à partir de différents composés selon la voie indiquée dans le schéma 1.

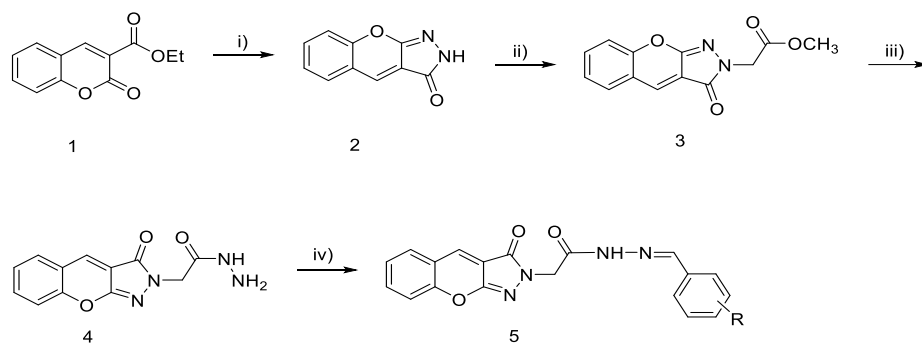


Schéma 1 : Voie de synthèse des dérivés de 2-(3-oxochromeno[2,3-c]pyrazol-2(3H)-yl)acétohydrazide
 i) NH_2NH_2 , EtOH reflux 30 min ; ii) K_2CO_3 , DMF, chloroacétate de méthyle 5heures; iii) NH_2NH_2 , EtOH reflux 24heures ; iv) ArCHO , MeOH, AcOH reflux 24heures.

La synthèse des composés **5a-j** a été réalisée en plusieurs étapes. La première de ces étapes est une condensation de Knoevenagel [9] qui se produit entre l'aldéhyde salicylique et le malonate de diéthyle en présence de la pipéridine pour obtenir l'éthyl 2-oxo-2H-chromène-3-carboxylate (**1**). La synthèse du composé **2** est une réaction de substitution nucléophile entre le composé **1** et l'hydrazine hydratée. Cette réaction est suivie d'une cyclisation intramoléculaire pour donner le composé chroméno[2,3-c]pyrazol-3(2H)-one (**2**). Le composé **3** est obtenu selon la méthode décrite par Ablo et al. [10]. Elle consiste en une réaction de substitution nucléophile de type N-Alkylation. En effet, l'amine secondaire du composé **2** est déprotonée à l'aide du carbonate de potassium dans le DMF à température ambiante pendant 1 heure. Puis le chloroacétate de méthyle est ajouté au milieu réactionnel et la réaction se poursuit à 65°C pendant 5 heures. Après traitement du brut réactionnel, le méthyl 2-(3-oxochroméno[2,3-c]pyrazol-2(3H)-yl)acétate (**3**) est isolé avec un rendement de 65%. La troisième étape est à nouveau une réaction de substitution nucléophile entre le composé **3** et l'hydrazine hydraté dans l'éthanol à chaud. Après de nombreux essais, les paramètres optimaux retenus pour obtenir le 2-(3-oxochroméno[2,3-c]pyrazol-2(3H)-yl)acétohydrazide (**4**) avec un rendement de 60% sont une température de 75°C et un temps de réaction de 24 heures. Le composé **4** a un point de fusion de 250°C. La série des composés **5a-j** a été obtenu par condensation du composé **4** avec dix aldéhydes aromatiques au reflux du méthanol, avec l'ajout de quelques gouttes d'acide acétique. Le précipité formé est filtré, lavé au méthanol puis à l'acétate d'éthyle. Les rendements et les points de fusion sont consignés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Caractéristiques des composés **5a-j**

Produits	Structure générale	R	Rendements %	Point de fusion °C
5a		H	40	>260
5b		4-OCH ₃	39	>260
5c		4-F	50	180
5d		4-Cl	50	>260
5e		2-OH	60	>260
5f		3-Br	55	>260
5g		2-NO ₂	53	>260
5h		4-N(CH ₃) ₂	36	>260
5i		3-NO ₂	41	>260
5j		4-OH	29	>260

4. Conclusion

Au cours de ce travail, il nous a été possible de mettre au point une nouvelle série de coumarines N-acylhydrazone. En attente de confirmation de tous les composés en RMN et HRMS, nous nous sommes basés sur les différences de point de fusion (Pf). En comparaison avec le Pf du composé **4**, on peut entrevoir la formation de nouveaux composés. Dans la suite de nos travaux, nous prévoyons d'étudier en détail leurs différentes conformations en vue de réaliser des composés plus actifs et ayant un réel potentiel biologique.

5-Bibliographie

- [1] L. C. Di Stasi, « Coumarin Derivatives in Inflammatory Bowel Disease », *Molecules*, vol. 26, n° 2, p. 422, janv. 2021, doi: 10.3390/molecules26020422.
- [2] L. A. Alshabanah, L. A. Al-Mutabagani, S. M. Gomha, et H. A. Ahmed, « Three-Component Synthesis of Some New Coumarin Derivatives as Anticancer Agents », *Frontiers in Chemistry*, vol. 9, p. 762248, janv. 2022, doi: 10.3389/fchem.2021.762248.
- [3] N. S. Goud, P. Kumar, et R. D. Bharath, « Recent Developments of Target Based Coumarin Derivatives as Potential Anticancer Agents », *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 20, n° 17, p. 1754-1766, nov. 2020, doi: 10.2174/1389557520666200510000718.
- [4] H. Lijuan, H. Bing, X. Zhiwei, et Y. Chunyan, « One-pot synthesis of potential antioxidant agents, 3-carboxylate coumarin derivatives », *Journal of Medicinal Plants Research.*, vol. 9, n° 13, p. 435-444, avr. 2015, doi: 10.5897/JMPR2014.5731.
- [5] H. M. Alshibl *et al.*, « Synthesis and Evaluation of New Coumarin Derivatives as Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Inflammatory Agents », *Molecules*, vol. 25, n° 14, p. 3251, juill. 2020, doi: 10.3390/molecules25143251.
- [6] H.-L. Qin, Z.-W. Zhang, L. Ravindar, et K. P. Rakesh, « Antibacterial activities with the structure-activity relationship of coumarin derivatives », *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 207, p. 112832, déc. 2020, doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112832.
- [7] M. Lončarić, D. Gašo-Sokač, S. Jokić, et M. Molnar, « Recent Advances in the Synthesis of Coumarin Derivatives from Different Starting Materials », *Biomolecules*, vol. 10, n° 1, p. 151, janv. 2020, doi: 10.3390/biom10010151.
- [8] W. Liu *et al.*, « Design, synthesis and biological evaluation of novel coumarin derivatives as multifunctional ligands for the treatment of Alzheimer's disease », *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 242, p. 114689, nov. 2022, doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114689.
- [9] L. Dinparast *et al.*, « Rapid, Efficient, and Green Synthesis of Coumarin Derivatives via Knoevenagel Condensation and Investigating Their Biological Effects », *ChemistrySelect*, vol. 4, n° 31, p. 9211-9215, août 2019, doi: 10.1002/slct.201901921.
- [10] A. Evrard *et al.*, « Design, Synthesis and *in Vitro* Antibacterial Activity of 2-thiomethyl-benzimidazole Derivatives », *Advances in Biological Chemistry*, vol. 11, n° 04, p. 165-177, 2021, doi: 10.4236/abc.2021.114012.

La Déliline DAD3.473 : un nouvel inhibiteur d'orai1 pour la régulation SOCE (Store Operated Calcium Entry) dans le cancer du pancréas

Voli Lou Anna Laetitia Rosine ^{1,2}, Dago Délilo Camille ^{1,2}, Asséké Amandine ^{1,2}, Mignen Olivier ³, Békro Yves-Alain ², Mamyrbekova-Békro Janat Akhanovna ², Jean-Pierre Bazureau ¹

¹ Institut des Sciences Chimiques de Rennes ISCR UMR CNRS 6226, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, Bât. 10A, CS 74205, 263 Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cédex, France

² Laboratoire de Chimie Bio-Organique & de Substances Naturelles LCBOSN, Université Nangui Abrogoua, Voie Express d'Abobo-Adjamé, 02 BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire

³ Lymphocytes B et Auto-Immunité LBAI, Inserm U1227, CHU Morvan, Université de Bretagne Occidentale, 22 Avenue Camille Desmoulins, 29200 Brest Cedex, France

Résumé : Le canal calcique Orai1 est considéré actuellement comme une cible émergente et pertinente dans le cancer en raison de sa contribution notamment dans la migration/invasion cellulaire et la propagation métastatique. De ce fait, ce canal calcique représente une piste thérapeutique prometteuse et l'accessibilité à un inhibiteur sélectif est un défi pour le traitement préventif des métastases. Les Délilines constituent une nouvelle famille d'inhibiteurs sélectifs brevetés ciblant l'influx SOCE contrôlé par la protéine Orai1. Ainsi, lors d'une étude de Relation Structure Activité, la Déliline DAD3.473 synthétisée en trois étapes et comportant le noyau benzimidazole a été identifiée comme "hit" particulièrement actif sur les cellules du carcinome pancréatique PANC1. Ce travail a donc pour objectif d'aboutir à une stratégie anti-cancéreuse originale en ciblant le canal calcique Orai1. La pharmacocinétique *ex vivo* par HPLC-SM de la Déliline DAD3.473 à divers pH a montré la stabilité de celle-ci. En outre, la toxicité aiguë de cette molécule sur modèle animal, révèle que la DAD3.473 ne présente pas de caractère de toxicité jusqu'à une dose de 120 mg/kg/souris. La Déliline DAD3.473 étant meilleure que les molécules de référence concernant l'inhibition de l'influx SOCE, la connaissance de son mécanisme d'action s'avère donc nécessaire.

Mots clés : Déliline, SOCE, Inhibiteur d'orai1, Cancer du pancréas

Abstract: The Orai1 calcium channel is currently considered an emerging and relevant target in cancer due to its contribution to cell migration/invasion and metastatic spread. Therefore, this calcium channel represents a promising therapeutic avenue and accessibility to a selective inhibitor is a challenge for the preventive treatment of metastases. Delikines constitute a new family of patented selective inhibitors targeting SOCE influx controlled by the Orai1 protein. Thus, during a Structure Activity Relationship study, Delikine DAD3.473 synthesized in three steps and comprising the benzimidazole nucleus was identified as a particularly active "hit" on PANC1 pancreatic carcinoma cells. This work therefore aims to achieve an original anti-cancer strategy by targeting the Orai1 calcium channel. *Ex vivo* pharmacokinetics by HPLC-MS of Delikine DAD3.473 at various pH showed its stability. In addition, the acute toxicity of this molecule in an animal model reveals that DAD3.473 does not present any toxic characteristics up to a dose of 120 mg/kg/mouse. Delikine DAD3.473 being better than the reference molecules regarding the inhibition of SOCE influx, knowledge of its mechanism of action is therefore necessary.

Keywords: Delikine, SOCE, Orai1 Inhibitor, Pancreatic cancer

1. Introduction

Le calcium est l'une des entités minérales de signalisation les plus polyvalentes et universelles, il est connu pour réguler de nombreuses activités cellulaires, allant des réponses à court terme telles que la contraction et la sécrétion au contrôle à long terme, à savoir la transcription, la division et la mort cellulaire. L'un des paradoxes entourant l'ion Ca^{2+} est que celui-ci est un signal pour la vie et la mort de la cellule [1]. De ce fait, pour bien décoder ce signal calcique divers acteurs et différentes voies de transduction sont donc nécessaires notamment la voie de transduction SOCE. Par définition, les influx SOCE sont les entrées calciques dépendantes des stocks intracellulaires [2], cette voie de transduction pour son fonctionnement a besoin de deux familles de protéines à savoir les protéines STIM (Stromal Interaction Molecule) (STIM1 et STIM2), qui fonctionnent comme des capteurs de Ca^{2+} dans le réticulum endoplasmique et les Orai (Orai1, Orai2 et Orai3), qui fonctionnent comme des sous-unités composant les pores des canaux SOC (Store-Operated Ca^{2+} channels) [3]. L'implication des influx SOCE et des protéines Orai dans les processus cancéreux a été démontrée dans de nombreux cancers aussi bien dans la tumorigénèse que dans la progression de la tumeur (métastase, invasion cellulaire, angiogenèse) [4]. En outre, de nombreux travaux suggèrent que les protéines Orai puissent être considérées comme des cibles thérapeutiques dans le cancer du pancréas [5] mais aussi dans le cancer de la prostate [6], du colon [7], ou encore du poumon [8]. Les protéines Orai étant d'ores et déjà identifiées comme des cibles potentielles pour une intervention thérapeutique dans de nombreux cancers, il est donc impératif de développer des modulateurs pharmacologiques des protéines Orai qui pourront prendre place dans les traitements des pathologies impliquant ces protéines. À ce jour, il existe un grand nombre d'inhibiteur SOCE/Orai1 cité dans la littérature : SKF-96365 [9], la GSK-7975A, la Synta 66 [7] etc. Cependant, aucun d'eux n'a fait l'objet d'étude pré-clinique et clinique

en ce qui concerne le cancer. C'est dans ce contexte que ces travaux ont été initiés dans le but d'aboutir à une stratégie anti-cancéreuse originale en ciblant le canal calcique Orai1.

2. Matériel et Méthode

2.1. Section Chimie

2.1.1. Remarques générales

Tous les réactifs et solvants ont été achetés auprès d'Acros Fisher et Merck Sigma-Aldrich, ils ont été utilisés sans autre purification. La Chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des plaques pré revêtues de 0,2 mm de gel de silice 60 F-254 (Merck) avec un éluant approprié. La visualisation a été réalisée avec de la lumière ultraviolette (254 et 365 nm). Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés sur le spectromètre BRUKER AC 300 Avance III (300 MHz), les spectres RMN ^{13}C sur le spectromètre BRUKER AC 300 Avance III (75 MHz) en utilisant du DMSO- d_6 avec du tétraméthylsilane comme référence interne. Les déplacements chimiques sont exprimés en parties par million en aval. Les données sont données dans l'ordre suivant : valeur δ , multiplicité (s, singulet ; d, doublet ; t, triplet ; q, quadruplet ; quint : quintuplet, m, multiplet ; br, large), nombre de protons, constantes de couplage J est donné en Hertz. Les spectres de masse haute résolution (HRMS) ont été enregistrés en mode positif par infusion directe par Electrospray (ESI), respectivement sur un spectromètre Waters Q-ToF 2 ou sur un spectromètre Thermo Fisher Scientific Q-Exactive au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest CRMPO ScanMAT (plateforme CRMPO, ScanMAT UAR 2025 CNRS, Rennes, France). Les points de fusion ont été déterminés sur un appareil à point de fusion Kofler et n'ont pas été corrigés. Les solvants ont été évaporés avec un évaporateur rotatif BUCHI.

2.1.2. Protocole de synthèse de la Délíkine DAD3.473

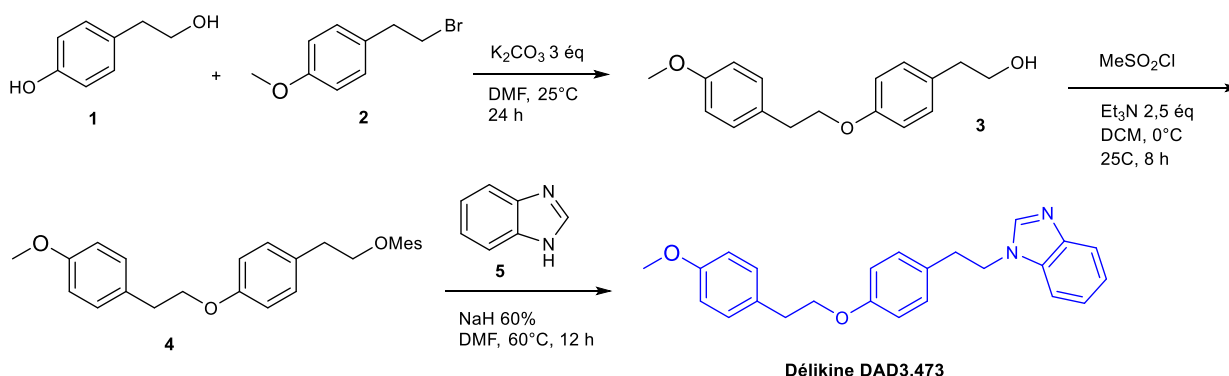


Schéma 1 : Synthèse de la Délíkine DAD3.473

• Obtention du 2-(4-[4-méthoxyphénéthoxy]phényl)éthanol (**3**)

À une solution de 4-(2-hydroxyéthyl)phénol **1** (3,75 g ; 27,14 mmol ; 1 équ.) dans 15 mL de *N,N*-diméthylformamide (DMF) sous agitation magnétique est ajouté par portions 11,25 g de carbonate de potassium K_2CO_3 (8,43 mmol ; 3 équ.). Puis cette suspension est agitée à 25°C pendant 30 min. Ensuite, le 1-(2-bromoéthyl)-4-méthoxybenzène **2** (5,84 g ; 27,14 mmol ; 1 équ.) y est ajouté par petites portions et le mélange est maintenu sous agitation magnétique à 25°C pendant 24 h. (Suivi réactionnel par chromatographie sur couche mince sur plaques de 0,2 mm de gel de silice 60F-254 merck en utilisant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95 : 5 v/v comme éluant). À la fin de la réaction, 150 mL d'eau déionisée sont ajoutés au milieu réactionnel, puis la suspension résultante est agitée manuellement pendant 15 min et est refroidie à 4°C (réfrigérateur) pendant 8 h pour promouvoir la précipitation du produit attendu. Le précipité est ensuite collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4 d'un Büchner, puis est lavé avec 3 x 50 mL d'eau et le résidu solide est suspendu dans 20 mL d'hexane. Cette suspension est vigoureusement agitée durant 3 h puis filtrée sur papier filtre de cellulose, le solide obtenu est lavé avec 13 mL d'hexane. Le solide résultant a ensuite été séché sous le vide d'une pompe à palette (10^{-3} Torr) et a donné le composé **3** souhaité sous forme de poudre blanche. Le composé **3** s'est révélé suffisamment pur pour être utilisé ultérieurement sans autre purification.

• Obtention du méthanesulfonate de 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthyle (**4**)

Une solution de chlorure de méthanesulfonyle (2,55 g ; 22,2 mmol ; 2 équ.) dans 3,5 mL de dichlorométhane anhydre est ajoutée goutte à goutte à une solution de 2-(4-[4-méthoxyphénéthoxy]phényl)éthanol **3** (3 g ; 11,1 mmol ; 1 équ.) et de triéthylamine (1,12 g ; 27,75 mmol ; 2,5 équ.) dans 8 mL de dichlorométhane anhydre à 0°C (bain de glace) sous agitation magnétique (500 rpm) pendant 15 min. Ce mélange est ensuite agité à 25°C pendant

24 h. À la fin de la réaction, 15 mL de dichlorométhane sont ajoutés au milieu réactionnel puis la solution résultante est transférée dans une ampoule à décanter qui est lavée successivement avec de l'eau déionisée (3 x 60 mL) et une solution saturée de NaHCO_3 (3 x 60 mL). La phase organique est ensuite séchée sur du MgSO_4 anhydre, puis filtrée sur du papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif. Après repos, l'huile visqueuse obtenue cristallise progressivement et donne le composé **4** désiré sous forme d'un solide blanc. Celui-ci est séché sous le vide d'une pompe à palette (10^{-3} Torr) pendant 30 min à l'ambiante.

- Obtention du 1-(4-[4-Méthoxyphénéthoxy]phénéthyl)-1H-benzo[d]imidazole (Déliquine DAD3.473)

À une solution de benzimidazole (2 mmol) dans 3,4 mL de *N,N*-diméthylformamide (DMF) est ajoutée en petites portions du NaH à 60% de dispersion dans de l'huile minérale (2 mmol). La suspension résultante est agitée magnétiquement (500 rpm) pendant 5 min. Ensuite, le méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle (1 mmol) est ajouté et le mélange réactionnel est chauffé sous agitation à 60°C pendant 24 h. Après refroidissement du milieu réactionnel à 25°C, 14 mL d'eau déionisée sont ajoutés à ce milieu. Le ballon est agité manuellement pendant 10-15 min puis conservé à 4°C (réfrigérateur) pendant 8 h. jusqu'à précipitation complète. L'insoluble est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4 d'un Büchner et le précipité est lavé avec de l'eau déionisée (3x10 mL). Le solide résultant est séché sous le vide d'une pompe à palette (10^{-2} Torr) pendant 30 min. à l'ambiante et conduit au composé attendu sous la forme d'une poudre blanche.

2.2. Section Biologie

2.2.1. Tests SOCE "Store-Operated Calcium Entry"

- Protocole Ca^{2+} Cytosolique

Pour les expériences Ca^{2+} , les cellules lymphocytaires PLP-B ont été ensemencées pendant la nuit dans une plaque à fond transparent noir de 96 puits (Corning Réf : 3603) à raison de 50×105 cellules/puits dans 100 μL de milieu de culture. Le milieu de repos a été aspiré et les cellules ont été chargées de fluorochrome Fura-2 acétoxyméthylester (Fura-2 QBTTM). 80 μL par puits et incubé 1h à 37 °C, 5% CO_2 . Le Fura-2 QBTTM a été aspiré et remplacé par un volume égal de solution libre tamponnée Ca^{2+} Hepes (en mM : 135 NaCl, 5 KCl, 1 MgCl_2 , 1 EGTA, 10 Hepes, 10 glucoses, pH ajusté à 7,45 avec NaOH contenant le composés testés ou contrôle DMSO et incubés pendant 5 minutes à 37 °C jusqu'à l'évaluation du niveau de calcium sur l'instrument FlexStation 3TM.

- Mesure des niveaux de calcium intracellulaire

Les niveaux de calcium intracellulaire ont été surveillés à l'aide du FlexStation 3TM (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA), un lecteur de plaque à fluorescence mesurant la concentration de Ca^{2+} intracellulaire résolue dans le temps dans un format à 96 puits avec le colorant fluorescent sensible au calcium Fura à double longueur d'onde. La capacité de longueur d'onde d'excitation double permet des mesures ratiométriques des émissions maximales de Fura-2AM (510 nm) après des excitations à 340 (lié au Ca^{2+}) et 380 nm (non lié au Ca^{2+}). Les modifications du rapport 340/380 reflètent des changements dans les concentrations de Ca^{2+} libre intracellulaire. La température de la FlexStation 3TM était réglée à 37 °C pendant l'acquisition des données. Une solution de Thapsigargine (2 μM) et une solution tamponnée Hepes avec Ca^{2+} contenant (en mM) : 135 NaCl, 5 KCl, 1 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 Hepes, 10 glucoses, pH ajusté à 7,45 avec NaOH ont été ajoutées à partir d'une plaque de 96 puits de réservoir pendant le test de mobilisation du calcium exécuté à 100 et 750 s, respectivement. Les paramètres de configuration expérimentale ont été optimisés (hauteurs des pipettes, volumes et taux d'ajouts) pour minimiser la perturbation des cellules tout en assurant un mélange rapide. Les données ont été stockées pour une analyse ultérieure à l'aide des logiciels SoftmaxPro (Molecular Devices), Excel et Graph Pad Prism.

- Mesure de l'influx SOCE

Les réserves intracellulaires de Ca^{2+} ont été épuisées avec 2 μM de Thapsigargine, un inhibiteur des pompes SERCA du Réticulum Endoplasmique dans des conditions sans Ca^{2+} , afin de déterminer l'ampleur de la libération intracellulaire de Ca^{2+} . Ensuite, les cellules ont été remises dans une solution tamponnée Hepes contenant du Ca^{2+} pour mesurer l'influx SOCE. L'ampleur du SOCE a été estimée comme les valeurs maximales du rapport F340/F380 normalisé après la réinjection de Ca^{2+} .

2.2.2. Analyse de la prolifération cellulaire

Les mesures de prolifération cellulaire ont été réalisées sur les cellules cancéreuses du pancréas (PANC-1) ; 10^6 cellules ont été ensemencées dans des plaques à 96 puits dans 100 μL de milieu DMEEM. Les cellules ont été incubées pendant 24 h à 37 °C avec 3 inhibiteurs différents à 2 concentrations différentes (5 et 20 μM) par rapport au DMSO et aux cellules non traitées. La prolifération cellulaire a été évaluée à l'aide du test de prolifération du

kit Cell Titer (promega). Le kit a été utilisé suivant les recommandations du fabricant et à l'aide d'un lecteur de plaques.

2.2.3. Tests de toxicité

La toxicité aigüe de la Délikine DAD3.473 sur modèle animal a été réalisée selon le protocole « Acute oral toxicity : up-and-down procedure » OECD 425 [10].

3. Résultats et discussion

3.1. Section Chimie

- Synthèse de la Délikine DAD3.473

2-(4-[4-Méthoxyphénéthoxy]phényl)éthan-1-ol

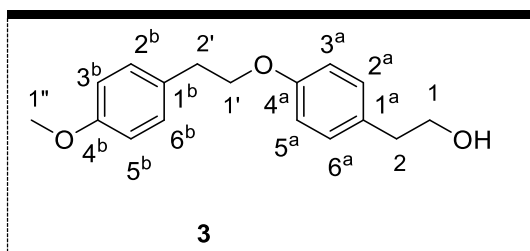
Aspect du produit : Poudre blanche

Rdt (%) : 41

F(°C) : 73-74

SMHR, m/z : 295,1310 trouvée (calculée pour

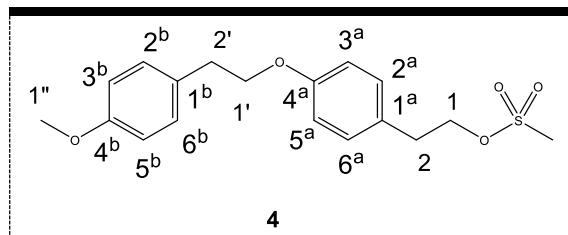
C₁₈H₂₂O₃Na : 295,1310 ; [M+Na]⁺)



¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ = 2,63 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, **H-2**), 2,93 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H, **H-2'**), 3,54 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, **H-1**), 3,72 (sl, 3H, **H-1''**), 4,08 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, **H-1'**), 6,84 (dd, *J* = 13,5, 8,2 Hz, 4H, **H-3^a**, **H-5^a**, **H-3^b**, **H-5^b**), 7,09 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, **H-2^b**, **H-6^b**), 7,22 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, **H-2^a**, **H-6^a**).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ = 34,12 (**C2'**), 38,16 (**C2**), 55,01 (**C1''**), 62,44 (**C1**), 68,36 (**C1'**), 113,76 (**C3^b**, **C5^b**), 114,22 (**C3^a**, **C5^a**), 129,85 (d, *J* = 8,0 Hz, **C2^a**, **C6^a**, **C2^b**, **C6^b**), 130,28 (**C1^b**), 131,41 (**C1^a**), 156,73 (**C4^b**), 157,83 (**C4^a**).

Méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle



Aspect du produit : Solide blanc

Rdt (%) : 78

F(°C) : 51-52

SMHR, m/z : 373,1086 trouvée (calculée pour C₁₈H₂₂O₅Na : 373,1084 ; [M+Na]⁺)

¹H RMN (DMSO-*d*₆) δ = 2,93 (dt, *J* = 9,8, 6,8 Hz, 1'), 4,11 (1'), 6,92

4H, **H-2'**, **H-2**), 3,08 (sl, 3H, -CH₃), 3,72 (sl, 3H, **H-**

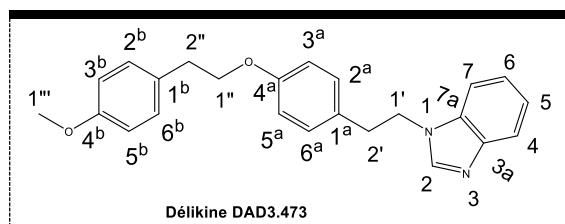
(t, *J* = 6,9 Hz, 2H, **H-1**), 4,35 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, **H-**

– 6,80 (m, 4H, **H-3^a**, **H-5^a**, **H-3^b**, **H-5^b**, Ar), 7,28 – 7,05 (m, 4H, **H-2^a**, **H-6^a**, **H-2^b**, **H-6^b**, Ar).

¹³C RMN (DMSO) δ = 33,83 (**C2'**), 34,07 (**C2**), 36,59 (**C1''**), 54,99 (-CH₃), 68,36 (**C1'**), 70,81 (**C1'**), 113,75 (**C3^b**, **C5^b**), 114,45 (**C3^a**, **C5^a**), 128,71 (**C1^b**), 129,88 (**C2^a**, **C6^a**), 129,99 (**C2^b**, **C6^b**), 130,19 (**C1^a**), 157,25 (**C4^b**), 157,82 (**C4^a**).

1-(4-[4-Méthoxyphénéthoxy]phénéthyl)-1H-benzo[d]imidazole

Aspect du produit : Poudre blanche



Rdt (%) : 92

F(°C) : 116-118

SMHR, m/z : 395,1732 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{24}N_2O_2Na$: 395,1730 ; $[M+Na]^+$)

^1H RMN (DMSO- d_6) δ = 2,92 (t, J = 6,8 Hz, 2H, **H-2''**), 3,03 (t, J = 7,1 Hz, 2H, **H-2'**), 3,72 (sl, 3H, **H-1'''**), 4,07 (t, J = 6,8 Hz, 2H, **H-1''**), 4,43 (t, J = 7,0 Hz, 2H, **H-1**) 6,90 – 6,75 (m, 4H, **H-3^b**, **H-5^b**, **H-5**, **H-6**, Ar), 7,04 (d, J = 8,0 Hz, 2H, **H-3^a**, **H-5^a**, Ar), 7,21 (d, J = 8,7 Hz, 4H, **H-2^a**, **H-5^a**, **H-2^b**, **H-5^b**, Ar), 7,60 (t, J = 5,8 Hz, 2H, **H-3**, **H-7**, Ar), 8,00 (s, 1H, -NH).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) = δ 33,51 (**C2'**), 33,98 (**C2''**), 45,10 (**C1'**), 54,45 (**C1'''**), 67,78 (**C1''**), 109,90 (**C7**), 113,20 (**C3^b**, **C5^b**), 113,85 (**C3^a**, **C5^a**), 118,8 (**C4**), 120,81 (**C6**), 121,63 (**C5**), 129,20 (**C2^a**, **C6^a**), 129,35 (**C2^b**, **C6^b**), 129,44 (**C1^b**), 129,65 (**C7a**), 133,10 (**C1^a**), 142,80 (**C2**), 143,33 (**C3a**), 156,55 (**C4^a**), 157,27 (**C4^b**).

3.2. Section Biologie

3.2.1. Tests SOCE “Store-Operated Calcium Entry”

Tableau I : Résultats des tests de l’influx SOCE

Lignées tumorales					La
IC ₅₀ (μM)					
Composé	Log P _{calc}	HEK 293 (embryon rein humain)	HEK 651 HS1 (tumeur solide rein)	PLP-B lymphocytes	
Délikine DAD3.473	5.78	3.1	20	3.1	
GSK-7975A	3.83	2.0	44	2.3	
SKF-96365	4.09	NT ^a	40	60	
Synta 66	3.55	NT ^a	NT ^a	8.8	

Déliline DAD3.473 a montré une meilleure activité concernant l’inhibition de l’influx SOCE sur les cellules HEK 651 HS1 et PLP-B lymphocytes comparativement aux molécules de référence SKF-96365 et Synta 66. Cependant, elle a une activité proche de la GSK-7975A concernant l’inhibition de l’influx SOCE sur les cellules HEK 293 et PLP-B lymphocytes. Ainsi donc, la Déliline DAD3.473 peut être considérée comme un potentiel inhibiteur de l’influx SOCE.

3.2.2. Analyse de la prolifération cellulaire

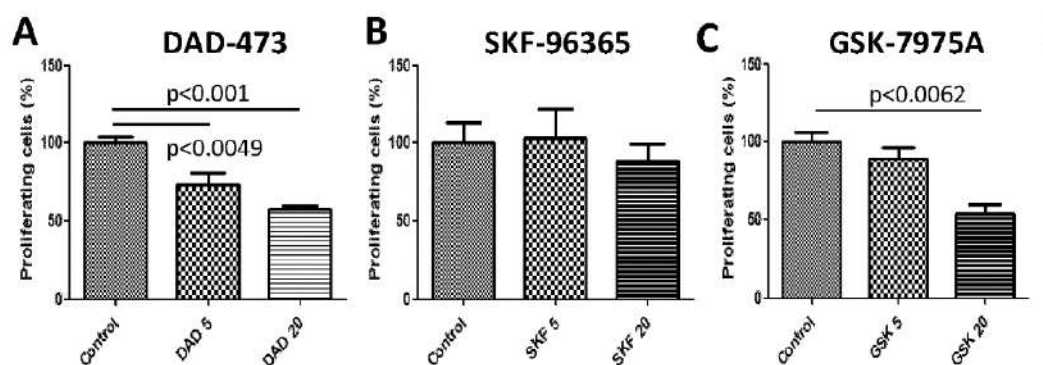


Figure 1 : Résultats de l'analyse de la prolifération cellulaire réalisée sur les cellules cancéreuses du pancréas (PANC-1)

L'effet antiprolifératif est remarquable lorsque la dose est élevée. La Déliline DAD3.473 réduit significativement la prolifération de PANC-1 que le SKF et la GSK à la concentration de 5 μ M. Par ailleurs, l'effet antiprolifératif de la Déliline et de la GSK sont pratiquement similaires à 20 μ M ; ils réduisent de moitié la prolifération à cette concentration.

3.2.3. Tests de toxicité

L'étude de la toxicité aiguë de la Déliline DAD3.473 (molécule brevetée) a été effectuée lors de la phase de maturation du brevet. Elle a été réalisée par le laboratoire C.RIS Pharma en Bretagne (France). Ci-dessous les organes testés ainsi que les différentes observations.

Organes organs	Obs°	Observations/Commentaires Observations/Comments
Yeux, nerf optique, glande de Harder <i>Eyes, optic nerve, Harderian's gland</i>	✓	RAS
Cerveau Brain	✓	
Hypophyse Pituitary	✓	
Glandes salivaires (parotides + sublinguales + mandibulaires Salivary glands (parotid, sublingual,mandibular)	✓	
Ganglions Lymph nodes	✓	Nom des ganglions : NA Lymph nodes name :
Peau Skin	✓	RAS
Uretères Ureters	✓	
Vessie Urinary bladder	✓	
Organes sexuel Sexual organ : - Testicules, prostate et vésicule séminales pour les animaux mâles. <i>Testis, prostate and seminal vesicles for male animals</i> - Ovaires, oviductes, utérus, vagin et cervix pour les animaux femelles. <i>Ovaries, oviducts, uterus, vagina and cervix for female animals.</i>	✓	
Intestins Intestines	✓	
Ganglions mésentériques mesenteric lymph nodes	✓	
Rate Spleen	✓	
Pancréas Pancreas	✓	
Estomac Stomach	✓	
Surrénales Adrenals	✓	
Organes organs	Obs°	Observations/Commentaires Observations/Comments
Reins Kidneys	✓	RAS
Foie Liver	✓	
Vésicule biliaire Gall bladder	✓	
Diaphragme Diaphragm	✓	
Sternum Sternum	✓	
Thymus Thymus	✓	
Cœur Heart	✓	
Bloc trachée, langue, œsophage, larynx, thyroïde, parathyroïde, poumons et aorte <i>Trachea, tongue, esophagus, larynx, thyroid, parathyroid, lungs and aorta block</i>	✓	
Muscle squelettique Skeletal muscle	✓	
Os Bone	✓	
Colonne vertébrale + moëlle épinière <i>Spine + spinal cord</i>	✓	

No. Animal Animal N° : 1646

Figure 2 : Résultats de la toxicité aigüe de la Délikine DAD3.473

Trois doses à savoir : 15 mg/mL soit 75 mg/kg/souris, 19,5 mg/mL soit 97,5 mg/kg/souris, 24 mg/mL soit 120 mg/kg/souris ont été administrées par intra veineuse jugulaire à des souris. Il en résulte que la Délikine DAD3.473 ne présente pas de caractère de toxicité jusqu'à une dose de 120 mg/kg/souris pendant 14 jours.

4. Conclusion

Ces travaux ont permis d'élaborer un protocole de synthèse de la Délikine DAD3.473, inhibiteur SOCE/Orai1. Les résultats des tests SOCE ont montré que sur la Délikine DAD3.473 présente une meilleure activité que les molécules de référence sur l'inhibition de l'influx SOCE. De plus, la Délikine DAD3.473 présente un effet antiprolifératif sur les cellules cancéreuse du pancréas PANC1. En outre, la toxicité aigüe de cette molécule sur modèle animal, révèle que la DAD3.473 ne présente pas de caractère de toxicité jusqu'à une dose de 120 mg/kg/souris.

5. Bibliographie

- [1] Xie J., Pan H., Yao J., Zhou Y., Han W. *Internat. J. Cancer* **2016**, 138, 2067-2077.
- [2] Putney J. W. *Cell Calcium* **1986**, 7, 1-12
- [3] Smyth J. T., Hwang S.-Y., Tomita T., DeHaven W. I., Mercer J. C., Putney J. W. *J. Cell. Mol. Med.* **2010**, 14, 2337-2349.
- [4] a) Monteith G. R., McAndrew D., Faddy H. M., Roberts-Thomson S. J. *Nature Rev. Cancer* **2007**, 7, 519–530. b) Monteith G. R., Davis F. M., Roberts-Thomson S. J. *J. Biol. Chem.* **2012**, 287, 31666–31673. c) Lee J. M., Davis F. M., J. Roberts-Thomson S. J., Monteith G. R. *Am J Physiol Cell Physiol.* **2011**, 301, C969.
- [5] Kondratska K., Kondratskyi A., Yassine M., Lemonnier L., Lepage G., Morabito A., Skryma R., Prevarskaya N. *Biochimica et Biophysica Acta* 1843 (2014) 2263–2269.
- [6] Flourakis M., Lehen'kyi V., Beck B., Raphaël M., Vandenberghe M., Abeele F. V., Roudbaraki M., Lepage G., Mauroy B., Romanin C., Shuba Y., Skryma R., Prevarskaya N. *Cell Death & Disease* **2010**, 1, e75.
- [7] Villalobos C., Sobradillo D., Hernández-Morales M., Núñez L. *Mol. Cell Res.* **2017**, 1864, 843-849.
- [8] Huang W-C., Chai C-Y., Chen W-C., Hou M-F., Wang Y-S., Chiu Y-C., Lu S-R., Chang W-C., Juo S-H. H., Wang J-Y., et al. *Cell Calcium* **2011**, 50, 27-35. b) Hou M-F., Kuo H-C., Li J-H., Wang Y-S., Chang C-C., Chen K-C., Chen W-C., Chiu C-C., Yang S., Chang W.-C. *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, 1810, 1278-1284.
- [9] Mason M.J., Mahaut-Smith M.P., Grinstein S. *J. Biolog. Chem.* **1991**, 266, 10872-10879.
- [10] Acute oral toxicity : up-and-down procedure» OECD 425 <https://www.oecd.org/env/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure-9789264071049-en.html>

Screening phytochimique et évaluation de la cytotoxicité de l'extrait éthanolique 70 % des fruits de *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) sur les cellules HFF (Human Foreskin Fibroblasts)

KANGA Yao^{1*}, COULIBALY Kiyinlma¹, ZIRIHI Guédé Noel²

¹UFR Sciences Biologiques, Département de Biologie Végétale. Université Peleforo GONCOULIBALY, B.P. 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Botanique, Unité de Formation et de Recherche Biosciences, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY, Cote d'Ivoire.

*Auteur correspondant ; E-mail : kanga.yao@yahoo.fr

Résumé

L'usage abusif des organes de plantes médicinales expose les populations à divers accidents parce qu'en plus des molécules actives, les plantes médicinales contiennent d'autres molécules dont certaines sont toxiques. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité cytotoxique de l'extrait éthanolique 70% de *Solanum torvum* sur les cellules HFF en culture *in vitro*. L'extrait éthanolique 70 % issu de cette plante a été testé *in vitro* sur les cellules HFF en division. Le résultat a révélé que cet extrait a une activité cytotoxique sur les cellules HFF testées. A 800 µg/mL le taux de survivance des cellules HFF est passé de 100 % à 4 % de cellules vivantes. Le screening phytochimique a révélé la présence des composés tels que les alcaloïdes, les tannins, les polyphénols, les saponines et les flavonoïdes. L'extrait éthanolique 70 % est toxique sur les cellules HFF. Il faut donc de la prudence dans l'utilisation en médecine traditionnelle des fruits de *Solanum torvum*. En perspective, faire un fractionnement bioguidé pour isoler les molécules responsables de l'activité cytotoxique de cette plante.

Mots clés : Cellules HFF, Cytotoxicité, *Solanum torvum*, extrait éthanolique 70 %

Phytochemical screening and cytotoxicity evaluation of 70% ethanolic extract of *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) fruits on HFF (Human Foreskin Fibroblasts) cells

Abstract

Abusive use of medicinal plant organs exposes populations to various accidents because, in more to active molecules, medicinal plants contain other molecules, some of which are toxic. The aim of this study is to evaluate the cytotoxic activity of the 70% ethanolic extract of *Solanum torvum* on HFF cells *in vitro* culture. The 70% ethanolic extract of this plant was tested *in vitro* on dividing HFF cells. Results showed that extract had cytotoxic activity on the HFF cells tested. At 800 µg/mL, survival rate of HFF cells dropped from 100% to 4% of living cells. Phytochemical screening revealed the presence of compounds such as alkaloids, tannins, polyphenols, saponins and flavonoids. 70% ethanolic extract is toxic to HFF cells. Caution is therefore called for in the use of *Solanum torvum* fruits in traditional medicine. The aim is to use bioguided fractionation to isolate the molecules responsible for this plant's cytotoxic activity

Key words: HFF cells, Cytotoxicity, *Solanum torvum*, 70% ethanolic extract.

1. Introduction

Solanum torvum est une plante appartenant à la famille des Solanacées. Elle est largement répandue dans les Caraïbes [1]. En Afrique de l'Ouest, elle est cultivée localement dans les jardins pour la cuisine [2]. Les extraits des fruits mûrs sont utilisés dans la préparation de toniques pour le traitement de la douleur dans tout le corps [5,6]. Des travaux antérieurs ont révélé que les fruits sont utilisés dans le traitement de diverses affections : infections microbiennes [7], hypertension [8], reins maladie [9] diabète [10]. Compte tenu de l'intérêt des fruits de *Solanum torvum* en médecine traditionnelle, nous avons entrepris d'évaluer scientifiquement la cytotoxicité sur les Fibroblastes du prépuce humain (HFF), cellules qui interviennent dans la défense anti-infectieuse d'un organisme et de déterminer la composition phytochimique du fruit.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les fruits de *Solanum torvum* (figure 1) ont été récoltés dans la ville de Korhogo (Côte d'Ivoire).



Figure 1 : rameau feuillé et fructifère de *solanum torvum*

2.2. Matériel cellulaire

Le support cellulaire est constitué de cellules humaines HFF (Human Foreskin Fibroblasts). Ce sont des cellules humaines qui témoignent de l'activité toxique d'un extrait. Lorsque ces cellules sont en culture depuis seulement 24 heures, elles sont dans un état de mitose (ou cellules en division). Ces cellules HFF sont cultivées à 37°C, sous 5% de CO₂ dans un milieu D10 (Dulbecco Minimum Essential Medium, Gibco, additionné de sérum de veau foetal 10% ; glutamine 1% ; pénicilline 50 U.ml⁻¹ et streptomycine 50 µg/µl).

2.3. Préparation des extraits végétaux

Après la récolte, les fruits ont été débarrassés des impuretés, séchés à l'ombre et dans un laboratoire climatisé pendant une semaine puis pulvérisés à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre fine obtenue a été conservée dans des bocaux en verre pour éviter les moisissures.

2.3.1. Extrait Total Aqueux (ETA)

Les fruits séchés de la plante ont été pulvérisés par un broyeur électrique de type Moulinex. La poudre obtenue a servi à préparer les différents extraits. Ainsi l'extrait total aqueux (ETA) a été obtenu selon la méthode suivante [11, 12]: Cent grammes de poudre de plante sont extraits à l'eau distillée par broyage dans un mixeur (Blender) trois fois trois minutes à la température ambiante. L'homogénat obtenu est essoré dans un carré de tissu puis filtré successivement quatre fois sur du coton hydrophile et ensuite sur du papier Wattman (3mm). Le filtrat est évaporé à 55 °C à l'aide d'une étuve de type venticell®. L'évaporat sec de couleur marron constitue l'extrait total aqueux (ETA)

2.3.2. Extrait Ethanologique 70 % (EE70 %)

Cinq grammes d'extrait total aqueux sont dissous dans cent millilitres d'une solution éthanol absolu-eau (70 : 30 ; V/V), puis homogénéisés dans un Blender. Dans une ampoule à décanter, le surnageant est recueilli. La phase supérieure contenant les éléments alcool hydrosolubles constitue l'extrait éthanologique 70 %. Elle est ensuite séchée à l'étuve (50°C) [11].

2.4. Composition phytochimique

La recherche des grands groupes chimiques dans l'extrait total aqueux a été faite par une analyse phytochimique qualitative sommaire à partir des tests de coloration suivant [13]. Cette analyse a permis de rechercher les composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes les tanins, les saponines, les terpènes et stérols, les coumarines et les polyphénols.

2.5. Test de cytotoxicité

Pour mesurer la toxicité de l'extrait éthanologique, les cellules HFF (Human Foreskin Fibroblasts) ont été ensemencées dans des plaques de 96 puits (CellStar) à raison de 3000 à 5000 cellules par puits dans 100 µl de milieu D10. Ces cellules sont maintenues en culture pendant 24 heures (cellules en division) ou 96 heures (cellules confluentes). Par la suite elles ont été exposées pendant 24 heures à différentes concentration (0 -1000 µg/ml) en extrait de plante solubilisé dans du tampon PBS. Cela a été fait en triplicate. La viabilité a été déterminée à l'aide du bromure de 3-(4,5- diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium (MTT). L'anneau de tétrazolium qu'il contient est réduit en formazan par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules métaboliquement actives, qui précipite et donne une couleur violette. La quantité du précipité formé est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Dans chaque puits, le MTT est ajouté à une concentration de 500 µg/ml et incubé pendant 3h à 37°C. Les cristaux de formazan sont solubilisés dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) 10 mM [14]. La mesure de la densité optique à 544 nm a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre Safir (Tecan) ; cette mesure de l'absorbance permettra de déterminer la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement (Mosman, 1983). Taux viabilité = (Abs_{544 nm} extrait/ Abs_{544 nm} témoin) × 100

3. Résultats et discussion

3.1. Composition phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait éthanologique 70 % du fruit de *Solanum torvum* a mis en évidence la présence de divers groupes chimiques (Tableau 1). Ce sont les polyphénols, les tanins, flavonoïdes, saponines et alcaloïdes.

Tableau I : Composés chimiques mis en évidences dans l'extrait éthanolique 70 % des fruits de *Solanum torvum*

Espèce	Extrait	Groupes chimiques							
		Sap	Flav	Terp/ster	Tanins		Coum	Alc	Poly
					Gall	Cathé			
<i>Solanum torvum</i>	EE 70 %	+	+	-	+	+	-	+	+

EE 70 % : extrait éthanolique 70 %

+ : présence du groupe chimique

- : absence du groupe chimique

Sap : saponines ; **Flav :** flavonoïdes ; **Terp / Ster :** Terpènes / Stérols ; **Gall :** gallique ;

Cathé : cathéchique ; **Coum :** coumarines ; **Alc :** alcaloïdes ; **Poly :** polyphénol

Le criblage phytochimique a révélé la présence des composés chimiques tels que les alcaloïdes, les tannins, les polyphénols, les saponines et les flavonoïdes. La présence de ces composés chimiques pourrait justifier les activités multiples des fruits de cette plante. En effet dans de nombreuses régions du Ghana, les guérisseurs traditionnels prescrivent le jus fabriqué à partir des fruits de *Solanum torvum* pour le traitement de l'anémie et d'autres affections (Asiedu-Darko 2010).

3.2. Test de cytotoxicité

La figure 2 donne le pourcentage de viabilité des cellules HFF cultivées en présence des concentrations de 125 à 800 µg/ml pour l'extrait éthanolique 70% des fruits de *Solanum torvum* par rapport au contrôle sans extrait de plante. Le nombre de cellules diminue considérablement au fur et à mesure que la concentration de l'extrait éthanolique 70% des fruits de *Solanum torvum* augmente. A 800 µg/mL le nombre de cellule en division est de 4 %.

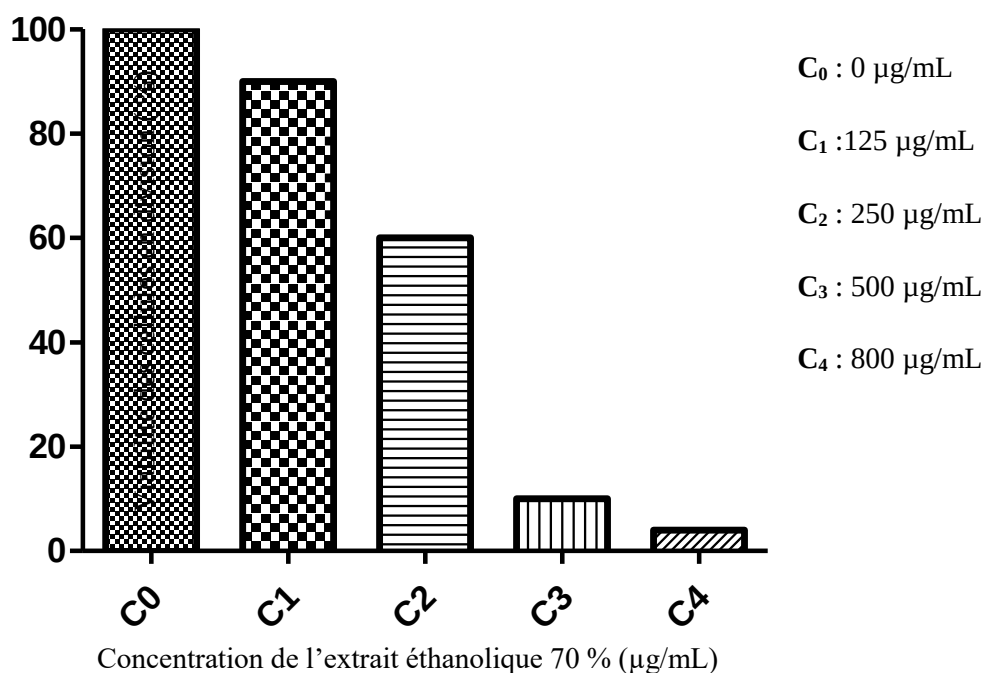


Figure 2 : test de cytotoxicité de l'extrait éthanolique 70 % des fruits de *Solanum torvum* sur les cellules HFF en divisions

Le test cytotoxique effectué sur les cellules HFF a montré une diminution progressive de la coloration violette dans chaque puits. Le colorant ne pénétrant que dans les cellules vivantes, la coloration est d'autant plus faible que l'extrait de plante est cytotoxique par inhibition des cellules HFF [15]. La forte diminution de la quantité relative des cellules HFF en division pourrait s'expliquer par le fait que les cellules HFF seraient tuées par l'extrait éthanolique 70 % de *Solanum torvum*. En effet, Les extraits entraînant une mortalité cellulaire supérieure à 30% pourraient être considérés comme cytotoxiques [16]. Cet extrait pourrait donc contenir un composé chimique qui

inactiverait la succinate déshydrogénase, une enzyme importante pour la respiration mitochondriale, dont le blocage conduirait à la mort cellulaire. Ce résultat démontre l'effet cytotoxique de l'extrait éthanolique 70 % de *Solanum torvum*, une Solanaceae de la pharmacopée ivoirienne sur la lignée cellulaire testée. L'usage externe des fruits de cette plante serait sans doute dangereux pour la santé humaine. Cette toxicité des fruits pourrait aussi s'expliquer par la concentration de certains groupes de composés chimiques qui augmente avec la dose de l'extrait [17]. Nos résultats de la toxicité *in vitro* corroborent ceux d'un autre auteur qui a travaillé sur la même famille de plantes. En effet d'après les travaux de [17] les fruits de *Solanum nigrum* L. (Solanaceae) une autre Solanaceae riche en glucoalcaloïdes et saponines sont toxiques en usages interne comme externe sur un organisme.

4. Remerciements

Cette étude a bénéficié du concours du Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Microorganismes (LAPM) de Grenoble en France,

5. Conclusion

Solanum torvum est une plante médicinale importante sur le plan pharmaceutique. Cette espèce est incluse parmi les ingrédients de diverses plantes médicinales indigènes pour traiter un certain nombre de maladies. Il convient donc de l'utiliser avec beaucoup de prudence à cause de son effet cytotoxique révélé dans cette étude

6. Bibliographie

- [1]. Adjanooun, J., Aboubakar, N., Dramane, K., Ebot, E., Ekpere, A et Enoworock, G. Traditional medicine and pharmacopeia contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. In: CNPMS. Porto-Novo, Benin.1996; 50–52.
- [2]. Etienne, J. Solanacées médicinales et philatélie. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 2005; 144:311-332.
- [5]. Sivapriya, M et Srinivas L. Isolation and purification of a novel antioxidant protein From the water extract of Sundakai (*Solanum torvum*) seeds. Food Chemistry. 2007; 104:510-517.
- [6]. Waghulde, H., Kamble, S., Patankar, P., Jaiswal, B.S., Pattanayak, S et Bhagat, C. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of seeds of *Punica granatum* (Punicaceae) and *Solanum torvum* (Solanaceae). Pharmacologyonl. 2011;1: 193-202.
- [7]. Lalitha, V., Raveesha, K et Kiran, B. Antimicrobial activity of *Solanum torvum* swart. Against Important Seed Borne Pathogens of Paddy, IJEE. 2010;1(2):160- 164.
- [8]. Mohan, M., Jaiswal, B.S et Kasture, S. Effect of *Solanum torvum* on blood pressure and metabolic alterations in fructose hypertensive rats. J Ethnopharmacol. 2009; 126: 86–89.
- [9]. Mohan, M., Kamble, S et Kasture S. Protective effect of *Solanum torvum* on doxorubicin induced nephrotoxicity in rats. Food and Chem Toxicol. 2010; 48:436-440.
- [10]. Gandhi, G.R., Ignacimuthu, S., Paulraj, M.G et Sasikumar, P. Antihyperglycemic activity and antidiabetic effect of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz.
- [11]. Zirihi, G.N et Kra, A.K.M. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Rev Med Pharmacol Afr. 2003;17 : 11-8
- [12]. Bagré, I., Bahi, C., Méité, S., Djaman, A .J et Guédé, G.F. Évaluation et Amélioration *in vitro* de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae) sur *Cryptococcus neoformans*, un champignon 38 responsable de mycose humaine. J Sci PharmBiol, 2006, 7 : 37-46.
- [13]. Harborne, J. B. A guide to modern techniques of plant analysis. Springer, 3rd Edn, India (New Delhi), 1998, pp 5-32.
- [14]. Mosman, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. Journal of immunological Methods, 1983, 65: 55-63
- [15]. Irie-N'guessan, A. G, B. J., Kablan, N. G., Kouakou-Siransy, V., Leblais et Champy P. Evaluation de la toxicité de cinq plantes antiasthmatiques de la médecine traditionnelle ivoirienne Int. J. Biol. Chem. Sci. 2011, 5(3): 1316-1319.
- [16]. Coulerie, P. Étude phytochimique et pharmacologique de plantes de Nouvelle-Calédonie à potentialités anti-dengue. Thèse de Doctorat de chimie des substances naturelles. Université de la Nouvelle-Calédonie : École Doctorale du Pacifique, 2012, 296 p.
- [17]. Busser, C. Baies, fruits et pseudo-fruits toxiques utilisés en médecine populaire ou en phytothérapie Phytothérapie, 2007, 1: 31–36

Contribution à la mise au point d'un MTA anticancéreux à base des feuilles de trois espèces de *Datura*

Haraba Dembélé^{1*}, Issiaka Togola¹, Diakité Méminata¹, Mamadou A. Konaré¹, Cheickna Cissé^{1,2}, Nouhoum Diarra¹

¹Faculté des Sciences Et Techniques (FST), Laboratoire de Biochimie Alimentaire et des Substances Naturelles, Université des Sciences, des Techniques et Technologies de Bamako (USTTB), Bamako, Mali.

²Centre d'Excellence Africain en Bioinformatique (ACE-B), Université des Sciences, des Techniques et Technologies de Bamako (USTTB), Bamako, Mali.

*Email auteur correspondant : dembeleharaba2@gmail.com

Résumé

Le cancer est un problème de santé publique croissant au Mali. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'effet cytotoxique des extraits de feuilles de *Datura stramonium*, *Datura innoxia* et *Datura ferox*, de la flore Malienne. Les constituants chimiques ont été caractérisés par les réactions qualitatives en tube. Le test de viabilité cellulaire luminescente Cell Titer Glo®, a été utilisé pour estimer le potentiel cytotoxique des extraits sur deux lignées cellulaires (HeLa et MCF-7). Le criblage phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, flavonoïdes et coumarines dans les feuilles des trois espèces de *Datura*. L'extrait des feuilles de *D. stramonium* (50 µg/mL) a montré un effet cytotoxique plus prononcé sur la lignée cellulaire Hela avec un taux de viabilité de 13,33±3,05%. En revanche, la lignée cellulaire MCF-7 était plus sensible à l'extrait de *D. innoxia* à la même concentration, avec un taux de viabilité de 42,67±2,52%. Les espèces de *Datura* investiguées pourraient être des sources potentielles de molécules cytotoxiques pouvant être utilisées dans le traitement des cancers. Ces données pourraient être le point de départ pour la mise au point d'un MTA anticancéreux. En perspective, nous envisageons de faire un fractionnement afin d'isoler les molécules bioactives.

Mots-clés : *Datura*, Alcaloïdes, Effet cytotoxique, Mali.

Abstract

Cancer is a growing public health problem in Mali. The aim of this study was to evaluate the cytotoxic effect of extracts from the leaves of *Datura stramonium*, *Datura innoxia* and *Datura ferox*, harvested from Malian flora. Chemical constituents were characterized by tube staining and precipitation reactions. The Cell Titer Glo® luminescent cell viability assay was used to estimate the cytotoxic potential of the extracts on HeLa and MCF-7 cell lines. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids and coumarins in the leaves of all three *Datura* species. *D. stramonium* leaf extract (50 µg/mL) showed a more pronounced cytotoxic effect on the Hela cell line, with a viability rate of 13.33±3.05%. In contrast, the MCF-7 cell line was more sensitive to *D. innoxia* extract at the same concentration, with a viability rate of 42.67±2.52%. The *Datura* species investigated could be potential sources of cytotoxic molecules for use in cancer therapy. These data could be the starting point for the development of an anticancer MTA. In the future, we plan to carry out fractionation in order to isolate the active molecules.

Key words: *Datura*, Alkaloids, Cytotoxic effect, Mali.

1. Introduction :

Le cancer est un problème de santé publique croissant dans le monde entier. Selon les statistiques de 2020 de la base de données du Centre international de recherche sur le cancer, il y a eu plus de 19 millions de cas dans le monde et 9,9 millions de décès dus au cancer. Le taux de récurrence du cancer du col de l'utérus reste élevé dans les pays en développement. En outre, cette maladie est le septième type de cancer le plus répandu dans le monde et le quatrième le plus répandu chez les femmes [1]. Le cancer du sein est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes dans le monde, avec 11,7 % des 2,3 millions de nouveaux cas de cancer en 2020 [2]. C'est pourquoi la recherche sur les médicaments anticancéreux est devenue essentielle pour les patients atteints de cancer. De nos jours, la chimiothérapie et la radiothérapie sont les méthodes conventionnelles utilisées pour traiter le cancer. Cependant, ces méthodes peuvent entraîner des effets secondaires désagréables et une toxicité, car elles détruisent à la fois les cellules normales et les cellules cancéreuses. En outre, certains patients développent une résistance aux médicaments thérapeutiques au cours du traitement, ce qui peut entraîner une rechute [3]. C'est pourquoi les espèces végétales sont devenues des remèdes naturels importants dans la gestion des maladies en raison de leur accessibilité et de leurs effets secondaires très faibles [4]. Ces plantes médicinales sont riches en métabolites secondaires qui sont dotés de réponses pharmacologiques positives [5,6,7]. Le genre *Datura*, appartenant à la famille des Solanacées, possède des espèces connues pour leurs propriétés médicinales. Il est traditionnellement utilisé pour traiter de nombreux troubles inflammatoires, tels que les plaies, les ulcères, les gonflements, l'asthme et l'arthrite rhumatoïde [8,9]. La plupart des propriétés thérapeutiques du *Datura* pourraient être attribuées principalement à sa richesse en alcaloïdes comme l'atropine, la scopolamine, la fastusine, l'hyoscyamine, la littorine, la valtropine et l'acétoxytropine, les withonilides et d'autres tropanes [10,11,12]. Des

travaux récents ont rapporté l'existence de trois (3) espèces de *Datura* (*Datura stramonium*, *D. innoxia* et *D. ferox*) dans la flore du sud du Mali [9]. Les mêmes auteurs ont mentionné l'utilisation de ces espèces dans le traitement traditionnel de nombreuses pathologies, telles que les plaies, les inflammations et surtout le cancer. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a été menée au Mali pour confirmer ces potentialités thérapeutiques. C'est pourquoi le présent travail a été prévu d'évaluer le potentiel anticancéreux des extraits de feuilles de ces trois espèces de *Datura*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Le matériel végétal était constitué de feuilles de trois espèces de *Datura* (*D. stramonium* L., *D. innoxia* Mill. et *D. ferox* L.). Les échantillons de feuilles ont été collectés à Kolondiéba, dans le sud du Mali. Les plantes ont été identifiées au Laboratoire d'écologie tropicale de l'Université des sciences, techniques et technologies de Bamako (USTTB). Les feuilles ont été soigneusement lavées, séchées à température ambiante, réduites en poudre et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Quant au matériel biologique, il était représenté par les lignées cellulaires MCF-7 (ATCC HTB- 22) et HeLa (ATCC CCL-2). Ces lignées cellulaires ont été fournies par la Plateforme de Chimie Biologique Intégrative de Strasbourg (PCBIS), France.

2.2. Méthodes

Préparation des extraits

Les extraits ont été obtenus par macération de 50 g de poudre de chaque espèce dans 500 ml d'éthanol. Le mélange a été agité pendant 48 h, puis filtré sous vide. Les filtrats obtenus ont été évaporés à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur.

Criblage phytochimique

La recherche des principaux groupes chimiques dans les extraits a été effectuée par des méthodes conventionnelles basées sur des réactifs chimiques spécifiques selon les protocoles décrits par Harborne et Bruneton [19, 20]. Les alcaloïdes ont été identifiés à l'aide du réactif de Dragendorff, tandis que les tanins ont été caractérisés à l'aide du chlorure ferrique. L'anhydride acétique, l'acide sulfurique concentré et la chloroforme ont été utilisés pour déterminer les terpénoides. L'alcool chlorhydrique dilué, les copeaux de magnésium ont été utilisés pour les flavonoïdes. Pour les coumarines, nous avons utilisé la méthode de fluorescence UV à 365 nm. Le test de la mousse a été utilisé pour identifier les saponosides.

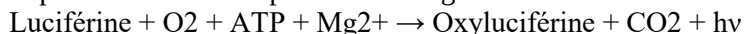
Évaluation de l'activité antiproliférative

✓ Milieu de culture

- Milieu EMEM (SIGMA M5650) complété par 10% de FBS non décomplémenté (PAA A15- 101), 2 mM de L-glutamine 200 mM (PAA M11-004), 100 U/mL de pénicilline / 100 µg/mL de streptomycine (PAA P11-010), 1mM de pyruvate de sodium (PAA S11-003) et 0,01 mg/mL d'insuline bovine dans 25 mM HEPES pH 7. 5 (SIGMA I6634-50MG) uniquement pour la lignée MCF-7.

✓ Test de viabilité cellulaire

- Les lignées cellulaires MCF-7 et HeLa ont étéensemencées dans des plaques à 96 puits et traitées avec des extraits de *Datura* pendant 48 comme contrôle positif. Le test Cell Titer-Glo (PROMEGA G7571) a été utilisé pour évaluer la viabilité cellulaire. Il permet de quantifier l'ATP intracellulaire et donc la présence de cellules métaboliquement actives. Il est basé sur la mono-oxygénation de la luciférine en oxyluciférine par la luciférase en présence de Mg²⁺ et d'ATP.



- La viabilité cellulaire a été évaluée selon les instructions du fabricant à deux moments différents, c'est-à-dire au temps zéro (lorsque les extraits ont été ajoutés aux cellules) et 48 heures après l'ajout des extraits. Le nombre de cellules au point zéro a été fixé à 100 %, et le nombre de cellules évalué après 48 heures d'incubation en présence d'extraits a été normalisé à ces valeurs.

2.3. Analyse statistique

Toutes les expériences et réactions ont été réalisées en trois exemplaires. Les données sont représentées sous forme de moyenne ± écart- type. Les valeurs moyennes avec $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultat :

3.1.1. Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique des extraits éthanoliques de feuilles des trois espèces de *Datura* sont résumés dans le Tableau 1. Ces extraits ont présenté une richesse en métabolites secondaires tels que des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des saponines et des terpénoïdes.

Tableau 1 : Composition phytochimique des extraits de *Datura*

Phytochemical compounds	<i>D. stramonium</i>	<i>D. innoxia</i>	<i>D. ferox</i>
Alkaloids	Present	Present	Present
Coumarins	Present	Present	Present
Saponins	Present	Present	Present
Tannins	Present	Present	Present
Terpenoids	Present	Present	Present
Flavonoids	Present	Present	Present

3.1.2. Potentiel anticancéreux

Les résultats présentés dans le tableau 3 résument les effets cytotoxiques des extraits des trois espèces de *Datura* exprimés en pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration sur les lignées cellulaires respectives de cancer du sein (MCF-7) et du col de l'utérus (HeLa). Ces données révèlent que les effets cytotoxiques des extraits sur ces lignées cellulaires sont dépendants de la dose (p -value < 0,05). Aux différentes concentrations utilisées pour évaluer la cytotoxicité sur les lignées cellulaires MCF-7, une légère inhibition de la croissance cellulaire a été observée. À une concentration de 50 µg/mL, une viabilité cellulaire de 84,33 % et 75,33 % a été enregistrée avec les extraits de *D. stramonium* et de *D. ferox* respectivement. Par ailleurs, cette lignée cellulaire cancéreuse était plus sensible à l'extrait de *D. innoxia*, avec une inhibition de la croissance cellulaire de 42,67 % (tableau 3). Les lignées cellulaires HeLa étaient plus sensibles aux extraits de *D. stramonium* et de *D. innoxia* à 50 µg/mL, avec des taux de viabilité cellulaire de 13,33 % et 53,33 % respectivement. L'extrait de *D. ferox* n'a pratiquement pas eu d'effet sur cette souche cancéreuse aux doses considérées (Tableau 3).

Tableau 2 : Taux de viabilité cellulaire (%) des extraits de *Datura* sur les lignées cellulaires MCF-7 et HeLa

(µg/mL)	MCF-7 (%)	HeLa (%)	MCF-7 (%)	HeLa (%)	MCF-7 (%)	HeLa (%)
0,5	98.33±1.54	96.33±1.15	97.67±0.58	97.67±1.53	98.67±1.53	98.33±1.15
1	95.33±1.53	93.67±1.53	95.33±1.53	95.67±1.15	96.33±2.08	96.33±1.53
5	92.67±1.15	90.33±4.0	89.33±1.53	90.67±3.21	94.67±2.52	93.67±1.53
10	90.33±2.52	84.33±4.16	86.67±2.52	86.33±2.52	78.67±1.53	90.67±3.21
50	84.33±1.53	13.33±3.05	42.67±2.52	53.33±3.21	75.33±3.05	89.33±1.53
DMSO 1%	100	100	100	100	100	100
Chlorpromazine	0	0	0	0	0	0

3.2. Discussion

Le but de la présente étude était d'évaluer le pouvoir anticancéreux des extraits de feuilles de trois espèces du genre *Datura*, largement utilisées dans la pharmacopée traditionnelle malienne [9]. Des extraits éthanoliques ont été utilisés pour évaluer les activités biologiques de *D. stramonium*, *D. innoxia* et *D. ferox*. Le criblage phytochimique a révélé la présence de nombreux groupes de métabolites secondaires dans les extraits des espèces étudiées. La présence de ces métabolites pourrait expliquer les propriétés immunostimulantes et antitumorales des extraits étudiés. Cette hypothèse corrobore les résultats de nombreuses études qui ont montré que le pouvoir anticancéreux des produits naturels dépend largement de ces composés bioactifs [10,11,15,16].

Les données obtenues ont montré que les extraits des trois espèces sont dotés d'une activité antiproliférative contre les lignées cellulaires cancéreuses testées (HeLa et MCF-7). Cependant, cette activité était plus prononcée chez *D. stramonium* et *D. innoxia*.

Les extraits de *D. innoxia* étaient plus toxiques contre la souche cancéreuse MCF-7. La même tendance a été observée avec *D. stramonium* contre HeLa. *D. ferox* a présenté une activité antiproliférative modérée sur les deux lignées cellulaires cancéreuses testées. L'activité cytotoxique du *Datura* sur ces deux souches de cellules cancéreuses a déjà été rapportée dans la littérature [17, 18, 19, 20]. En effet, avec 50 µg/mL d'extrait méthanoïque

de graines de *D. stramonium*, Iqbal et al [19] ont noté un taux de toxicité de 72,52% contre la lignée cellulaire MCF-7 IC₅₀ de 265,7 µg/mL et 272,5 µg/mL ont été observées contre HeLa et MCF-7 respectivement avec des extraits éthanoliques de feuilles de *D. innoxia* récoltées en Turquie [17]. Les extraits d'acétate d'éthyle de *D. stramonium* et *D. innoxia* ont également montré des IC₅₀ de 40,2 µg/mL et 99,36 µg/mL sur MCF-7 respectivement [21]. D'autres études ont également démontré que l'extrait éthanolique de *D. innoxia* induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G1, et plus spécifiquement une mort cellulaire apoptotique [18, 22]. Les résultats de cette étude confirment les effets bénéfiques des espèces de *Datura* sur les pathologies cancéreuses.

4. Conclusion

Au terme de cette étude, les extraits de feuilles de *Datura* récoltées dans la région de Kolondiéba au Mali se sont révélés avoir un potentiel antiprolifératif sur les cellules cancéreuses du sein et du col de l'utérus a également été démontré. Cependant, ces activités biologiques *in vitro* étaient plus prononcées avec les feuilles de *D. stramonium* et de *D. innoxia* qu'avec celles de *D. ferox*. Les résultats de ce travail pourraient donc justifier l'utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle malienne.

5. Bibliographie :

1. Rivera-Martínez AR, Aguiñiga-Sánchez I, Cadena-Iñiguez J, Soto-Cruz I, Monroy- García A, Gómez-García G, Ledesma- Martínez E, Weiss-Steider B, Santiago-Osorio E. Extrait de fruit Extrait de *Sechium chinantlense* (Lira & F. Chiang) Induces Apoptosis in the Human Cervical Cancer HeLa Cell Line. *Nutrients*. 2023;15(3):667. Available:<https://doi.org/10.3390/nu15030667>
2. Gunasekaran V, Yuvakkumar R, Ganesan R, Chalayil Palapetta S, Gurusamy H. Évaluation biologique des acrylamides à base de chalcone polycyclique dans les Available:<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115395>
3. Panyajai P, Chueahongthong F, Viriyaadhammaa N, Nirachonkul W, Tima S, Chiampanichayakul S, Anuchapreeda S, et Okonogi S. Anticancer activity of Zingiber officinale essential oil and its nanoformulations. *PLoS ONE*. 2022;17(1):e0262335. Disponible : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262335>
4. Chavda PV, Balar P. Bioactive compound in chronic and infectious disease", *Nat. Resour. Hum. Heal.* 2023. no. July, pp. 1- 2. DOI:10.53365/nrhh/169990.
5. Bagewadi Z K, Muddapur UM, Madiwal SS, Mulla SI, Khan A. Biochemical and enzyme inhibitory attributes of methanolic leaf extract of *Datura innoxia* Mill. *Environmental Sustainability*. 2019;2(1):75-87. Available:<https://doi.org/10.1007/s42398-019-00052-6>
6. Togola I, Dembélé AA, Tounkara F, Diarra N, Konaré MA, Karembé M, Maiga SZ, Dembélé D. Évaluation de la de *in vitro* des extraits éthanoliques de feuilles et de graines de *Datura innoxia* Mill. *Leaves and Seeds Harvested in Mali. Recherche et revue annuelle en biologie*. 2019b;33:1-8. Available:<https://doi.org/10.9734/ARRB/2019/v33i230115>.
7. Konaré MA, Condurache NN, Togola I, Păcularu-Burada B, Diarra N, Stanciuc N, Răpeanu G. Valorisation des composés bioactifs de deux fruits sauvages sous- utilisés par microencapsulation afin de formuler des produits alimentaires à valeur ajoutée. *Plants*. 2023;12(267):1-19. Available:<https://doi.org/10.3390/plants12020267>
8. Kirtikar KR, Basu BD. Indian medicinal plants, Deharadun (INDE) : International book distributors ; 1999.
9. Togola I, Konaré MA, Diarra N, Karembé M. Investigations ethnobotaniques et floristiques des espèces de *Datura* au Mali. *European Journal of Medicinal Plants*. 2022;33(12):73-87. Available:<https://doi.org/10.9734/ejmp/2022/v33i121114>.
10. Fatima H, Khan K, Zia M, Ur-Rehman T, Mirza B, Haq I. Optimisation de l'extraction des métabolites médicinalement importants de *Datura innoxia* Mill. : dans *phytochimique de la recherche, BMC complem. Altern. Med.* 2015;15:376. Available:<https://doi.org/10.1186/s12906-015-0891-1>
11. Jaikumar B, Jasmine R. A review on a few medicinal plants possessing anticancer activity against human breast cancer. *Int J Pharm Tech Res*. 2016;9:333-365.
12. Togola I, Konaré MA, Diakité M, Diarra N, Tounkara F, Sanogo R, Dembélé D. Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill, une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali. *Am. J. Innov. Res. Appl. Sci.* 2019a;9(2):200-207. Issiaka- Ref.4-ajira250719
13. Harbone JB. *Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis* 3rd edition, Chapman and Hill, New York. 1998;317.
14. Bruneton J. J. *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. (5^e Edition). Edition Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales. 2016;1504. Available:<https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000170>.
15. Sevastre AS, Manea EV, Popescu OS, Tache DE, Danoiu S, Sfredel V, Tataranu LG, Dricu A. Intracellular Pathways and Mechanisms of Colored Secondary Metabolites in Cancer Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23:9943. Available:<https://doi.org/10.3390/ijms23179943>

16. Guo R, Liu Y, Pan J, Guan W, Yang BY, Kuang HX. A new ses-quitерpenoid with cytotoxic and anti-inflammatory activity from the leaves of *Datura metel* L. Nat Prod Res. 2019;28:1-7.
Disponible : <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.05.003>.
17. Alper M. Investigation des effets anticancéreux et anti-inflammatoires potentiels des extraits éthanoliques de *Datura stramonium*. contre certaines lignées de cellules cancéreuses humaines. Bulletin environnemental de Fresenius. 2019 ; 28(12):8993-9003.
Disponible : https://hdl.handle.net/20.500.128_09/1145.
18. Al-Zharani M, Nasr FA, Alqahtani AS, Cordero MAW, Alotaibi AA, Bepari A, Alarifi S, Daoud A, Barnawi IO, Daradka HM. Évaluation cytotoxique *in vitro* et effets apoptotiques du *Datura innoxia* cultivé en Arabie saoudite et analyse phytochimique. Appl.Sci. 2021 ; 11 : 2864.
Available:<https://doi.org/10.3390/app11062864>.
19. Iqbal S, Sivaraj C, Gunasekaran K. Antioxidant and anticancer activities of methanol extract of seeds of *Datura stramonium* L. Free Radicals Antioxidants. 2017;7:184-189.
Disponible : <https://doi.org/10.5530/fra.2017.228>.
20. Cheshomi H, Aldaghi LS, Seresht HR. Cytotoxicité de l'extrait de méthanol des pétales de *Datura innoxia* sur les cellules MCF-7 et HEK-293 Cell Lines. J Biomed. 2016 ; 1(2):e6623.

Etude phytochimique et activité anticancéreuse des extraits des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Waterman (Rutaceae) récoltées au Mali

Cissé Salimatou ^{1*}, Dembélé Niaboula ², Somboro Aimé Ainin ¹, Caldefie-Chezet Florence ³, Chalard Pierre ⁴

¹Laboratoire de chimie organique et Substances Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques de Bamako
BP E 3206, Mali.

²Institut des Sciences Appliquées, USTTB, Mali.

³Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques Pharmaceutiques (SVFP) de l'Equipe MicroEnvironnement CellulaiRE Immunomodulation et Nutrition (ECREIN) de la Faculté de Pharmacie de l'Université Clermont Auvergne de Clermont-Ferrand, France.

⁴Laboratoire des hétérocycles, des glucides et Huiles Essentielles de la CESMA (Equipe Conception Et Synthèse De Molécules Antalgiques, Ecole Nationale Supérieure de Chimie Clermont-Ferrand, France.

*Adresse/téléphone : cissesalimatou@gmail.com / +223 66 76 74 04

Résumé

Zanthoxylum zanthoxyloides (Lam.) Waterman connue sous le nom vernaculaire « Wo » est une plante médicinale de la famille des Rutaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle malienne contre de nombreuses maladies dont les cancers. L'objectif de l'étude était d'évaluer l'activité anticancéreuse des extraits des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* récoltées sur deux sites (Yanfolila et Ouélessébougou). Des extraits acétate d'éthyle et aqueux ont été préparés à partir de la poudre des racines. Les constituants chimiques ont été caractérisés par les réactions en tube. L'activité anticancéreuse des extraits a été évaluée sur une lignée de cellules cancéreuses mammaires de type MCF-7 par la technique de la résazurine. Le screening phytochimique a montré la présence des alcaloïdes, des coumarines, des flavonoïdes, des stérols et terpènes. Les extraits acétate d'éthyle de Ouélessébougou et de Yanfolila ont montré une activité anticancéreuse avec une CI₅₀ respectivement de 37,28 µg/mL et 47,10 µg/mL. L'extrait acétate d'éthyle de Ouélessébougou a montré la meilleure activité. L'activité anticancéreuse des extraits pourrait être due à une synergie d'action des constituants chimiques. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour isoler et identifier les constituants responsables de cette activité.

Mots clés : *Zanthoxylum zanthoxyloides* ; activité anticancéreuse ; Mali.

Phytochemical study and anticancer activity of extracts from the roots of *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Waterman (Rutaceae) collected in Mali

Summary

Zanthoxylum zanthoxyloides (Lam.) Waterman known by the vernacular name “Wo” is a medicinal plant belonging to the Rutaceae family, widely used in traditional Malian medicine. The objective of the study was to evaluate the anticancer activity of extracts of the roots of *Zanthoxylum zanthoxyloides* collected from two sites (Yanfolila and Ouélessébougou). Ethyl acetate and aqueous extracts were prepared from the root powder. The chemical constituents were characterized using tube reactions. The anticancer activity of the extracts was evaluated on an MCF-7 type breast cancer cell line using the resazurin technique. Phytochemical screening showed the presence of alkaloids, coumarins, flavonoids, sterols and terpenes. The ethyl acetate extracts of Ouélessébougou and Yanfolila showed anticancer activity with an IC₅₀ of 37.28 µg/mL and 47.10 µg/mL respectively. The ethyl acetate extract from Ouélessébougou showed the best activity. The anticancer activity of the extracts could be due to a synergy of action of the chemical constituents. Further research is needed to isolate and identify the constituents responsible for this activity. crude and contain a large number of different constituents. By purifying them, they could exhibit better activity. Further research is needed to identify, isolate and purify these constituents.

Key words: *Zanthoxylum zanthoxyloides*; anticancer activity; Mali.

1. Introduction

Dans de nombreux pays en voie de développement, l'accès à la médecine conventionnelle reste limité aux grandes agglomérations. Les difficultés de déplacements, l'insuffisance du personnel qualifié, le coût élevé des prestations et des médicaments conventionnels et les facteurs socio-économiques ne laissent à une grande partie de la population d'autres choix que la médecine traditionnelle pour traiter leurs maladies courantes [3]. Depuis quelques décennies, les états africains particulièrement ceux du Sahara ont mis en place des politiques visant à valoriser la médecine traditionnelle afin d'assurer une bonne santé de leurs populations [14]. En effet les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voir des milliers de composés naturels bioactifs. Ces derniers sont accumulés dans les différents organes (feuilles, fleurs, fruits, tiges, racines, écorces, etc.) de la plante [4]. Malgré les progrès réalisés en médecine conventionnelle au cours des dernières décennies, de nombreux traitements médicamenteux restent insuffisants face aux fléaux tels que : la malaria, première cause de mortalité dans le monde, le cancer, les infections virales et bactériennes [5]. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces fléaux. Dans ce but, l'investigation des plantes

médicinales représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances car de nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, etc. [5]. Parmi les multiples plantes médicinales disponibles dans le monde, nous avons orienté notre choix sur *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*. C'est un arbre qui pousse spontanément en Afrique Occidentale, de 5 à 15 m de hauteur, à fût droit, souvent court et branchu avec une cime en boule. Le tronc, les rameaux et la nervure médiane des folioles portent de grosses épines coniques, recourbées et acérées en forme de griffe, atteignant jusqu'à 1 cm de longueur, de teinte brune avec socle plus clair. L'arbuste est toujours feuillé, fleurit d'octobre à mars, les fruits sont mûrs de février à avril [14]. Les racines mesurant 2 à 4 cm de diamètre, ont un bois jaune. L'écorce de la racine de couleur brun jaune, est peu épaisse (1 à 2 mm) et parsemée de taches jaune vif. La saveur de l'écorce des racines, plus intense que celle de l'écorce des tiges, est aromatique, amère et poivrée. La mastication des racines entraîne un engourdissement de la langue [14]. Plusieurs travaux ont été effectués sur plusieurs espèces de genre *Zanthoxylum* afin d'isoler les composés possédant une activité antitumorale. Il s'agit de la berbérine, la fagaronine, la nitidine, la 5-méthoxycanthin-6-one, la 4-méthyllthiocanthin-6-one, l'acronycine et la skimmianine [13]. De l'extrait aqueux de cette plante ont été isolée l'acide hydroxyméthyl-benzoïque et le xanthoxylol principes actifs responsables de l'activité antitumorale [5]. D'autre part, les travaux de Okogun et Essien (1976) sur les racines de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* ont permis d'isoler et d'identifier la flavone glycosylée, hespéridine ; les lignanes ; sésamine, asarinine ainsi que le xanthoxylol, composé responsable de l'activité antitumorale de cette espèce. Toutefois, l'étude de l'activité anticancéreuse des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* récolté au Mali n'a jamais été réalisée.

Notre étude vise à évaluer l'activité anticancéreuse des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux de la poudre végétale des racines sur la prolifération des cellules cancéreuses mammaires de la lignée MCF-

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (Lam.) Waterman. Elles ont été récoltées dans leur habitat naturel à Yanfolila, une ville située dans la région de Sikasso (3^{ème} région du Mali) et à Ouélessébougou une ville située dans la région de Koulikoro (2^{ème} région du Mali). La récolte a été réalisée avec l'aide d'un tradithérapeute. L'identification de l'espèce a été effectuée par un ingénieur forestier du Département de la Médecine Traditionnelle du Mali (DMT) comme étant *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (Lam.) Waterman et un échantillon de référence se trouve à l'herbier du dit département sous le numéro 3800/DMT. Les organes ont été séchés à l'ombre, à température ambiante pendant deux semaines dans le laboratoire de Chimie Organique et de Substances Naturelles de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB). Puis ils ont été réduits en poudre à l'aide d'un moulin et conservés dans des sacs en tissu à l'abri de la lumière et de l'humidité pour des analyses ultérieures.



Figure 1 : Racines et poudre des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (Cissé, 2019)

2.1.2. Cellules cancéreuses

Les tests anti tumoraux ont été menés sur une lignée de cellules cancéreuses mammaires de type MCF-7 au Laboratoire des Sciences Végétales et Fongiques pharmaceutiques de l'équipe ECREIN « MicroEnvironnement CellulaiRE Immuno-modulation et Nutrition » de la Faculté de Pharmacie de l'Université d'Auvergne.



Figure 2 : Cellules cancéreuses MCF-7 en milieu de culture (Cissé, 2019)

2.1.3. Produits

Les produits testés sont des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* récoltés sur le site de Yanfolila et de Ouélessébougou.

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des extraits

Sachant que le matériel végétal renferme souvent des quantités non négligeables de graisses, mais aussi des cires, de terpènes, de pigments et d'autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif notamment en induisant la formation d'émulsion, nous avons procédé à une délipidation préalable de 200 g de poudre avec de l'hexane (500 mL) sous agitation électrique continue à une température ambiante et pendant 24 h à l'aide d'un agitateur métallique de type SKIL. Nous avons ensuite réalisé une filtration sous vide, puis le matériel végétal a subi trois macérations successives dans le méthanol (1 mL) pendant 24 h. Après filtration, le méthanol est évaporé à sec sous pression réduite à 50 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-151) pour avoir l'extrait méthanolique sec qui est récupéré dans un flacon en verre et conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation. L'extrait méthanolique sec est resolubilisé dans du méthanol, de l'hexane et de l'eau. Le mélange obtenu est délipidé une seconde fois dans l'hexane 3 fois. L'acétate d'éthyle est ajouté au mélange. Après décantation on obtient les fractions d'acétate d'éthyle et d'eau. Ces deux fractions sont concentrées à sec sous pression réduite à 50 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-151) pour avoir les extraits d'acétate d'éthyle et aqueux secs qui sont récupérés dans des flacons en verre et conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

2.2.2. Screening phytochimique

Il consiste à identifier les principaux groupes chimiques d'une plante par des réactions de caractérisations en tube avec des réactifs appropriés. L'identification des polyphénols a été faite par la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). Les flavonoïdes ont été mis en évidence par le réactif de Shibata ou réaction à la cyanidine. La mise en évidence des stérols et des terpènes a été faite grâce à la réaction de Liebermann. Les tanins ont été mis en évidence grâce au réactif de Stiasny. La recherche des saponosides est basée sur la mesure de l'indice de mousse après agitation dans le sens de la longueur du tube. Les composés réducteurs ont été mis en évidence grâce à la liqueur de Fehling. La recherche des alcaloïdes a été faite à l'aide des réactifs généraux de caractérisation des alcaloïdes : il s'agit des réactifs de Dragendorff, de Bouchardât et de Valser-Mayer. L'identification des hétérosides cardiotoniques est réalisée par trois types de réactifs : de Baljet, de Kedde et de Raymond-Marthoud. Les mucilages ont été mis en évidence par l'éthanol 95%. Quant aux coumarines, la révélation a été effectuée à l'UV 365nm après ajout de l'ammoniac à 25%.

2.2.3. Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse a été évaluée par la technique de la résazurine. Les cellules MCF-7 sontensemencées dans des plaques 96-puits à une concentration de 50.000 cellules/mL. Dans chaque puits, 200 μL de milieu cellulaire ont été déposés ; ce qui nous donne 10.000 cellules par puits. Les cellules sont ensuite mises à incuber à l'étuve à 37°C, 5% de CO_2 . Au bout de 24 heures les cellules sont mises en présence de différentes concentrations d'extraits : 10 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ et 100 $\mu\text{g/mL}$. En parallèle pour chaque extrait on fait une colonne témoin DMSO (solvant de solubilisation de l'extrait) et une colonne de doxorubicine servant de contrôle positif.

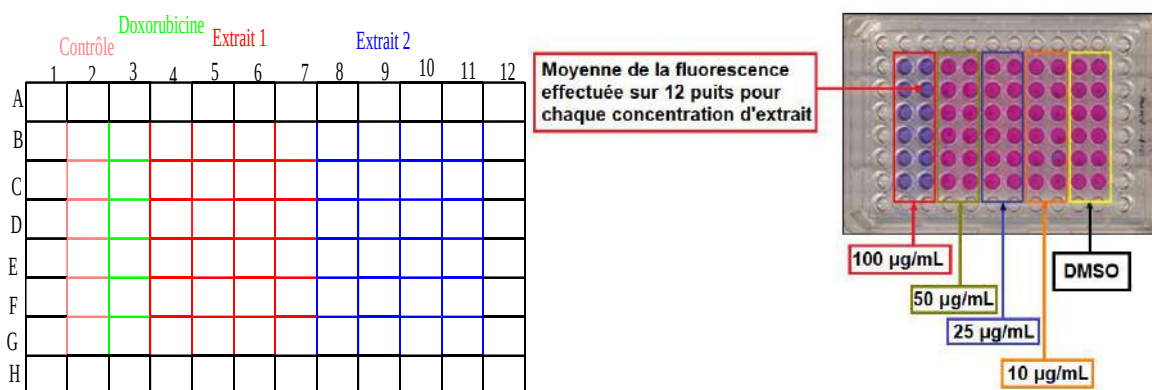


Figure 3 : Plaque à 96 puitsensemencée

Après 72 heures d'incubation, le milieu de culture est substitué par une solution de résazurine (25 µg/mL), qui en présence de cellules métaboliquement actives est oxydée en résosfurine fluorescent à 590 nm.

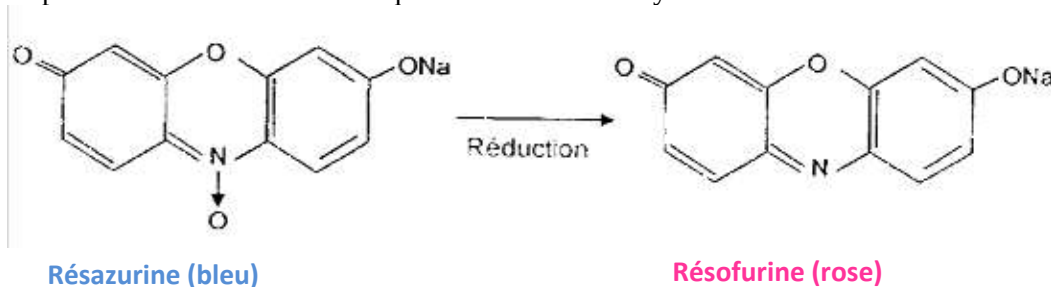


Figure 4 : Réduction de la résazurine en résosfurine

L'intensité de fluorescence est proportionnelle au nombre de cellules viables. La fluorescence est ensuite mesurée grâce à un lecteur de plaque avec le Fluoroskan, programme Résa-96 à 590 nm.

Si lors de cette première étape de criblage, aucune ou une faible inhibition de la prolifération cellulaire est observée, l'étude de l'extrait est abandonnée. Si au contraire, un effet cytotoxique est observé, un second criblage sera réalisé en affinant les concentrations testées. Lorsque les bonnes concentrations de criblage sont trouvées, 3 essais indépendants sont réalisés dans les mêmes conditions pour valider les résultats. Pour chaque extrait, la concentration inhibitrice des cellules de 50 % (CI₅₀) a été calculée. Les résultats sont présentés sous la forme : moyenne ± ESM (Ecart standard à la moyenne).

L'analyse statistique repose sur l'utilisation du test t en séries appariées (N=3).

3. Résultats et Discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Constituants chimiques

Tableau I : Constituants chimiques des extraits des racines

Constituants Chimiques	Extrait d'Acétate d'Ethyle		Extrait Aqueux	
	Site 1	Site 2	Site 1	Site 2
Alcaloïdes	+	+	-	-
Flavonoïdes	+	+	-	-
Tanins	-	-	-	-
Saponosides	-	-	-	-
Mucilages	-	-	-	-
Dérivés anthracéniques	-	-	-	-
Hétérosides cardiotoniques	-	-	-	-
Terpénoïdes	+	+	-	-
Coumarines	-	-	+	+
Composés réducteurs	-	-	-	-

Site 1 : Yanfolila

+ : Présence

Site 2 : Ouélessébougou

- : Absence

3.1.2. Activité anticancéreuse

Tableau II : Pourcentage d'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses MCF-7 en fonction des concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle du site de Yanfolila

Concentrations (µg/mL)		40	45	50	55	60	65	70	75	CI ₅₀
Taux d'inhibition (%)	N 1	15,38	12,78	22,25	16,89	27,21	40,15	73,63	90,39	66,43
	N 2	49,41	64,21	77,84	84,76	87,93	89,16	91,85	90,34	40,18
	N 3	44,49	55,54	72,90	80,67	87,19	89,16	91,85	90,34	42,44
Moyenne		36,43	44,14	57,66	60,77	67,44	73,75	85,78	90,82	47,10
ESM		10,62	15,89	17,76	21,97	20,12	16,82	6,08	0,46	

Tableau III : Pourcentage d'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses MCF-7 en fonction des concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle du site de Ouélessébougou

Concentrations (µg/mL)		30	35	40	45	50	60	70	75	CI ₅₀
Taux d'inhibition (%)	N 1	14,56	41,44	59,39	81,86	88,15	92,08	93,56	95,07	57,74
	N 2	4,37	33,68	66,59	82,21	84,19	86,34	87,58	96,68	37,39
	N 3	9,86	34,74	68,52	86,64	91,80	93,81	95,47	97,50	37,17
Moyenne		9,60	36,62	64,83	83,57	88,04	90,75	92,20	96,42	37,28
ESM		2,19	2,10	2,62	1,35	2,20	1,55	1,26	0,65	

3.2. Discussion

Les alcaloïdes, flavonoïdes, terpénoïdes et coumarines ont été identifiés dans les extraits des deux sites. Les alcaloïdes ont des effets pharmacologiques puissants, notamment des activités anticancéreuses [8]. Les flavonoïdes ont également montré des activités anticancéreuses grâce à leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses et à induire l'apoptose (mort cellulaire programmée [11]. Les coumarines ont des effets anticoagulants et anti-inflammatoires [13]. Les stérols aident à réduire le cholestérol et ont des propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses [10]. Les terpènes ont des propriétés anti-inflammatoires, antivirales, et anticancéreuses [6].

L'extrait d'acétate d'éthyle des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* des deux sites a une activité anticancéreuse. Il est à noter que l'extrait d'acétate d'éthyle du site de Ouélessébougou avec une CI₅₀ de 37,28 µg/mL a une activité plus intéressante que l'extrait d'acétate d'éthyle du site de Yanfolila avec une CI₅₀ de 47,10 µg/mL. Cette activité pourrait être due à la présence des alcaloïdes et flavonoïdes dans nos extraits. Par contre, l'extrait aqueux des deux sites n'a aucune influence significative sur la prolifération des cellules MCF-7 dans nos conditions de travail. Nos résultats sont conformes aux travaux d'autres chercheurs. Une étude in vitro menée par Okoye *et al.* (2010) a montré que les extraits de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* possédaient une activité cytotoxique contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses. Les extraits ont induit l'apoptose et inhibé la prolifération des cellules cancéreuses. Les alcaloïdes isolés de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* par Ademola *et al.* (2004) ont montré des effets inhibiteurs sur la croissance des cellules cancéreuses, suggérant un potentiel thérapeutique pour ces composés. La berbérine, la fagaronine, la nitidine, la 5-méthoxycanthin-6-one, la 4-méthyllthiocanthin-6-one, l'acronycine et la skimmianine, des composés isolés de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* par Odebiyi et Sofowora en 1979 ont été montrés une activité antitumorale. Cette étude a permis d'évaluer pour la première fois l'activité anticancéreuse des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* d'origine Malienne.

4. Conclusion et perspectives

Cette étude a montré que *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* est une source potentielle d'alcaloïdes, de flavonoïdes, terpénoïdes et coumarines. Les extraits d'acétate d'éthyle des deux sites possèdent une activité anticancéreuse moyenne (CI₅₀ compris entre 20 µg/mL et 50 µg/mL). Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle du tamoxifène (CI₅₀ = 4,425 µg/mL) et du [5-Fluorouracile] (une CI₅₀ de 0,525 µg/mL) testés sur la même lignée cellulaire au laboratoire dans les mêmes conditions. Les extraits sont des extraits bruts contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable qu'ils contiennent des composés qui une fois purifiés peuvent

présenter une activité comparable à celle du tamoxifène. En perspectives, des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.

5. Bibliographie

- [1]. Ademola, I. O., Fagbemi, B. O., & Idowu, S. O. (2004). Anthelmintic activity of extracts of *Zanthoxylum zanthoxyloides* against gastrointestinal nematodes of sheep. *Research in Veterinary Science*, 76(3), 249-252.
- [2]. Badiaga. M. (2011) : Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Doctorat. Université de Bamako.184p.
- [3]. Bossokpi I. P. L. (2003) : Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam (Rutaceae). Thèse de Doctorat. Université de Bamako, Mali. 128p.
- [4]. Boudjouref M. (2011) : Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Magister. Université Ferhat Abbès de Sétif, Algérie. 99p
- [5]. Chaaib F.K. (2004) : Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (Lam.) Zepernick et Timler (*Syn. Fagara zanthoxyloïdes* L.) (Rutaceae). Thèse de Doctorat. Université de Lausanne, Genève.2004, 200p.
- [6]. Huang, M., Lu, J. J., & Ding, J. (2012). Natural products in cancer therapy : past, present and future. *Natural Product Reports*, 29(5), 622-642.
- [7]. López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(1), 31-59.
- [8]. Nobili, S., Lippi, D., Witort, E., Donnini, M., Bausi, L., Mini, E., & Capaccioli, S. (2009). Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological Research*, 59(6), 365-378.
- [9]. Okoye, F. B. C., Osadebe, P. O., & Proksch, P. (2010). Cytotoxic activities of some Nigerian medicinal plants. *Phytotherapy Research*, 24(12), 1867-1871.
- [10]. Ostlund Jr, R. E. (2002). Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition*, 22(1), 533-549.
- [11]. Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids : an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- [12]. Tangara O. (2014) : Composition chimique, variabilité, activités anticancéreuse et antibactérienne de l'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*. Thèse de Doctorat. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali. 124p.
- [13]. Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed Research International*, 2013.

Effet du cultivar et du stade de maturité sur les caractéristiques physico-chimiques de l'huile vierge d'amande de coco

KOUADIO Marcellin Konan^{1,2,*}, KONE Fankroma Martial Thierry¹, SORO Pégnonsienrè Lacina³, DOUBI BI Tra Serges² ; KONAN Konan Jean Louis²

¹Sciences et Technologies des Aliments, Université Nangui ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

²Station de Recherche sur le Cocotier Marc DELORME, Port-Bouët, Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 07 BP 13 Abidjan 07, Côte d'Ivoire.

³Agriculture, Ressources Halieutiques et Agro-Industries, Université de San Pedro, 01 BP 1800 San Pedro 01, Côte d'Ivoire.

*Email : kouadio.marcellin@univ-na.ci

Résumé : L'huile d'amande de *Cocos nucifera* est riche en acide laurique qui lui confère des propriétés bénéfiques pour la santé avec des usages nutritionnels, industriels et pharmaceutiques. Le cultivar et le stade de maturité influencent la qualité nutritive de l'amande et de son huile. Ainsi, notre travail a été d'évaluer l'effet du cultivar et du stade de maturité sur les caractéristiques physicochimiques de l'huile vierge de coco. Les méthodes d'analyses standards ont été effectuées sur les huiles vierges extraites des laits d'amandes des cultivars améliorés Grand Ouest Africain (GOA⁺), Grand Rennell (GRL⁺), puis des hybrides PB113⁺ et PB121⁺ aux stades de 10, 11 et 12 mois de maturité. Les résultats ont montré un effet significatif ($p \leq 0,05$) du cultivar et de la maturité sur les paramètres étudiés. Le rendement en huile (82,75%), l'indice d'acide (0,71 mg KOH/g), l'indice de peroxyde (1,35 méq O₂/kg) et les polyphénols (44,99 mg EAG/100g) étaient élevés dans l'huile de GOA⁺ à 12 mois. L'indice d'iode (11,73 g I₂/100g), étaient élevés dans l'huile du PB121⁺ à 12 mois. En conséquence, à 12 mois de maturité, les huiles vierges extraites des amandes des différents cultivars de coco présentent des caractéristiques convenables pour un usage alimentaire.

Mots Clés : *Cocos nucifera*, cultivar, maturité, huile

Effect of cultivar and maturity stage on the physico-chemical characteristics of virgin coconut kernel oil

Abstract: *Cocos nucifera* kernel oil is rich in lauric acid, which gives it beneficial health properties for nutritional, industrial and pharmaceutical uses. Cultivar and maturity stage influence the nutritional quality of the kernel and its oil. Our work therefore involved assessing the effect of cultivar and maturity stage on the physico-chemical characteristics of virgin coconut oil. Standard analytical methods were applied to virgin oils extracted from the kernel milk of the improved cultivars West Tall African (WAT⁺), Rennell Island Tall (RIT⁺) and then PB113⁺ and PB121⁺ hybrids at the 10, 11 and 12-month maturity stages. The results showed a significant effect ($p \leq 0.05$) of cultivar and maturity stage on the parameters studied. Oil yield (82.75%), acid value (0.71 mg KOH/g), peroxide value (1.35 meq O₂/kg) and polyphenols (44.99 mg EAG/100g) were high in WAT⁺ oil at 12 months. The iodine index (11.73 g I₂/100 g) was high in PB121⁺ oil after 12 months. In conclusion, the virgin oils obtained from the kernels of the different coconut cultivars at 12 months of maturity have properties suitable for food use. **Keywords:** *Cocos nucifera*, cultivar, maturity, oil

1. Introduction

Le cocotier (*Cocos nucifera* L) est une plante oléagineuse pérenne et résiliente qui revêt une importance sociale, culturelle, économique et environnementale pour les communautés et contribue au développement durable [1,2]. Il s'agit d'une ressource multifonctionnelle qui fournit des moyens de subsistance à plus de 100 millions de personnes vivant dans des zones côtières [2,3]. En Côte d'Ivoire, la culture de cocotier couvre environ 50 000 ha de terres et plus de 20 000 familles vivant sur le littoral dépendent principalement de cette culture [4]. En effet, le cocotier est principalement cultivé pour la production et la commercialisation de l'huile de coprah, qui est utilisée en industrie cosmétique et savonnerie. Récemment, la demande mondiale de coprah, dont est extraite l'huile de coprah, est en déclin face à l'essor d'autres huiles végétales, principalement l'huile de palme. Aujourd'hui, l'huile de coprah ne représente qu'environ 2 % du marché mondial des huiles [5]. Cela entraîne une baisse des revenus chez les producteurs. De plus, la commercialisation des noix de coco fraîches en vue de leur transformation en produits alimentaires tels que le lait de coco, la farine de coco et l'huile vierge de coco est en pleine expansion. L'huile vierge de coco est obtenue à partir de l'amande fraîche et mature de la noix de coco par voie mécanique ou naturelle avec ou sans utilisation de chaleur, sans processus de raffinage, de blanchiment et de désodorisation [6]. Selon Ghani et al [7], la consommation d'huile vierge de coco suscite un intérêt croissant. Plusieurs études ont démontré les bienfaits liés à la consommation de l'huile vierge de coco pour la santé et son importance dans les produits pharmaceutiques, les aliments pour nourrissons ainsi que sa bonne résistance à l'oxydation, sa longue durée de conservation et son excellente saveur [8,9]. Aujourd'hui, bien qu'étant pays producteur et exportateur de la noix de coco avec plus de 53 variétés de noix de coco, la rentabilité économique de la noix de coco en Côte

d'Ivoire reste faible contrairement à d'autres cultures pérennes telles que le palmier à huile, le cacao et l'hévéa [10]. Jusqu'à ce jour, très peu de travaux portant sur la production et la caractérisation de l'huile vierge d'amande fraîche du fruit du cocotier ont été réalisées. Ainsi, l'objectif de cette étude est de déterminer la composition physico-chimique de l'huile vierge de coco de différents cultivars selon trois stades de maturité du fruit. Les résultats de cette étude permettront d'avoir des données sur la composition des huiles vierges de coco et guideront les sélectionneurs dans la sélection des cultivars de noix de coco pour la production d'huile vierge d'amande de coco.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Les huiles vierges de coco ont été obtenues à partir des laits d'amandes des cultivars améliorés Grand Ouest Africain (GOA⁺), Grand Rennell (GRL⁺), puis des hybrides PB113⁺ et PB121⁺ à la station de recherche sur le cocotier Marc Delorme du Centre National de Recherche Agronomique. Ces amandes avaient 10, 11 et 12 mois de maturité

2.2. Caractérisation physico-chimique

Le rendement en huile vierge a été calculé selon le ratio de la masse d'huile vierge sur la masse de lait d'amande. L'indice de peroxyde a été mesuré selon la norme AOCS [11]. L'indice d'iode et d'acide ont été déterminés par spectroscopie proche infrarouge à transformation de Fourier. Le dosage des polyphénols a été effectué selon la méthode de Singleton et al. [12]. Le profil en acides gras a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse à partir des esters méthyliques d'acides gras selon la méthode de Laffargue et al. [13].

3. Résultats et discussion

Les analyses effectuées sur les huiles vierges avaient pour but de déterminer les variabilités physicochimiques des huiles vierges de coco pour une valorisation alimentaire. Les indices chimiques et les polyphénols totaux déterminés sont des paramètres utilisés comme indicateur de stabilité oxydative des huiles [14] et permettent d'évaluer le caractère fonctionnel des huiles [15]. Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous montrent que l'indice d'acide (0,52 – 0,71 mg KOH/g), l'indice de peroxyde (1,15 – 1,35 meq O₂/kg), l'indice d'iode (7,54 – 11,73 g I₂/100g) et les polyphénols totaux (17,91 – 44,99 mg EAG/100g) variaient significativement ($p < 0,05$) entre les cultivars selon les stades de maturité. Ils étaient tous élevés dans les échantillons d'huile au stade de maturité 12 mois, tout comme le rendement en huile mesuré de 44,30 à 82,75 %. Cela suggère que ce stade de maturité serait convenable pour l'obtention d'une huile nutritive. Les indices chimiques trouvés sont similaires aux limites proposées par le Codex Alimentarius Commission [16] et l'APCC [17]. Aussi, l'effet significatif du facteur cultivar s'expliquerait par la grande variabilité génétique existante chez l'espèce *Cocos nucifera* [2]. Cela conduit à l'obtention de fruits avec des amandes de qualités nutritives différentes, influençant ainsi la qualité des huiles vierges. Quant à l'effet du stade de maturité, les activités enzymatiques endogènes dans l'amande au cours de sa maturation impacteraient la qualité de l'huile résultante. Les teneurs élevées en acides gras insaturés des huiles vierges des espèces hybrides PB113⁺ et PB121⁺ indiquent que celles-ci seraient efficaces contre les radicaux libres. Cependant, elles seraient moins résistantes à l'altération β -oxydative à cause de leur double liaison (C=C) contrairement aux huiles des espèces Grand Ouest Africain (GOA⁺) et Grand Rennell (GRL⁺) qui seront plus stables en plus de leur richesse en composé polyphénolique.

(+) : Amélioré, **GRL** : Grand Rennell, **GOA** : Grand Ouest Africain, **Mat** : maturité, **PB** : Port-Bouët. **Per.** : peroxyde, **NS** : non significative. Les valeurs sont exprimées en moyennes $\pm$ écart-types ($n = 3$ essais). Les valeurs moyennes dans les mêmes colonnes avec des lettres différentes en exposant sont significativement différentes les unes des autres ($p < 0,05$)

4. Conclusion

Il existe une variabilité dans la composition physicochimique des huiles vierges de coco avec un effet significatif ($p < 0,05$) du cultivar et du stade de maturité. Au stade de 12 mois de maturité, les huiles vierges extraites des amandes des cultivars de coco présentent des caractéristiques convenables pour un usage alimentaire. Ainsi, la production d'huile vierge de coco permettrait d'élargir les voies de valorisation de la noix de coco en Côte d'Ivoire et de contribuer à la sécurité alimentaire en plus de générer des revenus pour les producteurs de la noix de coco.

5. Bibliographie

[1] FAO. The state of food and agriculture: Innovation in family farming. Rome, Italy: 2014.

- [2] COGENT. A global strategy for the conservation and use of coconut genetic resources 2018-2028. Montpellier, France: 2017.
- [3] Daa-kpode UA, Djedatin G, Sacla-Aide E, Salako KV, Baba-Moussa F, Adeoti K. Ethnobotanical study of the coconut palm in the coastal zone of Benin. *Int J Biodivers Conserv* 2021;13:152–64. <https://doi.org/10.5897/IJBC2021.1503>.
- [4] Assa RR, Konan KJL, Nemlin J, Prades A, Agbo NG, Sié RS. Diagnostic de la cocoteraie paysanne du littoral ivoirien. *Sci Nat* 2006;3:113–20.
- [5] CENUCED. Noix de coco. Un profil de produit de base. Genève: 2017.
- [6] Rohman A, Irnawati, Erwanto Y, Lukitaningsih E, Rafi M, Fadzilah NA, et al. Virgin Coconut Oil: Extraction, Physicochemical Properties, Biological Activities and Its Authentication Analysis. *Food Reviews International* 2021;37:46–66. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1687515>.
- [7] Ghani N, Channip A-A, Hwa P, Ja'afar F, Yasin H, Usman A. Physicochemical properties, antioxidant capacities, and metal contents of virgin coconut oil produced by wet and dry processes. *Food Sci Nutr* 2018;6:1298–306. <https://doi.org/10.1002/fsn3.671>.
- [8] Kamariah L, Azmi A, Rosmawati A, Ching MGW, Azlina MD, Tan CP, et al. Physico-chemical and quality characteristics of virgin coconut oil – A Malaysian survey. *J Trop Agric And Fd Sci* 2008;36:1–10.
- [9] Deen F, Visvanathan R, Liyanage R, Marikkar N. Chemical Composition and Health Benefits of Coconut oil: An Overview. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2020;101:2182–93.
- [10] Konan YN, Konan KJL, Assa RR, Konan BR, Okoma DMJ, Allou K, et al. Assessment of sap production parameters from spathes of four coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars in Côte d'Ivoire. *Sustainable Agriculture Research* 2013;2:87–94. <https://doi.org/10.5539/sar.v2n4p87>.
- [11] AOCS. Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society. 2009.
- [12] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, vol. 299, Academic Press; 1999, p. 152–78. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- [13] Laffargue A, De Kochko A, Dussert S. Development of solid-phase extraction and methylation procedures to analyse free fatty acids in lipid-rich seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 2007;45:250–7. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.01.012>.
- [14] Geng L, Zhou W, Qu X, Sa R, Liang J, Wang X, et al. Iodine values, peroxide values and acid values of Bohai algae oil compared with other oils during the cooking. *Heliyon* 2023;9:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15088>.
- [15] Mohammed NK, Samir ZT, Jassim MA, Saeed SK. Effect of different extraction methods on physicochemical properties, antioxidant activity, of virgin coconut oil. *Mater Today: Proc* 2021;42:2000–5. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.248>.
- [16] Codex alimentarius commission. Report Of The Sixteenth Session Of The Codex Committee On Fats And Oils, London, United Kingdom 8–12 March 1999; Food and Agriculture Organisation of the United Nations; World Health Organization: Rome, Italy, 1999.
- [17] APCC. Standards for virgin coconut oil. Jakarta, Indonesia: 2009.

DEVELOPPEMENT D'UNE ETUDE DE PROCEDE TECHNOLOGIQUE ET DE DESEMULSIFIANT POUR LA PREPARATION D'HUILES LOURDES TRES VISQUEUSES POUR LE RAFFINAGE

Dosso Ouehi,^{1*} Souleymane Coulibaly,¹ et Siomenan Coulibali¹

Laboratoire de constitution et réaction de la matière, Université Félix Houphouët Boigny Cocody.
22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

[*dosso.ouehi@yahoo.fr](mailto:dosso.ouehi@yahoo.fr)

Résumé

Avec la volatilité constante des prix du pétrole sur le marché international, la croissance continue de la demande mondiale de carburants et la diminution rapide des réserves de pétrole conventionnel, l'industrie pétrolière s'oriente vers l'exploitation et la valorisation des pétroles lourds très visqueux, jusqu'ici sous-estimés en tant que sources d'énergie compétitives [1]. Cette étude vise à développer une technologie permettant de préparer les pétroles lourds très visqueux pour le raffinage dans les unités de dessalage des raffineries, en se concentrant sur le cas du pétrole lourd de la région d'Astrakhan (Russie). À travers des expérimentations approfondies, une analyse mathématique des données et la proposition d'un modèle mathématique, cette recherche a identifié la composition idéale d'un désémulsifiant efficace ainsi que les paramètres optimaux (température, pression, etc.) pour le dessalage efficace des pétroles lourds très visqueux [2]. Avec d'immenses réserves mondiales de pétroles lourds très visqueux, le contexte énergétique actuel suggère que ces ressources pourraient devenir une alternative énergétique majeure dans les années à venir, ouvrant ainsi de nouvelles voies de développement et d'innovation dans le secteur de l'énergie.

Mots clés : pétrole, désémulsifiant, dessalage, paramètres optimaux

DEVELOPMENT OF A DEMULSIFIER AND TECHNOLOGICAL PROCESS STUDY FOR THE PREPARATION OF HIGHLY VISCOUS HEAVY OILS FOR REFINEMENT.

Abstract:

With the constant volatility of oil prices in the international market, the continuous growth in global fuel demand, and the rapid depletion of conventional oil reserves, the petroleum industry is turning towards the exploitation and valorization of highly viscous heavy oils, which have hitherto been underestimated as competitive energy sources [1]. This study aims to develop technology for preparing highly viscous heavy oils for refining in desalting units, focusing on the case of heavy oil from the Astrakhan region (Russia). Through in-depth experimentation, mathematical data analysis, and the proposal of a mathematical model, this research has identified the optimal composition of an effective demulsifier and parameters (temperature, pressure, etc.) for efficient desalination of highly viscous heavy oils [2]. With vast global reserves of highly viscous heavy oils, the current energy context suggests that these resources could become a major energy alternative in the coming years, thus opening new avenues for development and innovation in the energy sector.

Keywords: oil, demulsifier, desalination, parameters

1. Introduction

La production et le transport de pétrole dans l'industrie pétrolière via des pipelines entraînent la formation d'émulsions eau-huile en raison de la présence d'un écoulement turbulent, des changements de pression dans les vannes de mélange [2-3]. Pendant le traitement du pétrole brut et le procédé de dessalage, de l'eau est également injectée conduisant ainsi à la formation d'émulsions eau-dans-huile. Lorsqu'il est extrait d'un réservoir, le pétrole brut peut également contenir des hydrocarbures et des impuretés comme des asphaltènes, des cires, des résines, des solides bruts et des sels de chlorures qui servent d'émulsifiants naturels [4]. L'accumulation de certains de ces composants à l'interface eau-huile, entraînant la formation d'un film stable autour des gouttelettes. Ce film favorise la formation d'une émulsion eau-huile stable et empêche la coalescence des gouttelettes d'eau [5]. Plusieurs problèmes peuvent découler de la coproduction d'eau et de pétrole brut. Cela peut inclure le coût associé au pompage ou au transport de l'eau par camion-citerne ou par pipeline, la corrosion des installations de production (comme les tuyaux, les pompes et les colonnes de distillation en aval), l'empoisonnement des catalyseurs industriels, la nécessité d'installer un 'équipement supplémentaire pour la production de pétrole brut de qualité exportable, ainsi que les problèmes liés à l'amélioration de la viscosité du pétrole brut en raison de la présence de petites gouttelettes d'eau dans le pétrole brut [6]. Du point de vue économique et opérationnel, il est nécessaire d'assurer une séparation totale de l'eau du pétrole brut avant son transport et son raffinage ultérieur [7]. Les méthodes disponibles pour réduire la viscosité du pétrole brut peuvent être divisées en méthodes mécaniques, chimiques, thermiques et électriques. La désémulsification chimique est l'utilisation de produits chimiques pour affaiblir les films interfaciaux de l'émulsion. Les additifs chimiques sont largement utilisés dans la déshydratation des émulsions de pétroles bruts comme une approche rentable et efficace [8] Plusieurs paramètres sont impliqués

dans la désémulsification de l'huile et la modification de chaque paramètre peut avoir une influence significative sur la stabilité de l'émulsion. Ces paramètres comprennent la salinité, la température, les concentrations de l'émulsifiant / désémulsifiant, la vitesse d'agitation et sa durée, le pH, la teneur en huile / eau, la taille des gouttelettes [8, 9].

Nos études ont été menées par étapes. Initialement, les caractéristiques physico-chimiques du pétrole brut ont été déterminées. Ensuite, le pouvoir émulsifiant du pétrole et de ses mélanges avec le diluant a été étudié. Le développement d'un nouveau désémulsifiant efficace pour la destruction des émulsions de pétrole formées par des huiles lourdes à haute viscosité. Le procédé proprement dit de déshydratation profonde et de dessalage de l'huile dans une unité de dessalage. Traitement mathématique et analyse des données expérimentales. Nous avons réalisé le choix des paramètres optimaux du procédé technologique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Méthode de laboratoire pour déterminer le pouvoir émulsifiant du pétrole brut.

Le pouvoir émulsifiant caractérise la capacité du pétrole à former des émulsions stables. Avant de déterminer le pouvoir émulsifiant du pétrole brut, on détermine d'abord la teneur en eau dans le pétrole brut par la méthode Dean et Stark. Ensuite on prépare une émulsion pétrolière artificielle comme suit. Dans un verre de volume 500 cm³ on transvase 140 cm³ de pétrole déshydraté et 60 cm³ d'eau distillée. On agite le mélange pendant 10 minutes à l'aide d'un agitateur ayant une fréquence de 2000 tours/min. On verse l'émulsion préparée dans des tubes de centrifuge de capacité 100 cm³ et on procède à une centrifugation une fréquence de rotation de 2000 tours/min pendant 20 minutes. On mesure la quantité d'eau dégagée. On calcule le pouvoir émulsifiant **PE** du pétrole brut comme étant le rapport du volume d'eau dégagée $V_{\text{eau dégagée}}$ lors de la centrifugation sur le volume total d'eau dans le pétrole V_{total}

$$PE = \frac{V_{\text{total}} - V_{\text{eau dégagée}}}{V_{\text{total}}} \times 100\%, \text{ en } \%$$

2.2. Méthode de laboratoire pour évaluer l'efficacité d'un désémulsifiant.

L'efficacité de l'action d'un désémulsifiant est évaluée selon la quantité d'eau dégagée lors de la centrifugation (en %) par rapport à leur teneur totale dans l'émulsion. Pour déterminer au laboratoire l'efficacité de l'action du désémulsifiant sur l'émulsion formée par notre pétrole étudié, nous avons préparé deux échantillons de 30% d'émulsions avec l'eau distillée. On mélange la solution à l'aide d'un mixeur ayant une fréquence de rotation de 500 tours/min pendant 10 minutes. On verse l'échantillon d'émulsion obtenue dans des tubes de centrifuges. Ensuite on verse la quantité calculée (souhaitable) de désémulsifiant dans un tube de centrifuge et on le maintient pendant 10 minutes dans le bain-marie chauffé jusqu'à 80°C. Après le chauffage, on remue le tube manuellement pendant deux minutes et ensuite on pose le tube dans un centrifuge pendant 20 minutes. À la fin de la centrifugation on détermine l'efficacité du désémulsifiant.

2.3. Méthode de laboratoire pour le choix expérimental d'un solvant lors de la mise au point d'un désémulsifiant sous la forme commerciale.

On mélange 50% de désémulsifiant et 50% de solvant à la température ambiante (20-25°C) jusqu'à obtenir une solution homogène (absence de troubles, de dépôt et de particules en suspension). On met 50 grammes de désémulsifiant dans un ballon gradué (fiolle de mesure) de volume 100 ml. Ensuite on ajoute le volume de solvant. On ferme le ballon de façon compacte avec un bouchon et avec précaution on le remue jusqu'à dissolution totale du solvant. La solution de désémulsifiant doit être transparente sans dépôts quelconques. Si la solution d'un désémulsifiant quelconque est trouble ou contient un dépôt, il est donc nécessaire pour ce désémulsifiant de choisir de façon expérimentale un autre solvant.

3. Résultats et discussion

Le pétrole étudié est caractérisé par une viscosité et une densité élevée, ce qui prédétermine une haute stabilité cinétique et agrégative de ses émulsions aqueuses et une teneur élevée en résines, paraffines et impuretés mécaniques.

3.1. Etude du pouvoir émulsifiant du pétrole.

Le pouvoir émulsifiant caractérise la capacité du pétrole à former des émulsions stables et est déterminé, en particulier, selon la méthode [10-11] par la quantité d'eau décantée dans 5% d'émulsion pétrolière préparée dans des conditions spéciales, après centrifugation (2000 tours/min). Les résultats d'études ont montré que le pétrole

du gisement Verbliouje de la région d'Astrakhan, dans les conditions standards de préparation, forme des émulsions très stables et dépasse considérablement la stabilité des émulsions du pétrole « WEST SIBERIAN » (tableau 2).

La dilution de ce pétrole avec la fraction de kérosène a fortement réduit la capacité du pétrole de former des émulsions pétrolières très stables jusqu'aux valeurs assez proches de la faible stabilité du pétrole « WEST SIBERIAN ».

Tableau 1 - pouvoir émulsifiant de 6,3% d'émulsions de pétrole et d'eau.

L'échantillon	Densité à 20 °C g/cm ³	Pouvoir émulsifiant, %
Le pétrole d'Astrakhan	0,952	100
Le mélange du pétrole d'Astrakhan	0,921	42
avec la fraction de kérosène dans les	0,891	28
rapports	0,860	24
75:25		
50:50		
25:75		
Le pétrole « West Siberian ».	0,855	25

3.2. Etude d'efficacité du désémulsifiant développé

L'efficacité de la composition optimale du désémulsifiant a été vérifiée, lors de la destruction de l'échantillon réel d'émulsion stable du pétrole lourd du gisement Verbliouje (région d'Astrakhan) en comparaison avec un désémulsifiant ordinaire et un meilleur échantillon de désémulsifiant d'origine étrangère. Nous avons montré une efficacité élevée de notre désémulsifiant mis au point.

Tableau 2 Résultats des tests d'efficacité des désémulsifiants

Désémulsifiant	La teneur résiduelle dans la couche supérieure de l'émulsion (50%)	
	d'eau %	en impuretés mécaniques % mass
Sans désémulsifiant	29	0,96
Hercule	3,6	0,48
M-109	1,7	0,14
ROAA-SV-104P	1,8	0,08

Sur la base d'un modèle polynomial quadratique pour la teneur résiduelle d'eau et en chlorures, nous avons obtenu des équations de régression qui ont permis de déterminer les paramètres optimaux du régime technologique, pour atteindre des quantités minimales de chlorures dans le pétrole.

Pour les fonctions de réponse nous avons obtenu les équations de régression :

$$\begin{aligned}
 Y_2 &\cong 139,9927 - 34,5237 x_1^2 - 61,4709 x_2^2 - 18,9054 x_3^2 \\
 &+ 48,9787 x_4^2 - 6,0913 x_5^2 + 17,0893 x_1^3 + 24,4165 x_2^3 \\
 &- 5,5112 x_3^3 + 30,0206 x_4^3 + 9,1691 x_5^3 - 6,5417 x_1 x_2^2 \\
 &- 3,8493 x_1 x_3^2 + 5,1382 x_1 x_4^2 + 1,3931 x_5 x_1^2 - 3,4569 x_2 x_3^2 \\
 &- 16,2007 x_2 x_4^2 - 5,1125 x_2 x_5^2 + 22,4882 x_5 x_2^2 - 50,0667 x_3 x_4^2 \\
 &+ 51,1333 x_4 x_3^2 - 4,6667 x_5 x_3^2 - 40,3229 x_5 x_4^2 ; \\
 Y_2 &\cong 139,9927 - 34,5237 x_1^2 - 61,4709 x_2^2 - 18,9054 x_3^2 \\
 &+ 48,9787 x_4^2 - 6,0913 x_5^2 + 17,0893 x_1^3 + 24,4165 x_2^3 \\
 &- 5,5112 x_3^3 + 30,0206 x_4^3 + 9,1691 x_5^3 - 6,5417 x_1 x_2^2 \\
 &- 3,8493 x_1 x_3^2 + 5,1382 x_1 x_4^2 + 1,3931 x_5 x_1^2 - 3,4569 x_2 x_3^2 \\
 &- 16,2007 x_2 x_4^2 - 5,1125 x_2 x_5^2 + 22,4882 x_5 x_2^2 - 50,0667 x_3 x_4^2 \\
 &+ 51,1333 x_4 x_3^2 - 4,6667 x_5 x_3^2 - 40,3229 x_5 x_4^2 ;
 \end{aligned}$$

Dans le rapport «pétrole –kérosène» 100:0 (sans dilution) ni l'élévation de la température, ni l'augmentation de la consommation d'eau de lavage et de désémulsifiant, ni la baisse de la charge spécifique du dessaleur n'ont assuré la baisse de la teneur résiduelle des chlorures et d'eau jusqu'à des valeurs minimales et requises à cause de la densité et la viscosité élevées du pétrole.

Plus la quantité d'eau de lavage injectée dans le pétrole est élevée (jusqu'à 5-7%) et moins d'eau reste dans le pétrole à la sortie du dessaleur. Cela s'explique par le fait que lorsque l'apport d'eau de lavage est élevée, la concentration de ses gouttelettes augmente et les gouttelettes d'eau de lavage s'emparent des gouttelettes de formation. Une concentration élevée des gouttelettes d'eau améliore leur coalescence. un tel mécanisme implique qu'une forte baisse de la teneur d'eau dans le pétrole entraîne simultanément une forte baisse de la teneur en chlorures. Un apport d'eau de lavage en quantité de 5-7% entraîne le phénomène inverse (fig.1)

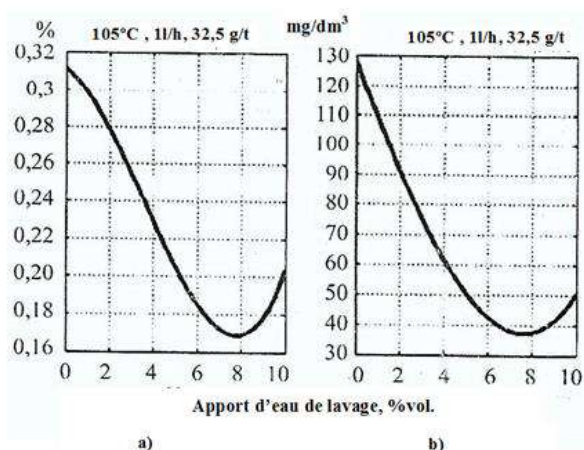


Figure 1 : Dépendance de la teneur résiduelle d'eau (a) et de chlorure (b) en fonction de la quantité d'eau de lavage (pétrole : kérosène 75 :25)

Lorsqu'on baisse la productivité jusqu'à 1litre/h (c.à.d. qu'on augmente le temps de séjour dans le dessaleur), la teneur résiduelle d'eau et de chlorures baisse. Une baisse ultérieure n'apporte aucun changement des résultants. Une augmentation de la consommation de désémulsifiant conduit à une baisse de la teneur résiduelle d'eau et des chlorures. Les consommations optimales de désémulsifiants pour les rapports (pétrole: kérosène) 75:25 et 50:50 sont 32,5 et 25 g/t respectivement (**figure 2**).

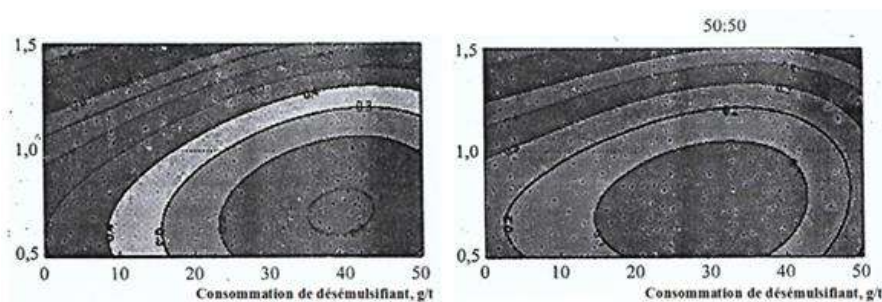


figure 2: Les teneurs résiduelles de chlorures et d'eau dans le pétrole en fonction de la productivité du dessaleur et la consommation de désémulsifiant

Dans les unités de dessalage, un chauffage appliqué au pétrole baisse sa viscosité, ce qui augmente la mobilité des gouttelettes d'eau dans le milieu pétrolier et accélère leur fusion et leur sédimentation (**figure 12**). En augmentant la température de 25°C (de 80 à 105-110°C) il y'a une baisse considérable de la teneur en chlorures – 50 et 60 g/t pour les rapports « pétrole : kérosène » 70:25 et 50:50 respectivement, mais une augmentation ultérieure de la température est insignifiante.

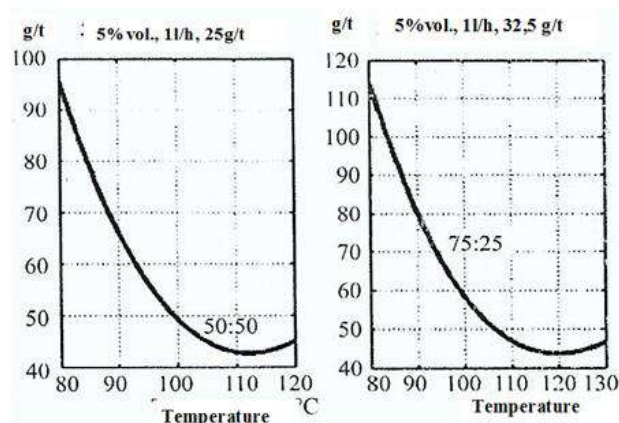


Figure 3: Teneur résiduelle des chlorures en fonction de la température

Sur la base des expériences accomplies et des résultats de leur traitement mathématique dans le traitement du pétrole en une seule étape, pour atteindre une teneur résiduelle en eau ($Y_1 < 0,2$ % vol.) et des teneurs minimales de chlorures ($Y_2 < 50$ mg/dm³) dans le pétrole, nous avons recommandé deux régimes technologiques de dessalage dans l'unité de dessalage du pétrole (**tableau 3**).

Tableau 3 : Les régimes technologiques recommandés de dessalage et de déshydratation du pétrole.

Paramètres	Régimes technologiques	
	1	2
Le rapport pétrole: diluant	75:25	50:50
La température (°C)	105 -110	105 -110
La production spécifique du dessaleur, (l/h)	1	1
La consommation de désémulsifiant, g/t	30-35	20-25
La consommation d'eau de lavage % vol.	5-7	4-6

4. Conclusion

Comme nous le constatons, à partir des données du tableau 3, dans le deuxième régime (le rapport pétrole: kérosène 50:50), il faut une grande quantité d'apport de kérosène pour la dilution du pétrole, ce qui provoque une augmentation de la consommation spécifique de chaleur pour le chauffage et l'évaporation d'unité de volume de pétrole, l'augmentation des charges calorifiques des colonnes atmosphériques, et aussi une élévation des coûts de pompage. Nous avons donc choisi le premier régime technologique.

Ainsi, à la suite des études que nous avons réalisées à l'aide des méthodes de la planification mathématique et d'analyse statistique des résultats obtenus, nous avons constaté que la préparation approfondie requise du pétrole dans l'unité de dessalage peut être assurée à deux niveaux, avec les paramètres suivants du régime technologique:

- La dilution de pétrole brut avec la coupe de kérosène dans une proportion de 75:25;
- La charge spécifique des dessaleurs –1 litre/h;
- La température de 105°C;
- La consommation d'eau de lavage dans les niveaux – 5 % vol.;
- La consommation du désémulsifiant (ROAA + SV-104P) – 32,5 g/t.

5. Références

- [1] Normand Mousseau, Au bout du pétrole, tout ce que vous devez savoir sur la crise énergétiques, **2008**, Éditions Multimondes, ISBN : 978-2-89544-125-0
- [2] Ramalho, J. B. V. S., Lechuga, F. C., Lucas, E. F., Effect of the structure of commercial poly(ethylene oxide-b-propylene oxide) demulsifier bases on the demulsification of water-in-crude oil emulsions: Elucidation of the demulsification mechanism. *Quimica Nova*, **2010**, 33(8) 1664-1670.
- [3] S M Abed, N H Abdurahman, R M Yunus, H A Abdulbari, S Akbari, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* **2019**, 702 012060, DOI:10.1088/1757-899X/702/1/012060
- [4] Abdel-Raouf, Manar El-Sayed. Factors affecting the stability of crude oil emulsions. Crude oil emulsions–composition, stability and characterization. *Croatia: Intech*, **2012**, p. 183-204.

- [5] Biniiaz, P., Farsi, M., Rahimpour, M. R. Demulsification of water in oil emulsion using ionic liquids: Statistical modeling and optimization. *Fuel*, **2016**, vol. 184, p. 325-333
- [6] Sun T, Zhang L, Wang Y, Zhao S, Peng B, Li M and Yu J, *J. colloid interface sci.* **2002**, 255, p. 241-247, DOI:10.1006/jcis.2002.8661
- [7] Abdurahman H. N., Rosli Mohd. Yunus, Stability Investigation of Water-in-Crude Oil Emulsion. *Journal of Applied Sciences*, **2006**, 6: p. 2895-2900,
- [8] Khoutoriansky F.M. Development and implementation of efficient technologies of oil preparation on the crude-electric desalting plant for refining process. *Moscow: VNI NP*, **2008**. p -362.
- [9] Levchenko, D. N., & Lavrova, N. N., Determination of demulsifier content of crude oil. *Chem Technol Fuels Oils*, **1975**. 11, p. 885-886,
- [10] Levchennko D.N., Bergshteyn N.V., Khudyakova A.D., Nikolaeva N.M. Oil-water emulsion and methods for their destruction. Moscow, Chemistry, **1967**. p. 200
- [11] Pozdnyshev G.N. Stabilization and destruction of oil emulsion. Moscow, *Nedra*, **1982**. p. 224

Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii*

Thomas Konan KOUAMÉ¹, Sorho SIAKA¹, Amian Brise Benjamin KASSI², Yaya SORO¹,

¹Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix HOUPOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie Organique et Substances Naturelles (LCOSN), UFR-SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

Kouamekonanthomas866@gmail.com djandouet@yahoo.fr

Résumé

Piliostigma thonningii est une plante médicinale de la famille des Fabaceae. Les jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* sont utilisées pour le traitement de diverses maladies. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des extraits et fractions de jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii*. Le fractionnement successif de l'extrait hydroalcoolique a permis d'obtenir la fraction à l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle, éthanolique et aqueuse. Le pouvoir antioxydant de l'extrait hydroalcoolique et des fractions a été réalisé à partir de la méthode de DPPH et d'électrochimie (DPV). Pour la méthode DPPH, la fraction à l'acétate d'éthyle ($IC_{50} = 0,07 \pm 0,02$ mg/mL) a présenté une meilleure activité antioxydante, suivie de l'extrait hydroalcoolique ($IC_{50} = 0,08 \pm 0,02$ mg/mL) et de la fraction au dichlorométhane ($IC_{50} = 0,50 \pm 0,20$ mg/mL). Concernant la méthode d'électrochimie, la fraction à l'acétate d'éthyle a également présenté une bonne activité antioxydante ($IC_{50} = 0,273 \pm 0,002$ mg/mL) suivie de l'extrait hydroalcoolique ($IC_{50} = 0,275 \pm 0,001$ mg/mL) et de la fraction au dichlorométhane ($IC_{50} = 0,314 \pm 0,004$ mg/mL). La structure des molécules responsables de cette bonne activité antioxydante de ces fractions sera identifiée

Mots clés : *Piliostigma thonningii*, DPPH, DPV, Activité antioxydante.

Evaluation of the antioxidant activity of the extract of young unopened leaves of *Piliostigma thonningii*

Abstract

Piliostigma thonningii is a medicinal plant of the Fabaceae family. The young unopened leaves of *Piliostigma thonningii* are used for the treatment of various diseases. This study aims to evaluate the antioxidant activity of the extract and fractions of young unopened leaves of *Piliostigma thonningii*. Successive fractionation of the hydroalcoholic extract yielded the hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol and aqueous fraction. The antioxidant capacity of the hydroalcoholic extract and fractions was carried out using the DPPH and electrochemical (DPV) method. For the DPPH method, the ethyl acetate fraction ($IC_{50} = 0.07 \pm 0.02$ mg/mL) has a better antioxidant activity with DPPH followed by the hydroalcoholic extract ($IC_{50} = 0.08 \pm 0.02$ mg/mL) and dichloromethane fraction ($IC_{50} = 0.50 \pm 0.20$ mg/mL). Concerning the electrochemical method, the ethyl acetate fraction has good antioxidant activity ($IC_{50} = 0.273 \pm 0.002$ mg/mL) followed by the hydroalcoholic extract ($IC_{50} = 0.275 \pm 0.001$ mg/mL) and the dichloromethane fraction ($IC_{50} = 0.50 \pm 0.20$ mg/mL and 0.314 ± 0.004 mg/mL). The structure of the molecules responsible for the good antioxidant of these fractions will be identified.

Key words: *Piliostigma thonningii*, DPPH, DPV, antioxidant activity

1. INTRODUCTION

Les plantes médicinales jouent un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent bio-synthétiser un grand nombre de molécules organiques dotées d'activités biologiques. Elles constituent un réservoir végétal qui procure à l'Homme la guérison par un geste thérapeutique (Hurtel, 2006). En effet, les populations du monde et particulièrement celles de l'Afrique sont de plus en plus confrontées à la résurgence de certaines maladies liées au stress oxydant, telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, le syndrome métabolique et les maladies digestives (Aseervatham et al., 2013). La carence en antioxydants apportés par la nutrition (Favier, 2003; Sohal et al., 2002) ou même de l'exposition à des facteurs prooxydants tels que le tabac, l'alcool, certains médicaments et les pesticides (Magder, 2006; Sohal et al., 2002) sont des situations de la vie quotidienne qui entraînent la production de radicaux libres responsables du stress oxydatif. Ainsi, les antioxydants sont fortement recommandés pour la prise en charge des maladies causées par le stress oxydant. Malheureusement, les antioxydants de synthèse généralement utilisés sont remis en cause pour des raisons de risques potentiels sur la santé liée à leur toxicité (Kicel et al., 2016; Liu et al., 2017). Face à cette situation, des recherches sont en cours dans le but de trouver de nouvelles sources d'antioxydants dans les plantes médicinales (Liu et al., 2017; Yaya et al., 2012). Les plantes sont utilisées pour le traitement de plusieurs maladies par environ 80 % de la population des pays en développement (World Health Organization, 2009).

Piliostigma thonningii est une plante de la famille des Fabaceae utilisée dans la pharmacopée pour ses nombreuses propriétés biologiques. Ses feuilles fraîches sont utilisées dans le traitement des ulcères (Ukwuani et

al., 2012) et de la malaria (Madara *et al.*, 2012). Elles possèdent des propriétés antiinflammatoires, antibactériennes (Pousset, 2006), antifongiques (Agban *et al.*, 2013) et antioxydantes (Dieng *et al.*, 2017). Les jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* sont utilisées dans le traitement de certaines maladies par les tradipraticiens de Côte d'Ivoire.

La présente étude visait à évaluer l'activité antioxydante par la méthode chimique (DPPH) et électrochimique (DPV) des jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* acclimaté en Côte d'Ivoire.

2. MATERIEL ET METHODES

2-1-Matériel

2-1-1-Matériel végétal

Les jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* ont été récoltées avant le lever du soleil en mai 2018 à Bouaké (6047'18.762" Nord et 5015'25.9992" Ouest) au centre de la Côte d'Ivoire et identifiées par monsieur Amani N'Guessan, botaniste à l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INP-HB) de Yamoussoukro. Les feuilles ont été séchées à l'ombre, à la température ambiante du laboratoire (26 à 30 °C) pendant 14 jours puis broyées. Les poudres obtenues ont été tamisées et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leur utilisation ultérieure.

2-1-2- Matériel technique

Les réactifs (l'acétate de sodium, l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'anhydrique acétique, le chlorure ferrique, le chlorure mercurique, le chloroforme, les copeaux de magnésium, la soude, le réactif Folin-ciocalteu, la vanilline, le chlorure d'aluminium, le nitrate de sodium, le carbonate de sodium, l'acide tanique, le DPPH et l'acide ascorbique) et solvants (l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle, l'éthanol, du dichlorométhane, l'eau, l'hexane et le méthanol) analytique ou technique utilisés proviennent de chez Merck et Across. Les solvants techniques ont été purifiés avant leur utilisation. Un spectrophotomètre UV-visible Jasco instruments V-530 a été utilisé pour les analyses qualitatives et quantitatives. Un évaporateur rotatif de type BUCHI 461 a été utilisé pour l'élimination des solvants. Les réactifs chimiques utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante sont le DPPH et l'acide ascorbique (vitamine C). Pour la méthode électrochimique, trois électrodes ont été utilisées : une électrode de travail en carbone vitreux de diamètre 3 mm, une contre-électrode en platine et une électrode de référence au chlorure d'argent saturée (Ag/AgCl/KCl sat) reliées à potentiostat (910 PSTAT mini) de marque Metrohm. Cet appareil est piloté par un ordinateur avec le logiciel PSTAT.

2-2-Méthodes

2-2-1-Préparation du matériel végétal

Les jeunes feuilles non ouvertes sèches de *Piliostigma thonningii* ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis de 0,40 mm. La poudre est ensuite conservée dans des sachets en polyéthylène à température de 4°C dans un réfrigérateur, à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation ultérieure.

2-2-2- Extraction du matériel végétal

Une masse de 50 g de la poudre des jeunes feuilles non ouverte de *Piliostigma thonningii* a été macérée sous agitation dans 500 mL d'un mélange éthanol/eau (70/30) pendant 24 heures. Après filtration, le filtrat a été évaporé à sec sous pression réduite au rotavapor. La masse obtenue a été dissoute dans 250 mL d'eau chaude à 60°C. La solution aqueuse obtenue est extraite successivement par 500 mL d'hexane, 500 mL de dichlorométhane et 500 mL d'acétate d'éthyle. Le résidu résultant a été séché à l'étuve puis extrait avec 500 mL d'éthanol et le résidu aqueux est séché à l'étuve. L'évaporation des solvants d'extraction donne les fractions suivantes: hexanique, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanolique et aqueuse.

2-2-3- Test d'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH

2-2-3-1-Principe du test de l'activité antioxydante par la méthode de 2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyle (DPPH)

Le 2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, soluble dans le méthanol (ou l'éthanol). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette en solution se réduit en 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazine de couleur jaune. Le test de l'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH a été réalisé selon la méthode décrite par (Souad *et al.*, 2010).

2-2-3-2- Préparation des différentes solutions mères et de la solution du DPPH

Une masse de 0,02 g de l'extrait hydroalcoolique, de la fraction à l'acétate d'éthyle et de la fraction au dichlorométhane sont respectivement dissoute dans 10 mL du mélange éthanol/eau (70/30) (v/v), d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane pour avoir une concentration $C = 2 \text{ mg/mL}$ (soit $2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$). Les différentes solutions obtenues sont diluées pour donner de nouvelles solutions à différentes concentrations croissantes (50-100-250-500-1000 $\mu\text{g/mL}$). Une solution mère d'acide ascorbique a été préparée et diluée dans les mêmes conditions que les fractions et l'extrait hydroalcoolique. Le DPPH (2,5 mg) a été solubilisé dans 100 mL de méthanol pour obtenir une solution de concentration $6,34 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. La solution obtenue est mise à l'abri de la lumière (dans le noir).

2-2-3-3- Détermination du potentiel antioxydant

La détermination du potentiel antioxydant a été réalisée selon la méthode décrite par **Benhammou et al., 2007** légèrement modifiée. Un volume de 50 μL de l'extrait hydroalcoolique, des fractions et de l'acide ascorbique a été ajouté à 1950 μL de la solution au méthanol du DPPH. Le mélange a été bien homogénéisé et incubé à la température ambiante (27°C) à l'abri de la lumière. Après 30 mn d'incubation, la lecture des absorbances des différentes solutions a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un blanc qui ne contient que la solution au méthanol du DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé comme étalon et son absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Pour chaque concentration, le test est répété trois (3) fois. L'activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique et des fractions testées correspond au pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH et est calculée selon la formule suivante :

$$PI(\%) = \frac{(A_o - A) \times 100}{A_o}$$

A= absorbance de l'extrait hydroalcoolique ou des fractions

A_o = absorbance du blanc

2-2-3-4- Evaluation de la capacité antioxydante

La capacité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique et des fractions est déterminée à partir des concentrations d'inhibition 50 (IC_{50}) correspondant à la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC_{50} sont déterminés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait et des fractions testés (**Torres et al., 2006**). Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et la capacité antioxydante a été calculée par la moyenne des trois essais.

2-2-4- Test d'activité antioxydante par la méthode de voltammétrie à impulsion différentielle (DPV)

2-2-4-1-Principe du test

Le principe général de la voltammétrie est l'obtention d'une réponse rapide des informations sur les processus redox en courant d'un système soumis à une perturbation (potentiel) responsable de la réaction électrochimique désirée. A partir des courbes obtenues, il est alors possible de déterminer la nature et la concentration des Ox et Red, mais aussi d'évaluer des paramètres de cinétique électrochimique dans le cas éventuel de réactions chimiques couplées au transfert électronique (**Barus, 2008**).

2-2-4-2-Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental pour réaliser toutes les mesures électrochimiques (voltammétries) nécessite la présence dans la cellule électrochimique, d'une solution électrolytique contenant l'échantillon à analyser et les trois électrodes reliées au potentiostat (910 PSTAT mini) de marque Metrohm. L'interface est pilotée par un ordinateur utilisant le logiciel PSTAT. Le système d'électrode est composé d'une électrode de travail en carbone vitreux de diamètre 3 mm sur laquelle sont observées les réactions électrochimiques des ions ou molécules, d'une contre-électrode en platine et d'une électrode de référence au chlorure d'argent saturée (Ag/AgCl/KCl_{sat}) (**Le Bourvellec et al., 2008**).

2-2-4-3-Méthodologie de l'évaluation de l'activité antioxydante en présence de l'oxygène par la DPV

Les tests ont été réalisés selon le protocole légèrement modifié de **Le Bourvellec et al., 2008** dans le domaine du potentiel [-200 mV ; -1400 mV]. Les expériences ont été menées dans 15 mL d'une solution de N, N-diméthylformamide (DMF) et le sel (support) utilisé est le tetrabutylammonium tétrafluoroborate (TBABF₄) à une concentration de 0,1 M. Ainsi, à chaque test, de l'oxygène est barboté dans la solution électrolytique pendant

10 min avant l'enregistrement des voltammogrammes de réduction. La vitesse de balayage est fixée à 100 mV/s, l'amplitude de pulsation à 17 mV et la durée de l'enregistrement à 30 ms. Une masse de 50 mg de l'extrait hydroalcoolique, de la fraction à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane est diluée dans 10 mL de la solution de N, N-diméthylformamide (DMF). Pour réaliser les analyses, une gamme de concentrations croissantes d'électrolytes (0,07 g/L ; 0,14 g/L ; 0,25 g/L ; 0,30 g/L ; 0,38 g/L ; 0,42 g/L) de l'extrait hydroalcoolique et des fractions est préparée. Les intensités I_{pa0} et I_{pas} sont déterminées et l'activité anti-radicalaire de l'extrait et des fractions testés correspondant au pourcentage d'inhibition (PI) est calculée selon l'équation

$$PI = \frac{I_{pa0} - I_{pas}}{I_{pa0}}$$

I_{pa0} et I_{pas} désignent les intensités respectives du courant de réduction de l'oxygène avant et après l'ajout de l'antioxydant.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3-1- La méthode de DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH de l'extrait hydroalcoolique et des fractions dichlorométhane et acétate d'éthyle est présentée dans le **tableau 1**. Les valeurs d' IC_{50} sont comprises entre $0,07 \pm 0,02$ mg/mL et $0,50 \pm 0,20$ mg/mL. La fraction à l'acétate, la fraction au dichlorométhane et l'extrait hydroalcoolique ont respectivement les valeurs suivantes $0,07 \pm 0,02$ mg/mL, $0,50 \pm 0,20$ mg/mL et $0,08 \pm 0,02$ mg/mL. L'acide ascorbique utilisé comme référence a une IC_{50} égale à $0,06 \pm 0,02$ mg/mL. Les IC_{50} ont été déterminées graphiquement à partir des courbes représentées sur la figure 1. Les résultats obtenus montrent que la fraction à l'acétate d'éthyle présente une activité antioxydante très importante avec une $IC_{50} = 0,07 \pm 0,02$ mg/mL. En effet, cette importante activité antioxydante pourrait s'expliquer par leur forte teneur en flavonoïdes généralement connus pour leur propriétés antioxydantes (**Bakasso, 2009; Huang et al., 2005; Narayana et al., 2001**), en composés phénoliques également connus pour leur activités antioxydantes (**Bidie et al., 2011; Katsarou et al., 2012; Mrvčić et al., 2012; Santos-Sánchez et al., 2014**). Nos activités antioxydantes sont meilleures que celles obtenues sur les feuilles matures de la plante récoltée au Sénégal et qui sont de $13,89 \pm 0,20$ mg/mL et $12,90 \pm 0,15$ mg/mL avec l'extrait hydroalcoolique (**Dieng et al., 2017; Sene, 2016**). Emmanuel et ses collaborateurs ont obtenu 0,74 mg/mL et 0,40 mg/mL respectivement pour les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle dans les feuilles de l'espèce du Nigeria (**Emmanuel et al., 2017**). Ces activités sont largement inférieures à nos résultats obtenus avec les jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii*. Toutefois, d'autres études sur les feuilles matures des espèces du Nigeria ont révélé d'excellentes activités antioxydantes avec des valeurs d' IC_{50} de $0,051 \pm 0,003$ mg/mL, $0,018 \pm 0,003$ mg/mL et $0,024 \pm 0,003$ mg/mL pour l'extrait hydroalcoolique, la fraction à l'acétate d'éthyle et la fraction au dichlorométhane (**Aderogba et al., 2004; Ja'afar et al., 2017**). (**Dieng et al., 2019**) ont obtenu une valeur d' IC_{50} de $0,052 \pm 0,003$ mg/mL pour la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de l'espèce du Sénégal.

Ces résultats nous permettent de dire que les composés moyennement polaires ont une bonne activité antioxydante avec la méthodes DPPH. Ces résultats pourraient justifier la richesse des jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii*.

Tableau 1 : les valeurs d' IC_{50} pour la méthode de DPPH

	Valeur d' IC_{50} (mg/mL)
Extrait hydroalcoolique	$0,08 \pm 0,02$
Fraction au dichlorométhane	$0,50 \pm 0,20$
Fraction à l'acétate d'éthyle	$0,07 \pm 0,02$
Acide ascorbique	$0,06 \pm 0,02$

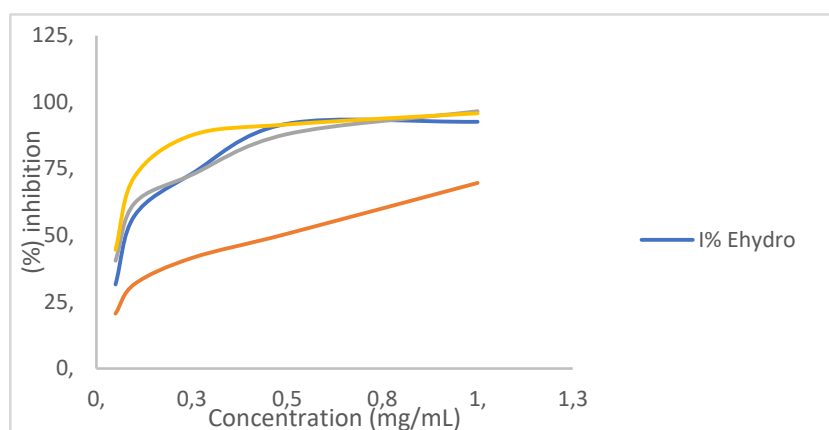


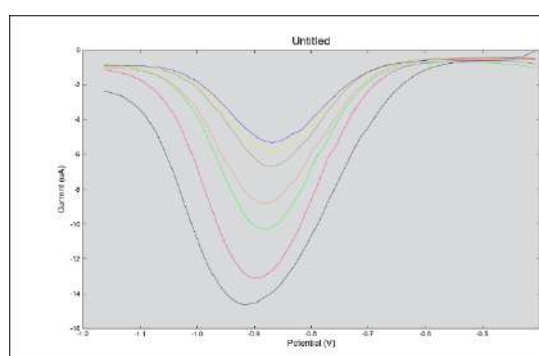
Figure 1 : Courbes de détermination de l'activité antioxydante des extraits et fractions de jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* et de l'acide ascorbique

3-2-la méthode électrochimique (DPV)

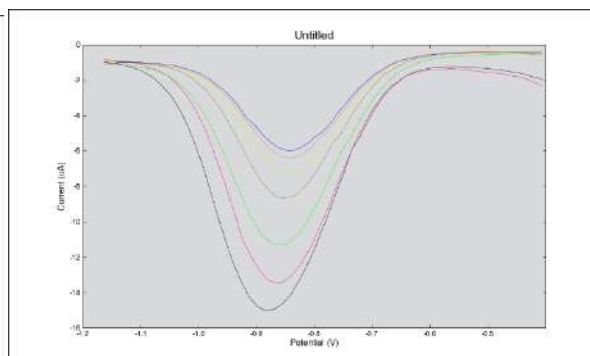
Le méthode électrochimique (DPV), nous a permis d'obtenir les voltammogrammes présentés par la **figure 2** et de tracer les courbes d'étalonnage (**figure 3**) de l'extrait hydroalcoolique et des fractions. L'évaluation de l'activité antioxydante des jeunes feuilles non ouvertes par la méthode d'électrochimie de l'extrait hydroalcoolique et des fractions dichlorométhane et acétate d'éthyle est présentée dans le **tableau 2**. Les valeurs d' IC_{50} sont comprises entre $0,273 \pm 0,002$ mg/mL et $0,314 \pm 0,004$ mg/mL. La fraction à l'acétate, la fraction au dichlorométhane et l'extrait hydroalcoolique ont respectivement les valeurs d' IC_{50} suivantes $0,273 \pm 0,002$ mg/mL, $0,314 \pm 0,004$ mg/mL et $0,275 \pm 0,001$ mg/mL. Les résultats nous permettent de dire que la fraction à l'acétate d'éthyle a une activité antioxydante ($0,273 \pm 0,002$ mg/mL) légèrement plus élevée que celle de l'extrait hydroalcoolique ($0,275 \pm 0,001$ mg/mL) et largement supérieure à celle de la fraction au dichlorométhane ($0,314 \pm 0,004$ mg/mL). La fraction à l'acétate d'éthyle est plus active et est suivie de l'extrait hydroalcoolique. Ces résultats nous permettent de dire que les composés moyennement polaires ont une bonne activité antioxydante avec la méthode d'électrochimie (DPV).

Tableau 2 : les valeurs d' IC_{50} pour la méthode électrochimie

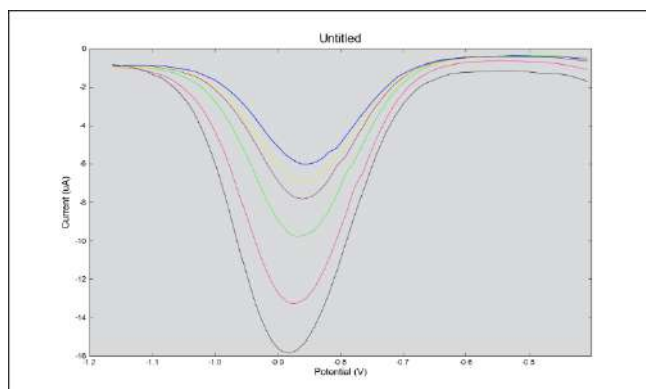
	Valeur d' IC_{50} (mg/mL)
Extrait hydroalcoolique	$0,275 \pm 0,001$
Fraction au dichlorométhane	$0,314 \pm 0,004$
Fraction à l'acétate d'éthyle	$0,273 \pm 0,002$



(A)



(B)



(C)

Figure 2 : Voltammogramme réduction du dioxygène de la fraction à l'acétate d'éthyle (A), de l'extrait hydroalcoolique (B) et de la fraction au dichlorométhane (C)

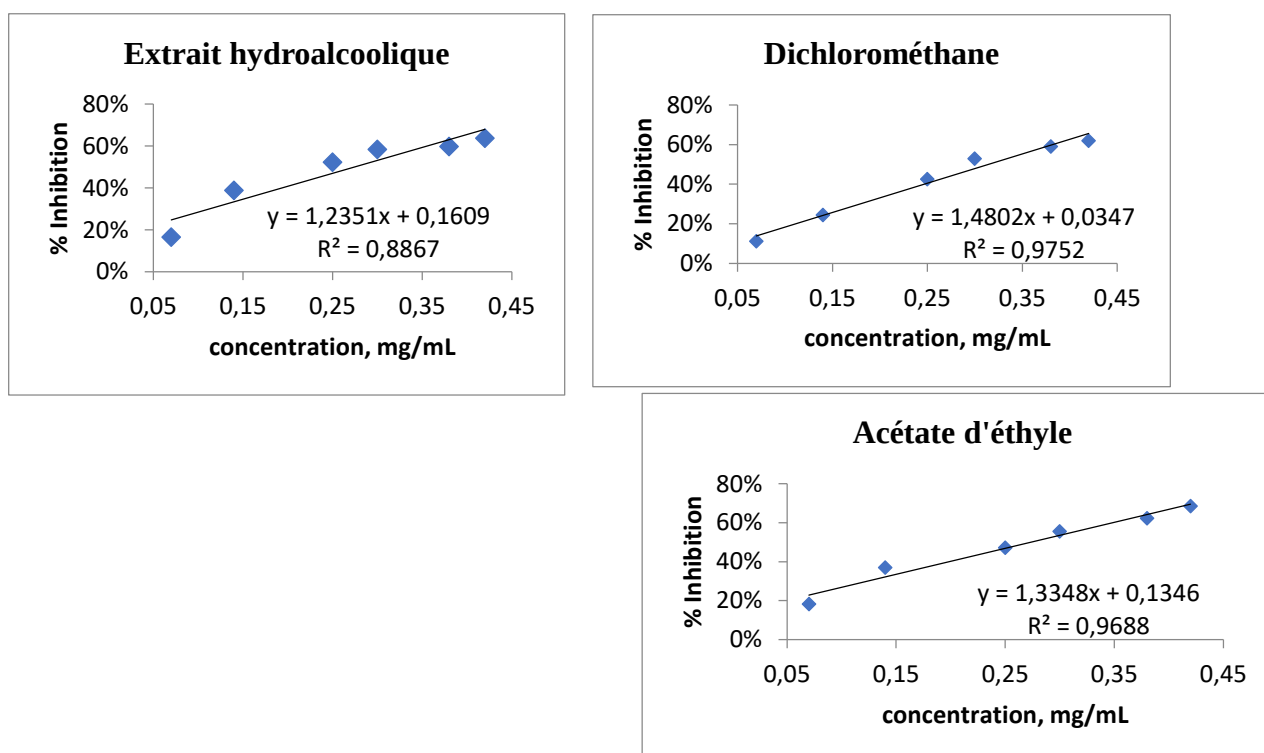


Figure 3 : Courbes d'étalonnage de l'extrait hydroalcoolique, de la fraction à l'acétate d'éthyle et de la fraction au dichlorométhane

La fraction à l'acétate d'éthyle a présenté une bonne activité antioxydante avec les deux méthodes. Nous avons obtenu comme valeurs $0,066 \pm 0,02$ mg/mL pour la méthode de DPPH et $0,273 \pm 0,002$ mg/mL pour celle d'électrochimie. La fraction à l'acétate d'éthyle a une activité antioxydante très importante avec la méthode de DPPH que la méthode d'électrochimie. Les deux méthodes confirment que la fraction à l'acétate d'éthyle présente une meilleure activité antioxydante.

4-CONCLUSION

Au terme de notre étude, nous pouvons noter que les jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* ont une bonne activité antioxydante. L'évaluation de l'activité antioxydante, réalisée à partir des méthodes du DPPH et de la DPV, a montré que la fraction à l'acétate d'éthyle a une bonne activité antioxydante. Cette étude montre que les extraits des jeunes feuilles non ouvertes de *Piliostigma thonningii* sont de potentiel source d'antioxydants naturels.

REFERENCES

- Aderogba, M.A., Okoh, E.K., Adelanwa, T.A., Obuotor, E.M., 2004. Antioxidant properties of the Nigerian *Piliostigma* Species. *Journal of biological Sciences* 4(4), 501-503. <https://doi.org/10.3923/jbs.2004.501.503>
- Agban, A., Gbogbo, K., Hoekou, Y., Atchou, K., Tchacondo, T., Batawila, K., De Souza, C., Gbeassor, M., 2013. Évaluation de l'activité antifongique des extraits de *Cassia alata* L. et de *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne Redh. (Fabaceae) sur *Candida albicans*. *Int. J. Bio. Chem. Sci.* 7(3), 1041-1047. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.12>
- Aseervatham, G.S.B., Sivasudha, T., Jeyadevi, R., Ananth, D.A., 2013. Environmental factors and unhealthy lifestyle influence oxidative stress in humans-an overview. *Environmental Science and Pollution Research* 20(7), 4356-4369. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1748-0>
- Bakasso, S., 2009. Étude phytochimique et potentialités biologiques de cinq espèces d'Indigofera (Fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso (Doctorat en Biologie). Université de Ouagadougou, Burkina faso.154p
- Barus, C., 2008. Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique- Application aux produits dermocosmétiques (Discipline : Chimie Spécialité : Chimie organique). Toulouse, France.236p
- Benhammou, N., Bekkara, F.A., Panovska, T.K., 2007. Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences* 29(3), 155-161.
- Bidie, A.P., N'Guessan, B.B., Yapo, A.F., N'Guessan, J.D., Djaman, A.J., 2011. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature* 8(1), 1-11.
- Dieng, S.I.M., Fall, A.D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, Madieye, Sene, Moussa, Mbaye, A., Diatta, W., Bassene, E., 2017. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 11(2), 768-776. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i2.19>
- Dieng, S.I.M., Sarr, A., Fall, A.D., Diatta-Badji, K., Diatta, W., Bassene, E., 2019. Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Bark Hydroethanolic Extract of *Piliostigma reticulatum* (DC) Hochst and Its Fractions. *EJMP* 26(2), 1-7. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2018/45717>
- Emmanuel, H.M., Gusau, H.L., Gidado, L.M., Ali, B., Ugwah-Oguejiofor, C., Yahaya, A., 2017. Comparative Studies on Phytochemical and Antioxidant activities of *Tapinanthus globiferus* *Piliostigma thonningii* (A. Rich) and its host plant (Schum). *Advance Pharmaceutical Journal*. 2(5), 179-184.
- Favier, A., 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique* 11 (12),108-117.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry* 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Hurtel, J., 2006. Huiles essentielles et médecine. *Phytothérapie, plante médicale, aromathérapie, huiles essentielles. Phytomania*.
- Ja'afar, M.K., Jamil, S., Basar, N., 2017. Antioxidant activity of leaf extracts of *globimetula braunii* (engler) van tiegh parasitizing on *Piliostigma thonningii* and *parkia biglobosa*. *JT* 79(5), 43-47. <https://doi.org/10.11113/jt.v79.10574>
- Katsarou, A., Rhizopoulou, S., Kefalas, P., 2012. Antioxidant potential of the aerial tissues of the mistletoe *Loranthus europaeus* Jacq. *Records of Natural Products* 6(4), 394-397.
- Kicel, A., Michel, P., Owczarek, A., Marchelak, A., Żyżelewicz, D., Budryn, G., Oracz, J., Olszewska, M.A., 2016. Phenolic profile and antioxidant potential of leaves from selected *Cotoneaster Medik. Species*. *Molecules* 21(6), 688. <https://doi.org/10.3390/molecules21060688>
- Le Bourvellec, C., Hauchard, D., Darchen, A., Burgot, J.-L., Abasq, M.-L., 2008. Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids. *Talanta* 75(4), 1098-1103. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.01.007>
- Liu, Z., Mo, K., Fei, S., Zu, Y., Yang, L., 2017. Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from *Cinnamomum longepaniculatum* leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity in vitro. *Journal of separation science* 40(15), 3100-3113. <https://doi.org/10.1002/jssc.201700342>
- Madara, A., Tijani, A., Nandi, E., 2012. Anti-Plasmodial Activity of ethanolic root bark extract of *Piliostigma thonningii* Schum (Caesalpinaceae) in mice infected with *Plasmodium berghei* NK 65. *Report and Opinion* 4(4), 1234-1237.
- Magder, S., 2006. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical care* 10, 1-8. <https://doi.org/10.1186/cc3992>
- Mrvčić, J., Posavec, S., Kazazić, S., Stanzer, D., Peša, A., Stehlik-Tomas, V., 2012. Spirit drinks: a source of dietary polyphenols. *Croatian journal of food science and technology* 4(2), 102-111.
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M., Krishna, D., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology* 33(1), 2-16. <http://bmj.com/cgi/content/full/322/7282/329>
- Pousset, J.L., 2006. Place des médicaments traditionnels en afrique. *Med Trop* 66 (6), 606-609.

- Santos-Sánchez, N., Flores-Parra, A., Valadez-Blanco, R., Fernández-Rojas, B., Martínez-Vásquez, J., Salas-Coronado, R., 2014. Polyphenolic content, free radical-scavenging activity and isolation of tiliroside from *Heliocarpus terebinthinaceus* (Tiliaceae) seeds. *Journal of Biological Sciences* 14(5), 376-380.
- Sene, M., 2016. Screening phytochimique et activité antioxydante des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii*. Scchumach (Caesalpiniaceae) (Docteur en Pharmacie). Université Cheikh Anta Diop, Sénégal. 133p.
- Sohal, R.S., Mockett, R.J., Orr, W.C., 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine* 33(5), 575-586. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00886-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00886-9)
- Souad, A., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Souad, K., 2010. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal* 11(1), 69-81.
- Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbé, C., Guerrero, J., 2006. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry* 67(10), 984-987. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.03.016>
- Ukwuani, A., Ihebunna, O., Samuel, R., Peni, I., 2012. Acute oral toxicity and antiulcer activity of *Piliostigma thonningii* leaf fraction in albino rats. *Bull Env Pharmacol Life Sci* 2, 41-45.
- World Health Organization, 2009. Statistique sanitaires mondiales 2009. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- Yaya, S., Amian, K., Benjamin, B., Fanté, B., Sorho, S., Amadou, T.S., Jean-Marie, C., 2012. Flavonoids and gallic acid from leaves of *Santaloides afzelii* (Connaraceae). *Rasayan J Chem* 5, 332-337.

Un nouveau Nucléoside Indole Tribromé isolé d'une Eponge Marine Sénégalaise *Diplastrella* sp.

Mohamet Diop^{1*}, Abou Moussa Sow^{1,2}, Mouhamadou Fofana¹, Dior Samb¹, Ibrahima Ndiaye¹, Dominique Bonhomme², Mohamed Mehiri²

¹Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop
BP: 5005, Dakar Fann, Sénégal

²Institut de Chimie de Nice, UMR 7272 CNRS, Université Côte d'Azur, Faculté des Sciences 28 avenue de Valrose, 06108 Nice, France
*diopmohamet1989@gmail.com

Résumé

L'étude chimique d'une fraction hydrométhanolique de l'extrait brut éthanolique de *Diplastrella* sp., collectée au large de la côte Sénégalaise a permis d'isoler un nouveau nucléoside indole tribromé. Le composé a été identifié sur la base d'une analyse des données de spectrométrie de masse SMHR et spectroscopiques RMN 1D et 2D.

Mots clés: Eponge marine, *Diplastrella* sp., nucléoside indole, métabolite marin.

A novel tribrominated indole nucleoside from the Senegalese marine sponge *Diplastrella* sp.

Abstract

Chemical investigation of the hydromethanolic fraction of ethanolic crude extract of *Diplastrella* sp. collected from Senegalese coast yielded a new tribrominated indole nucleoside. The compound was identified using HRMS and 1D and 2D NMR spectroscopic.

Keywords: Marine sponge, *Diplastrella* sp., indole nucleoside, marine metabolite.

1. Introduction

Les éponges sont des invertébrés sessiles ; ils n'ont pas de système immunitaire inné, ne peuvent pas bouger et manquent de défenses physiques, ils sont très sensibles aux prédateurs marins. Il n'est donc pas surprenant que les éponges aient développé une large gamme de produits chimiques défensifs (métabolites) pour dissuader les prédateurs [1-2]. De tels métabolites, biosynthétisés par les éponges, présentent des propriétés pharmacologiques prometteuses[3], ils se sont révélés antibactériens[4], antiviraux[5], antifongiques[6], antipaludiques[7], antitumoraux[8], immunosuppresseurs[9] et activité cardiovasculaire[10].

Dans notre recherche de produits naturels bioactifs issus des éponges marines sénégalaises, l'étude chimique d'une fraction hydrométhanolique de l'éponge marine *Diplastrella* sp., famille des *Spiastrellidea* a été réalisée. L'étude a abouti à l'isolement et à l'identification du nouveau nucléoside indole tribrominé. Ici, la purification et la détermination de la structure seront discutées.

2. Matériel et méthodes

2.1. Procédure générale

Tous les solvants organiques utilisés pour l'extraction des matériaux étaient de qualité analytique et achetés auprès de Sigma Aldrich (France).

Les spectres de masse haute résolution (HRMS) ont été enregistrés avec un Thermo LCQ Advantage. Les spectres RMN ont été obtenus dans du DMSO sur un Bruker Avance 400 et 500 MHz. Les déplacements chimiques RMN ont été exprimés en parties par million (ppm) par rapport aux signaux résiduels du solvant DMSO (δ_H 2,50 pour ^1H et δ_C 39,52 pour ^{13}C).

Les analyses HPLC-PDA-ELSD ont été effectuées avec le système HPLC a Waters Alliance 2695 (Waters Corporation, Milford, MA) couplé à un détecteur à réseau de photodiodes Waters 996 et à un détecteur à diffusion de lumière par évaporation Sedex55 (SEDERE, France), en utilisant une colonne bifonctionnelle Macherey-Nagel NUCLEODUR® Sphinx RP (250 x 4,6 mm, 5 μm) composée d'un rapport équilibré de ligands propylphényle et C18. La phase mobile était composée d'eau (H₂O + 0,1% d'acide formique) et d'acétonitrile (MeCN + 0,1% d'acide formique) et le gradient suivant a été utilisé : H₂O:MeCN 90:10 pendant 5 min, H₂O:MeCN 90:10 à 0 : 100 pendant 30 min, 0:100 pendant 5 min, 0:100 à 90:10 pendant 15 min (débit : 1,0 mL.min⁻¹, volume d'injection : 20 μL). Les chromatogrammes ont été extraits aux longueurs d'onde de détection suivantes pour une inspection visuelle : 214, 254 et 280 nm.

2.2. Matériels biologiques

L'éponge marine *Diplastrella* sp. (Figure 1) a été collecté au large de 14° 43' 30" nord et 17° 16' 15" ouest en plongée sous-marine à une profondeur de 5 m.



Figure 1: *Diplastrella* sp. Photography

Le matériel collecté a été immédiatement congelé et conservé à -20 °C jusqu'à l'enquête. L'éponge a été identifiée par le Dr Michelle Kelly (Institut national de recherche sur l'eau et l'atmosphère, Wellington, Nouvelle-Zélande).

2.3. Extraction et isolement

Le matériau spongieux congelé (400 g) a été extrait, décongelé à température ambiante avec EtOH, suivi d'un mélange de MeOH/CH₂Cl₂ (1:1, v/v) dans un bain à ultrasons pour donner 24,88 g d'éthanol et 3,17 g de MeOH./CH₂Cl₂ extrait brut après concentration sous pression réduite. L'extrait brut éthanolique a été fractionné par chromatographie flash RP-C18 (élution avec un gradient de polarité décroissant de H₂O/MeOH de 1:0 à 0:1, puis MeOH/CH₂Cl₂ de 1:0 à 0:1). La fraction H₂O/MeOH (2:1, v/v) (365 mg) a ensuite été soumise à une HPLC-DAD semi-préparative (colonne Macherey-Nagel NUCLEODUR® SphinxRP, 250 x 10 mm id, 5 µm) avec un gradient de H₂O/MeCN/Acide formique 90:10:0,1 à 0:100:0,1 (débit : 3,0 mL.min⁻¹, volume d'injection : 100 µL) pour fournir le nucléoside indole tribromé (7,5 mg). Le composé a été identifié par une combinaison de méthodes spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS) et par comparaison avec les données de la littérature [11-17].

3. Résultats et discussion

Le composé (**Figure 2**) a été isolé et purifié sous la forme d'un solide amorphe incolore. Le (+) -LRESIMS du composé présentait un groupe d'ions isotopiques [M + H]⁺ à m/z 513, 515, 517 et 519 dans le rapport 1:3:3:1, indiquant la présence de trois atomes de brome. La formule moléculaire du composé a été déterminée comme étant C₁₄H₁₄Br₃NO₅ qui est en accord avec le pic d'ions pseudomoléculaires à m/z 513,8495.

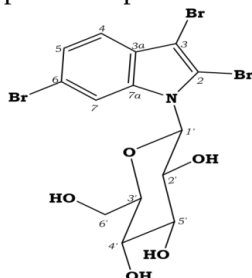


Figure 2 : Structure du nucléoside indole tribrominé.

L'analyse des spectres RMN ¹³C et HSQC (tableau) a indiqué que la molécule contenait quatorze atomes de carbone, dont cinq carbones quaternaires, huit méthines et un groupe méthylène. À partir des données spectrales (tableau), il a été suggéré que notre composé est un N -glycoside constitué d'un fragment désoxy sucre et d'un chromophore d'un dérivé indole.

Les corrélations COSY et HMBC (Figure 3) de la comparaison du fragment indole avec les données RMN rapportées des composés connus [11, 12] suggèrent qu'il s'agit d'un 2,3,6-tribromoindole.

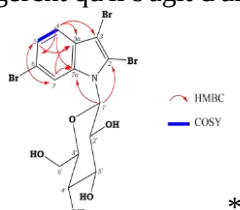


Figure 3 : Corrélations HMBC et connectivités COSY du composé

La présence du fragment N-glycopyranosyle dans la structure a été déduite des signaux dans les spectres ¹H et ¹³C à δ_H/δ_C 5,43/88,02 (C-1'), 3,81/70,90 (C-2'), 3,42/77,10 (C- 3'), 3,42/69,50 (C-4'), 3,42/80,28 (C-5') et 3,74, 3,55/60,70 (C-6') et couplages observés dans les spectres COSY et HMBC (tableau).

Tableau données RMN (400,500/100 MHz, DMSO-d₆ du nucléoside indole tribominé

N°	δ _c (ppm)/	type	δ _H (ppm)/ / (Hz)/ mult.	COSY	HMBC
2	116.50	qC			1'
3	93.68	qC			4
3a	126.45	qC			4, 5, 7
4	120.01	CH	7.43-7.34	m	5
5	124.44	CH	7.43-7.34	m	4, 7
6	115.75	qC			7
7	115.70	CH	7.82	1.5	d
7a	134.59	qC			5
1'	88.02	CH	5.43	9.1	d
2'	70.90	CH	3.81	8.8, 5.3	td
3'	77.10	CH	3.42		m
4'	69.50	CH	3.42		m
5'	80.28	CH	3.42		m
6'	60.70	CH ₂	3.74	12.0, 5.7, 1.8	ddd
			3.55	11.6, 5.5	dt
2'-OH		OH	5.36	5.4	d
3'-OH		OH	5.16	4.9	d
4'-OH		OH	5.16	4.9	d
6'-OH		OH	4.68	5.6	t

La grande constante de couplage ¹H-¹H pour H-1' (9,1 Hz) indique une configuration αβ-glycoside, par comparaison avec les indoles N-glycosyl et leurs dérivés rapportés précédemment [13-17].

Le couplage H-C à longue portée du proton anomère H-1' avec C-2 et C-7a dans l'expérience HMBC a indiqué la connexion N-C-1' du noyau indole et du fragment glycopyranosyle.

C'est la première fois qu'un nucléoside indole est isolé d'une éponge marine.

4. Conclusion

En conclusion, notre recherche de composés bioactifs d'origine marine a conduit à l'étude d'un spécimen de l'éponge marine sénégalaise *Diplastrella sp.* Un nouveau nucléoside indole tribominé a été isolé et sa structure chimique a été attribuée à l'aide d'études spectroscopiques.

Les N-glycosyl indoles sont d'une grande importance en chimie médicinale et sont couramment présents dans de nombreux composés d'importance pratique, allant des composés naturels aux agents pharmaceutiques [13-17]. La prochaine étape de notre travail consisterait à étudier le composé isolé pour rechercher d'éventuelles activités biologiques.

5. Remerciements

À la mémoire de notre défunt directeur de thèse Pr. Ibrahima NDIAYE.

Les auteurs remercient Marc Gaysinski pour les spectres RMN et Lionel Massi pour les mesures de spectres de masse. Les auteurs remercient également Michelle Kelly pour l'identification taxonomique de l'éponge.

6. References

- [1] Anjum, K., Abbas, S.Q., Shah, S.A.A., Akhter, N., Batool, S., Hassan, S.S.U. Marine Sponges as a Drug Treasure. *Biomol. Ther.* (2016), 24, 347-362.
- [2] Guyot M. Intricate aspects of sponge chemistry. *Zoosystema* (2000), 22, 419-431.
- [3] Hu, Y., Chen, J., Hu G., Yu, J., Zhu, X., Lin, Y., Chen, S., Yuan, J. Statistical Research on the Bioactivity of New Marine Natural Products Discovered during the 28 Years from 1985 to 2012. *Mar. Drugs* (2015), 13, 202-221.
- [4] Rao, V. K., Kasanah, N., Wahyuno, S., Tekwani, B. L., Schinazi, R.F. and Hamann, M. T. Three new manzamine alkaloids from a common Indonesian sponge and their activity against infectious and tropical parasitic diseases. *J. Nat. Prod.* (2004), 67, 1314-1318.
- [5] O'Rourke, A., Kremb, S., Bader, T. M., Helfer, M., Schmitt-Kopplin, P., Gerwick, W. H., Brack-Werner, R., Voolstra, C. R. Alkaloids from the sponge *Stylissa carteri* present prospective scaffolds for the inhibition of human immunodeficiency Virus 1 (HIV-1). *Mar. Drugs* (2016), 14, 28.
- [6] Zabriskie, T. M., Klocke, J. A., Ireland, C. M., Marcus, A. H., Molinski, T. F., Faulkner, D. J., Xu, C., Clardy, J. C. Jaspamide, a modified peptide from a Jaspis sponge, with insecticidal and antifungal activity. *J. Am. Chem. Soc.* (1986), 108, 3123-3124.
- [7] Ang, K. K., Holmes, M. J., Kara, U. A. Immunemediated parasite clearance in mice infected with *Plasmodium berghei* following treatment with manzamine A. *Parasitol. Res.* (2001) 87, 715-721.
- [8] Sakai, R., Higa, T., Jefford, C. W., Bernardinelli, G. Manzamin, A., a novel antitumor alkaloid from a sponge. *J. Am. Chem. Soc.* (1986), 108, 6404-6405.

- [9] Greve, H., Meis, S., Kassack, M. U., Kehraus, S., Krick, A., Wright, A. D., Konig, G. M. New iantherans from the marinesponge *Ianthella quadrangulata*: novel agonists of the P2Y₁₁ receptor. *J. Med. Chem.* (2007), 50, 5600-5607.
- [10] Stead, P., Hiscox, S., Robinson, P. S., Pike, N. B., Sidebottom, P. J., Roberts, A. D., Taylor, N. L., Wright, A. E., Pomponi, S. A., Langley, D. Eryloside F, a novel penasterol disaccharide possessing potent thrombin receptor antagonist activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2000), 10, 661-664.
- [11] Masuda, M., Kawaguchi, S., Takahashi, Y., Okamoto, K., Suzuki, M. Halogenated Secondary Metabolites of *Laurencia similis* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Bot. Mar.* (1999), 42, 199.
- [12] Ji, N-Y., Li, X-M., Ding, L-P., Wang, B-G. Aristolane Sesquiterpenes and Highly Brominated Indoles from the Marine Red Alga *Laurencia similis* (Rhodomelaceae). *Helv. Chim. Acta* (2007), 90, 385-391.
- [13] Furuta, R., Naruto, S., Tamura, A., Yokogawa, K. Neosidomycin, a new Antibiotic of *Streptomyces*. *Tetrahedron Lett.* (1979), 1701-1704.
- [14] Ito, T., Ohba, K., Koyama, M., Sezaki, M., Tohyama, H., Shomura, T., Fukuyasu, H., Kazuno, Y., Niwa, T., Kojima, M., Niida, T. A new Antiviral Antibiotic SF-2140 Produced by *Actinomadura*. *J. Antibiot.* (1984), 37, 931-934.
- [15] Buchanan, J. G., Stoddart, J., Wightman, R. H. Synthesis of the Indole Nucleoside Antibiotics Neosidomycin and SF-2140. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* (1994), 1, 1417-1426.
- [16] Nettleton, D.E., Doyle, T.W., Krishnan, B. Isolation and Structure of Rebeccamycin - a new Antitumor Antibiotic from *Nocardia aerocoligenes*. *Tetrahedron Lett.* (1985), 26, 4011-4014.
- [17] Lam, S., Schroeder, D. R., Veitch, J. M., Matson, J. A., Forenza, S. Isolation of a Bromo Analog of Rebeccamycin from *Saccharothrix aerocoligenes*. *J. Antibiot.* (1991), 44, 934-939.

Optimisation de la production de l'acide citrique à partir des déchets de mangue

DOUAKORE André Josiane^{1*}, SORO Yaya², MBENGUE Malick³

1,2 Institut National Polytechnique Felix Houphouët BOIGNY,
, Yamoussoukro BP1093, Cote d'Ivoire

3 Ecole Supérieure Polytechnique, Dakar, BP 5085, Sénégal

* andre.douakore22@inphb.ci

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des déchets agricoles. L'abondance des déchets agricoles et le manque de valorisation peuvent entraîner la pollution de notre environnement. En Côte d'Ivoire la production de mangue est estimée à plus de 150000 tonnes pour une exportation de 10%. La faiblesse du marché local, l'invasion des parasites et les mouches de fruits sont les principales causes des pertes postes récoltes estimées à plus de 30% de la production de mangue [1]. Des études ont montré que les déchets agricoles sont des sources potentielles de production de l'acide citrique. Ce composé plurifonctionnel est le maillon principal de plusieurs industries mais il est majoritairement utilisé en industrie alimentaire. L'objectif de cette étude est de produire l'acide citrique par optimisation à partir des déchets de mangues. Après isolement, le champignon *Aspergillus niger* est utilisé pour la fermentation et l'acide produit est extrait [2]. L'acide citrique obtenu est caractérisé en tenant compte la quantité de matière première utilisée. Des méthodes d'optimisation ont été étudiées en mettant en évidence les facteurs influençant la production de l'acide citrique [3]. Cependant, utiliser des déchets de sources diverses est une option pour un rendement élevé de produit d'acide citrique.

Mots clés : Production ; acide citrique ; optimisation ; déchets de mangue

Optimization of citric acid production from mango waste

Abstract:

This study is part of the recovery of agricultural waste. The abundance of agricultural waste and the lack of recovery can lead to pollution of our environment. In Ivory Coast, mango production is estimated at more than 150,000 tonnes for an export of 10%. The weakness of the local market, the invasion of parasites and fruit flies are the main causes of post-harvest losses estimated at more than 30% of mango production [1]. Studies have shown that agricultural waste is a potential source of citric acid production. This multifunctional compound is the main link in several industries but it is mainly used in the food industry. The objective of this study is to produce citric acid by optimization from mango waste. After isolation, the *Aspergillus niger* fungus is used for fermentation and the acid produced is extracted [2]. The citric acid obtained is characterized taking into account the quantity of raw material used. Optimization methods have been studied by highlighting the factors influencing the production of citric [3]. However, using waste from various sources is an option for high citric acid product yield.

Keywords : Production, citric acid, optimization, mango wastes

1. Introduction

Avec une production mondiale de 43 millions de tonnes, la mangue se situe au huitième rang des fruits les plus produits dans le monde. Sa production a fortement progressé de 75 % entre 2000 et 2013[4]. L'agriculture est l'un des piliers de l'économie des pays en développement mais elle génère des déchets ou sous-produits agricoles peu ou pas valorisés.

En Afrique comme au niveau mondial la Cote d'Ivoire est inscrite au nombre des pays fournisseur de mangue sur le marché Européen [5]. La mangue se retrouve presque sur toute l'étendue du territoire, mais les mangues destinées à l'exportation sont produites principalement dans la moitié du Nord de la Côte d'Ivoire. Sa production annuelle s'élève à plus de 150000 tonnes/an cependant, seulement 10% de cette production est exportée vers l'Europe. La mangue est le deuxième fruit frais exporté après la banane dessert et avant l'ananas avec une contribution à hauteur de 3% à 4 % du Produit Intérieur Brut (PIB) national [1].

La filière mangue rencontre de plus en plus de difficultés qui affaiblissent son système sur toute la chaîne de production. La recrudescence des agents pathogènes et les mouches des fruits sont les principales causes de l'altération des mangues. Comme conséquence on note chaque année l'interception des cargaisons vers l'Europe. Les pertes post-récoltes sont estimées à près de 40 % de la production totale pour l'équivalent de 3,3 milliards de FCFA/an [6].

Afin d'augmenter sa part de marché dans la commercialisation des mangues en Europe, la Côte d'Ivoire a entrepris la réorganisation de la filière mangue. Cette réorganisation concerne le transit maritime dont les délais et les conditions de transport sont déplorables. Pour garantir un produit de qualité aux

consommateurs, des contrôles de qualité sont réalisés. Enfin une politique de coopération avec les autres pays producteurs (Mali, Burkina Faso) est mise en place afin de coordonner la réorganisation de la filière. Les exportations de mangue de la Côte d'Ivoire furent sous la menace d'enclenchement de procédures pouvant mener à un embargo à cause de la mouche des fruits. Ainsi, le gouvernement ivoirien pour faire face à cette menace, a lancé en 2015 dans le cadre du Projet de Lutte contre la Mouche des Fruits (PLMF) de la CEDEAO, une campagne phytosanitaire en vue de traiter 20 000 ha de vergers pour lutter contre la mouche des fruits. Malgré les efforts du gouvernement ivoirien sur le renforcement des contrôles en station de conditionnement imposé par les services phytosanitaires en 2017, 37 interceptions ont été constatées dans l'Union européenne contre 10 en 2016 [7].

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des déchets de mangues (pertes post récolte et résidus). De façon générale elle est axée sur la bioconversion des déchets en composés bioactifs tel que l'acide citrique. L'objectif général de cette étude est de produire l'acide citrique à partir de résidus de mangue. De façon spécifique il s'agit de :

- Identifier la meilleure technique de production de l'acide citrique
- Optimiser la produire de l'acide citrique
- Extraire et purifier l'acide citrique
-

2. Matériel et méthodes

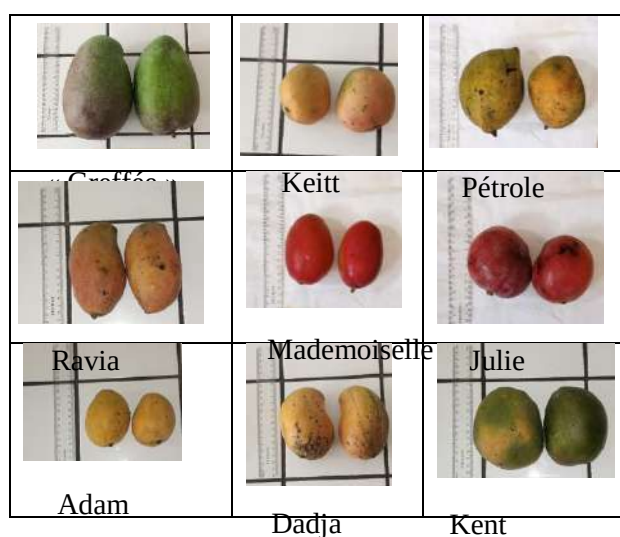
2.1 Matériel biologique

Le matériel biologique dont nous disposons est une souche d'*Aspergillus niger* isolée au laboratoire de Microbiologie Alimentaire et du Génie Industriel de l'Ecole Supérieure de Dakar.

2.3 Matériel végétal

Neuf variétés de mangue ont été récoltées et prétraitées puis conservées pour la fermentation.

Tableau 1 : Les neuf variétés de mangue récoltées sur le grand marché de Yamoussoukro



2.3 Méthode

La méthode consiste à observer l'aspect microscopique et macroscopique de l'isolat de *Aspergillus niger* sur deux milieux A et B respectivement Potato Dextrose Agar (PDA) et Chloramphénicol Gelose Agar (CGA)

• Observation macroscopique

L'observation macroscopique est réalisée sur la face et le revers de la boîte, en basant sur la détermination de l'aspect des colonies, la forme, la couleur des spores, la vitesse de croissance et le diamètre de la colonie [8], [9].

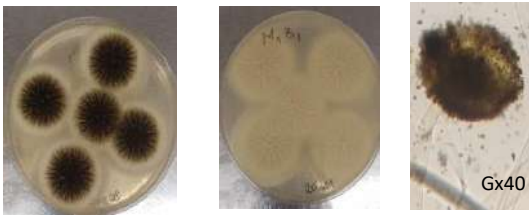
• Observation microscopique

L'identification microscopique des champignons repose sur plusieurs méthodes, la méthode la plus utilisée est méthode de scotch [8], [10]. Dans cette étude l'identification microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique (LEICA, DM500, HC : Plan s 10x/20).

3. Résultats et discussion

3.1 Observation microscopique et macroscopique de *Aspergillus niger*

Tableau 2 : Observation de *Aspergillus niger* sur milieu PDA et CGA

 Milieu PDA	<u>Observation macroscopique</u> -Colonies noires -Aspect cotonneux à noire poudreux avec des sillons rayonnants -Présence de gouttelette d'exsudats -Revers : pigment jaunâtre - Croissance rapide de 5 à 7 jours. <u>Observation microscopique</u> Conidiophore : hyalin et lisse terminé en vésicule Conidies : Globuleuses et noires disposées en chaînes unicellulaires
 Milieu CGA	<u>Observation macroscopique</u> -Colonie blanche puis noirâtre après 3 jours -Aspect velouté à poudreux -Gouttelette d'exsudats à la surface - Revers : Sans pigment <u>Observation microscopique</u> Conidiophore : Hyalin et lisse -Tête aspergillaire brune Conidies : rondes disposées en chaîne

4. Discussion

La souche croît plus rapidement sur le milieu PDA contrairement au milieu CGA. Pour la même souche l'apparition des colonies est différente sur les deux milieux. Les sillons rayonnants n'apparaissent que sur le milieu PDA. Selon les résultats d'identification préliminaire de l'isolat obtenu basé sur l'étude macroscopique et microscopique, l'isolat de *Aspergillus niger* montre différents aspects macroscopiques sur les deux milieux de culture. Les caractéristiques observées sur le milieu PDA sont identiques à ceux observés par [8] sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol. Les caractéristiques microscopiques sont identiques sur les deux milieux.

5. Conclusion

La souche obtenue présente les mêmes caractéristiques que celles utilisées dans la littérature pour la production de l'acide citrique. La suite de cette étude consistera à faire le comptage des spores et estimer la concentration de l'inoculum ensuite faire les tests de fermentation sur le jus de mangue avec le microorganisme.

6. Bibliographie

- [1] FIRCA, « Présentation des filières fruitières. La filière du Progrès », 1^{er} Trimest. 2014, n° n°13, p. 4-5, 2014.
- [2] E. K. A. Kouassi, « Valorisation des déchets d'agroressources par bioproduction d'acide citrique », 2017.
- [3] A. O. Adeoye et A. Lateef, « Improving the Yield of Citric Acid Through Valorization of Cashew Apple Juice by *Aspergillus niger*: Mutation, Nanoparticles Supplementation and Taguchi Technique », *Waste Biomass Valorization*, vol. 13, n° 4, p. 2195-2206, 2022.
- [4] CNUCED, « Rapport sur le commerce et le développement, 2016 », 2016.
- [5] L. M. KOUAME, A. K. KOUAME, L. OUATTARA, F. K. N'GUESSAN, M. W. ALLOUE-BORAUD, et M. K. DJE, « Contraintes liées à la production et à la commercialisation des mangues (*Mangifera indica*) en Côte d'Ivoire: cas des variétés exportées vers l'Europe », *Afr. Sci.*, vol. 17, n° 3, p. 16-27, 2020.

- [6] Y. SILUE, « Amélioration de la conservation au frais des mangues variété `` Kent `` de Côte d'Ivoire », 2022, [En ligne]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-04102657>
- [7] S. Sekongo, « LES UNITÉS DE TRANSFORMATION DE LA MANGUE EN CÔTE D'IVOIRE EN 2022 », p. 24, 2022.
- [8] H. O. Abdoullahi *et al.*, « ISOLEMENT ET CARACTERISATION DE SOUCHES FONGIQUES A PARTIR DE POISSONS FUMES/SECHES DU LAC FITRI AU TCHAD », p. 155-160, 2019.
- [9] N. Faqi Abdulla et F. Toma, « Isolation and Identification of Fungi from Spices and Medicinal Plants », *Res. J. Environ. Earth Sci.*, vol. 5, p. 131-138, nov. 2013, doi: 10.19026/rjees.5.5648.
- [10] M. Aissi, J. P. Bouchara, G. Tronchin, G. Larcher, J. Vigny, et D. Chabasse, « ETUDE IN VITRO D'UNE EXOPROTEASE D'ASPERGILLUS FUMIGATUS DEGRADANT LES PROTEINES CONSTITUTIVES DE MEMBRANES BASALES », *Sci. Technol. Exactes Sci.*, p. 85-90, 2002.

Évaluation de la bioefficacité de trois extraits hydroéthanoliques issus du broyat du duramen de trois espèces botaniques ligneuses durables ivoiriennes contre *Bemisia tabaci*, Gennadius, 1889

Appolinaire Bley BLEY-ATSE^{1,2,3*}, Armand Nahoulé ADJA², Florence Bobelé NIAMKE¹, Jean Claude N'guessan YAO¹, Tahiana RAMANANANTOANDRO³, Mathias DANHO², Augustin Amissa ADIMA¹, Nadine AMUSANT⁴

¹Laboratoire de Procédés Industriels, de Synthèse de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Felix Houphouët-Boigny (INP-HB), Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Zoologie Agricole et d'Entomologie, INP-HB, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Technologie du bois, ESSA, Université de Antananarivo, Madagascar

⁴Laboratoire des sciences du bois, Forêts de Guyane CIRAD Guyane Française, France
email* : Eappobleyatse@gmail.com email institutionnel : bley.bley-atse18@inphb.cicologie des

Résumé

Bemisia tabaci est l'un des principaux ravageurs pouvant infester plus de 600 cultures potagères et ornementales [1]. Il peut provoquer des dégâts directs par succion de la sève phloémienne et des dégâts indirects par l'excrétion de miellat source de prolifération de virus pathogènes comme le TYLCV [2]. *Bemisia tabaci* a développé des résistances face aux insecticides [1]. La plupart des pesticides employés contre les insectes ravageurs occasionnent des maladies et des problèmes environnementaux. Ainsi, rechercher des produits naturels devient inéluctable. Certaines études ont montré que les arbres tropicaux synthétisent dans le bois des molécules bioactives responsables de leur résistance intrinsèque [3]. L'exploitation forestière générant divers déchets sous-exploités constitue un problème environnemental. Les molécules qui s'y trouvent pourraient être valorisées pour lutter contre les ravageurs. Afin d'évaluer la bioefficacité des extraits ligneux étudiés, une infestation naturelle de plants de tomates a été effectuée. Les extraits issus des échantillons de bois collectés, séchés, broyés ont été appliqués sur les plants infestés. La dose de 0,01 g/mL issue du duramen des essences étudiées s'est avérée efficace. En somme les résultats ont montré une biotoxicité des extraits de duramen étudiés. Ces résultats pourraient constituer un atout dans la lutte contre les bioagresseurs des cultures.

Mots clés : *Bemisia tabaci*, biopesticide, bois durables, Côte d'Ivoire

Evaluation of the bioefficacy of three hydroethanolic extracts from the crushed heartwood of three sustainable woody Ivorian botanical species against *Bemisia tabaci*, Gennadius, 1889

Abstract

Bemisia tabaci is one of the main pests that can infest more than 600 vegetable and ornamental crops [1]. It can cause direct damage by sucking phloem sap and indirect damage by the excretion of honeydew, a source of proliferation of pathogenic viruses such as TYLCV [2]. *Bemisia tabaci* has developed resistance to insecticides [1]. Most pesticides used against insect pests cause disease and environmental problems. Thus, looking for natural products becomes inevitable. Some studies have shown that tropical trees synthesize in the wood bioactive molecules responsible for their intrinsic resistance [3]. Logging generating various under-exploited wastes is an environmental problem. The molecules found there could be used to fight pests. In order to evaluate the bioefficacy of the ligneous extracts studied, a natural infestation of tomato plants was carried out. The extracts from the wood samples collected, dried and ground were applied to the infested plants. The dose of 0,01 g/mL from the heartwood of the species studied proved to be effective. In short, the results showed biotoxicity of the heartwood extracts studied. These results could be an asset in the fight against crop bioaggressors.

Keywords: *Bemisia tabaci*, biopesticide, sustainable wood, Ivory Coast

1-Introduction

La tomate est le 2ème légume le plus consommé dans le monde juste après la pomme de terre. Elle est en général consommée sous la forme fraîche et souvent sous la forme transformée. Elle est cultivée sous toutes les latitudes et dans des conditions très variées (climats, modes de production, etc.) à travers le monde. La production mondiale de tomates est estimée à plus de 120 millions de tonnes. L'Afrique produit 12% de la production mondiale. En Côte d'Ivoire, la tomate est l'une des cultures les plus cultivées. En effet elle occupe une place importante dans les cultures maraîchères. En plus elle fait partie des légumes qui entre quotidiennement dans le régime alimentaire des populations rurales et urbaines. Cependant cette culture est confrontée à d'importantes pertes dues à certaines pathologies et nuisibles tels que les champignons et les insectes ravageurs. Parmi ces insectes, on note *Bemisia tabaci* connue sous le nom de aleurode du tabaco ou du cotonnier [1].

Bemisia tabaci un insecte polyphage pouvant infester plus de 600 espèces de plantes potagères et ornementales. C'est un aleurode peut provoquer des dégâts directs par succion de la sève phloémienne des plantes et des dégâts indirects par l'excrétion de miellat source de prolifération de pathogènes. En effet il peut transmettre plus de 200 virus pathogènes végétaux dont la plus dévastatrice est le *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV). En plus de provoquer une baisse de la valeur marchande des produits à travers la prolifération de saprophytes, ce virus peut

aussi entraîner la destruction totale des plants attaqués occasionnant ainsi des pertes financières importantes [2]. Dans le soucis d'améliorer la production ou le rendement agricole des agriculteurs, maintes pesticides chimiques ont été élaborés pour lutter contre cet important ravageur de la tomate. Cependant cet insecte a progressivement développé des résistances face aux insecticides [1];[4]. Suite a cet inquietant constat l'organisation Mondiale du commerce et l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) ont soumis des mesures de lutte obligatoire et des mesures de quarantaine au niveau de l'importation de végétaux dans certains pays européens et africains afin d'empêcher la prolifération de cet insecte ravageur [5]. En outre les pesticides chimiques élaborés et utilisés par les agriculteurs pour lutter contre les ravageurs des cultures maraichères sont plus part obsolètes occasionnant de graves maladies et des problèmes environnementaux [6]. De ce fait, rechercher des produits naturels s'avère inéluctable et opportun. Plusieurs recherches scientifiques ont été menés sur des plantes pour leurs molécules [7]. Certaines études ont montré également que les arbres tropicaux synthétisent dans le bois des molécules bioactives responsables de leur résistance intrinsèque. Aussi l'exploitation forestière générant divers déchets sous-exploités constitue aussi un problème environnemental [3];[8]. Les molécules qui se trouvent dans ces rejets de bois pourraient être valorisées pour lutter contre les ravageurs. L'objectif général sera d'évaluer l'activité insecticide d'extraits hydroéthanoliques de quelques essences forestières ivoiriennes durables sur *Bemisia tabaci*, l'un des ravageurs importants de la tomate. De façon spécifique, il s'agira de collecter, de préparer le matériel ligneux de l'étude et de réaliser les extractions sur les broyats des différents duramen de bois étudiés. Après il sagira d'évaluer les extraits obtenus sur *Bemisia tabaci* afin d'évaluer leur activité insecticide.

2-Matériel et méthodes

Notre démarche méthodologies se structure en quatre (4) étapes essentielles qui sont:

Etape 1 : Cette 1^{ère} section comprend l'étude bibliographique, la sélection et la collecte des bois étudiés ;

Etape 2 : Les activités de cette deuxième section ont été plus portés sur la préparation du matériel végétal : Préparation des échantillons de bois: le sciage, le séchage, le découpage, le concassage, le broyage et l'extraction.

Etape 3 : Les tâches de cette troisième partie ont été plus axés sur l'étude entomologique à savoir l'identification de *Bemisia tabaci* grâce à un microscope électronique et aux clés d'identification entomologiques.

Etape 4 : La quatrième partie a traité des l'application des extraits étudiées sur les plants infestés par *Bemisia tabaci*.

3-Résultats et discussion

3-1-Rendement d'extraction

Rendement = (masse initiale/masse finale) x 100

Masse initiale : masse du broyat (poudre de bois) et Masse finale : masse de l'extrait sec

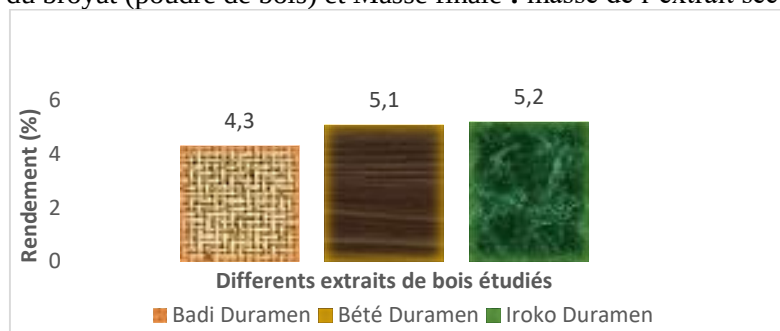


Figure 1 : Rendement d'extraction des trois broyats de duramen essences étudiées

Le rendement d'extraction variait d'une essence à une autre. L'Iroko et le Bété ont approximativement eu le même rendement (5,1 et 5,2%), Le Badi a eu également un rendement proche des deux précédemment cités (4,3%).

3-2-Activités biologiques des extraits de bois étudiés sur les populations d'insectes

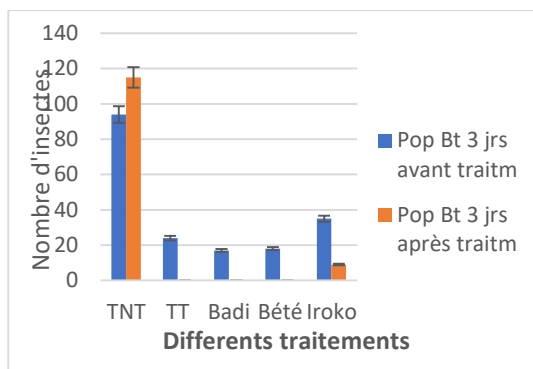
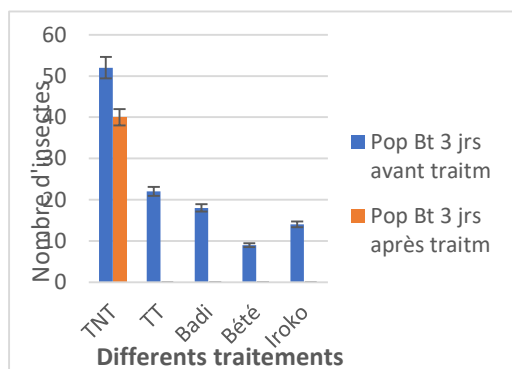


Figure 3 : Activité de l'extrait de duramen au stade de floraison des plants à C= 0,01 g/mL

Figure 2 : Activité de l'extrait de duramen au stade de croissance des plants à C= 0,01 g/mL

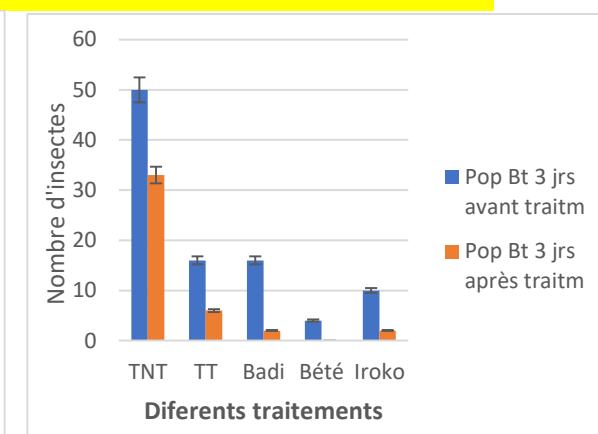
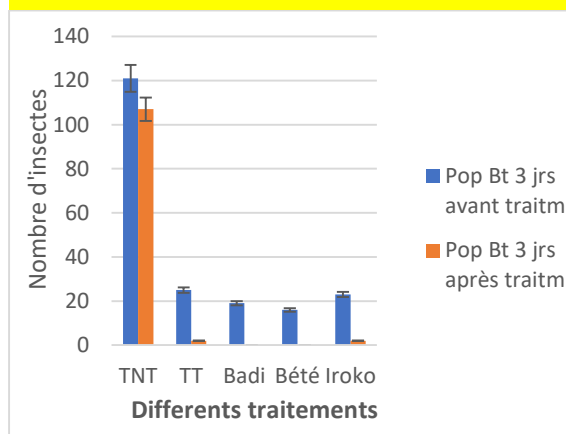


Figure 5 : Activité de l'extrait de duramen au stade de maturation des plants à C= 0,01 g/mL

Figure 4 : Activité de l'extrait de duramen au stade de fructification des plants à C= 0,01 g/mL

A la levée, on a remarqué une quasi-absence d'insectes sur les jeunes plants de tomate. La population de *Bemisia tabaci* était très insignifiante. Cela pourrait s'expliquer à travers la protection des jeunes plants durant cette phase. Effet pour réussir la mise en place d'une pépinière de tomate, une protection physique (toile entomologique) est nécessaire juste après le semis des graines. Les jeunes étant très vulnérables, cette technique de protection permet de les protéger également contre les insectes cisailleurs de tiges et de racines comme les grillons (*Grillus bimaculatus*).

A la phase de croissance des plants de tomates, le nombre d'insectes présent avant le traitement était très important sur les plants témoins (52 insectes). A cette phase la protection physique est ôtée. Après le traitement des plants avec les extraits de Badi, Bété et Iroko, la population de *Bemisia tabaci* a légèrement diminuée au niveau des plants témoins (40 insectes) malgré qu'ils n'aient été pas traité. En revanche après traitement des plants, on a remarqué aucun insecte après traitement sur les plants. Cela pourrait s'expliquer par le fait contient des composées biologiques qui pourraient être répulsifs et toxiques vis à cis des insectes ravageurs de notre étude.

A la phase de floraison la population de *Bemisia tabaci* présent sur les plants témoins a augmenté après le traitement. Le Badi et le Bété ont réussi à éliminé la totalité des insectes tout comme le témoin traité (TT) représenté par le produit chimique homologué (VIPER EC46). L'extrait de l'iroko a quant à lui éliminé le quart (¼) de la population enregistrée avant le traitement.

A la phase de fructification le Badi et le Bété ont réussi ont éliminé sévèrement les populations de *Bemisia tabaci* sur les plants tout comme le témoin traité (TT) et l'extrait de l'Iroko.

A la phase de maturation seul l'extrait du Bété a pu repousser et éliminer tous les insectes après le traitement.

Notons que les populations de *Bemisia tabaci* observés avant le traitement des plants ont été moins importantes que celles observées après les différents traitements, voir nul dans certains cas de figures (stade de croissance et de fructification). Cela pourrait s'expliquer par le fait que le duramen contient des molécules chimiques ou

métabolites secondaire qui seraient toxiques et répulsifs vis à vis de *Bemisia tabaci*. C'est cela qui expliquerait la fuite ou la mort des insectes juste après pulvérisation des extraits étudiés.

La mort des insectes mis au contact avec les extraits de duramen pourrait signifier la présence de ces biomolécules dans les extraits [9];[10]. Des études antérieures ont démontré que les bois de nos études étaient riches en métaboliques secondaires. De plus ses études ont montré une bonne activité antioxydante des extraits [9]. Les polyphénols, les flavonoïdes sont dotés de propriétés antifongiques et insecticides et ceux-ci sont responsable de la résistance naturelle du bois [10].

4-Conclusion

Bemisia tabaci est un redoutable insecte ravageur de la tomate. Il infeste les champs dès le repiquage des plants et provoque généralement plus de dégâts à partir de la phase de croissance de la plante. L'infestation des plants est plus remarquée à partir de la phase de croissance et les populations les plus nombreuses de ce ravageur ont été remarqué sur les plants témoins. Les 3 extraits issus des broyats des ligneux qui ont été évalués ont tous été actifs à la dose de 0,01 g/mL. Ceux-ci ont causés une mortalité et une répulsion des insectes. Tous les 3 extraits évalués durant cette étude ont montré une bonne activité répulsive et insecticide vis-à-vis de *Bemisia tabaci*.

References bibliographiques

- [1] Guo, L., Lv, H., Tan, D., Liang, N., Guo, C., Chu, D., 2020. Resistance to insecticides in the field and baseline susceptibility to cyclaniliprole of whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in China. *Crop Protection* 130, 105065. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105065>
- [2] Abd-Rabou, S., Simmons, A.M., 2010. Survey of Reproductive Host Plants of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Egypt, Including New Host Records. *entn* 121, 456–465. <https://doi.org/10.3157/021.121.0507>
- [3] J.-B. S. Anouhe *et al.*, 2018, « The role of extractives in the natural durability of the heartwood of *Dicorynia guianensis* Amsh: new insights in antioxydant and antifungal properties », *Annals of Forest Science*, vol. 75, n° 1, p. 15, , doi: 10.1007/s13595-018-0691-0.
- [4] Hawkins, N.J., Bass, C., Dixon, A., Neve, P., 2019. The evolutionary origins of pesticide resistance: The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biol Rev* 94, 135–155. <https://doi.org/10.1111/brv.12440>
- [5]. Organisation Mondiale du Commerce (OMC), 2008- Comité des mesures sanitaires et phytosanitaires problèmes commerciaux spécifiques, G/SPS/GEN/204/Rev.8/Add.2 27 mars 2008, 159 pages
- [6] Lengai, G.M.W., Muthomi, J.W., Mbega, E.R., 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African* 7, e00239. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e 00239>
- [7] Yarou, B.B., Silvie, P., Komlan, F.A., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., Francis, F., 2017. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 17.
- [8] Kebbi-Benkeder, Z., Dumarçay, S., Touahri, N., Manso, R., Gérardin, P., Colin, F., 2016. Les nœuds : un bois méconnu et une source importante de composés extractibles 20.
- [9] Thomas, D., Florence, N.B., Félix, A., Appolinaire, B.B., Yao, N.J.C., René, D.K., Armand, A.N., Kouabenan, A., Fabrice, T., Augustin, A.A., Nadine, A., 2023. Valorisation et étude de l'activité antifongique et antioxydante d'extraits de trois bois durables de la Côte d'Ivoire. *A. A.* 38.
- [10] F. B. Niamke, 2010, « Recherche de déterminants biochimiques de la durabilité naturelle du bois de teck (*Tectona Grandis* L. F.) », Thèse en Cotutelle, Université d'Abidjan et Université de Montpellier II, Côte d'Ivoire et France, 358 pages.

Synthèse et Caractérisation de Nouveaux Bis-benzimidazole/N-acylhydrazone

Asso Obé JeanYannick Lévy^{1*}, Coulibaly Souleymane¹, Coulibali Siomenan¹

¹ Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

Auteurs correspondants : * E-mail : yannickasso@yahoo.fr

Résumé

Les N-acylhydrazones caractérisées par leur groupe azométhine, suscitent un intérêt croissant dans la recherche en raison de leur diversité d'activités biologiques. Nos récentes investigations se sont concentrées sur deux aspects essentiels de ces composés : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs conformations variées. Dans le cadre de cette étude, notre objectif était de synthétiser de nouvelles molécules bis-benzimidazoles/N-acylhydrazones en vue de leur potentiel anti-infectieux. À cet effet, quinze (15) dérivés ont été méthodiquement élaborés en quatre (4) étapes, atteignant des rendements allant de 56 à 70 % et purifiés par un simple processus de lavage. Les caractérisations structurales de ces composés ont été réalisées par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN ¹H et ¹³C) ainsi que par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS). Ces nouvelles entités, obtenues avec des rendements satisfaisants et des méthodes de purification écologique, ouvrent la voie à l'exploration du concept de chimie verte. Leur évaluation en tant qu'agents antimicrobiens ainsi que l'exploration de leurs diverses conformations seront au cœur de nos prochaines investigations. Ces résultats prometteurs contribueront à enrichir notre compréhension des N-acylhydrazones tout en offrant de nouvelles perspectives pour le développement de thérapies anti-infectieuses novatrices.

Mots clés : Bis-benzimidazole, N-acylhydrazone, azométhine, activité anti-infectieuse

Synthesis and Characterization of Novel Bis-Benzimidazole/N-acylhydrazone

Abstract

N-Acylhydrazones, characterized by their azomethine group, have garnered increasing interest in research due to their diverse range of biological activities. Our recent investigations have focused on two crucial aspects of these compounds: their antimicrobial properties and their various conformations. In this study, our objective was to synthesize new molecules of bis-benzimidazoles/N-acylhydrazones for their potential anti-infective properties. To this end, fifteen (15) derivatives were systematically developed in four (4) steps, achieving yields ranging from 56 to 70%, and purified through a simple washing process. Structural characterizations of these compounds were conducted using Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (¹H and ¹³C NMR) as well as High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS). These novel entities, obtained with satisfactory yields and environmentally friendly purification methods, pave the way for exploring new conception of green chemistry. Their evaluation as antimicrobial agents, along with the exploration of their various conformations, will be at the core of our upcoming investigations. These promising results will contribute to enhancing our understanding of N-acylhydrazones while providing new perspectives for the development of innovative anti-infective therapies.

Keywords: Bis-benzimidazole, N-acylhydrazone, azomethine, anti-infective activity

1. Introduction

Le benzimidazole est un hétérocycle issu de l'accolement entre le benzène et le noyau imidazole.

Les benzimidazoles sont reconnus comme de puissants pharmacophores d'où leur utilisation comme motifs de base de nombreux composés biologiquement actifs [1]. De la revue bibliographique sur les benzimidazoles effectué par Ebenezer *et al.*, qui se focalise sur les années de 2020 à 2022, il en ressort que les composés contenant des benzimidazoles en combinaison avec un espace chimique plus large possèdent un fort potentiel bioactif [2]. Ainsi, Les bis-benzimidazoles caractérisés par leur structure chimique unique, qui se compose de deux noyaux benzimidazoles liés les uns aux autres par des chaînes alkyles ou aryles se présentent comme des composés à fortes potentialités biologiques.

En effet, les bis-benzimidazoles sont couramment utilisés comme agents anthelminthiques pour traiter les infections parasitaires chez les humains et les animaux [3]. Ils présentent des activités antibactériennes, antifongiques et anticancéreuses [4].

En outre, la combinaison entre des ligands benzimidazoles et d'autres ligands biologiquement actifs tel que les bases de Schiff est très prometteuse [5,6]. Les bases de Schiff sont des molécules organiques abritant le groupement azométhine (-C=N-) [7]. Cette famille de composé fait l'objet de nombreuses études tant leurs activités biologiques sont diverses [8–11].

De ces observations, le présent travail a pour objectif la mise au point de nouvelles molécules bis-benzimidazoles/N-acylhydrazones en vue d'évaluer leurs potentielles propriétés antimicrobiennes et leurs conformations variées.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériels

Tous les solvants utilisés (l'hexane, l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'éthanol) ont été achetés à ChemLab et distillés. Tous les réactifs ont été achetés chez Sigma Aldrich et TCI Europe, et ont été utilisés sans autre purification, sauf indication contraire. Les réactions ont été contrôlées par Chromatographie sur Couche Mince sur des plaques de gel de silice Merck 60 F254. Les composés ont été visualisés par exposition à la lumière ultraviolette à 254 nm et/ou à 365 nm. Sauf indication contraire, les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrés sur un appareil Bruker Advance à 400 MHz. Les pics des solvants résiduels ont été pris comme référence (DMSO-*d*₆ : 2,50 ppm) à température ambiante. Pour les assignations RMN (¹H et ¹³C), les déplacements chimiques (δ) sont rapportés en parties par million (ppm) par rapport à l'échelle du tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage *J* sont indiquées en Hertz (Hz). Les abréviations suivantes sont utilisées pour les multiplicités de spectres de protons : s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, qt : quintuplet, m : multiplet, br : large, dd : doublé de doublet, dt : doublé de triplet. Les points de fusion des composés solides ont été mesurés à l'aide d'un banc Köfler jusqu'à 266°C.

2.2. Méthode de synthèse

Méthode de synthèse du 2,6-bis(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl) pyridine (1)

Dans un ballon de 100 mL contenant 3,6 mL d'acide orthophosphorique sous agitation magnétique, est ajouté (12 mmol, 2éq) d'orthophénylènediamine et (6 mmol, 1éq) de l'acide pyridine-2,6 dicarboxylique. Le mélange est porté à reflux et suivi par CCM. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution d'hydroxyde de sodium et un précipité est observé. Le produit est filtré, séché puis recristallisé dans un mélange eau/éthanol pour obtenir le 2,6-bis(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl) pyridine sous forme de poudre brune avec un rendement de 80%.

Méthode de synthèse du diméthyl 2,2'-(pyridine-2,6-diylbis(1*H*-benzo[d]imidazole-2,1-diyl)) diacétate (2)

Dans un ballon de 50 mL contenant (0,5 mmol, 1éq) du 2,6-bis(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl) pyridine (1), est ajouté 8 mL de DMF puis (3 mmol, 4éq) de carbonate de potassium (K₂CO₃). Le mélange est laissé à température ambiante sous agitation magnétique durant 1heure. Ensuite, est ajouté au mélange (4 mmol ; 6éq) de chloroacétate de méthyle. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux et suivi par CCM. Une fois la réaction terminée, de l'eau distillée est ajoutée au milieu réactionnel et un précipité est observé. Le précipité est alors filtré sur Büchner et lavé à l'eau distillée. Une poudre rouge est obtenue avec un rendement de 76%.

Méthode de synthèse de la 2,2'-(pyridine-2,6-diylbis(1*H*-benzo[d]imidazole-2,1-diyl)) di(acétohydrazide) (3)

Dans un ballon contenant 25 mL d'éthanol, on dissout (2 mmol, 1éq) du composé (2) puis (16 mmol, 6éq) d'hydrazine hydratée a été ajoutée. Le mélange sous agitation magnétique est porté à reflux et suivi par CCM. Lorsque la réaction se termine, le précipité formé est filtré et lavé à l'éthanol pour obtenir 70% de 2,2'-(pyridine-2,6-diylbis(1*H*-benzo[d]imidazole-2,1-diyl))di(acétohydrazide) sous forme de poudre grise.

Procédure générale de la synthèse des dérivés Bis-benzimidazole/N-acylhydrazone (5a-o)

Dans un ballon de 50 mL contenant 10 mL de méthanol, est ajouté (0,22 mmol, 1éq) du composé (3) et (0,22 mmol, 1éq) d'aldéhydes aromatiques (4a-o). Le mélange réactionnel est porté à reflux et suivi par CCM. A la fin de la réaction, le précipité formé est filtré, lavé à l'éthanol puis séché pour donner les composés 5a-o avec des rendements compris entre 56 et 70%.

3. Résultats et discussion

L'obtention des composés 5a-o se réalise au bout de 4 étapes selon la voie indiquée dans le schéma 1. Les étapes de séparation et de purification étant les principales sources de déchets lors des réactions en synthèse organique [12], nous avons donc procédé par un simple lavage en utilisant des solvants peu toxiques notamment l'éthanol, voire pas du tout toxique l'eau, pour la purification de nos différents composés.

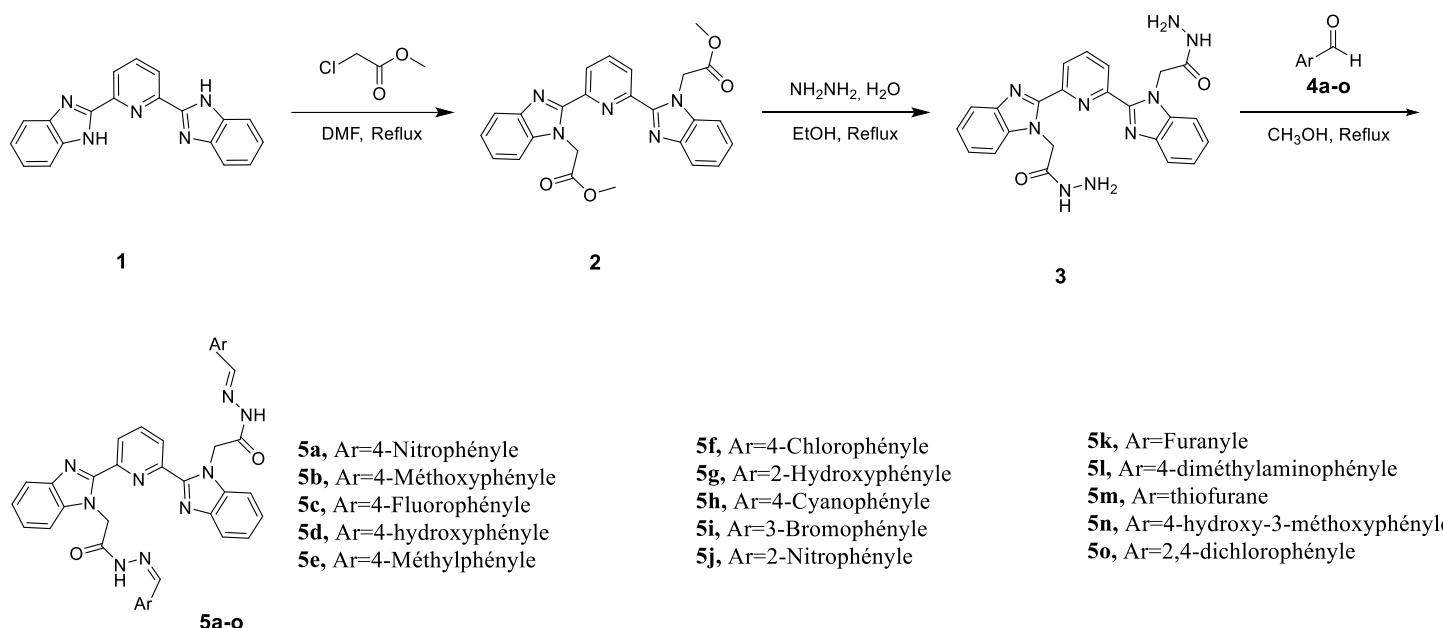
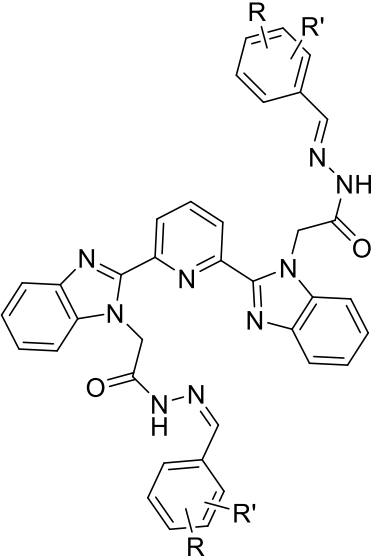


Schéma 2 : Synthèse des dérivés (5a-o)

Le 2,6-bis(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)pyridine qui est le premier intermédiaire pour la synthèse des composés **5a-o** a été réalisé selon la méthode de Phillips. En effet, la méthode de Phillips exige un milieu acide concentré et une température élevée. Ainsi, en se basant sur les travaux de Yan et *al.* [13], nous avons condensé l'orthophénylènediamine et l'acide pyridine-2,6-dicarboxylique dans l'acide orthophosphorique utilisé comme solvant de réaction. L'étape suivante est une N-Alkylation dans le diméthylformamide (DMF) réalisée sur le composé **1** à l'aide du chloroacétate de méthyle en utilisant le carbonate de potassium (K_2CO_3) comme base pour la déprotonation des amines. La synthèse du composé **3** est une réaction de substitution nucléophile entre le composé **2** et l'hydrazine hydratée suivant les travaux de Ablo et *al.* [6]. Elle met en réaction le diméthyl 2,2'-(pyridine-2,6-diylbis(1*H*-benzo[d]imidazole-2,1-diyl))diacétate (**2**) et l'hydrazine hydratée dans l'éthanol à reflux. La réaction a été arrêtée une fois la CCM pour le suivi réactionnel indiquait l'absence du composé **2**. Après filtration du brut réactionnel, puis un lavage à l'éthanol le 2,2'-(pyridine-2,6-diylbis(1*H*-benzo[d]imidazole-2,1-diyl)) di(acetohydrazide) (**3**) a été obtenu avec un rendement de 70%. Toujours selon Ablo et *al.* [6], nous avons obtenus les composés **5a-o** par une réaction de condensation entre le composé **3** et des aldéhydes aromatiques **4a-o** dans le méthanol à reflux. Le tableau 1 ci-dessous présente les composés **5a-o** obtenus avec leurs rendements et point de fusion.

Tableau 1 : Caractéristiques des composés 5a-o

Produits	Structure générale	R	R'	Rendement %	Point de fusion °C
5a		4-NO ₂	H	62	218-220
5b		4-OCH ₃	H	64	>260
5c		4-F	H	66	230-232
5d		4-OH	H	56	202-204
5e		4-CH ₃	H	67	230-232
5f		4-Cl	H	68	242-244
5g		2-OH	H	70	>260
5h		4-CN	H	59	224-226
5i		3-Br	H	61	218-220
5j		2-NO ₂	H	70	260-262

5k		furanyle		56	>260
5l		4-N(CH ₃) ₂	H	60	220-222
5m		thiofurane		63	256-258
5n		4-OH	3-Br	64	202-204
5o		2 -Cl	4 -Cl	56	250-252

L'analyse du spectre RMN ¹H du composé **3** a révélé la présence de pics caractéristiques correspondant aux protons des différents azotes. On note ainsi la présence de deux nouveaux singlets. L'un à 4,26 ppm intégrant pour quatre protons qui correspondraient probablement aux protons NH₂. L'autre à 9,39 ppm intégrant pour deux protons qui pourrait être associé aux protons NH. Les points de fusion des composés **5a-o** obtenus montrent de grandes différences en comparaison avec celle du composé **3** dont le point de fusion est supérieur à 260 (Pf > 260°C).

4. Conclusion

Ce travail a conduit au développement de quinze (15) nouveaux dérivés bis-benzimidazoles/N-acylhydrazones. Tous ces composés sont en cours de caractérisation par spectroscopie en RMN 1D (¹H et ¹³C), RMN 2D (NOESY) et par spectrométrie de masse haute résolution HRMS. Néanmoins le suivi par CCM et les points de fusions des différents composés nous donnent bon espoir de leurs obtentions. Les études antimicrobiennes ainsi que l'exploration de leurs diverses conformations seront les étapes suivantes de nos travaux sur ces dérivés bis-benzimidazoles/N-acylhydrazones obtenus.

5. Bibliographie

- [1] Y.-S. Lee *et al.*, « Significant facilitation of metal-free aerobic oxidative cyclization of imines with water in synthesis of benzimidazoles », *Tetrahedron*, 2015, vol. 71, n° 4, Art. n° 4, doi: 10.1016/j.tet.2014.12.043.
- [2] O. Ebenezer, F. Oyetunde-Joshua, O. D. Omotoso, et M. Shapi, « Benzimidazole and its derivatives: Recent Advances (2020–2022) », *Results in Chemistry*, 2023, vol. 5, p. 100925, doi: 10.1016/j.rechem.2023.100925.
- [3] H. Zhang, Y. Xu, H. Wu, S. O. Aderinto, et X. Fan, « Mono-, bi- and multi-nuclear silver complexes constructed from bis(benzimidazole)-2-oxapropane ligands and methacrylate: syntheses, crystal structures, DNA-binding properties and antioxidant activities », *RSC Adv.*, 2016, vol. 6, n° 87, Art. n° 87, doi: 10.1039/C6RA09733B.
- [4] A. Tavman, D. Gürbüz, A. Aktaş KaraçeliK, B. Ertan, et A. Çınarlı, « Synthesis, characterization, antibacterial and antioxidant activity of 1,5-bis(6-chloro-1H-benzimidazol-2-yl)pentan-3-one and its Fe(III), Co(II), Cu(II), Zn(II) and Ru(II) complexes », *Rev.Roum.Chim.*, 2024, vol. 68, n° 10-12, p. 547-557, doi: 10.33224/rrech.2023.68.10-12.07.
- [5] Z. Šindelář et P. Kopel, « Bis(benzimidazole) Complexes, Synthesis and Their Biological Properties: A Perspective », *Inorganics*, 2023, vol. 11, n° 3, p. 113, doi: 10.3390/inorganics11030113.
- [6] E. Ablo *et al.*, « Synthesis and characterization of novel conformers of (E) - 2-(3-nitro- H -imidazo[1,2- a]pyridin-2-ylthio)- N '-benzylideneacetohydrazide derivatives », *Magnetic Reson in Chemistry*, 2022, vol. 60, n° 12, p. 1157-1170, doi: 10.1002/mrc.5308.

- [7] W. Al Zoubi *et al.*, « Synthesis, characterization, and antioxidant activities of imine compounds », *J of Physical Organic Chem*, 2019, vol. 32, n° 3, p. e3916, doi: 10.1002/poc.3916.
- [8] O. O. Ajani, K. T. Iyaye, O. Y. Audu, S. J. Olorunshola, A. O. Kuye, et I. O. Olanrewaju, « Microwave Assisted Synthesis and Antimicrobial Potential of Quinoline-Based 4-Hydrazide-Hydrazone Derivatives », *Journal of Heterocyclic Chem*, 2018, vol. 55, n° 1, p. 302-312, doi: 10.1002/jhet.3050.
- [9] I. Hussain *et al.*, « Synthesis, Characterization and Biological Activities of Hydrazone Schiff Base and its Novel Metals Complexes », *Journal of Molecular Structure*, 2019, vol. 48, n° 7, p. 1439-1446, doi: 10.17576/jsm-2019-4807-13.
- [10] G. Cihan-Üstündağ, D. Şatana, G. Özhan, et G. Çapan, « Indole-based hydrazide-hydrazones and 4-thiazolidinones: synthesis and evaluation as antitubercular and anticancer agents », *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2015, p. 1-12, doi: 10.3109/14756366.2015.1024673.
- [11] K. F. Adingra, S. Coulibaly, K. Alain, M. Ouattara, et D. Sissouma, « Synthesis and Anticandidotic Activities of Some 3-Imidazo[1,2-a]Pyridinyl-1-Arylpropenone Derivatives », *Advances Biological Chemistry*, 2022, vol. 12, n° 04, Art. n° 04, doi: 10.4236/abc.2022.124008.
- [12] K. J. Ardila-Fierro et J. G. Hernández, « Sustainability Assessment of Mechanochemistry by Using the Twelve Principles of Green Chemistry », *ChemSusChem*, 2021, vol. 14, n° 10, p. 2145-2162, doi: 10.1002/cssc.202100478.
- [13] Z.-Z. Yan, Z.-H. Xu, G.-L. Dai, H.-D. Liang, et S.-L. Zhao, « Synthesis, crystal structure, and DNA-binding of a 3-D netlike supramolecular manganese picrate complex with 2,6-bis(benzimidazol-2-yl)pyridine », *Journal of Coordination Chemistry*, 2010, vol. 63, n° 7, Art. n° 7, doi: 10.1080/00958971003728288.

Composition phytochimique des écorces de tiges de *Gardenia ternifolia* Schumach. & Thonn. (Rubiaceae) de Côte d'Ivoire

Bamba Souleymane ^{1,*}, Ouattara Logopho Hyacinthe ^{2,3}, Traoré Lanciné ^{2,5}, Katou Yapo Séverin ^{2,4}, Gué Lieuné Alexis ²

¹ Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon GUEDE, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

² Laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Substances Naturelles, UFR SFA, Université Nangui ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

³ UPR de chimie organique, Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

⁴ Département de Sciences et Technique, UFR Sciences Médicales, Université Alassane OUATTARA, 01 BPV 18 Bouaké 01, Côte d'Ivoire

⁵ UFR des Sciences et Technologies, Université Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire

Résumé

Devant la réapparition de certaines maladies, de nombreuses recherches sont menées afin de dénicher de nouvelles sources de biomolécules dans les plantes médicinales. L'objectif de ce travail est de valoriser *Gardenia ternifolia* une plante de la pharmacopée ivoirienne. L'analyse phytochimique des métabolites secondaires des extraits aqueux et éthanoliques des écorces de la tige a été réalisé à l'aide de méthodes de réaction colorée en tube et de chromatographie sur couche mince (CCM). Les analyses qualitative et quantitative vis-à-vis du radical libre DPPH a permis de mettre en évidence l'activité antiradicalaire. Les résultats obtenus montrent la présence de polyphénols (flavonoïdes, coumarines, tanins), de saponines, des acides phénoliques, de stéroïdes et de terpénoïdes mais les alcaloïdes étaient absents. Cependant, l'analyse spectrophotométrique quantitative a montré une meilleure activité antioxydante. Ainsi les tiges pourraient être utilisées comme antioxydant. L'évaluation de la toxicité et de l'activité antibactérienne des tiges de *Gardenia ternifolia* nous permettra de songer à produire un phytomédicament pour toutes les classes sociales.

Mots clés : *gardénia ternifolia*; Analyse phytochimique ; Activité antiradicalaire ; Côte d'Ivoire

Phytochemical composition of the stem barks of *Gardenia ternifolia* Schumach. & Thonn. (Rubiaceae) from Ivory Coast

Abstract

Faced with the reappearance of certain diseases, much research is being carried out to find new sources of biomolecules in medicinal plants. The objective of this work is to promote *Gardenia ternifolia*, a plant from the Ivorian pharmacopoeia. Phytochemical analysis of secondary metabolites of aqueous and ethanolic extracts of stem barks was carried out using tube color reaction and thin layer chromatography (TLC) methods. The qualitative and quantitative analyzes with regard to the free radical DPPH made it possible to highlight the anti-radical activities. The results obtained show the presence of polyphenols (flavonoids, coumarins, tannins), saponins, phenolic acids, steroids and terpenoids but alkaloids were absent. However, quantitative spectrophotometric analysis showed better antioxidant activity. So the stems could be used as an antioxidant. The evaluation of the toxicity and antibacterial activity of the stems of *Gardenia ternifolia* will allow us to consider producing a phytomedicine for all social classes.

Keywords : *gardénia ternifolia*; Phytochemical analysis; Anti-radical activity; Côte d'Ivoire

1. INTRODUCTION

Depuis toujours, les plantes ont été présentes dans la vie quotidienne de l'homme, car elles sont utilisées pour se nourrir, se soigner et parfois pour réaliser des rituels religieux [1]. Plus de 85% des habitants du tiers-monde ont recours aux plantes médicinales traditionnelles, en raison du coût excessif des molécules curatives manufacturées [2]. Toutefois, les métabolites secondaires présents dans ces plantes médicinales étaient méconnus. Différentes études chimiques ont été menées afin d'acquérir une approche scientifique de leur utilisation en médecine traditionnelle [3]. C'est dans ce sens que cette étude s'est intéressée à *Gardenia ternifolia*, une plante appartenant à la pharmacopée ivoirienne qui est couramment employée pour soigner diverses affections, comme les infections bactériennes [4]. Le but visé est de contribuer de manière rationnelle à la valorisation des espèces végétales en effectuant un screening phytochimique et pharmacologique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

L'écorces de tiges de *G. ternifolia* a été récoltées dans le mois de février 2022 à Korhogo (Côte d'Ivoire), précisément dans le village de Kapékaha. L'organe a été séché pendant 5 jours à l'abri du soleil dans une salle à la température ambiante. Enfin, l'organe sec a été broyé dans un mortier et tamisé pour obtenir de fines poudres, qui ont servi à préparer les différents extraits testés.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extractions

Les techniques extractives par macération et par décoction ont été utilisées pour obtenir respectivement les extraits organiques et aqueux de l'organe étudié de *G. ternifolia*.

2.2.1.1. Extraits aqueux

Les extraits aqueux ont été préparés en utilisant la méthode employée dans [5]. Une quantité de 10 g de poudre de l'organe est mélangée avec 100 mL d'eau distillée. Après 30 minutes, la décoction a été réalisée à des températures qui fluctuaient progressivement jusqu'à 120°C. Une fois filtré, l'échantillon a été placé dans une étuve à une température de 50°C pendant 4 jours afin d'obtenir l'extrait brut aqueux. L'extrait a été utilisé pour évaluer les propriétés antiradicalaires en tube et par spectrophotomètre.

2.2.1.2. Extraits éthanoliques

D'après la méthode employée dans [5], une quantité de 10 g de poudre de l'organe de *G. ternifolia* a été macérée dans 100 mL d'éthanol pendant une durée de 24 heures. Une fois filtrés, les divers macérés ont été placés à l'étuve à une température de 50°C pendant une période de 4 jours. Ensuite, l'extrait brut éthanolique a été utilisé pour évaluer les propriétés antiradicalaires en tubes et par spectrophotométrie.

2.2.1.3. Extraits hydro-éthanoliques

Pendant 24 heures, Dix gramme (10 g) de poudre d'organe ont été macérés dans 100 mL de mélange éthanol/eau (70mL / 30mL). Une fois filtrés, les macérés ont été placés dans une étuve à 50°C pendant 2 heures afin d'éliminer l'éthanol. L'extrait obtenu est conservé pendant 24 heures au réfrigérateur à une température de 4°C afin de précipiter les composés lipophiles. Après décantation, l'extrait hydro-éthanolique d'une part, a été utilisé pour évaluer le criblage phytochimique en tube et l'activité antioxydante, et d'autre part à préparer les extraits sélectifs [6].

2.2.1.4. Extraits sélectifs

Un volume de 15 mL d'extrait hydro-éthanolique a été épuisé par fractionnements successifs avec (3×10 mL) d'hexane (C_6H_{14}), de dichlorométhane (CH_2Cl_2) et d'acétate éthylique (AcOEt). Les différentes fractions organiques sélectives sont concentrées à l'étuve et ont été utilisées pour le criblage phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante sur plaque CCM [6].

2.2.2. Criblage phytochimique

2.2.2.1. Tests de réactions colorées

La recherche des polyphénols, flavonoïdes, coumarines, saponines, stérols et polyterpènes a été réalisée au moyen de tests colorés dans des tubes à essais suivant les techniques analytiques décrites dans les travaux de [7 ; 8].

2.2.2.2. Criblage phytochimique sur plaque CCM

La recherche des tanins, acides phénoliques et alcaloïdes a été réalisée au moyen de tests sur plaque CCM suivant les méthodes décrites par [7 ; 9 ; 10 ; 11 ; 12].

2.2.2.3. Estimation du pouvoir antioxydant

2.2.2.3.1. Dépistage en tube vis-à-vis du DPPH des extraits éthanoliques

La technique employée pour effectuer ce test est celle suggérée dans [13]. Après avoir ajouté 1,5 mL de DPPH de couleur violette à 0,5 mL de solution d'extrait, une réaction positive se manifeste par apparition d'une coloration jaune dans le milieu après 15 minutes d'incubation.

2.2.2.3.2. Dépistage par CCM vis-à-vis du DPPH des extraits sélectifs

La méthode de dépistage du pouvoir antioxydant par CCM utilisée est celle développée dans [14]. Une quantité de 10 μ L d'extrait végétal est placée sur une plaque de chromatographie, puis placée dans une cuve à chromatographie saturée de solvant de migration. Une fois que les chromatogrammes ont été développés, ils sont séchés puis révélés en utilisant une solution éthanolique de DPPH (0,2 mg/mL). Après une période optimale de 30 minutes, les composants de l'extrait qui pourraient avoir une activité antiradicalaire se manifestent sous la forme de spots jaune-pâle sur un fond violet.

2.2.2.3.3. Évaluation de l'activité antioxydante par spectrophotométrie vis-à-vis du DPPH

Le potentiel anti-oxydant des extraits a été évalué en utilisant la méthode dans [15]. L'EtOH absolu est utilisé pour dissoudre le DPPH afin d'obtenir une solution à une concentration de 0,3 mg/mL. Différentes concentrations de

l'extrait (2 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL et 0,0625 mg/mL) dans de l'EtOH absolu ont été réalisées. 2,5 mL d'extrait végétal et 1 mL de solution éthanolique de DPPH ont été ajoutés dans des tubes secs et stériles. Une fois agités, les tubes sont exposés à la lumière pendant une durée de 30 minutes. L'absorbance du mélange est ensuite mesurée à 517 nm contre un blanc formé de 2,5 mL d'EtOH pur et 1 mL de solution de DPPH. Le témoin positif de référence est l'acide ascorbique (vitamine C). Les taux d'inhibition du DPPH sont déterminés en utilisant la formule suivante:

$$I(\%) = (A_b - A_e) / A_b \times 100$$

I : pourcentage d'inhibition

A_b : absorbance du blanc

A_e : absorbance de l'échantillon

Les graphiques représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits ou de la vitamine C permettent de déterminer les concentrations nécessaires pour piéger 50 % (CI50) du DPPH.

2.3. Analyses statistiques

Le logiciel EXCEL a été utilisé pour analyser les mesures obtenues lors des différentes manipulations. Il a été utilisé pour représenter les divers diagrammes et également pour évaluer le paramètre CI50 de l'extrait.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Rendements

Les deux techniques d'extraction utilisées dans le cadre de cette étude sont la macération et la décoction. On les a employées afin d'extraire de nombreux composés organiques. Il s'agit des méthodes couramment employées par les guérisseurs et les praticiens de la médecine traditionnelle pour extraire des principes actifs végétaux et préparer des recettes médicamenteuses. Le tableau I enregistre les rendements obtenus après les différentes extractions de *G. ternifolia*. Par conséquent, les extraits obtenus par macération et décoction présentent des rendements allant de 12,52±1,97 % à 23,65±2,19 %. Les valeurs des rendements obtenues après les différentes extractions de *G. ternifolia* sont consignées dans le tableau I. Ainsi, les rendements des extraits obtenus par macération et décoction sont compris entre 12,52±1,97 % et 23,65±2,19 %.

Tableau II: Rendements des différents extraits de *G. ternifolia*

		GTT Aq	GTT Et	GTT H-Et
Rendements	r ₁ (%)	17,1548	10,08	23,172
	r ₂ (%)	17,4268	12,0044	20,845
	r ₃ (%)	16,8184	15,484	26,928
	r _{moy} (%)	17,13	12,52	23,65
Ecart types		0,21	1,97	2,19

3.1.2. Criblage phytochimique

3.1.2.1. Criblage phytochimique en tube

3.1.2.1.1. Détection des saponines (Indice de mousse)

Les saponines ont signifié leur présence dans les écorces de tiges de *G. ternifolia* selon [8], à partir du calcul de l'indice de mousse (Im) dont les valeurs sont supérieures à 100 (**Tableau II**).

Tableau II : Détection des saponines (Indice de mousse)

	Hauteur de mousse (cm)										Im
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	
GTT	0,7	2,7	2,9	3,6	4,2	4,8	5,2	5,9	6,2	7,0	500

3.1.2.1.2. Détection des polyphénols, flavonoïdes, coumarines, stérols et polyterpènes

Le résultat du criblage phytochimique des polyphénols, flavonoïdes, coumarines, stérols et polyterpènes dans les extraits hydro-éthanoliques des écorces de tiges de *G. ternifolia* sont mentionnés dans le tableau III. Ils sont interprétés comme suit : (+) présence et (-) absence.

Tableau III : Détection des polyphénols, flavonoïdes, coumarines et stérols-terpènes

Polyphénols	Flavonoïdes	Coumarines	Stérols et polyterpènes

GTT	+	+	+	+

3.1.2.2. Criblage phytochimique par CCM

L'identification des différents métabolites secondaires recherchés s'est faite à partir de solvants de migration ou développant que sont :

- Hexane / acétate d'éthyle (5 : 0,375 ; V/V) pour les extraits hexaniques ;
- Dichlorométhane / acétate d'éthyle /acide acétique (CH₃COOH) (1 :4 :1 ; V/V/V) pour les extraits dichlorométhanes et acétate-éthylques ;

Les résultats des tests de recherche des alcaloïdes (**Tableau V**), des tanins et acides phénoliques (**Tableau IV**) sont mentionnés ci-après. Ainsi les tanins et acides phénoliques sont présents dans les tiges *G. ternifolia*.

Tableau IV : Détection des tanins et acides phénoliques dans le développant CH₂Cl₂/AcOEt/ CH₃COOH (1, 4,1) (V/V/V)

Extraits	R _f (Couleur) : <i>Composé possible</i>
GTT H-Et	0,91 (Gris) : tanin ; 0 ,12 (vert) : acide phénolique ; 0 ,00 (gris) : tanin

Tableau III: Détection des alcaloïdes dans le développant CH₂Cl₂/AcOEt/C₆H₁₄/CH₃COOH (1,2, 1, 0,1) (V/V/V/V)

Extraits	R _f (Couleur) : <i>Composé possible</i>
GTT H-Et	Aucun alcaloïde identifié

II.1.2.3. Résumé du criblage phytochimique

L'ensemble des résultats obtenus au terme des tests de détection qualitative en tube et sur plaque CCM des métabolites secondaires est récapitulé dans le tableau VI.

Tableau VI : Tableau récapitulatif du criblage phytochimique des métabolites secondaires

	Polyph.	Flav.	Coum.	Sté.	Terp.	Sap.	Alca.	Tan.	A. phé.	(+)
GTT	+	+	+	+	+	+	-	+	+	

présence ; (-) : absence ; Polyph : Polyphénols ; Flav. : Flavonoïdes ; sté. : Stérols ; Terp. : Terpenes ; Coum. : Coumarines ; Sap : Saponines ; Alca. : Alcaloïdes.

3.1.3. Activités antioxydantes

3.1.3.1. Activité antioxydante en tube

Après l'ajout de la solution de DPPH dans les extraits aqueux, éthanoliques et hydro-éthanoliques des tiges *G. ternifolia*, une coloration jaune a été observé indiquant ainsi la présence d'une activité antioxydante.

3.1.3.2. Activité antioxydante par CCM

Les mêmes solvants de migration qui ont servi à détecter les métabolites secondaires par CCM ont été utilisés pour évaluer le potentiel antioxydant par CCM. Les résultats de l'activité antioxydante des extraits vis-à-vis du radical DPPH sont mentionnés dans les tableaux VII et VIII. Ainsi les composés ayant manifestés une activité antioxydante en apparaissant en jaune sur fond violet seraient entre autres les tanins et acides phénoliques décelés lors du criblage phytochimique par CCM.

Tableau IV : Phytocomposés piègeurs du DPPH dans le développant CH₂Cl₂/AcOEt/CH₃COOH (1 ,4, 1) (V/V/V)
NI : composé non identifié.

Extraits	R _f (Couleur) : <i>Composé possible</i>	R _f (Couleur) : <i>Composés possibles</i>
GTT H-Et	0,94 (jaune) : NI ; 0,81 (jaune) : NI ; 0,69 (jaune) : NI ; 0,04 (jaune) : NI 0,00 (jaune) : NI ; 0,00 (jaune) : NI	,1, 0,1) NI :

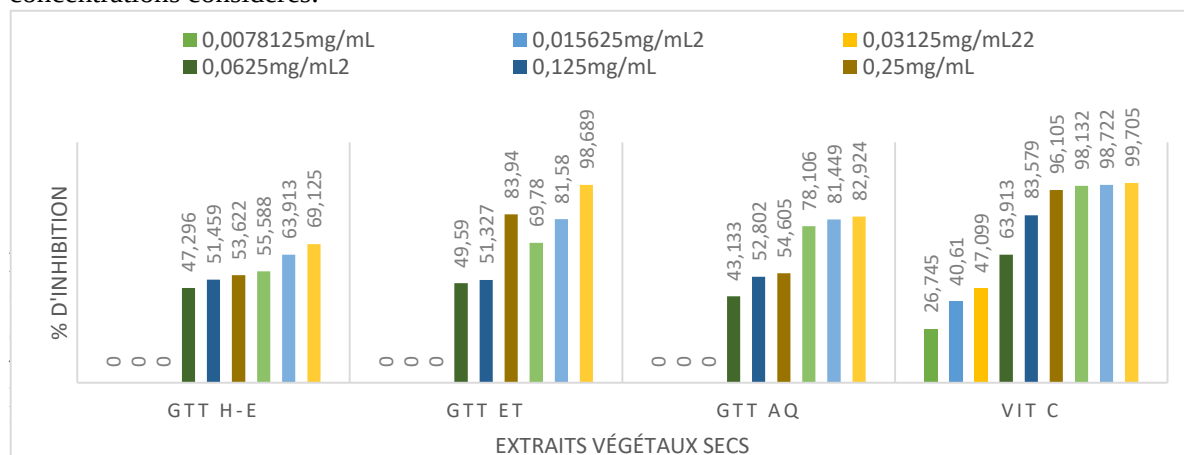
composé non identifié.

3.1.3.3. Activité antioxydante par spectrophotométrie des extraits bruts aqueux, éthanoliques et hydro-éthanoliques

Cette méthode est scientifiquement plus précise que les méthodes qualitatives réalisées en tube et par CCM.

3.1.3.3.1. Pourcentages d'inhibition des extraits bruts aqueux, éthanoliques et hydro-éthanoliques et de la vitamine C

Les différents pourcentages d'inhibition du DPPH par les extraits aqueux, éthanoliques et hydro-éthanoliques et la vitamine C prise comme molécule de référence sont représentés par les figures 1 et 2. Les différents extraits montrent un potentiel antiradicalaire quelle que soit la concentration de l'extrait. Les pourcentages d'inhibition des écorces de tiges varient de $43,133 \pm 1,027\%$ pour l'extrait aqueux à $98,689 \pm 0,109\%$ pour l'extrait éthanolique. Ceux de la vitamine C varient entre $63,913 \pm 0,131\%$ et $99,705 \pm 0,000\%$ aux mêmes intervalles de concentrations considérés.



entre 0,07833 mg/mL et 0,45013 mg/mL tandis que celle de la vitamine C est de 0,03664 mg/mL.

Tableau IX : Tableau récapitulatif des valeurs de CI_{50} (mg/mL) des différents extraits

Extraits	GTT H-Et	GTT Et	GTT Aq	Vit C
CI_{50} (mg/mL)	0,10310	0,07833	0,10689	0,03664

3.2. Discussion

Le travail scientifique réalisé intervient dans le cadre de la valorisation des espèces végétales de la flore ivoirienne. Cette étude a consisté à effectuer le criblage phytochimique et à évaluer les activités antiradicalaires des écorces de tiges en vue de confirmer ou infirmer leurs utilisations traditionnelles comme des antioxydants et antibiotiques capables de prévenir et/ou traiter diverses pathologies. Les extractions par macération et décoction ont été réalisées avec l'eau distillée, l'éthanol et le mélange eau distillée/éthanol selon la méthode choisie. Les composés organiques sont plus extractibles avec le mélange de solvants eau/éthanol chez les écorces de tiges ($23,65 \pm 2,19\%$). On note dans l'ensemble que les différents rendements sont relativement élevés, justifiant ainsi l'utilisation courante de ces différentes techniques d'extraction. Le criblage phytochimique réalisé qualitativement en tube et par CCM avec les extraits des écorces de tiges a révélé la présence de polyphénols, flavonoïdes, coumarines, tanins saponines, stérols et terpènes. Les acides phénoliques ont été révélés dans les tiges tandis que les alcaloïdes sont absents. Ces résultats sont en accord avec ceux des travaux réalisés sur la même espèce mais récoltée dans d'autres pays. [16 ; 17 ; 18]. L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée en tube et par CCM observée chez les extraits des écorces de tiges de *G. ternifolia* pourrait s'expliquer en partie par la présence de ces métabolites secondaires détectés en leur sein. En effet, de nombreuses études ont déjà montré les propriétés antioxydantes de ces composés [19]. En ce qui concerne l'activité antioxydante par spectrophotométrie, **la vitamine C signe la meilleure activité antioxydante avec une CI_{50} de 0,03664 mg/mL**. Cependant, l'activité antioxydante des extraits des tiges de *G. ternifolia* n'est pas négligeable vis-à-vis de celle de la vitamine C. Par comparaison des CI_{50} , on note que CI_{50} (GTT Et) < CI_{50} (GTT H-Et) < CI_{50} (GTT Aq). **Ainsi, l'extrait éthanolique présente une meilleure activité antioxydante que l'extrait hydro-éthanolique et encore mieux que l'extraits aqueux.**

4. Conclusion

L'objectif de ce travail était de confirmer ou infirmer l'usage des tiges *G. ternifolia* comme un bon antioxydant et/ou antibiotique qui serait capable de traiter traditionnellement diverses pathologies. Ainsi, les résultats du criblage phytochimique des différents extraits réalisés par des réactions colorées en tube et au moyen de la CCM ont pu mettre en exergue la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des coumarines, des tanins, des saponines, des stérols, les acides phénoliques et terpènes dans les tiges de *G. ternifolia*. L'activité antioxydante vis-à-vis du DPPH par des méthodes qualitatives (tube et CCM) et par une méthode quantitative (spectrophotométrie) de l'organe a été évaluée. Il en ressort que cet organe renferme un bon profil antioxydant. Aussi, les tests quantitatifs par spectrophotométrie de la capacité antioxydante ont démontré que la vitamine C possède un meilleur pouvoir antioxydant ($CI_{50} = 0,03664 \text{ mg/mL}$) que celui des tiges de la plante. Cependant, cette activité antioxydante des écorces de tiges n'est pas négligeable. Ces propriétés antioxydantes observées seraient dues à l'action synergique, des métabolites secondaires présents dans l'organe. Ainsi les tiges pourraient être utilisées comme antioxydant. Cependant, il est impératif de prouver l'innocuité de cet organe en vue de songer à produire un phytomédicament pour toutes les classes sociales.

Référence

- [1] Fellah S., Romdhane M., Abderraba M. (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J. Soc. Alger. Chim*, 16(2), 193-202.
- [2] Boua Boua Benson, Bekro Yves-Alain, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna, Kohué N'gaman Christelle, Dogbo Dénézon Odette, Éhilé Ehouan Etienne. (2008). Screening phytochimique et potentiel pharmacologique des feuilles de *Palisota hirsuta* (thunb.) k. schum. (commelinaceae) utilisées en Côte d'Ivoire dans le traitement traditionnel de la dysfonction érectile. *Rev. Ivoir. Sci. Technol*, 11 : 231 – 246.
- [3] N'Guessan Alain Hugues Olivier, Dago Déluko Camille Evelyne, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna, Békro Yves-Alain. (2011). Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire.
- [4] Magassouba F.B., Diallo A., Kouyaté M., Mara F., Mara O, Bangoura O., Camara A, Traoré S, Diallo AK, Zaoro M, et al. (2007). Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacol*, 114: 44 -53. DOI:10.1016/j.jep.2007.07.009.
- [5] Zirih G., Kra A.K.M., Guédé-Guina F., (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck O. Kuntze Asteraceae) « PYMI » sur la croissance *in-vitro* de *Candida albicans*. *Medecin & Pharmacology African* ; 17. 9/88 : 11-18.
- [6] Ouattara L.H., Kabran M.G.R., Kadja A.B., Tano B.M., Mamyrbekova-Bekro J.A., Bekro Y.A. (2016). Etude phytochimique et activite anti-oxydante d'extraits de plantes de Côte d'Ivoire utilisées dans le traitement traditionnel des hémorroïdes. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 15(4): 881-893.
- [7] Ladyguina E., Safronitch L., Otriachenkova V., Bolandina I., Grinkevitch N., Sorokina A., Glizin V.I., Molodojnikova L.M., Mitin Y.S., Samilina I.A. & Ermakova V.A. (1983). Analyse chimique des plantes médicinales. Edition *Moska* ; *Vischaya Chkola* (traduit du russe) : 46-347.
- [8] Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi H.L.M., Badoc A., Gmira N. (2003). Screening Phytochimique d'une endémie ibéro-marocaine *Thymelaea lithroides*. *Bulletin de la Societé de Pharmacie de Bordeaux*, 142 : 61-78.
- [9] Georgievskii B.P., Komissarenko N.F., Dmitrou C.E. (1990). Les composés bioactifs des plantes médicinales. Editions Naouka : 336 p.
- [10] Dawson R., Elliott D., Elliott W., Jones K. (1991). Dictionnaire du biochimiste. Edition Mir, Moscou
- [11] Mamyrbékova-Békro J.A., Konan M.K., Békro Y.A., Djié Bi M.G., Zomi Bi T.J., Mambo V., Boua B.B. (2008). Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *European Journal of Scientific Research*, 24 (2): 219-228.
- [12] Kabran Guy Roger Mida., Ambeu N'Ta Christelle., Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna., Békro Yves-Alain. (2011). CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire ; *European Journal of Scientific research*, 63 (4) : 592-603.
- [13] Popovici C., Saykova I. and Tytkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4: 25-39.
- [14] Takao T., Kitatami F., Watanabe N., Yagi A. et Sakata K. (1994). A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58(10), 1780-1783.
- [15] Blois M. (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- [16] Diouf A. (2005). Contribution à l'étude chimique d'une plante Utilisée Au Sénégal contre le paludisme *Gardenia ternifolia*. Thèse, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal.
- [17] Ochieng CO, Midiwo OJ, Owuor OP. (2010). Anti-Plasmodial and larvicidal effects of surface exudates of *Gardenia ternifolia* aerial parts. *Research Journal of Pharmacology*, 7(1) : 53-58.
- [18] Awas E, Omosa LK, Midiwo JO, Ndakala A, Mwanik J. (2016). Antioxidant activities of flavonoid aglycones from Kenyan *Gardenia ternifolia* Schum and Thonn. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 11(3): 136-141. DOI: 10.9790/3008-110304136141
- [19] Kolak U., Hacıbekiroğlu F. T., Ulubelen A. (2009). *Antioxidant and anticholinesterase constituents of salvia pocalata*. *Turkish journal of chemistry*. 33 :813- 823.

Screening phytochimique et évaluation des Activités antioxydante et antiplasmodiale de « Ahoutou », une recette utilisée dans le traitement du paludisme en Côte d'Ivoire

Serge-Pacôme Gouegoui BOHUI^{1*}, Sylvain Béourou², Djibiliour SANOGO¹, Jean David N'GUESSAN³, Attioua Barthélémy¹, Augustin Amissa ADIMA⁴

¹ Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, 22BP 582 Abidjan22, Côte d'Ivoire

² Laboratoire de Paludologie, Département de Parasitologie et de mycologie, Institut Pasteur de Cote d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

³ Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, UFR Biosciences-Université Félix Houphouët-Boigny 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³ Laboratoire des Procédés Industriels, de synthèse de l'Environnement et des Energies Nouvelles, (LAPISEN), Groupe de recherche

Résumé :

Le recours aux recettes à base des plantes médicinales dans le traitement du paludisme est assez fréquent en Côte d'Ivoire. Parmi ces recettes figure Ahoutou, décocté d'un mélange de feuilles de trois plantes est l'une des plus utilisées du village de Djakro. Cependant, l'utilisation des recettes à base de plantes médicinales dans la lutte contre le paludisme doit s'appuyer sur des résultats scientifiques de sécurité, d'efficacité et de qualité. L'objectif de cette étude est d'apporter des bases scientifiques, phytochimiques et pharmacologiques à l'utilisation thérapeutique traditionnelle de Ahoutou. Pour ce faire, une étude phytochimique de l'extrait Ahoutou a été effectuée, l'activité antioxydante a été évaluée en utilisant le test de DPPH³ puis l'activité antiplasmodiale *in vitro* a été réalisée sur des isolats cliniques et sur la souche de référence Dd2. L'étude phytochimique a révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes et d'alkaloïdes. Le test de l'activité antioxydante a montré que Ahoutou était capable de réduire le radical libre DPPH. Ahoutou a présenté une activité antiplasmodiale prometteuse (CI₅₀=12,86µg/mL) sur la souche clinique et une activité modérée (CI₅₀=23,40µg/mL) sur la souche de référence. Nos résultats justifieraient l'utilisation de cette recette dans le traitement du paludisme. Nous envisageons faire une étude de la toxicité de Ahoutou.

Mots clés : Ahoutou, Antioxydant, Activité antiplasmodiale

Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antiplasmodial activities of " Ahoutou ", a recipe used in the treatment of malaria in Côte d'Ivoire

Abstract :

Recipes based on medicinal plants are frequently used to treat malaria in Côte d'Ivoire¹. Among these recipes is Ahoutou, made from a mixture of the leaves of three plants, one of the most widely used in Djakro. However, the use of medicinal plant-based recipes in the fight against malaria must be based on scientific evidence of safety, efficacy and quality². The aim of this study is to provide a scientific, phytochemical and pharmacological basis for the traditional therapeutic use of Ahoutou. To this end, a phytochemical study of the Ahoutou extract was carried out, the antioxidant activity was assessed using the DPPH³ test and then the *in vitro* anti-plasmodial activity was carried out on clinical isolates and on the reference strain Dd2. The phytochemical study revealed the presence of polyphenols, flavonoids and alkaloids. The antioxidant activity test showed that Ahoutou was capable of reducing the DPPH free radical. Ahoutou showed promising anti-plasmodial activity (IC₅₀=12.86µg/mL) in the clinical strain and moderate activity (IC₅₀=23.40µg/mL) in the reference strain. Our results would justify the use of this recipe in the treatment of malaria. We plan to study the toxicity of Ahoutou.

Key words: Ahoutou, Antioxidant, Antiplasmodial activity

Introduction

Le paludisme est une maladie parasitaire potentiellement mortelle transmise à l'homme par les moustiques femelles du genre *Anopheles* et qui s'accompagne de divers symptômes, principalement la fièvre. Cette maladie constitue aujourd'hui un problème de santé publique dans les régions tropicales et subtropicales de la planète [1]. Selon le dernier rapport de l'OMS, le nombre de cas de paludisme dans le monde est estimé à 228 millions avec 405000 décès en 2018 [2]. La plupart des cas (213 millions ou 93 %) et des décès (94 %) ont été enregistrés en 2018 en Afrique. L'Afrique subsaharienne reste toujours la région la plus touchée par cette maladie au niveau mondial. En effet, dix-neuf pays d'Afrique subsaharienne et l'Inde ont concentré quasiment 85 % du nombre total de cas de paludisme dans le monde [2]. La Côte d'Ivoire n'est pas épargnée par cette situation. En effet, le paludisme demeure un problème majeur de santé publique, par sa fréquence élevée, sa gravité et ses conséquences socio-économiques importantes. Le paludisme constitue à lui seul, 33 % des motifs de consultation et la première cause d'hospitalisation dans les centres de santé. Les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans sont les plus atteints. Le nombre de cas liés au paludisme a été de 3 557 891 en 2017 avec un nombre de décès de 3 222

[3]. Il est donc nécessaire de disposer de médicaments efficaces pour lutter contre ce fléau. Face à un tel problème de santé publique, des stratégies de lutte ont été développées. L'emploi de la chloroquine et des monothérapies ont alors été abandonnée au profit des combinaisons thérapeutiques à base de l'artémisinine ou de ses dérivés (CTA). Aujourd'hui, la thérapie de combinaison à base d'artémisinine (CTA) est utilisée comme traitement de première ligne pour le paludisme non compliqué à *Plasmodium falciparum* dans plus de 100 pays [4]. Malheureusement, ces dernières années, la résistance du parasite à l'artémisinine a été détectée dans quatre pays notamment, le Cambodge, le Myanmar, la Thaïlande et le Vietnam [5]. L'OMS estime que si la résistance à l'artémisinine se propageait à une grande échelle, les conséquences pour la santé des populations seraient désastreuses. C'est ainsi que dans l'espoir d'apporter une réponse adaptée à ces résistances observées chez *Plasmodium falciparum*, le développement de la recherche sur les plantes médicinales, réservoir de nouveaux principes actifs a été suscité [6]. Plusieurs travaux de recherches ont déjà été menés en Afrique en générale et particulièrement en Côte d'Ivoire dans cette perspective de valorisation des plantes médicinales. Toutefois la prise en charge des malades devient de plus en plus coûteuse à cause de la recrudescence du paludisme et du traitement qui n'est pas toujours à la portée des populations des pays en développement. Ces populations ont donc recours aux combinaisons à base de plantes médicinales de tradipraticiens de santé. Dans la médecine traditionnelle ivoirienne, les tradipraticiens de santé proposent différentes plantes et également diverses recettes à base de combinaisons de plantes pour soigner les maladies comme l'hypertension artérielle et le paludisme [7]. Parmi ces recettes utilisées on trouve « Ahoutou », une recette locale du village de « Djahakro » situé dans la commune de Yamoussoukro (région du Bélier). Cette recette est beaucoup utilisée dans la prise en charge du paludisme dans cette localité et semble avoir une bonne presse auprès de la population villageoise. Selon le tradipraticien qui a élaboré le « Ahoutou », cette recette est constituée de feuilles de trois (3) plantes que sont *Azadirachta indica*, *Cymbopogon citratus* et *Psidium guajava*. A ce jour, aucune donnée scientifique n'existe sur les propriétés antiparasitaires de Ahoutou. L'objectif général de cette étude est d'apporter des bases scientifiques, phytochimiques et pharmacologiques à l'utilisation thérapeutique traditionnelle de Ahoutou.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Produit expérimental

Le produit expérimental étudié, est une recette locale de « Djahakro », un village de la commune de Yamoussoukro, élaborée par un tradithérapeute appelé Monsieur Ahoutou. La recette est un décocté à base de feuilles de *Azadirachta indica*, *Cymbopogon citratus* et *Psidium guajava*. C'est une solution fluide de couleur brune et de goût amer.

2.1.2. Matériel Biologique

Le matériel biologique était également composé de la souche de référence de *Plasmodium falciparum* Dd2 résistante à la chloroquine, de quatre isolats cliniques de *Plasmodium falciparum* provenant de patients atteints de paludisme simple ont été obtenus à la formation sanitaire d'Anonkoua-Kouté situés dans la commune d'Abobo (Abidjan, Côte d'Ivoire). Ce sont notamment, ANK137, ANK138, ANK139 et ANK140). Aussi, du sang du groupe Rhésus O positif provenant d'individus sains a été utilisé.

2.2. Méthodes

2.2.1. Obtention de l'extrait sec de Ahoutou

Le « Ahoutou » a été fourni sous forme de décocté par un tradithérapeute qui le produit et le commercialise de façon artisanale. Le décocté se présente sous forme d'un liquide de couleur brune. Après filtration, le décocté a été concentré au rotavapor sous vide à 46°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé pour les différents tests.

2.2.2. Screening phytochimique

Les analyses phytochimiques ont été réalisées selon les méthodes décrites par Dohou et al. [8]. Les alcaloïdes ont été identifiés par la réaction de Dragendorff ; les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction de Wilstater; les tanins par la réaction au chlorure ferrique; les stéroïdes et les triterpènes par la réaction de Liebermann-Burchard, et les saponines par l'indice de mousse

2.2.3. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux

La méthode de Wood et al. [9] a été utilisée pour le dosage des polyphénols totaux. Un volume de 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10) a été ajouté à 30 µL d'extrait. Le mélange a été maintenu pendant 2 minutes dans l'obscurité à température ambiante, puis 2 mL de solution de carbonate de calcium (75 g.L⁻¹) ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été placé pendant 15 minutes au bain-marie à 50°C, puis refroidi rapidement. L'absorbance a été mesurée à 760 nm, avec de l'eau distillée comme blanc. Une droite d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations (Annexe 1). Les analyses ont été réalisées en triple et la concentration en polyphénols a été exprimée en gramme par litre d'extrait équivalent acide gallique (mg. Eq AG/mL).

2.2.4. Dosage spectrophotométrie des flavonoïdes totaux

La méthode de Marinova et al. [10] a été utilisée pour le dosage des flavonoïdes totaux. Dans une fiole de 25 mL, 0,75 mL de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5% (m/v) a été ajouté à 2,5 mL d'extrait. Le mélange a été additionné de 0,75 mL de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% (m/v), puis incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Après l'incubation, 5 mL de soude (NaOH, 1N) ont été ajoutés puis le volume a été complété à 25 mL. Le mélange a été agité vigoureusement avant d'être dosé au spectrophotomètre Jasco V-530 (JASCO, Japon). La lecture a été faite à 510 nm. Les essais ont été réalisés en triple. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme par litre d'extrait équivalent quercétine (mg EQ /mL).

2.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH

La mesure de l'activité anti-radicalaire de l'extrait de « Ahoutou » a été réalisée par le test d'inhibition du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) selon la méthode de Parejo et al. [11]. Cette méthode évalue la capacité de l'extrait à fixer les radicaux libres en mesurant la diminution de la coloration violette due à la réduction des radicaux DPPH. L'extrait aqueux sec de « Ahoutou » et l'acide ascorbique (antioxydant de référence) dissous dans le méthanol à une concentration de 1 mg/mL ont été dilués à différentes concentrations croissantes (0,025-0,05-0,1-0,2-0,3 mg/mL). Quant au DPPH, il a été solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution d'une concentration de 6,34.10⁻⁵ M (0,0025 g DPPH dans 100 mL méthanol). La solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été lue dans un spectrophotomètre à 517 nm par rapport à l'échantillon vierge. L'activité antiradicalaire des extraits testés correspondant au pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$PI (\%) = (A_0(\text{Absorbance du blanc}) - A(\text{Absorbance de l'extrait}) * 100) / (A_0(\text{Absorbance du blanc}))$$

Où A₀ est l'absorbance du témoin négatif ; ce dernier contient du DPPH et du méthanol sans extrait. La concentration d'inhibition IC₅₀ (mg/mL) qui correspond à la concentration de l'extrait « Ahoutou » où l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, permet d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait analysé.

2.2.6. Evaluation de l'activité antiplasmodiale *in vitro* des extraits.

2.2.6.1. Collecte des échantillons

Les patients venus en consultation à la Formation Sanitaire Urbaine et Communautaire de Abobo Anonkoua Kouté, après un diagnostic clinique du paludisme simple ont été orientés au laboratoire d'analyse pour le diagnostic biologique par Test de Diagnostic Rapide (TDR). Les patients présentant un TDR positif pour la mono infection à *Plasmodium falciparum* ont reçu toutes les informations relatives au projet de recherche par notre équipe. Après avoir obtenu l'assentiment des patients, leur sang est prélevé par les techniciens du laboratoire. Ces échantillons de sang ont été prélevés au pli du coude, par ponction veineuse, et recueillis dans des tubes contenant de l'EDTA préalablement identifiés. Les échantillons sanguins sont ensuite acheminés au Laboratoire de paludologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

2.2.6.2. Préparation de globules rouges parasités

Les isolats de *Plasmodium falciparum* ont été prélevés dans des conditions stériles dans des tubes contenant de l'EDTA chez des personnes souffrant de paludisme simple puis acheminés au laboratoire. Le sang parasité est lavé trois fois avec du RPMI par centrifugation à 3000 tours par minute pendant 5 minutes pour éliminer le plasma et les globules blancs. Parallèlement, des gouttes épaisses et frottis sanguins ont été réalisés en duplicat afin d'évaluer la parasitémie des échantillons. Les parasitémies supérieures à 0,3 % ont été diluées dans des hématies

saines du groupe O Rhésus positif pour obtenir des parasitémies inférieures à 0,3 %.

2.2.6.3. Préparation des hématies saines

Le sang de groupe O, Rhésus positif, est prélevé chez des personnes non porteuses de *Plasmodium*. Les prélèvements ont été faits de façon stérile sur tube violet contenant un anticoagulant, l'EDTA. Les échantillons de sang ont été lavés trois fois avec du RPMI 1640 après centrifugation à 3000 tours par minute pendant 5 minutes pour éliminer le plasma et les globules blancs. Les globules rouges sains ont été conservés à + 4 °C.

2.2.6.4. Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé à partir du culot globulaire parasité et du milieu complet. Quatre isolats cliniques ANK137, ANK138, ANK139 et ANK140 dont les parasitémies étaient inférieures à 0,3%, neuf plaques de 96 puits ont été utilisées à raison de 3 plaques par isolats cliniques. Pour chaque plaque, un volume d'inoculum de 12 mL a été préparé. Ainsi les volumes des différents constituants de l'inoculum étaient de 11,76 mL du milieu complet et de 240 µL de GRP pour un hémocrite de 2%.

2.2.6.5. Préparation de la gamme de concentration des extraits bruts

La solution mère de l'extrait « Ahoutou » à tester a été préparée à la concentration de 1 mg/mL. Pour ce faire, 10 mg d'extrait de Ahoutou ont été dissout dans 10 mL d'eau distillée. Une agitation au vortex pendant au moins 10 minutes a été effectuée afin de dissoudre complètement l'extrait. La solution obtenue a été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes selon la méthode décrite par Bolou et al. [12]. Dans le premier puits (témoin de croissance parasitaire, donc sans produit), 100 µL de milieu complet + 100 µL de suspension globulaire parasité ont été ajoutés. Dans le second puits (puits test), 100 µL de l'extrait à tester + 100 µL de suspension globulaire parasité ont été mis. Dans les autres puits, 100 µL du milieu complet ont été ajoutés. A partir des puits test contenant les solutions mères de concentration 100 µL/mg de l'extrait ou 800 ng/mL pour la Dihydroartémisinine (DHA), des dilutions successives au demi (1/2) ont été réalisées. Ensuite, après homogénéisation, 100 µL de solution mère (second puits) sont prélevés et ajoutés au puits suivant et ainsi de suite. Après homogénéisation du dernier puits, 100 µL sont prélevés puis jetés. Par la suite, 100 µL de l'inoculum sont ajoutés dans les puits contenant les extraits de plantes. Ce qui a permis d'obtenir la gamme de concentration de 50 µg/mL ; 25 µg/mL ; 12,5 µg/mL ; 6,25 µg/mL ; 3,125 µg/mL ; 1,56 µg/mL ; 0,78 µg/mL pour les extraits bruts. Quant à la molécule de référence notamment la Dihydroartémisinine (DHA), une gamme de concentration de 800 nM ; 400 nM ; 200 nM ; 100 nM ; 50 nM ; 25 nM ; 12,5 nM a été obtenue. Les plaques de culture sont ensuite confinées dans une cloche à bougie et placées dans un incubateur maintenu à 37 °C. Toutes les manipulations ont été effectuées sous hotte à flux laminaire.

2.2.6.6. Tests de chimiosensibilité

Les isolats de *Plasmodium falciparum* ont été donnés in vitro selon la méthode adaptée de Trager et Jensen [12]. Le principe de l'expérience in vitro de *P. falciparum* au stade sanguin repose sur le fait que les parasites sont placés dans une condition expérimentale favorable à la multiplication et dans des conditions aseptiques. Toutes les manipulations ont été effectuées sous une hotte à flux laminaire (SterilGard®) afin d'éviter toute contamination bactérienne. Les tests ont été réalisés dans des microplaques à 96 puits remplies d'un volume fixe de globules rouges parasités (parasitémie < 0,3 % et hémocrite 2%). L'inhibition de la schizogonie érythrocytaire (*Plasmodium falciparum*) a été mesurée par la méthode SYBR Green. Les extraits à tester pour différentes concentrations ont été ajoutés en double dans les puits.

2.2.6.7. Préparation du SYBR Green

Après 72 heures d'incubation, les cultures ont été congelées et décongelées. Tout d'abord, l'hémolyse de la culture a été réalisée avec un tampon de lyse préparé en dissolvant 1,21 g de Tris-HCl dans 350 ml d'eau distillée. Ensuite, un volume de 5 mL d'EDTA (0,5 M), 40 mg de saponine et 400 µL de Triton X-100 ont été ajoutés. Le volume a été ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée. La solution résultante a été filtrée à travers un filtre millipore de 0,22 µm (Stericup Durapore®) et est conservée à température ambiante. Pour deux plaques d'expérience, un mélange composé de 5 µL de SYBR Green I et de 25 mL de tampon de lyse a été préparé. La lyse a été réalisée en transférant 100 µL de la suspension parasitaire sur une plaque vierge. À ces 100 µL de la suspension parasitaire, un volume

de 100 µL de mélange a été ajouté. La plaque a ensuite été incubée pendant une heure à température ambiante, à l'abri de la lumière. La lecture a été faite à l'aide d'un spectrofluorimètre à 535 nm après excitation à 485 nm.

2.2.6.8. Principe de la méthode SYBR Green

Cette méthode basée sur la fluorescence de l'ADN est utile pour le dépistage des médicaments et est intéressante en raison de l'absence d'acides nucléiques dans les globules rouges. Le SYBR Green est largement utilisé dans les études in vitro. C'est un intercalant de l'ADN. Après 72 heures d'incubation des parasites, les globules rouges ont été lysés par congélation et décongélation des cultures. Ensuite, le SYBR Green mélangé à la solution de lyse (appelé le mix) a été ajouté à la culture. Il s'insère entre les bases de l'ADN et émet une fluorescence dont l'intensité est proportionnelle à l'ADN du milieu qui est proportionnel au nombre de parasites. La fluorescence est ensuite évaluée à l'aide d'un spectrofluorimètre (DELL, FLx800, biotek) pour suivre la croissance parasitaire.

2.2.6.9. Lecture et détermination de la concentration inhibitrice 50 (CI₅₀)

Les plaques de culture ont été mises à l'incubateur à 37 °C pendant 72 heures. La parasitémie a ensuite été évaluée par la méthode du SYBR Green. Un mix contenant 0,2 µL de SYBR Green par mL de tampon de lyse a été préparé. La lyse a été effectuée en transférant 100 µL de mix (tampon de lyse + SYBR Green) dans une plaque vierge. A ces 100 µL de mix, 100 µL de la culture parasitaire ont été ajoutés. La plaque a été ensuite incubée pendant une heure à température ambiante, à l'abri de la lumière. Puis la lecture a été faite au spectrofluorimètre (BIOTEK, FLX 800) à 528 nm après une excitation préalable à 485 nm. Les CI₅₀ (concentration d'extrait qui inhibe 50 % de la croissance parasitaire) et les coefficients de corrélation correspondants ont été déterminés graphiquement, en utilisant le logiciel IVART (*In Vitro Analysis and Reporting Tool*) du WWARN selon Le-Nagard et al. [13].

2.2.7. Analyse statistique

La représentation graphique des données a été réalisée grâce au logiciel Graph Pad Prism 5.0 et Microsoft office Excel 2016. La valeur moyenne est accompagnée de l'erreur standard sur la moyenne (Moyenne ± SEM). La différence entre deux valeurs est considérée comme significative lorsque $P < 0,05$. L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant l'analyse des variances (ANOVA). Lorsqu'une différence significative est observée, des tests de comparaison multiple de Tukey et de Dunnett sont effectués.

3. Résultats et Discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique qualitatif réalisé sur Ahoutou a permis d'identifier les grands groupes chimiques qu'elle contient. L'analyse colorimétrique montre que la recette Ahoutou contient des polyphénols, des flavonoïdes, de saponines, des tannins, des alcaloïdes, des stérols et de terpènes.

Tableau 1 : Caractérisation phytochimique de l'extrait « Ahoutou »

Extrait	Composés					
	Polyphénols	Flavonoïdes	Saponines	Tanins	Alcaloïdes	stérols et de terpènes
Ahoutou	+	+	+	+	+	+

(+) : Présence ; (-) : Absence

3.1.2. Teneurs en composés phénoliques

Les composés phénoliques dont la teneur a été évaluée sont les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux. L'analyse quantitative des flavonoïdes totaux de Ahoutou a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'équation $y = 0,2716x + 0,0004$ avec $R^2 = 0,96$ établie avec des concentrations croissantes en quercétine. Ces concentrations sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine par mL d'extrait sec. Quant à l'analyse quantitative des polyphénols totaux, elle a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'équation $y = 1,129x + 0,05437$ avec $R^2 = 0,9935$ établie avec des concentrations croissantes en acide gallique. Les concentrations sont exprimées en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme de l'extrait sec. Les résultats du dosage en flavonoïdes totaux et en polyphénols totaux sont indiqués dans le **tableau 2**.

Les teneurs en flavonoïdes totaux et en polyphénols totaux de la recette « Ahoutou » lorsqu'elle est encore liquide (avant l'étuvage) sont respectivement $0,65 \pm 0,03$ mg. EQ/ mL et $3,2 \pm 0,06$ mg. EAG/ mL. Après concentration au rotavapor, les teneurs en flavonoïdes totaux et en polyphénols totaux de l'extrait sec de Ahoutou, sont de $1,30 \pm 0,10$ mg. EQ/ mL et $7,70 \pm 0,82$ mg. EAG/ mL respectivement. Les résultats montrent également que les teneurs en flavonoïdes et en polyphénols dans l'extrait sec de Ahoutou sont plus élevés.

Tableau 2 : Teneur en flavonoïdes totaux et en polyphénols totaux de Ahoutou

Extrait	Teneur en flavonoïdes (mg.EQ/mL)	Teneur en polyphénols (mg.EAG/mL)
Ahoutou	$0,65 \pm 0,03$	$3,2 \pm 0,06$
	$1,30 \pm 0,10$	$7,70 \pm 0,82$

Les résultats des rendements sont exprimés en moyenne $\pm$ SD, n=3 pour l'extrait

3.1.3. Activité antioxydante : Réduction du DPPH

Le test de l'activité antioxydante a été effectué par la méthode de DPPH. La détermination de la concentration de Ahoutou et de l'acide ascorbique nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres de DPPH (CI_{50}) à partir des courbes a permis d'obtenir les valeurs de $1,46 \pm 0,03$ mg/mL pour l'extrait de « Ahoutou » et de 0,25 mg/mL pour l'acide ascorbique (tableau 3).

Tableau 3 : Capacité antioxydante de Ahoutou selon les tests au DPPH

Composés	% Inhibition CI_{50} (mg/mL)
Ahoutou	$1,46 \pm 0,03$
Vitamine C	$0,25 \pm 0,00$

2-1-5- Activités antiplasmodiales

L'activité antiplasmodiale de L'extrait « Ahoutou » a été exprimée en concentration inhibitrice 50 % (CI_{50}). Ahoutou a été testé sur 4 isolats cliniques et sur la souche de référence Dd2 de *Plasmodium falciparum*. Les résultats sont consignés dans le tableau 4. L'analyse du tableau, montre que Ahoutou a présenté une activité antiplasmodiale significative sur l'isolat cliniques ANK137 avec une CI_{50} de $12,86 \mu\text{g/mL}$ et une activité antiplasmodiale modérée sur les isolats cliniques ANK138, ANK139 et ANK140 avec respectivement des CI_{50} de $23,55 \mu\text{g/mL}$, $22,72 \mu\text{g/mL}$ et de $18,92 \mu\text{g/mL}$. Testée sur la souche de référence de *Plasmodium falciparum* Dd2, Ahoutou a montré une activité antiplasmodiale modérée ($15 < CI_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$).

Tableau 4 : Activité antiplasmodiale de Ahoutou sur les isolats cliniques et la souche de référence

Extraits	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)				
	Isolats cliniques				Souche de référence
	ANK137	ANK138	ANK139	ANK140	Dd2
Ahoutou	12,86	23,55	22,72	18,92	23,42
DHA (nM)	0,59	0,22	0,66	5,59	2,31

3.2. Discussion

Il ressort des résultats obtenus du criblage phytochimique que l'extrait de cette recette contient des flavonoïdes, des polyphénols, des tanins, des saponines, des stérols et terpènes

Les screening phytochimiques effectués par Abalaka et al.[14] sur *Azadirachta indica* ont révélés la présence des flavonoïdes (quercétine), des saponines, des polyphénols, des tanins et des triterpènes. Il a été mis en évidence la présence des alcaloïdes, des glycosides, les hydrates de carbones, de saponines à l'état de traces, puis des terpènes, des tanins, des flavonoïdes et composés phénoliques dans *Cymbopogon citratus* [15], puis dans *Psidium guajava*, Biswas et al. [16] ont montré que l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* pouvait contenir des phénols, des tanins, des saponines, des terpenoïdes, des flavonoïdes et des glycosides. La présence des différents groupes chimiques dans la recette Ahoutou explique donc l'utilisation de ces plantes dans l'élaboration de Ahoutou. Par ailleurs, les résultats semblent indiquer une faible présence des phénols et flavonoïdes totaux dans la recette Ahoutou. Il ressort des résultats obtenus des quantifications des flavonoïdes totaux, des polyphénols totaux que la recette Ahoutou est moins riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux comme le présageait le screening phytochimique. La plupart des molécules antioxydantes sont des composés phénoliques [17]. Du fait de l'implication de différents facteurs tels que les propriétés physico-chimiques des molécules, il est recommandé d'utiliser différents tests pour confirmer une activité antioxydante [18]. Notre choix s'est donc porté sur

l'utilisation du test de DPPH. L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* a montré que la recette Ahoutou était capable de réduire les radicaux libres de DPPH. Ce pouvoir réducteur et antiradicalaire repose sur la teneur en composés phénoliques de la recette Ahoutou. En effet, les polyphénols sont des composés possédant un pouvoir antioxydant dû à leurs propriétés redox [19]. Ces propriétés permettent de neutraliser les radicaux libres par don d'électrons ou de protons [20], de bloquer la chaîne de réaction des radicaux libres par transfert d'atomes d'hydrogènes [21]. Cette activité antioxydante des polyphénols est souvent exploitée dans le but de prévenir et traiter les maladies liées au stress "oxydant". Selon Han et al. [22], les composés phénoliques possèdent des propriétés veinotoniques et vasculoprotectrices qui pourraient être bénéfiques dans la prévention des atteintes vasculaires susceptibles de survenir chez le malade hypertendu. L'activité antiplasmodiale de Ahoutou et la molécule de référence actuelle dans le traitement du paludisme à savoir la Dihydroartémisinine (DHA) a été évaluée *in vitro* sur des isolats cliniques et sur la souche de référence Dd2 de *Plasmodium falciparum* résistante à la chloroquine en utilisant le test de SYBR green I basé sur la fluorescence. Cette méthode représente une approche bon marché et relativement simple d'un point de vue technique [23]. Le choix porté sur des isolats cliniques, est motivé par le souci de travailler sur les souches présentes dans la population cible. Mais aussi du fait que la détermination de l'activité antipaludique sur des souches de référence de *Plasmodium falciparum* pose aussi le problème de la validité des tests *in vitro*. En effet, ces différentes souches utilisées sont adaptées à la culture en laboratoire et pourraient ne plus correspondre à la réalité du terrain. C'est pourquoi il est apparu intéressant d'évaluer l'activité des extraits en général et en particulier Ahoutou et de la molécule de référence sur des isolats de patients impaludés. Nos résultats ont montré que Ahoutou possède une activité sur les souches chloroquinorésistantes selon l'échelle de classification des substances naturelles établies par Beourou et al. [24]. Car selon ces auteurs, un extrait de plante est dit à effet promoteur si la CI_{50} est comprise entre 5µg/mL et 15µg/mL ($5 < CI_{50} < 15$ µg/mL) et à effet modéré si sa CI_{50} est comprise 15µg/mL et 50µg/mL ($15 < CI_{50} < 50$ µg/mL). Ainsi la recette Ahoutou a manifesté un effet promoteur sur un isolat (12,86µg/mL) et un effet modéré sur trois isolats cliniques (23,55 µg/mL, 22,72 µg/mL et de 18,92 µg/mL) puis sur la souche de référence Dd2 (23,42 µg/mL). Aussi, le screening phytochimique de Ahoutou a montré la présence non négligeable des polyphénols, de flavonoïdes et des traces en alcaloïdes. En effet, la présence cumulative des composés tels que les polyphénols et les alcaloïdes dans la recette Ahoutou (mélange des trois plantes) pourrait avoir un effet synergique sur le *Plasmodium falciparum* [26]

4. Conclusion

Dans cette partie du travail, l'objectif était d'apporter des preuves scientifiques de l'activité thérapeutique d'une préparation à base de plantes utilisées dans le cadre du traitement du paludisme. Cette préparation appelée « Ahoutou » par son concepteur est utilisée chez l'homme mais n'ayant pas au préalable fait l'objet d'études précliniques sur des patients atteints du paludisme pour évaluer ses propriétés thérapeutiques. Il ressort de cette étude que Ahoutou contient des métabolites secondaires notamment les composés phénoliques selon l'analyse qualitative. Ahoutou possède en outre une activité antiradicalaire et antioxydante non négligeable par la présence de ces composés. Aussi possède également une activité antiplasmodiale à effet modéré sur *Plasmodium falciparum*.

Toutefois, cette activité pourrait être améliorée par les outils modernes ou techniques (procédés) d'extraction pour le rendre plus efficace contre le paludisme.

5. Références Bibliographiques

- [1]. Rocha-Silva, F. L., Silva, A. C. P. D., Pohlit M.A., Quignard, J. L. E., Viera, R. P. P., Tadei, P. W., Chaves, M. C. F., Samonek, F. J., Lima, J. A. C., Costa, F. R. M., Alecrim, C. G. M. & Neto, A. F. V. (2011). In vivo and in vitro antimalarial activity of 4 nerolidylcatechol. *Phytotherapy research* 25, 1181-1188.
- [2]. WHO (2019). World malaria report 2019. *World Health Organization*, P.xxii.
- [3]. Anonymel (2018). Lutte contre le paludisme en Côte d'Ivoire : les décès passe de 4431 en 2016 à 3222 en 2017. *Communiqué du 12/04/2018, consulté le 25/06/2019*.
- [4]. Chenq, Q., Kyle, D. E. & Gatton, L. L. (2012). Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*. A process linked to dormancy. *International Journal for Parasitology Drugs and Drug Resistance* 2, 249-255.
- [5]. Cui, L., Mharakurwa, S., Ndiaye, D., Rathod, P. K. & Rosenthal, P. J. (2015). Antimalarial drug resistance literature review and activities and finding of the ICEMR network. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 93, 57-68.
- [6]. Nondo, R. S., P. Erasto P., Moshi, M. J., Zacharia, A., Masimba, P. J. & Kidukuli, A. W. (2017). In vivo antimalarial activity of extracts of Tanzanian medicinal plants used for the treatment of malaria. *Journal of Advanced Pharmacology and Technology Research* 7, 59-63.

- [7] Adjanhoun, E. J., Adjakidje, V. & Ahyi, M. (1989). Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en république populaire du Bénin. *Édrapport-ACCT Paris*, 427p.
- [8]. Dohou N, Yamni K, Gmira N, Idrissi Hassani LM. Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymela ealychroides*. *Acta Bot Malacit.* 2003;29:233-239
- [9]. Wood, J. E., Senthilmohan, S. T. & Peskin, A. V. (2002). Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry* 77, 155-161.
- [10]. Marinova, D., Ribarova, F. & Atanassova, M. (2005). Total phenolics in bulgarian Fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40, 255-260.
- [11]. Parejo I, Codina C, Petraski C, Kefalas P. Evaluation of scavenging activity assessed by co (11)/EDTA-induced luminal chemiluminescence and DDPH (2,2-diphenyl-1 -pycridylhydrazyl) free radical assay. *J.Pharmacol. Toxicol. Method.* 2000; 44: 507-512.
- [12]. Trager, W. & Jensen, J. B. (1976). Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 190, 673-675.
- [13]. Le-Nagard, H., Vincent, C., Mentre, F. & Bras, J. L. (2011). Online analysis of in vitro resistance to antimalarial drugs through nonlinear regression. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 104, 10-18.
- [14] Abalaka, M., Oyewole, O. A. & Kolawole, A. R. (2012). Antibacterial Activities of Azadirachta Indica against Some Bacterial Pathogens. *Advances in Life Sciences* 2, 5-8
- [15]. Figueirinha, A., Paranhos, A., Pérez-Alonso, J. J., Santos-Buelga, C., Batista, M. T. & Kolawole, A. R. (2008). Cymbopogon citratus leaves : characterisation of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chemistry* 110, 718-728.
- [16]. Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D. & Yadav, A. (2013a). Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (Psidium guajava L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology* 2013, 7
- [17]. Hsu, C. Y., Chan, Y. P. & Chang, J. (2007). Antioxidant activity of extract from Polygomum cuspidatum. *Biol Res* 40, 13-21.
- [18.] Miguel, M. G., Cruz, C., Faleiro, L., Simoes, M. F. F., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G. & Pedro, L. G. (2010). Foeniculum vulgare: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Natural Product Communications* 5, 319-328.
- [19] Zeng, W. & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49, 5165-5170.
- [20]. Chen, I., Clarke, S. E., Gosling, R., Hamainza, B., Killeen, G., Magill, A., O'Meara, W., Price, R. N. P. & Riley, E. M. (2016). Asymptomatic malaria: a chronic and debilitating infection that should be treated. *PLoS Medicine* 13, 100-1942.
- [21] Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. & Hadar, S. P. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative systems of various senescing leaves. *Journal of Agriculture and food chemistry* 43, 1813-1817.
- [22]. Han, X., hen, T. & Lou, H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences* 8, 950-988.
- [23]. Bacon, D. J., Latour, C., Lucas, C., Colina, O., Ringwald, P. & Picot, S. (2009). Comparison of a SYBR green I-based assay with a histidine-rich protein II enzyme-linked immunosorbent assay for in vitro antimalarial drug efficacy testing and application to clinical isolates. *The Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, 1172-1178
- [24]. Beourou, S., Okou, O. C., Tuo, K., Kamenan, K. C. D., Gnondjui, A. A., Kouakou, L., Atteméné, D. S. D., Penali, L., Jambou, R. & Djaman, A. J. (2017). Propagation in culture of Plasmodium falciparum gametocytes clinical isolates and antiplasmodial activity of two medicinal plant extracts on parasitic growth. *African Journal of Parasitology Research* 4, 249-256.
- [25]. Nassirou, R. S., Ibrahim, M. L., Ilagouma, A. T., Mahamadou, A., Mamoudou, M., Abdoulaye, A., Oukem-Boyer, O. O. M. & K, K. I. (2015). Évaluation in vitro de l'activité antiplasmodiale d'extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger. *Journal of Applied Biosciences* 89, 8291-8300.

Investigations ethnobotanique, phytochimique et micrographique de plantes médicinales utilisées contre les envenimations de serpents

ADIKO-TAPE N'dri Marcelline^{1*}, TRA BI Boli Francis², YAO Konan², BASSA-YAO Ahou Edwige¹, COULIBALY Wacothon Karime³, AKOUBET-OUAYOGODE Aminata¹, KABLAN Ahmont Landry Claude³

¹-UP Pharmacognosie, Botanique, Biologie végétale et Cryptogamie, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, 22 BP 714 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

²-Laboratoire de Systématique, Herbier et Musée Botanique, Centre National Floristique de Côte d'Ivoire, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, 22 BP 714 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³-Département de Mathématiques, Physique et chimie, UFR des Sciences Biologiques, UPR de chimie organique, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

Résumé :

L'OMS estime à 5,4 millions le nombre de personnes mordues chaque année dans le monde par les serpents. Ces envenimations sont responsables de défiguration, d'invalidité, d'amputation et d'environ 138 000 décès. Les populations rurales, particulièrement touchées par ce phénomène, ont recours aux plantes médicinales pour se soigner. Ce travail a pour objectif, de recueillir des données traditionnelles sur la prise en charge des envenimations par morsures de serpents à Aboisso (Côte d'Ivoire), qui est une zone d'endémicité de ces morsures à cause de la culture intensive de palmiers à huile. Une enquête ethnobotanique, des essais phytochimique et micrographique ont été effectués. Au total, 31 espèces ont été recensées, les plus sollicitées sont *Securidaca longipedunculata* Fresen (17,19%), *Annona senegalensis* Pers. (7,81%) et *Manihot esculenta* Crantz (6,25%). Le tri phytochimique a indiqué la présence d'alkaloïdes, de saponosides, de flavonoïdes et de polyphénols. Concernant la qualité botanique, des vaisseaux ponctués, différents types de poils, des stomates, de l'oxalate de calcium et des gouttelettes d'huile ont été observés au microscope. Des constituants chimiques d'intérêt thérapeutique ont été révélés dans ces plantes, des études ultérieures s'attacheront à évaluer leurs effets pharmacologiques pour une approche innovante dans la prise en charge des envenimations.

Mots clés : Envenimation, plantes médicinales, phytochimie, Aboisso en Côte d'Ivoire

Ethnobotanical, phytochemical and micrographic investigations of medicinal plants used against snake envenomations

Abstract:

The WHO estimates that 5.4 million people are bitten by snakes each year in the world. These poisons are responsible for disfigurement, disability, amputation and about 138,000 deaths. Rural populations, particularly affected by this phenomenon, use medicinal plants to treat themselves. The objective of this work is therefore to collect traditional data on the management of snake bite poisoning in Aboisso (Ivory Coast), which is an endemic area of these bites because of the intensive cultivation of oil palms. An ethnobotanical survey, phytochemical and micrographic tests were carried out. A total of 31 species have been identified, the most requested are *Securidaca longipedunculata* Fresen (17.19%), *Annona senegalensis* Pers. (7.81%) and *Manihot esculenta* Crantz (6.25%). Phytochemical sorting revealed the presence of alkaloids, saponosides, flavonoids and polyphenols. Regarding the botanical quality, punctuated vessels, different types of hairs, stomata, calcium oxalate and oil droplets were observed under a microscope. Chemical constituents of therapeutic interest have been revealed in these plants, subsequent studies will focus on evaluating their pharmacological effects for an innovative approach in the management of poisoning.

Keywords : Envenomations, medicinal plants, phytochemistry, Aboisso in Ivory Coast

1. Introduction

L'envenimation est l'ensemble des symptômes liés à l'inoculation à l'homme du venin à la suite d'une morsure ou d'une piqûre d'animaux venimeux. Elle constitue un véritable problème social, économique et de santé publique, particulièrement pour les populations rurales des pays en voie de développement qui supportent la grande majorité des accidents.

L'une des envenimations les plus fréquentes et les plus dangereuses sont celles causées par les serpents. Leurs venins contiennent des enzymes et des toxines qui ont la capacité de provoquer et d'accélérer des réactions chimiques dans l'organisme de la victime. Les manifestations cliniques sont entre autres l'hémorragie, les anomalies de la coagulation, les insuffisances rénales, la cardiotoxicité, les nécroses tissulaires locales et les œdèmes hémorragiques pulmonaires ^[1].

L'envenimation ophidienne a été retenue et classée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) parmi des maladies tropicales négligées. Elle estime à 5,4 millions le nombre de personnes mordues chaque année dans le monde par les serpents, avec environ 138000 décès. En plus de ce nombre élevé de décès, ces envenimations sont aussi responsables de défigurations, d'invalidités de plus de 400000 personnes et de 8000 cas d'amputations ^[2].

L'Asie enregistre près de 100000 décès sur 2 millions d'envenimations et près de 600000 envenimations entraînant 25000 décès pour l'Afrique [3].

En Côte d'Ivoire, malheureusement les statistiques précises mesurant l'ampleur de ces accidents ne sont pas disponibles. La dernière étude date des années 1980 et avait évalué l'incidence des morsures à 10000/an entraînant plus de 300 décès [4]. Cependant, ces dernières années, plusieurs cas d'envenimations sévères sont rapportés [5].

L'immunothérapie antivenimeuse est le seul traitement cliniquement approuvé, toutefois, les conditions de conservation, le code d'administration peu spécifié auxquels s'ajoute son coût onéreux limite son utilisation. Les populations des zones rurales plus exposées aux accidents, ont recours aux vertus des espèces médicinales pour prévenir et guérir les morsures de serpents. Partant de ce constat, les plantes médicinales aux potentialités antivenimeuses doivent être correctement identifiées et faire l'objet d'études chimiques et pharmacologiques afin de déboucher sur le développement de phytomédicaments dans la prise en charge des envenimations ophidiennes. Ce travail, s'inscrit dans cette démarche. Il a pour objectif de recueillir des informations sur les plantes à visée antivenimeuse. Pour le faire, nous avons effectué une enquête ethnobotanique auprès de praticiens de la médecine traditionnelle du département d'Aboisso (sud-est de la Côte d'Ivoire) et réalisé également un criblage phytochimique et une étude micrographique des plantes les plus citées.

2. Cadre d'étude, matériel et méthodes

2.1. Description de la zone d'investigation

La présente étude s'est déroulée dans le département d'Aboisso au sud-est de la Côte d'Ivoire, situé à 116 kilomètres d'Abidjan. En 2021, sa population était estimée à 361 842 et son siège est le village d'Aboisso. Il est composé des sous-préfectures d'Aboisso, d'Adaou, d'Adjouan, d'Ayamé, de Bianouan, de Kouakro, de Maféré et de Yaou (**Figure 1**). La région d'Aboisso, bénéficie d'un climat chaud et pluvieux de type équatorial (climat attéen), sa végétation est constituée de forêts denses dont l'ensemble donne une formation fermée toujours verte d'où son nom de forêt dense sempervirente. Son relief est très accidenté, mais, malgré le caractère accidentel du relief, Aboisso est arrosé par de nombreuses rivières que sont les affluents de la Bia et la Tanoe. On y rencontre des sols ferralitiques sur roches éruptives et métamorphiques (granite, schistes et roches basiques), à bonne rétention d'eau. Ils conviennent aux cultures pérennes et annuelles notamment la banane plantain, les vivriers, le palmier à huile, le caféier et le cacaoyer [6].



Figure 1 : Carte administrative du Département d'Aboisso

Choix de la zone d'investigation

Les critères de choix de la zone d'étude étaient l'endémicité des morsures de serpents. Cette morbidité est due à la culture intensive de palmiers à huile dans la zone. Cette spéculation constitue un nid de *développement* de reptiles comme les serpents. Selon les données de Chippaux, Aboisso avait enregistré, une moyenne annuelle de 110 morsures déclarées pour 100000 habitants ; la majeure partie des accidents survenant en plantations industrielles [7]. Les espèces de serpents abondants dans cette région sont le *Naja nigricollis* (cobra cracheur), le

Naja melanoleuca (cobra noir et blanc), le *Dendroaspis viridis* (mamba vert) et parfois le *Pseudohaje goldii* ou cobra arboricol [8].

2.2. Matériel

Le matériel végétal était constitué de plantes inventoriées au cours des enquêtes. Les feuilles et les écorces des 6 espèces les plus sollicitées à savoir *Securidaca longipedunculata*, *Annona senegalensis*, *Manihot esculenta*, *Terminalia superba* et *Momordica charantia*, ont été lavées à l'eau puis séchées à température ambiante pendant un mois et pulvérisées en poudres fines afin de réaliser une étude micrographique et un tri phytochimique.

2.3. Méthodes

Enquête ethnobotanique

Une enquête a été effectuée auprès 32 Praticiens de la Médecine Traditionnelle (PMT) de la région d'Aboisso, enregistrés au Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT). Ces derniers ont été soumis à un questionnaire, selon un entretien semi-directif. Les items abordés dans le formulaire ont porté sur les plantes médicinales utilisées dans le traitement des morsures de serpents, les modes de préparation et d'administration.

Les espèces inventoriées ont été identifiées par le Centre National de Floristique (CNF), de l'Université Félix Houphouët-Boigny selon APG IV [9] et un herbier a été constitué.

Préparation des extraits hydro-éthanoliques

Des extraits hydro-éthanoliques à 10% (m/v) ont été préparés. En effet, dix grammes de poudre des différentes drogues sont macérées dans 100 mL d'un solvant hydro-alcoolique (eau distillée stérile 30%, éthanol 70%) pendant 48 heures à température ambiante et filtrés.

Etude phytochimique

La caractérisation colorimétrique en tube a permis de mettre en évidence des grands groupes chimiques à partir des réactifs classiques figurant dans le **Tableau I** [10, 11].

Tableau I : Caractérisation en tube

Stérols et polyterpènes	Anhydride acétique Acide sulfurique concentré	Apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ; ou violet, virant au bleu puis au vert
Polyphénols	Chlorure ferrique FeCl ₃ (2 %)	Apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée
Flavonoïdes	Alcool chlorhydrique, Copaux de Magnésium, Alcool isoamylique	Dégagement de chaleur puis coloration rose orange ou violacée
Tanins	Catéchiques Formaldéhyde Acide chlorhydrique concentré	Précipités gélatineux (en gros flocons)
	Galliques Acétate de sodium Chlorure ferrique	Coloration bleue-noire intense
Quinones	Ammoniaque	Apparition d'une coloration allant du rouge au violet
Saponosides	Mousse	Apparition d'une mousse persistante d'au moins cm
Alcaloïdes	Iodo-bismuthate de potassium	Coloration orangé
	Réaction iodo-iodurée	Coloration brun-rougeâtre

Etude micrographie

Une pincée de poudres des différentes plantes est prélevée et versée dans un verre de montre puis triturée avec quelques gouttes d'une solution de KOH à 10%, une fine quantité du mélange est placée entre lame et lamelle. L'ensemble est observé au microscope optique aux grossissements x10 et x40.

3. Résultats et discussion

3.1. Etude ethnobotanique

Profil des enquêtés

Des 32 personnes interrogées, 5 étaient des femmes et 27 des hommes, soit 84,3% de sexe masculin. La tranche d'âges était comprise entre 28 ans et 75 ans. Concernant le niveau d'étude, les tradipraticiens étaient constitués de 65% de non instruits, 18,5% avaient le niveau élémentaire et 16,5% le niveau secondaire. Selon les enquêtés, les connaissances de leur art ont diversement été acquises. Ainsi, 60% d'entre eux ont répondu avoir reçu leur savoir par héritage familial, 34% par apprentissage auprès d'un maître, et 6% par un don reçu en songe. Concernant les expériences d'exercice, 66% de ces praticiens ont affirmé avoir plus de 20 ans d'activités, 24% plus de 10 ans et 10% plus de 5 ans.

Une étude similaire a été réalisée sur l'usage des plantes médicinales dans le traitement des morsures de serpent dans le cercle de Kolokani au Mali, auprès de 21 tradipraticiens de santé (TPS). Les espèces médicinales ont été inventoriées étaient au nombre de 16. La majorité des TPS était des hommes (17/21) près de 80,95%. Plus de 71% (15/21) des enquêtés n'étaient pas alphabétisés et 69,91% (13/21) exerçaient leur profession depuis plus de 20 ans [12]. Ces résultats obtenus sont proches des nôtres.

Les espèces les plus citées

Les plantes les plus sollicitées au nombre de 6, recensées auprès des tradipraticiens, sont indiquées dans le **Tableau II**.

Tableau II : les plantes les plus sollicitées

Famille	Espèces /N° Herbiers	Noms vernaculaires	Langues vernaculaires	Parties utilisées	Fc (%°)
Annonaceae	<i>Annona senegalensis</i> Pers. UCJ001114	<i>Sounsou</i>	Malinké	Feuilles fraîches / séchées	7,81
Combretaceae	<i>Terminalia superba</i> Engl. & Diels N° UCJ003191	<i>Wolo</i>	Malinké	Ecorce de tige séchée	5,81
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L. N° UCJ004438	<i>N'dagnaman</i>	Baoulé	Tige séchée	4,69
Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i> Crantz N° UCJ006192	<i>Manioc</i>	Populaire	Feuilles fraîches	6,25
Fabaceae	<i>Piliostigma thonningii</i> (Schumach.) Milne-Redh. N° UCJ009492	<i>Gnanman</i>	Malinké	Feuilles fraîches / séchées	4,69
Polygalaceae	<i>Securidaca longipedunculata</i> Fresen. N° UCJ014464	<i>Djourou</i>	Malinké	Ecorce de tige séchée	17,19

De nombreuses études corroborent ces résultats. En effet, en Côte d'Ivoire, Dro a répertorié *Securidaca longipedunculata* parmi les végétaux antivenimeux [13]. Au Nigeria, Ekele a mentionné *Annona senegalensis*, *Securidaca longipedunculata* et *Khaya senegalensis* [14]. Au Bénin, Dossou a également rapporté l'usage de *Securidaca longipedunculata*, de *Annona senegalensis* et *Piliostigma thonningii* dans le traitement des morsures de serpents [15]. Au Sénégal, l'étude de Sow, a porté sur *Securidaca longipedunculata* et des espèces d'Annonaceae : *Annona chrysophylla*, *A. senegalensis*, et *A. arenaria* dans la prise en charge des envenimations [16].

Les potentialités antivenimeuses de *Securidaca longipedunculata* et *Annona senegalensis* contre le venin de *Najas nigricolis* ont été évaluées chez le rat. En Côte d'Ivoire, Koné a révélé que l'administration orale de *Securidaca longipedunculata* diminuait significativement la gravité des signes toxiques. Au Nigeria, les travaux de Sanusi ont montré que, l'extrait aqueux de l'écorce de la racine de la plante était capable de neutraliser le venin du naja à la concentration de 300 mg/kg de poids corporel chez le rat avec 100 % de survie. L'extrait aqueux des feuilles avait enregistré 0 % de survie à 200 mg/ml et 66,67 % de survie à 300 mg/ml [17, 18]. Concernant *Annona senegalensis*, l'extrait méthanolique de l'écorce de racine provoquait une inhibition de l'hyperthermie, des œdèmes et des hémorragies [19, 20].

Les enquêtes ethnobotaniques ont permis d'inventorier 15 recettes pour la prise en charge des envenimations ophidiennes auprès de tradipraticiens de la région d'Aboisso. Elles sont composées d'une plante ou d'une association de plantes. Ces recettes sont rapportées dans le **Tableau III**.

Tableau III: Recettes des tradipraticiens

	Compositions des Recettes	Modes de préparation	Modes d'administration
1.	<i>Abrus precatorius</i> <i>Aframomum albobviolaceum</i> <i>Bidens pilosa</i>	Les feuilles fraîches de <i>Abrus precatorius</i> , de <i>Aframomum albobviolaceum</i> et la plante entière de <i>Bidens pilosa</i> sont réduites en pâte, la pâte obtenue est mélangée à l'huile rouge de palme	La préparation réalisée est appliquée comme pansement sur la plaie de la morsure. Elle est également administrée oralement
2.	<i>Acacia nilotica</i>	Les feuilles fraîches sont broyées dans un mortier, le broyat obtenu sert de traitement	Le broyat est appliqué sur la morsure
3.	<i>Annona senegalensis</i>	Les feuilles fraîches pilées ou la poudre des feuilles séchées sont employées	Pansement de la plaie
4.	<i>Bambusa vulgaris</i> <i>Spondias mombin</i> <i>Carica papaya</i>	Une décoction est préparée à partir des feuilles fraîches de <i>Bambusa vulgaris</i> , de <i>Spondias mombin</i> et d'un fruit mûr de papaye	Le décocté sert au lavage de la plaie et également à l'administration orale
5.	<i>Blighia sapida</i>	L'écorce séchée est réduite en poudre	Saupoudrage de la plaie
6.	<i>Calotropis procera</i>	Les feuilles fraîches sont ramollies sur un morceau de canari chaud	Les feuilles ramollies sont appliquées sur la plaie sous forme de pansement
7.	<i>Capsicum annum</i>	Les feuilles fraîches	Les feuilles fraîches doivent être mâchées et avalées immédiatement après la morsure
8.	<i>Chromolaena odorata</i>	Broyat des feuilles fraîches	Pansement
9.	<i>Desmodium adscendens</i>	Broyat des feuilles fraîches	Pansement
10.	<i>Detarium senegalense</i>	Poudre de l'écorce et préparation aqueuse	Saupoudrage de la plaie et administration orale
11.	<i>Euphorbia hirta</i>	Broyat de la plante entière fraîche	Application sur la plaie de la morsure
12.	<i>Khaya senegalensis</i> <i>Nauclea latifolia</i>	Poudre de l'écorce de tige séchée des plantes	Saupoudrage de la plaie
13.	<i>Manihot esculenta</i>	Les feuilles fraîches	Les feuilles fraîches sont mastiquées et avalées immédiatement après la morsure Pansement avec le broyat
14.	<i>Securidaca longipedunculata</i>	La poudre de l'écorce séchée	Pansement et administration par voie orale
15.	<i>Terminalia superba</i>	La poudre de l'écorce séchée	Pansement et administration par voie orale

Les différents soins consistent à faire un pansement de la plaie de la morsure avec le broyat des feuilles fraîches ou la poudre des écorces séchées, associés parfois à l'administration par la voie orale. Ces méthodes de traitements sont également mentionnées dans d'autres études ^[12, 15, 14].

3.2. Etude micrographique

Le microscope optique a permis d'observer des éléments caractéristiques de drogues végétales se rapportant à leur qualité botanique. Des éléments de *Securidaca longipedunculata* et de *Annona senegalensis* sont indiqués dans le **Tableau IV**.

Tableau IV : Etude micrographique

		
Poudre de l'écorce de <i>Securidaca longipedunculata</i>		
		
Poudre de feuille de <i>Annona senegalensis</i>		

3.3. Tri phytochimique

Les résultats du tri phytochimique des 6 espèces les plus citées sont consignés dans le **Tableau V**.

Tableau V : Tri phytochimique

	Polyphé.	Sté. et polyter.	Flavo.	Sapo.	Alcalo.		Tan.		Quin
					B	D	C	G	.
<i>Securidaca longipedunculata</i> Ec.T	+	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>Annona senegalensis</i> Fe.	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>Manihot esculenta</i> Fe.	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>Piliostigma thonningii</i> Fe.	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>Terminalia superba</i> Ec.T	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Momordica charantia</i> Fe.	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Présence (+), absence (-), Bouchardat = B, Dragendorff = D, Catéchiques = C, Galliques = G, Ecorce de Tige = Ec. T, Feuilles = Fe., Polyphé. = Polyphénols, Sté. et polyter = Stérols et polyterpènes, Flavo. = Flavonoïdes, Sapo. = Saponosides, Alcalo. = Alcaloïdes, Tan. = Tanins, Quin. = Quinones

Les alcaloïdes sont présents dans l'écorce de tige de *Terminalia superba* et les feuilles de *Momordica charantia*. Les quinones ont été révélés dans l'écorce de tige de *Securidaca longipedunculata* et les feuilles de *Annona senegalensis*. Les flavonoïdes sont présents dans les extraits à l'exception de *Securidaca longipedunculata*. Les saponosides ont été mis en évidence dans tous les extraits de plantes de même que les tanins, les polyphénols, les stérols et les polyterpènes.

Les alcaloïdes étaient absents dans les extraits des feuilles de *Piliostigma thonningii*, *Manihot esculenta*, *Annona senegalensis* et *Securidaca longipedunculata*, corroborant les travaux de Dembélé, de Traoré et de Onzo^[21, 22, 23]. Les alcaloïdes ont été identifiés dans *Terminalia superba* et *Momordica charantia*. Kougnimon et Johnson ont également signalé leur présence dans ces deux espèces^[24, 25]. L'absence des flavonoïdes dans l'écorce de *Securidaca longipedunculata*, corrobore les travaux de Dembélé^[21]. Des tanins et des saponosides ont été révélés dans les extraits de feuilles de *Piliostigma thonningii*^[26] et de *Momordica charantia*^[27]. Dans les écorces de *Terminalia superba*^[28] et de *Securidaca longipedunculata*^[29].

4. Conclusion

L'objectif de cette étude était de conduire des investigations ethnobotaniques et phytochimiques sur des plantes utilisées dans le traitement des morsures des serpents. Ces travaux ont permis de recenser 31 des plantes utilisées

par les populations contre les envenimations ophidiennes. Le criblage phytochimique a révélé la présence de composés bioactifs dans les espèces médicinales inventoriées. Parmi ces plantes, *Annona senegalensis* et *Securidaca longepedunculata* se distinguent comme étant les plus sollicitées. Leur évaluation par d'autres auteurs, a confirmé leurs potentialités antivenimeuses, permettant de justifier leur usage traditionnel dans la prise en charge des envenimations.

Partant de ce constat, en intégrant ces remèdes traditionnels dans les protocoles de soins modernes, il est possible de développer des approches thérapeutiques plus holistiques et culturellement adaptées, améliorant ainsi les résultats de santé pour les victimes de morsures de serpents en Afrique. Cette intégration offre une voie prometteuse vers des soins de santé plus inclusifs et efficaces.

Références bibliographiques

- [1] Bhattacharjee P. & Bhattacharyya D., 2013. Characterization of the aqueous extract of the root of *Aristolochia indica*: evaluation of its traditional use as an antidote for snake bites. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 220-226.
- [2] WHO, 2017. Résolution WHA71.5. Faire face à la charge de mortalité et de morbidité due aux envenimations par morsures de serpents. Genève : OMS, 2018.
- [3] Barré N.Y., 2021. Epidémiologie des cas de morsure des serpents en milieu rural reçus au centre de santé confessionnel Kati-Faladié. Thèse d'exercice de médecine générale. Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie du Mali. <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5062>
- [4] Chippaux J.-P., Vieillefosse S., Sall O., Mafouta R. & Diallo A., 2005. Envenimations en Afrique francophone. Institut de Recherche pour le Développement (IRD), US 009, Dakar, Sénégal, Manuscrit n° 2752-9. P 277-282.
- [5] Bekoin-Abhé C.M., Ouattara A., Coulibaly K.T., Mobio M.P., Tetchi Y.D., 2020. Profil épidémio-clinique et évolutif des patients admis pour une morsure de serpent dans le service de réanimation du CHU de Cocody (Abidjan-Côte d'Ivoire). *Revue Internationale Des Sciences Médicales*, 21,1:67-71.
- [6] Hauhouot C., 2004. Les pressions anthropiques sur les milieux naturels du sud-est. *Geo-Eco-Trop*, 28, 1-2: 69-82.
- [7] Chippaux J.-P., 2002. Epidémiologie des morsures de serpent en République de Côte d'Ivoire *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 95(3) :167-171.
- [8] Akaffou M.H., Koué Bi M.T., Yaokokore-Beïbro H.K., 2019. Etude de quelques paramètres écologiques des Elapidae de six villes de Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(1): 237-250.
- [9] APG IV, 2016, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181: 1-20.
- [10] Bruneton J., Poupon E., 2016. Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. Cachan, France: Tec & Doc Lavoisier; 1487 p.
- [11] Yapi A.B., Camara D., Coulibaly K., Zirihi G.N., 2018. Étude botanique, tri phytochimique et évaluation de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Eclipta prostrata* (L.) (Asteraceae) sur la croissance *in vitro* de trois souches fongiques. *Journal of Applied Biosciences*, 125 : 12581-12589.
- [12] Bah S., Dabo A., Diallo D., Diarra S., Maïga S., Sacko M., Sanogo R., 2011, Utilisation des plantes médicinales dans le traitement des morsures de serpent dans le cercle de Kolokani au Mali. *Mali Santé Publique* 1(02):49-52.
- [13] Dro B., Soro D., Koné M.W., Bakayoko A., Kamanzi K., 2013. Evaluation de l'abondance de plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le Nord de la Côte d'Ivoire, *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17(3): 2631-2646
- [14] Ekele J.U., 2023. Phytochemical analysis of six anti-venom medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 11 (3) 71-79
- [15] Dossou J.A. & Fandohan B.A., 2021. Utilisation des plantes médicinales pour prévenir et guérir les morsures de serpents : état des lieux et perspectives (synthèse bibliographique). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 25(2), 57-70.
- [16] Sow P.G., 2012. Enquête ethnobotanique et ethnopharmacologique des plantes médicinales de la pharmacopée sénégalaise dans le traitement des morsures de serpents, *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien*, 47(1) : 37-41.
- [17] Koné P.P., 1980 « Etudes toxicologiques, électrophysiologies et pharmacologiques du venin de *Naja nigricollis* et d'une substance antivenimeuse de la pharmacopée traditionnelle africaine (extrait de *Securidaca longepedunculata* Polygalaceae) ».Thèse de Doctorat d'Etat es Sciences. Université d'Abidjan, 1980, no 58, 172
- [18] Sanusi J., Shehu K., Jibia A.B., Mohammed L. and Liadi S. 2014. Anti Snake Venom Potential of *Securidaca longepedunculata* Leaf and Root Bark on Spitting Cobra (*Naja nigricollis* Hallowel) in Envenomed Wister Rats. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(6): 92-96.
- [19] Adzu B., Abubakar M.S., Izebe K.S., Akumka D.D., Gamaniel K.S., 2005. Effect of *Annona senegalensis* root bark extracts on *Naja nigricollis* venom in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(3): 507-513.
- [20] Kankara I.A., Maru A.A., Paulina G.A., & Kurfi B.G., 2023. *In-Vivo* Antivenom Effect of *Annona senegalensis* (Pers) Against Biological Activities of *Naja nigricollis* (Hallowell) Envenomation. *International Journal of Science for Global Sustainability*, 9(3):70–78.

- [21] Dembélé D.L., Somboro A.A., Doumbia S., Diarra M.L., Haïdara M. et Sanogo R., 2023. Etude pharmacognosique des feuilles, écorces de racines, écorces de tronc et de la racine entière de *Securidaca longipedunculata* Fresen (Polygalaceae), récoltées au Mali. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(4): 1701-1716.
- [22] Traoré K., Haidara M., Denou A., Kanadjigui F., Sogoba M.N., a Diarra B., Seydou Maiga S. et Sanogo R., 2019. Criblage Phytochimique et Activités Biologiques de Quatre Plantes Utilisées au Mali dans la Prise en Charge du Paludisme Chez les Enfants. *European Scientific Journal*, 15(6) : 210-226.
- [23] Onzo F.C., Azokpota P., Agbani P., Gbaguidi F., Hounhouigan J.D, Kossou D., 2014. Caractéristiques physico-chimiques, phytochimiques et toxicité des espèces végétales utilisées comme emballages alimentaires en Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4): 1504-1516.
- [24] Kougnimon F., Dougnon V., Anago E., Bankolé H., Soumanou M., Loko F., 2015. Propriétés biologiques et pharmacologiques de *Terminalia superba* Engl. et Diels (Combretaceae): Synthèse bibliographique. *Algerian Journal of Natural Products*, 3. 164-176.
- [25] Johnson R.C., Houéto E.E.1, Boni G., Kpètèhoto W.H., Pognon V.D.E., Assogba F., Frédéric Loko F., Boko M., Gbénou J. 2016. Étude ethnobotanique et phytochimique de *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) à Cotonou au Bénin. *Journal of Applied Biosciences* 106:10249 –10257.
- [26] Dieng S.I.M., Fall A.D., Diatta-Badji K., Sarr A., Sene M., Mbaye A., Diatta W. Bassene E., 2017. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 11(2): 768-776.
- [27] Bakare R.I., Magbagbeola O.A., Akinwande A. I., Okunowo O. W., 2010. Nutritional and chemical evaluation of *Momordica charantia*. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(21): 2189-2193.
- [28] Atto V., Zahui S.O., Kpahie F.Z, Nene Bi A. S., 2022. Evaluation de l'activité cicatrisante de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Terminalia superba* (Combretaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 16(6): 2494-2505.
- [29] Nguta J.M., 2019. *In vivo* antimalarial activity, toxicity, and phytochemical composition of total extracts from *Securidaca longipedunculata* Fresen. (Polygalaceae). *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, 3:196-201.

Validation d'une méthode HPLC pour le dosage de l'ibuprofène et la recherche de ses produits de dégradation

Yao A. M.^{1,2}, Meless D. F. R.^{1,3}, Able N.C.^{1,2}, Yao N.T.^{1,4}, He L. I.¹, Yéhé D.M.^{1,2}, Tuo-Kouassi A.N.^{1,2}, Kpaibe S. A.¹, Bony N.^{1,2}, Amin N. C.^{1,3}

1- Département des Sciences analytiques et Santé Publique de l'UFHB Abidjan, CI

2- Laboratoire National de la Santé Publique (LNSP), Abidjan, CI

3- Institut National de l'Hygiène Publique (INHP) Abidjan, CI

4- Institut National de Santé Publique (INSP), Abidjan, CI

* Adresse auteur principal : yadjoamarcelle@yahoo.fr

Objectif

Valider une méthode HPLC pour le dosage de l'ibuprofène et la recherche de ses produits de dégradations.

Méthodes

Les paramètres de la validation ont porté sur : la linéarité, la répétabilité à Jour 1 ; 2 ; et 3, l'exactitude (n=3), les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ). La méthode validée a servi à l'analyse d'une spécialité d'Ibuprofène comprimé dosé à 400 mg commercialisée en Côte d'Ivoire. Les études de dégradation forcées ont été réalisées dans les conditions : acide (HCl 1 N), alcaline (NaOH 1N) et oxydante (10% H₂O₂) pendant 24 heures à 48 heures.

Résultats

La courbe d'étalonnage a présenté un domaine de linéarité entre 5,33 µg/ml et 16 µg/ml d'ibuprofène avec un R² > 0,99. La LOD et la LOQ étaient respectivement de 0,447µg/ml et de 1,356 µg/ml. Le taux de recouvrement exprimant l'exactitude a été de 99,92 %. Les CV de répétabilité étaient tous inférieurs à 2%. L'échantillon analysé avait une teneur conforme en ibuprofène. Aucun produit de dégradation n'a été identifié dans l'échantillon analysé.

Conclusion

La validation de la méthode CLHP a donné des résultats fiables qui ont permis le dosage de l'ibuprofène et la recherche de ses produits de dégradation.

Mots clés : ibuprofène ; validation ; CLHP ; produits de dégradation

Validation of an HPLC for the determination of ibuprofen and the search for its degradation products

Objective

Validate an HPLC method for the determination of ibuprofen and the search for its degradation products.

Methods

The validation parameters focused on: linearity, repeatability on Day 1; 2; and 3, accuracy (n=3), limits of detection (LOD) and quantification (LOQ). The validated method was used for the analysis of a specialty Ibuprofen tablet dosed at 400 mg marketed in Ivory Coast. The stress degradation studies were carried out under the conditions: acidic (HCl, 1 N), alkaline (NaOH, 1N) and oxidizing (H₂O₂, 10%) for 24 hours to 48 hours.

Results

The calibration curve presented a linearity range between 5.33 µg/ml and 16 µg/ml ibuprofen with an R² > 0.99. The LOD and LOQ were respectively 0.447µg/ml and 1.356 µg/ml. The recovery rate expressing accuracy was 99.92%. The repeatability CVs were all less than 2%. The sample analyzed had a consistent ibuprofen content. No degradation products were identified in the analyzed sample.

Conclusion

The validation of the HPLC method gave reliable results which allowed the determination of ibuprofen and the search for its degradation products.

Keywords : ibuprofen; validation; HPLC; degradation products

1. Introduction : L'ibuprofène est un dérivé de l'acide propionique ayant des propriétés anti-inflammatoire et analgésique [1,2]. Il est utilisé dans le traitement des douleurs musculaires, des dysménorrhées, de la fièvre et des maux de tête [2].

Les formes pharmaceutiques d'ibuprofène sont beaucoup consommées par les populations pour un soulagement de longue durée de la douleur, pouvant aller jusqu'à 8 heures [3,4]. Cependant cette utilisation peut comporter des risques, d'où l'intérêt de contrôler le médicament au cours de la fabrication et après la mise sur le marché par des méthodes précises, fiables et rapides. L'objectif de ce travail a été de valider une méthode HPLC pour le dosage de l'ibuprofène sous forme comprimé et la recherche de ses produits de dégradations.

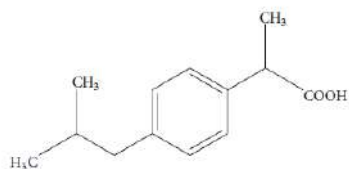


Figure 1 : Structure de l'ibuprofène [5]

2. Matériel et méthodes

2-1. Réactifs, substances de référence et échantillons

Les réactifs utilisés étaient de qualité analytique. Il s'agit de : l'Ibuprofène BP acheté auprès de Palghar India ; l'acétonitrile ($\geq 99,8\%$) ; la triéthylamine (99 %) ; l'acide orthophosphorique (85 %) ; l'hydroxyde de sodium à 1N ; l'acide chlorhydrique à 1 N ; peroxyde d'hydrogène 10% et l'eau ultra pure. Les analyses ont porté sur une spécialité à base d'Ibuprofène comprimé dosé à 400 mg commercialisée en Côte d'Ivoire.

2-2. Appareillage et conditions opératoires

L'appareillage était constitué d'une chaîne HPLC (Waters), la phase stationnaire a été constituée d'une colonne Nucleodur C18 (125 mm×4,6 mm, 5 μ m).

La phase mobile a été constituée du mélange acétonitrile/tampon phosphate (60 : 40, v/v). Le débit a été fixé à 1,5 ml/min ; le volume injecté était de 10 μ l pour une température de colonne de 25°C et une détection de l'Ibuprofène en UV à 220 nm.

2-3. Préparation des solutions

2-3-1. Préparation de la phase mobile

La phase mobile a été composée du mélange acétonitrile/tampon triéthylamine (60 : 40 v/v). Ce tampon a été préparé dans une fiole jaugée de 1000 ml en mélangeant 400 ml d'eau milliQ, 1ml de triéthylamine et 0,5 ml d'acide orthophosphorique, après agitation manuelle compléter avec de l'eau milliQ (qsp 1000 ml) puis homogénéiser à l'ultrason pendant 15 min. Le pH de la solution est ajusté à 6,05 avec l'acide orthophosphorique.

2-3-2. Préparation de la solution de référence

Environ 40 mg d'ibuprofène ont été pesés et introduits dans une fiole jaugée de 100 ml auquel on a ajouté 70 ml de diluant-1 qui est constitué d'un mélange tampon/acétonitrile (20 : 80 v/v). Le mélange a été dissout à l'ultrason pendant 15 min et complété au volume avec le diluant-1. Après homogénéisation, 5 ml de cette préparation (solution mère) a été transféré dans une fiole jaugée de 25 ml et complété avec le diluant-2 (qsp 25 ml) constitué d'un mélange tampon/acétonitrile (40 : 60 v/v).

2-3-3. Préparation de la solution à analyser

20 comprimés ont été pesés et pulvérisés et une quantité de poudre équivalente à 100 mg d'Ibuprofène a été dissoute dans 175 ml de diluant-1 et placée au bain ultrasons pendant 30 minutes avec agitation intermittente puis complété au volume avec le diluant-1 et homogénéisée. Environ 25 ml du mélange a été centrifugé à 3000 tours/min pendant 5 min. 5ml du surnageant a été transféré dans une fiole jaugée de 25 ml et complété avec le diluant-2 (qsp 25 ml) puis homogénéisé, filtré.

2-3-4. Conditions de dégradation forcée

Le mélange standard a été exposé à de l'acide (HCl, 1 N), à une base (NaOH, 1N) et à un agent oxydant (10% H₂O₂) pendant 24 heures à 48 heures [6,7].

2-4. Critères de validation

Le procédé a été validé par la détermination de la spécificité, la linéarité, fidélité, exactitude, limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) selon les directives de la Conférence Internationale sur l'Harmonisation (ICH) [8] et les directives de l'United States Pharmacopeia (USP) [9].

3. Résultats et discussion

3.1. Résultat de la validation de la méthode d'analyse

Les résultats de la validation de la méthode de dosage de l'ibuprofène par CLHP menée selon les directives de l'ICH [8,10] et l'USP [9] ont été satisfaisantes (cf tableau n° 1). L'analyse de l'ibuprofène par HPLC dans les conditions définies a permis sa détection en moins de 2 min soit $1,285 \pm 0,1$ minutes. Ce temps de rétention est plus court que celui obtenu avec une colonne Hypersil BDS, 150X4.6mm ; 5 μ m avec un temps de rétention de 3,29 minutes [11]. L'existence d'un domaine de linéarité, d'une répétabilité, d'une fidélité intermédiaire et d'une sensibilité satisfaisante, rendent cette méthode bien adaptée au dosage de l'ibuprofène dans les formes pharmaceutiques orales sèches.

L'application de cette méthode au dosage d'une spécialité d'ibuprofène comprimés 400 mg a permis d'obtenir une teneur moyenne de 414,04 mg correspondant à un taux de 103,51 % ; cette teneur est conforme selon les directives de l'OMS [12].

Tableau I : Résultat de la validation de la méthode d'analyse

Paramètres	Résultats	Spécifications	Conclusion
Linéarité	$Y = 82320X + 23142$ $R^2 = 0,9995$	$R^2 \geq 0,99$	
LOD μ g/ml	0,447	-	
LOQ μ g/ml	1,356		
Répétabilité 8 mg/ml (CV en %)	0,23	-	Conformes
Répétabilité 12 mg/ml (CV en %)	0,40	$\leq 2\%$	
Fidélité intermédiaire 8 mg/ml (CV en %)	0,34		
Fidélité intermédiaire 12 mg/ml (CV en %)	0,28	$\leq 2\%$	
Exactitude (Moyenne % de récupération)	100,31	$\leq 5\%$ $\leq 5\%$ [90 – 110] %	

3.2. Résultats dégradation forcée :

Concernant les résultats de dégradation forcée, il a été constaté que l'ibuprofène a montré une dégradation dans les conditions basiques (NaOH 1N). Il est resté relativement stable dans les milieux acides (HCl 1N) et en présence d'oxydant (H_2O_2) entre 24 heures et 48 heures. Ces résultats sont semblables à ceux d'une étude réalisée pour la détermination simultanée du paracétamol et de l'ibuprofène [7]. Par ailleurs nos résultats sont également comparables à ceux réalisés en milieu basique (NaOH 6 N) par Gnana Raja, et al. [6]. Cependant Sherri F. et al. ont obtenu des résultats différents au bout de 9 jours dans les conditions de dégradation (H_2O_2 à 30 %) avec apparition du 4-Isobutylacétophénone (4-IBAP) [13].

En outre aucun produit de dégradation n'a été observé dans la spécialité de comprimé d'ibuprofène analysée.

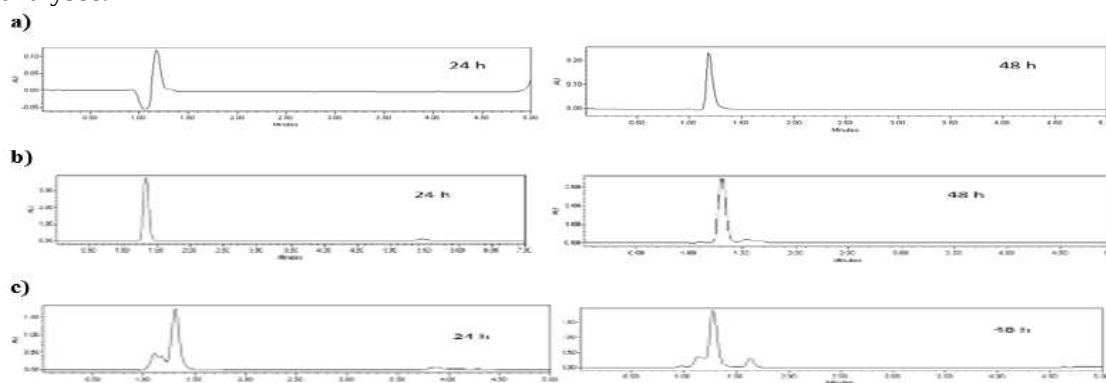


Figure 1 : Résultats dégradation de matière première d'ibuprofène en présence d'agent : a) oxydant ; b) acide ; c) basique

4. Conclusion : La validation de la méthode d'analyse de l'ibuprofène a donné des résultats satisfaisants qui ont permis l'analyse d'une spécialité commercialisée. Au terme de notre analyse nous avons noté la conformité de la teneur en ibuprofène de l'échantillon. Cette méthode validée pourrait être utilisée dans le contrôle qualité en routine de l'ibuprofène et ses produits de dégradation afin de déceler les médicaments contrefaits ou de qualité inférieure. En perspective nous envisageons d'une part étendre cette étude à un échantillonnage plus important et d'autres part étendre les études de dégradation forcées à d'autres conditions de stress à savoir : la température, l'humidité et les rayons UV.

5. Bibliographie :

- [1]. Lockwood GF, Albert KS, Gillespie WR, Bole GG, Harkcom TM, Szpunar GJ, et al. Pharmacokinetics of ibuprofen in man. I. Free and total area/dose relationships. Clin Pharmacol Ther. juill 1983;34(1):97-103.
- [2]. Pépin J-M. Impacts écotoxicologiques de certains médicaments dans l'environnement. Université de Sherbrooke.; 2006.
- [3]. Rivera-Hernández SI, Álvarez-Romero GA, Páez-Hernández ME, Galán-Vidal CA, Corona-Avendaño S. Development of a silver/silver ibuprofenate potentiometric sensor for ibuprofen quantification in pharmaceutical products. ECS Trans. 2015;64(45):57-64.
- [4]. Extra Fort CDL. Capsules d'IBUPROFÈNE liquide. 2015;
- [5]. Sanchaniya PM, Mehta FA, Uchadadiya NB. Development and validation of an RP-HPLC method for estimation of chlorpheniramine maleate, ibuprofen, and phenylephrine hydrochloride in combined pharmaceutical dosage form. Chromatogr Res Int. 2013;2013.
- [6]. Gnana Raja M, Geetha G, Sangaranarayanan A. Simultaneous, stability indicating method development and validation for related compounds of ibuprofen and paracetamol tablets by RP-HPLC method. J Chromatogr Sep Tech. 2012;3(8).
- [7]. Jahan MS, Islam MJ, Begum R, Kayesh R, Rahman A. A study of method development, validation, and forced degradation for simultaneous quantification of paracetamol and ibuprofen in pharmaceutical dosage form by RP-HPLC method. Anal Chem Insights. 2014;9:75.
- [8]. Guideline IHT. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). In: International Conference on Harmonization, Geneva, Switzerland. 2005. p. 11-2.
- [9]. United States Pharmacopeia (USP) 34 (NF 29), chapitre <621>, édition 2011.
- [10]. Carr GP, Wahlich JC. A practical approach to method validation in pharmaceutical analysis. J Pharm Biomed Anal. 1990;8(8-12):613-8.
- [11]. Pattanaik S, Mukhi S, Pattnaik G, Panda J. Assay method development and validation of ibuprofen tablets by HPLC. Pharm Sin. 2013;4(4):91-6.
- [12]. Drug Quality Assurance [Internet]. [cité 3 févr 2019]. Disponible sur: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Oc3YjbiQ78sJ:www.who.int/medicines/technical_briefing/tbs/05-DiasFRR.ppt+&cd=2&hl=fr&ct=clnk&gl=ci
- [13]. Farmer S, Anderson P, Burns P, Velagaleti R. Forced degradation of ibuprofen in bulk drug and tablets. Pharm Technol. 2002;32:28-42.

Contribution à la mise au point d'un MTA antihypertenseur à base de *Leptadenia hastata* Decne (Asclepiadaceae)

HAIDARA Mahamane^{1*}, DIARRA Mamadou Lamine¹, SIDIBE Fatoumata³ et SANOGO Rokia^{1,2}

¹Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

²Institut National de Recherche sur la Médecine et la Pharmacopée Traditionnelles (INRMPT), Mali

³Université Kankou Moussa (UKM) de Bamako, Mali

*Email auteur correspondant : mahamanehaidara83@gmail.com

Résumé

Leptadenia hastata, est une plante fréquemment utilisée en médecine traditionnelle au Mali. L'objectif était d'inventorier les usages ethnomédicinaux de cette plante et de déterminer les paramètres pharmacognosiques de sa partie aérienne. Les usages ethnomédicinaux ont été déterminés auprès des TPS de Kita en utilisant un questionnaire semi-structuré. Les paramètres botaniques et physiques de la poudre de la partie aérienne récoltée à Kita, ont été déterminées selon des méthodes décrites dans la Pharmacopée Africaine. Les constituants chimiques ont été caractérisés par les réactions de coloration et de précipitation en tube. Les constituants antiradicalaires ont été déterminés en utilisant le test de réduction du radical DPPH. Les principales indications ethnomédicinaux étaient l'infection urinaire et l'HTA. Les poils tecteurs pluricellulaires et les stomates anomocytiques étaient les éléments microscopiques caractéristiques. La teneur en eau était inférieure à $8,6 \pm 0,5$ %. Les principaux constituants chimiques étaient les tanins et les stérols et triterpènes. Les extraits ont réduit le radical DPPH. Cette activité antiradicalaire pourrait être bénéfique dans la prise en charge de l'HTA. Les données de cette étude constituent une bonne base en faveur du développement d'un MTA pouvant être utilisé dans la prise en charge de l'HTA.

Mots clés : *Leptadenia hastata*, HTA, Constituants antiradicalaires, Mali

Contribution to the development of an antihypertensive ITM based on *Leptadenia hastata* Decne (Asclepiadaceae)

Leptadenia hastata, is a plant frequently used in traditional medicine in Mali. The objective was to inventory the ethnomedicinal uses of this plant and to determine the pharmacognosic parameters of its aerial part. Ethnomedicinal uses were determined from the Kita TPS using a semi-structured questionnaire. The botanical and physical parameters of the powder of the aerial part collected in Kita were determined according to methods described in the African Pharmacopoeia. The chemical constituents were characterized by coloring and precipitation reactions in the tube. Antiradical constituents were determined using the DPPH radical reduction assay. The main ethnomedicinal indications were urinary infection and High Blood Pressure (HBP). Multicellular covering hairs and anomocytic stomata were the characteristic microscopic elements. The water content was less than $8.6 \pm 0.5\%$. The main chemical constituents were tannins and sterols and triterpenes. The extracts reduced the DPPH radical. This anti-radical activity could be beneficial in the management of HBP. The data from this study constitute a good basis for the development of an ITM that can be used in the management of HBP.

Keywords: *Leptadenia hastata*, HBP, Antiradical constituents, Mali

1. INTRODUCTION

Dans la commune rurale de Kita, au Mali, la majorité de la population a recours à phytothérapie pour les soins de santé primaire. *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne communément appelée en bambara « zongné » est une liane de la famille des Asclepiadaceae très connue et fréquemment utilisée par les habitants de cette commune.

De nombreuses pharmacologiques (Yaro et al., 2023, Appah et al., 2021) et phytochimiques (HZ et al., 2022 ; Muhammad et al., 2023) ont été menée sur cette plante en Afrique.

Très peu d'études ethnobotaniques et pharmacognosiques ont été menées sur cette plante au niveau du Département de Médecine Traditionnelle (DMT), actuel Institut National de Recherche sur la Médecine et la Pharmacopée Traditionnelles (INRMPT) du Mali.

C'est dans ce cadre que ce travail a été entrepris pour documenter les utilisations ethnomédicinales de cette plante très connue et fréquemment utilisée dans la commune rurale de Kita et de déterminer certains paramètres pharmacognosiques dans le but de contribuer à la mise au point un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) antihypertenseur à base de *Leptadenia hastata*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Enquête ethnobotanique

2.1.1. Lieu d'étude

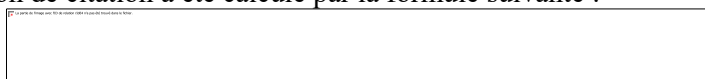
La présente étude a été effectuée à Kita plus précisément dans la commune de Kita à Sébougouni. Le choix s'est porté sur cette ville, parce que nous y sommes originaires et nous avons constaté que cette plante est largement utilisée par la population de cette zone dans le traitement de nombreuses maladies.

2.1.1.1. Collecte des données

Les données sur la plante ont été collectées du 05 juin au 05 juillet 2023 auprès de trente tradipraticiens de santé et des herboristes de Kita en utilisant un questionnaire semi-structuré (voir annexe 2). Le questionnaire comprenait deux parties, une première partie sur le profil sociodémographique des enquêtés et la seconde partie sur la plante. Les données collectées sur la plante comprenaient, la partie de la plante utilisée, la forme d'utilisation et les utilisations ethnomédicinales. L'interrogation a été faite en langue bambara.

2.1.1.2. Saisie et analyse des données

Après l'enquête, les données ont été saisies et analysées avec le Microsoft Word 2010 et Excel 2010. Le pourcentage (%) de citation de citation a été calculé par la formule suivante :



2.1.1.3. Considération éthique

Le but de l'étude a été expliqué aux participants. Leur consentement oral a été obtenu avant le début de l'enquête. L'identité des personnes interrogées est restée anonyme lors de la saisie des données. Les informations recueillies sont totalement confidentielles.

2.1.2. Etude pharmacognosique

2.1.2.1. Matériel végétal

Il est constitué d'échantillons de la partie aérienne de *Leptadenia hastata*, récoltée à Kita, le 10 juillet 2023. Après 2 – 3 semaines de séchage, la partie aérienne est pulvérisée à l'aide d'un mortier traditionnel sous forme de poudre fine et est ensuite conservée dans un bocal en verre pour d'éventuelles analyses au laboratoire. Un spécimen d'herbier est déposé dans l'herbier du DMT sous le numéro 1158.

2.1.2.2. Identification des caractéristiques botaniques

Elle a consisté à déterminer les caractères organoleptiques et microscopiques de la poudre d'un échantillon de la partie aérienne selon les méthodes décrites par la Pharmacopée de l'Afrique (Haidara et al., 2024; OUA, 1988).

2.1.2.3. Détermination des constantes physicochimiques

Les constantes physicochimiques ont été déterminées selon des méthodes décrites dans la Pharmacopée Africaine. Elle a consisté à déterminer les teneurs en eau, cendres et en substances extractibles par l'eau et les solvants organiques (Haidara et al., 2024; OUA, 1988).

2.1.2.4. Préparation des extraits

Les extraits ont été préparés selon les formes d'utilisation traditionnelle. Pour ce faire, nous avons préparé des infusés à 10 % (Masse/Volume) et des décoctés à 10 % (Masse/Volume). En plus de ces extraits nous avons préparé aussi un macérat éthanolique à 10 % (Masse/Volume).

2.1.2.5. Criblage phytochimique

Les constituants chimiques ont été caractérisés par les réactions de coloration et de précipitations en tube en utilisant des réactifs classiques (Bruneton, 2016; Traoré et al., 2019).

2.1.2.6. Caractérisation des constituants antiradicalaires

Les constituants antiradicalaires ont été caractérisés en utilisant le test de réduction du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) sur plaque chromatographique. Après migration dans le système de solvant (Acétate d'éthyle – Butanol – Acide formique – Eau : 50 – 30 – 10 – 10), le chromatogramme des extraits a été révélé par une solution méthanolique de DPPH. Les constituants antiradicalaires apparaissent sous forme de taches jaune sur fond pourpre (Blois, 1958; Haidara et al., 2024).

3. Résultats et discussion

3.1. Données de l'enquête

3.1.1. Parties utilisées de la plante et forme d'utilisation

Les parties les plus fréquemment citées par les praticiens sont les parties aériennes (50 %), suivies des feuilles (31%) (voir figure 1). La forte utilisation de ces parties pourrait s'expliquer d'une part par le fait que *Leptadenia hastata* est une liane herbacée et d'autre part par la facilité de collecte de ces parties. Ces recettes sont utilisées

majoritairement sous forme de décocté (voir figure 2). La décoction permettrait de recueillir le plus de principes actifs et décontaminer la matière première. Mais ce procédé pourrait détruire certains principes actifs des espèces utilisées (Traoré et al., 2023).



Figure 2 : Parties utilisées de *Leptadenia hastata*

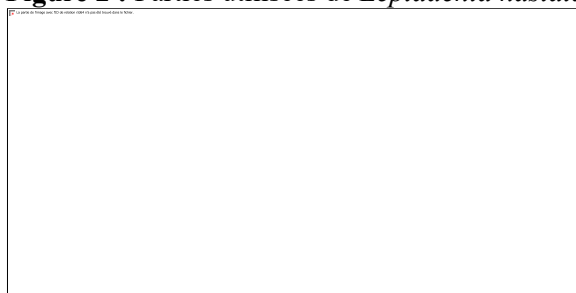


Figure 3 : Formes d'utilisation de *Leptadenia hastata*

3.1.2. Utilisations ethnomédicinales

Les principales indications des recettes à base *L. hastata* sont entre autres les infections urinaires (24,1 %), l'HTA (13,8 %) et les douleurs (11,5 %), (voir figure 4). D'autres études ethnobotaniques ont mentionnées les mêmes utilisation pour cette plante (Sogoba, 2023; Djego et al., 2011). Ceci est en faveur d'une convergence d'usage de cette plante dans le traitement de ces pathologies.

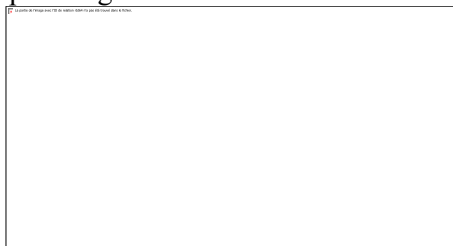


Figure 4 : Pourcentage de citation des usages ethnomédicinaux de *L. hastata*

3.2. Données pharmacognosiques

3.2.1. Caractères botaniques

La poudre de la partie aérienne de *Leptadenia hastata* était de couleur verte avec une odeur non caractéristique et une saveur insipide. Les éléments microscopiques identifiés dans la poudre de la partie de *Leptadenia hastata* sont les poils tecteurs pluricellulaires légèrement courbés, des stomates de types anomocytiques, des cellules scléreuses allongées regroupées en amas et des xylèmes spiralés et ponctués (voir figure 3). Ces résultats sont similaires à ceux de Barry (2018) qui a trouvé les mêmes éléments microscopiques dans la poudre des échantillons de la partie aérienne de *L. hastata* provenant de Bougouni et Yanfolila. Ces caractères botaniques vont servir pour l'identification de *Leptadenia hastata*.

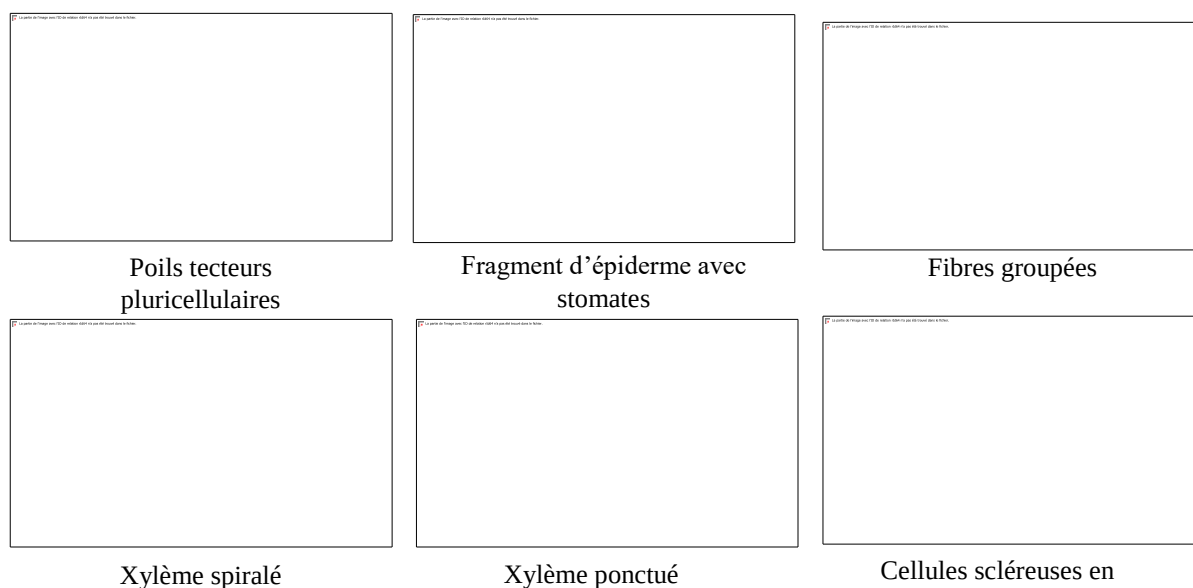


Figure 5 : Micrographie de la poudre de la partie aérienne de *L. hastata* (Grossissement X 40)

3.2.2. Constantes physicochimiques

Les valeurs des teneurs en eau, cendres et substances extractibles par l'eau et les solvants organiques, sont présentées dans le tableau I. L'analyse physicochimique a révélé une teneur en eau inférieure à 10%. Ce résultat est dans les limites recommandées par les pharmacopées qui exigent généralement une teneur en eau inférieure à 10% dans les poudres des plantes pour éviter les réactions d'oxydation, de fermentation et le développement des moisissures qui sont des phénomènes pouvant altérer la qualité des principes actifs au cours de la conservation (Chanda et al., 2014). La teneur en substances extractibles par les solvants polaires (eau et éthanol à 70%) est plus élevée que la teneur en substances extractible par l'éther de pétrole (solvant apolaire). Ces résultats suggèrent que la partie aérienne est riche en composés polaires.

Tableau I : Constantes physicochimiques de la partie aérienne de *Leptadenia hastata*

Teneurs	Pourcentage (Moyenne $\pm$ Ecart type)
Teneur en eau	8,6 $\pm$ 0,5
Teneur en cendres totales	13,8 $\pm$ 0,4
Teneur en cendres insolubles dans HCl à 10%	3 $\pm$ 0
Substances extractibles par l'eau	15,5 $\pm$ 0,7
Substances extractibles par l'éthanol	13,5 $\pm$ 3,5
Substances extractibles par l'éther de pétrole	3 $\pm$ 0

3.2.3. Constituants chimiques

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des flavonoïdes, leucoanthocyanes, mucilages, oses et holosides, saponosides, stérols et triterpènes et de tanins. Par contre les alcaloïdes, caroténoïdes, les anthracénosides n'ont pas été détectés dans nos conditions expérimentales. Nos résultats sont légèrement différents de ceux rapportés par Barry, 2018 qui n'a pas trouvé des flavonoïdes dans les échantillons provenant de Yanfolila et Bougouni et de Muhammad et al., (2023) qui ont trouvé la présence d'alcaloïde. Cette différence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs tels que le lieu de récolte, la période de la récolte, l'âge de la plante... La présence de ces constituants chimiques pourrait justifier en partie certaines utilisations ethnomédicales notamment contre les infections urinaires, l'HTA, le diabète, la douleur la diarrhée et les plaies. Les flavonoïdes et saponosides sont connus pour leur action veinotonique, diurétique et antiinflammatoire (Bruneton, 2016), les tanins ont une action cicatrisante, antidiarrhéique, veinotonique et antimicrobienne (Bruneton, 2016). Les mucilages quant à eux, considérés comme des constituants cellulaires normaux sont très recherchés pour leurs propriétés cicatrisantes (Barry, 2018).

3.2.4. Constituants antiradicaux

La figure 6 représente le chromatogramme des extraits révélés par une solution de DPPH. Les extraits ont montré une activité antiradicalaire en piégeant le radical DPPH. Cette activité pourrait être due à la présence de certains constituants chimiques tels que les polyphénols et les saponosides. Ce résultat confirme les propriétés antiradicalaires précédemment montrées par d'autres auteurs (Barry, 2018). Cette activité antiradicalaire des extraits de la partie aérienne de *Leptadenia hastata* pourrait être bénéfique dans la prise en charge de nombreuses pathologies dont l'HTA, la douleur et le diabète

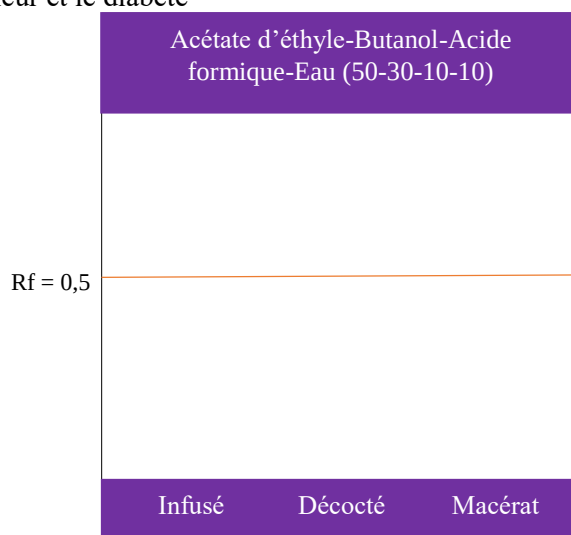


Figure 6 : Profil chromatographique des extraits de *L. hastata* révélés par une solution de DPPH.

4. Conclusion

Il ressort de cette étude que les populations de la commune de Kita utilisent généralement la partie aérienne de *Leptadenia hastata* sous forme de décocté dans la prise en charge de nombreuses pathologies dont l'HTA. Les données botaniques et physicochimiques vont contribuer d'une part à la rédaction de la monographie de la plante récoltée au Mali et d'autre part au contrôle de qualité des futurs échantillons de cette plante. Les constituants chimiques et antiradicaux peuvent justifier en partie certaines utilisations traditionnelles de la plante au Mali. Les données de cette étude et les données antérieures sur cette plante, peuvent être valorisées pour la mise au point d'un MTA pouvant être utilisé dans la prise en charge de l'HTA. En perspective, il s'agira d'évaluer *in vivo*, les propriétés antihypertensives et la toxicité des extraits de la partie aérienne de *Leptadenia hastata*.

5. Bibliographie

- APPAH, J., AGATEMOR, U. M.-M., IDAKWOJI, P. A., HASSAN, S. M., & MOMOH, T. (2021). Anti-inflammatory and Diuretic Activity of Aqueous Extract of *Leptadenia hastata* Leaves in Wistar Rats. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci*, 7(5), 10-16.
- Barry, A. (2018). *Etude ethnobotanique et contrôle de qualité de 4 plantes utilisées par la communauté voisine du complexe de réserves de faune de Bougouni-Yanfolila*.
- Blois, M. (1958). *Antioxidant determinations by the use of stable free radicals*. 181(4617).
- Bruneton, J. (2016). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales* (5e édition). Technique et Documentation, Lavoisier Paris, France.
- Chukwuma, I. F., Nworah, F. N., Apeh, V. O., Omeje, K. O., Nweze, E. J., Asogwa, C. D., & Ezeorba, T. P. C. (2022). Phytochemical characterization, functional nutrition, and anti-diabetic potentials of *Leptadenia hastata* (pers) decne leaves : In silico and in vitro studies. *Bioinformatics and Biology Insights*, 16, 11779322221115436.
- Diarra, N., Togola, A., Denou, A., Willcox, M., Daou, C., & Diallo, D. (2016). Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 184-197.
- Djogo, J., Djogo-Djossou, S., Cakpo, Y., Agnani, P., & Sinsin, B. (2011). Evaluation du potentiel ethnobotanique des populations rurales au Sud et au centre du Bénin. *International Journal of Biological and chemical sciences*, 5(4), 1432-1447.

- Fidele, N., Barthelemy, M., Rodrigue, T. E., Adjia, H., & Faustin, S. E. P. (2022). *Diuretic activity of the aqueous roots extract of Leptadenia hastata (Asclepiadaceae) in rats.*
- Haidara, M., Denou, A., Haddad, M., Bourdy, G., & Sanogo, R. (2024). Pharmacognosic study and anti-hepatocarcinoma activity of extracts from leaves and roots of Terminalia macroptera Guill. & Perr.(Combretaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 13(2), 657-661.
- Haruna, A., Mann, A., & Ogbadoyi, E. O. (2017). Phytochemical composition and antitrypanosomal activity of the leaf extract of Leptadenia hastata (Pers) Decne. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(2), 292-299.
- Hassan, L. G., Yusuf, A. J., Muhammad, N., Ogbiko, C., & Mustapha, M. D. (2020). In vitro Phytochemical Screening and Anti-snake Venom Activity of the Methanol Leaf and Stem Bark Extracts of Leptadenia hastata (Asclepiadaceae) against Naja nigricollis. *J. Health Sci*, 7(3), 11-14.
- HZ, L., Olatunji, K., & Abdulazeez, A. (2022). Comparative study on the proximate, mineral, phytochemicals and antimicrobial analysis of Daniellia oliveri, Leptadenia hastata and Vitex doniana leaves. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 13(1), 27-33.
- Martha Orendu Oche, A., Tamunotonye Watson, J., Sani Hyedima, G., & Sadiya Ufeli, B. (2022). Leptadenia hastata Leaf Extract ameliorates oxidative stress and serum biochemical parameters in Streptozotocin-Induced diabetes in Wistar rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 21(2), 1273-1281.
- Muhammad, H. L., Garba, R., Abdullah, A. S., Makun, H. A., Busari, M. B., Muhammad, H. K., & Adefolalu, F. S. (2023). Subchronic Toxicological Studies of Methanol and n-Hexane Extracts of Leptadenia hastata (pers) Decne Leaves Used as Antihypertensive Agent. *Journal of Chemical Health Risks*.
- OUA. (1988). *Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyses* (Vol. 1). Lagos (Nigeria), CSTR/OUA.
- Traoré, K., Haidara, M., Denou, A., Kanadjigui, F., Sogoba, M. N., Diarra, B., Maiga, S., & Sanogo, R. (2019). Criblage phytochimique et activite biologiques de quatre plantes utilisees au mali dans la prise en charge du paludisme chez les enfants. *Eur. Sci J*, 15(6), 212-226.
- Yaro, R. S., Deeni, Y. Y., Abdullahi, M., Bala, I., & Kawo, A. H. (s. d.). *Medicinal potential of Leptadenia hastata : A Review.*

Nouveaux alcaloïdes cyclopeptides à activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses k 562

Michel Boni Bitchi^a, Abdulmagid Alabdul Magid^c, Philomène Akoua Yao-Kouassi^a, Faustin Aka Kabran^b, Dominique Harakat^d, Agathe Martinez^c, Hamid Morjani^e, Félix Zanahi Tonzibo^b, Laurence Voutquenne-Nazabadioko^c

^aUnité Pédagogique et de Recherche Chimie et Agriculture Durable, UFR Agriculture, Ressources Halieutique et Agro-industrie ; Université de San Pedro, Côte d'Ivoire

^bLaboratoire de Chimie Organique Biologique, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

^cICMR-UMR CNRS 7312, Chimie des Substances Naturelles, Campus Sciences, Bât. 18, BP 1039, 51687 Reims, France

^dService Commun d'Analyses, Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR), CNRS UMR 7312, Bat. 18 B.P. 1039, 51687 Reims Cedex 2, France

^eBioSpecT EA7506, URCA, Faculté de Pharmacie, SFR CAP Santé, 1, rue du Maréchal-Juin, 51096 Reims, France
E.mail: bbonimichel@yahoo.fr

Résumé : Les alcaloïdes cyclopeptides sont des polyamides de nature basique ou neutre, avec d'énormes activités biologiques. Cette étude a consisté à l'extraction, l'isolement et à la purification des alcaloïdes cyclopeptides de l'espèce *Heisteria parvifolia* avant d'évaluer leur activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses de la leucémie. L'isolement et la purification des composés ont été réalisés en combinant la chromatographie sur colonne de gel de silice et la chromatographie liquide à haute pression (CLHP). La méthode MTS a servi pour l'évaluation de l'activité biologique, avec la doxorubicine comme molécule de référence. Cinq alcaloïdes cyclopeptides nouveaux ont été isolés et décrits pour la première fois, grâce à la RMN (1D ; 2D) et à la SM-ESI-HR. Les tests de cytotoxicité, menés sur la lignée K562 de la leucémie myéloïde chronique, ont montré une activité antiproliférative conséquente avec des pourcentages d'inhibition entre 13 % et 46%. Cette étude correspond à la première identification structurale des alcaloïdes cyclopeptides de l'espèce *H. parvifolia*, ainsi qu'à l'évaluation de leur activité antiproliférative sur des cellules cancéreuses.

Mots clés : *Heisteria parvifolia* ; cyclopeptides ; cellules K562.

New cyclopeptide Alkaloids and antiproliferative activity on leukemia cancer cells

Abstract: Cyclopeptide alkaloids are basic or neutral polyamides with a significant biological activity. The main objective of this study was to extract, isolate, and purify alkaloids cyclopeptides from *Heisteria parvifolia* before assessing their antiproliferative activity on leukemia cancer cells. The compounds were separated and purified using silica gel column chromatography and high-pressure liquid chromatography (HPLC). In order to evaluate biological activity, doxorubicin was used as the reference molecule in the MTS method. Five new cyclopeptide alkaloids were identified and described for the first time, and their isolation and description are the result of NMR (1D; 2D) and SM-ESI-HR. Cytotoxicity tests, conducted on the K562 line of chronic myeloid leukemia, showed significant antiproliferative activity with inhibition percentages from 13% to 46%. This study is the first one to identify the structural alkaloids of *H. parvifolia* and their antiproliferative effect.

Key words: *Heisteria parvifolia*; cyclopeptides; cellules K562.

1. Introduction

Le genre *Heisteria*, de la famille des Erythraliaceae est composé de 33 espèces en Amérique tropicale et de 3 espèces en Afrique tropicale (*Heisteria parvifolia* Sm., *H. triellessiana* Pierre, *H. zimmereri* Engl.[1]. La décoction des feuilles de *Heisteria parvifolia* traite les enfants rachitiques, l'asthme, les douleurs costales et les maux d'estomac et la toux.

Les études chimiques réalisées, sur certaines espèces de *Heisteria* ont principalement révélé la présence de triterpènes, de proanthocyanidines, d'alcaloïdes cyclopeptides, de la scopolamine et des acides gras acétyléniques [2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 et 7].

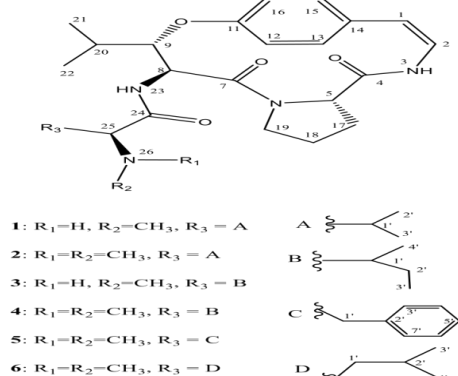
Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de Côte d'Ivoire, cinq nouveaux alcaloïdes cyclopeptides (1–5) Hesterin A-E, ainsi qu'un composé connu (6), ont été isolés et caractérisés des feuilles de *H. parvifolia* (Fig. 1). Leur cytotoxicité contre les cellules K562 de la leucémie myéloïde a été évaluée [8].

2. Matériel et méthodes

Les feuilles séchées en poudre de *H. parvifolia* (1 kg) ont été humidifiées avec 50 % aq. NH₄OH (500 mL), puis subit une macération pendant la nuit, puis percolé avec 15 L d'EtOAc. L'extrait brut (26 g) obtenu après évaporation a été dissout dans 2 L d'EtOAc et puis une contre extraction avec une solution aqueuse de 2% H₂SO₄ (3×2 L) a été réalisée. La phase acide a été rendue alcaline avec du NH₃ aqueux et extraite avec 3×2 L de CHCl₃. La solution de CHCl₃ a été lavée avec du H₂O (2 L), séchée (Na₂SO₄) et évaporée sous vide pour donner 500 mg d'extrait brut d'alcaloïde (rendement 0,05%). L'extrait brut d'alcaloïde a été soumis à la chromatographie flash

éluee avec un gradient de CHCl₃/MeOH (100:00-95:05) pendant 25 min, pour obtenir 26 fractions (F1-26). Les Fractions F6, F8, F10, F12, F14 et F17 ont été soumis séparément à une chromatographie semi- préparative, en mode isocratique. Le composé **4** (t_R 13,2 min, 31 mg) a été obtenu à partir des fractions F6 et F8, le composé **5** (t_R 14,9 min, 4 mg) de la fraction F10, le composé **6** (t_R 10,6 min, 6 mg) de la fraction F12, les composés **2** et **3** (t_R 14,6 min, 6 mg ; t_R 17,3 min, 4 mg) à partir de la fraction F14, et le composé **1** (t_R 11,3 min, 5 mg) de la fraction F17. Leur structure (Fig. 1) a été élucidée par les expériences 1D et 2D-RMN et puis comparée aux données de la littérature, et confirmées par HR-ESIMS.

3. Résultats et discussion



Composé (100 μ M) <i>Heisteria parvifolia</i>	Inhibition de la croissance cellulaire (% de contrôle)
(6) Anorldianine	43,0 $\pm$ 1,69
(4)	44,0 $\pm$ 0,86
(2)	46,0 $\pm$ 3,24
(1)	13,0 $\pm$ 0,54
(3)	19,0 $\pm$ 1,94
(5)	36,0 $\pm$ 1,46

Figure 1 : Structure des composés isolés et leur pouvoir antiprolifératif (**1-6**)

4. Conclusion

En résumé, six composés ont été isolés de l'extrait alcaloïdique des feuilles de *H. parvifolia*. Ce sont des alcaloïdes cyclopeptides du type 4(14). Leurs structures ont été établies par différentes méthodes spectroscopiques incluant des expériences 1D et 2D-RMN ainsi que l'analyse HR-ESI-MS. Le composé **6** (anorldianine) qui a une sous-structure unique contenant de la proline, a été précédemment isolé de *Heisteria nitida*. Les composés (**1-5**) étaient des dérivés de l'anorldianine et ne différaient que par l'acide aminé terminal qui était soit le N-méthyl-valine, N,N-diméthylalaline, N-méthyl-isoleucine, N,N-diméthyl-isoleucine et N,N-diméthyl-phénylalanine respectivement.

L'activité cytotoxique des composés (**1-6**) contre la lignée cellulaire de leucémie myéloïde chronique (K562) a été évaluée. Seuls les composés **2**, **4** et **6** présentaient une activité antiproliférative à la concentration 100 μ M avec une inhibition de la croissance cellulaire de 46 %, 44 % et 43 %, respectivement, tandis que les composés **1**, **3** et **5** présentaient une inhibition de la croissance cellulaire de 13 %, 19 % et 36 %, respectivement à la même concentration. Les dérivées de l'anorldianine pourraient constituer un marqueur taxonomique des espèces *Heisteria*.

5. Bibliographie :

- [1]. Oyen, L. P. A., 2012. *Heisteria parvifolia* Sm. [Internet] Record from PROTA4U.
- [2]. El-Seedi, H.R., Gohil, S., Perera, P., Torssell, K.B.G., Bohlin, L., 1999. Cyclopeptide alkaloids from *Heisteria nitida*. *Phytochemistry* 52, 1739-1744.
- [3]. El-Seedi, H.R., Larson, S., Backlund, A., 2005. Chemosystematic value of cyclopeptide alkaloids from *Heisteria nitida* (Olacaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 33, 831-839.
- [4]. Cairo-Valera, G., De Budowski, J., Delle-Monache, F., Marini-Bettolo, G.B., 1977. A new psychoactive drug : *Heisteria olivae* (Olacaceae). *Atti Accad. Naz. Lincei, Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend.* 62, 363-364.
- [5]. Kraus, C.M., Neszmélyi, A., Holly, S., Wiedemann, B., Nenninger, A., Torssell, K.B., Bohlin, L., Wagner, H., 1998. New acetylenes isolated from the bark of *Heisteria acuminata*. *J. Nat. Prod.* 61, 422-427.
- [6]. Dirsch, V., Wiemann, W., Wagner, H., 1992. Anti-inflammatory activity of triterpene quinone methides and proanthocyanidins from the stem bark of *Heisteria pallida*.
- [7]. Engl. Pharm. Pharmacol. Lett. 2, 184-186.
Dirsch, V., Neszmélyi, A., Wagner, H., 1993. A trimeric propelargonidin from stem bark of *Heisteria pallida*. *Phytochemistry* 34, 291-293.
- [8]. Michel B. B., Abdulmagid A. M., Faustin A. K., Philomène A. Y.-K., Dominique H., Hamid M., Félix Z.T., Laurence V-N. 2019. Isolation and structure elucidation of cyclopeptide alkaloids from the leaves of *Heisteria parvifolia*. *Phytochemistry* 167 (2019) 11208 1.

Synthèse de bases de Schiff dérivées du gossypol contenu dans l'écorce du tronc de *Thespesia populnea*

Kokou WUIVI¹, Ata Martin LAWSON², Oudjaniyobi SIMALOU¹, Kafui KPEGBA^{1*}

1-Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat)), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515, Lomé-Togo

2- laboratoire URCOM, Université le Havre Normandie, 25 rue Philippe Lebon, BP1123 ,76063 Le Havre cedex
Email : mathieuwuivi@gmail.com

RESUME

Le gossypol est une molécule à haute valeur ajoutée à laquelle de nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées [1]. Sa synthèse est relativement complexe [2] et son isolement et sa purification sont très délicats à cause de son instabilité thermique, photochimique et chromatographique. L'objectif de ce travail est focalisé sur l'extraction et la modification chimique directe et *in-situ* du gossypol de l'écorce du tronc de *Thespesia populnea*, une plante de la famille des *Malvaceae*. La méthode utilisée pour isoler et modifier simultanément ce pigment naturel est celle de SEChem[3], basée sur la précipitation du gossypol sous la forme d'imine. Différentes type d'amines ont été utilisées dans cette méthodologie afin de diversifier les imines obtenues [4]. La structure des bases de Schiff atropoisomères obtenues a été déterminée par des analyses RMN 1D et 2D. Les résultats des analyses spectrales, ont montré de manière satisfaisante et dans la plupart des cas, la formation des dérivés de bases de Schiff du gossypol permettant ainsi de confirmer la présence du gossypol dans l'écorce du tronc de *Thespesia populnea*. Cette méthodologie SEChem a le mérite d'éviter les étapes critiques de séparation et de purification du gossypol.

Mots clés : *T. populnea* ; hémisynthèse ; gossypol ; bases de Schiff

SUMMARY

Gossypol is a molecule with high added value and many therapeutic virtues [1]. Its synthesis is relatively complex [2] and its extraction and purification are very difficult due to its thermal, photochemical, and chromatographical instability. The objective of the present work is focused on the isolation and simultaneous *in-situ* modification of gossypol from the bark of the trunk of *Thespesia populnea*, a plant of the *Malvaceae* family. The method used to isolate and modify this natural pigment is that of SEChem [3], based on the precipitation of gossypol as imine. Different types of amines were used in this methodology to exemplify the obtained imines [4]. The structure of the obtained Schiff base atropisomers was determined by 1D and 2D NMR analyses. The results of the spectral analyses satisfactorily showed in most cases, the formation of Schiff base derivatives of gossypol thus confirming the presence of gossypol in the trunk bark of *Thespesia populnea*. The merit of this SEChem methodology is to circumvent the critical steps of separation and purification of gossypol.

Key words: *T. populnea*; semisynthesis; gossypol; Schiff bases

1-Introduction

L'approche selon laquelle la médecine et la pharmacie s'appuient sur les vertus thérapeutiques des plantes est toujours d'actualité et de nombreuses missions scientifiques visent à identifier de nouvelles espèces végétales pour en détecter les potentialités médicales. Leurs extraits actifs sont ensuite étudiés par les chimistes tant pour les reproduire à l'identique par synthèse que pour élaborer des analogues structuraux (molécule naturellement proches) aux capacités thérapeutiques supérieures et ou effets secondaire minimisés[5]. Au cours de cette mission il arrive parfois que certains composés soient difficiles à reproduire ou à extraire. C'est le cas du gossypol.

Le gossypol (1,1',6,6',7,7'-hexahydroxy-55'-diisopropyl-3,3'-diméthyl-2,2'-binaphtalène-8,8'-dicarboxaldéhyde) est un pigment jaune qui se trouve dans certaines espèces de la tribu des gossypieae, principalement dans les semences de coton. Ce binaphtalène polyhydroxylé existe sous forme de deux atropoisomères[6, 7] (R) et (S) avec des activités intéressantes et confère à la molécule une cible de choix du fait de ses multiples applications pharmaceutiques :

- Contraceptif oral chez l'homme,
- Remède naturel pour le traitement de la bronchite,
- Inhibiteur total de la réplication du virus HIV I,
- Antiviral in vitro contre le virus de l'herpès simple type 2, le virus de l'influenza, etc,
- Propriétés anticancéreuses

Compte tenu de sa structure complexe, on trouve peu de travaux décrivant sa synthèse chimique. Une seule synthèse totale asymétrique de cette molécule a été réalisée par Meyers et ses collaborateurs[8] en 1997. Récemment Wei et Li [9] ont proposé aussi une synthèse totale de ce polyphénol aldéhydique. Malgré que leur méthode soit pratique, elle se fait en 16 étapes avec un rendement de 7%. Ce travail fastidieux ne suscite pas de véritable engouement pour les chercheurs chimistes et par conséquent le gossypol est essentiellement obtenu à

partir du genre *Gossypium*. Mais l'extraction et la purification sont très délicates à cause de son instabilité. Notre travail vise à extraire principalement le gossypol dans l'espèce *Thespesia populnea*, une plante de la flore Togolaise.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel technique, matériel végétal et prétraitement

Il a été utilisé comme matériel végétal, l'écorce du tronc de *Thespesia populnea*. Cette biomasse était récoltée dans les environs de l'hôtel SAKAKAWA (Togo) sur la cote. Après trente jours de séchage à l'ombre à la température du laboratoire, elle a été broyée à l'aide d'une machine broyeur THOMAS-Wiley Model 4 avec un tamis de 2mm.

Le solvant utilisé est l'éthanol 96%. Les réactifs (les amines) utilisés sont tous de marque Sigma ALDRICH. Ces amines sont : l'aniline, le picolylamine, le 4-méthoxyphenethylamine, le benzylamine. Tous ces réactifs sont de qualités analytiques. L'extracteur utilisé est le Soxhlet de capacité 250 ml. Nous aborderons dans la partie méthode, l'extraction et l'isolement du gossypol où les matériels cités ont été utilisés, avant de mettre en évidence l'originalité du travail dans ce domaine.

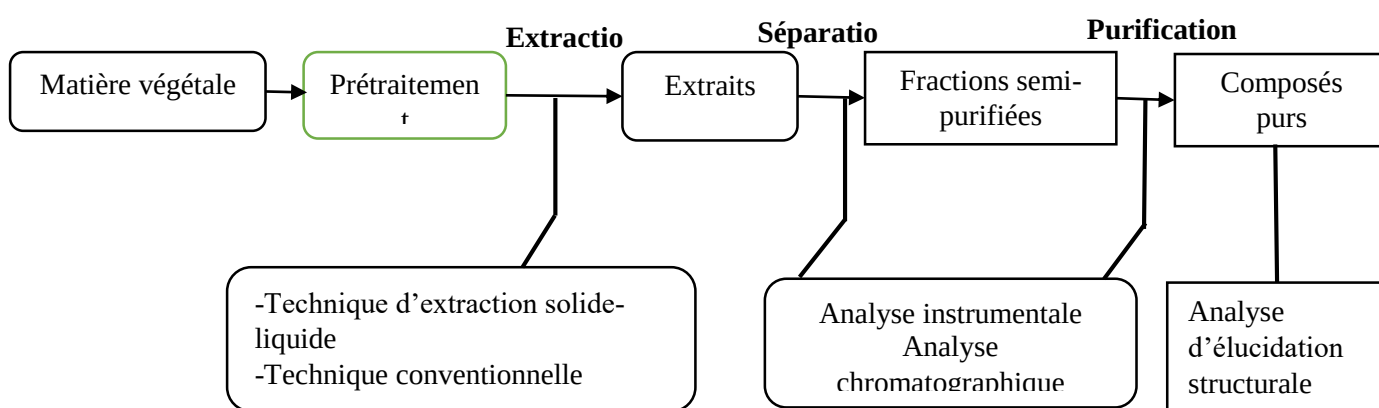


Figure 1 : l'aperçu général d'un procédé d'extraction et de purification

2.2 Méthodes

2.2.1 Extraction

La méthode d'extraction utilisée est celle de Scott. Cette méthode basée sur le Soxhlet consiste à extraire 70g de matière végétale broyée avec 700 ml d'éthanol pendant 5h de temps. A la fin de l'extraction le volume est réduit puis l'extract sec a été conditionné au froid. Pour avoir une idée sur la composition phytochimique de cet extrait, nous avons effectué un contrôle CCM. Ce contrôle nous a permis d'entamer la méthode SEChEM, un processus d'isolement du gossypol décrit dans la littérature.

2.2.2 Isolement du gossypol : SEChEM

La méthode SEChEM (Simultaneous Extraction and Chemical modification) est mise en œuvre par Mohamed SIDI et ses collaborateurs[3]. Cette méthode basée sur l'utilisation de Soxhlet substitue la méthode classique d'extraction comme le montre la figure ci-dessous.

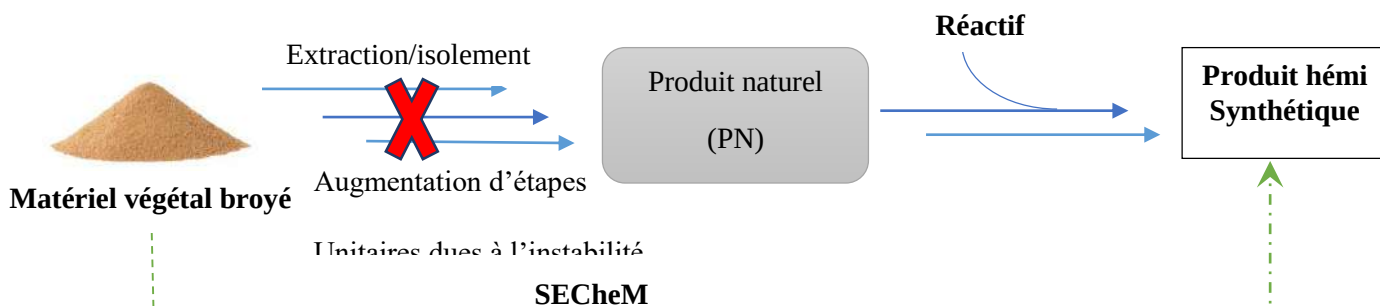


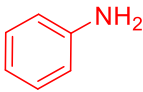
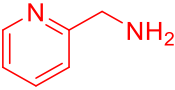
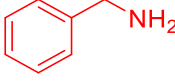
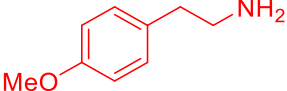
Figure 2: procédure one pot

Dans la pratique de cette procédure nous avons pesé 20g de la matière végétale broyée d'écorce de *Thespesia populnea*, que nous avons mis dans une cartouche et le tout placé dans la chambre d'extraction du système Soxhlet (site d'extraction du gossypol). Dans un ballon de 1000 mL (site de synthèse) nous avons versé 300ml d'éthanol et l'amine (à différente équivalence tableau 1) et l'ensemble a été mélangé. Le montage du système est réalisé puis le ballon est chauffé à reflux pour démarrer simultanément le processus d'extraction et de synthèse simultanée. Concrètement le solvant d'extraction après recondensation et remplissage de la chambre d'extraction extrait le gossypol qui est conduit vers le ballon via le siphonnage. Ce gossypol fraîchement extrait a été piégé instantanément dès son arrivé dans le ballon. Après 7 h d'opération nous avons arrêté le chauffage et les ballons ont été mis au repos dans le frigidaire pendant une semaine. Il est à noter que les bases de schiff sont beaucoup plus stables thermiquement et se précipitent. Nous avons obtenu effectivement au bout de ce moment des précipités selon l'amine utilisée, que nous avons filtrés et séchés à l'aide une pompe. Ces produits ont été analysés par RMN. En effet les spectres de résonnance magnétique nucléaire ont été enregistrés à température ambiante sur un appareil Bruker 300 MHz (^1H), 75 MHz (^{13}C) à transformer de fourrier. Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million(ppm), par rapport à la référence interne (TMS : TétraméthylSyane) dont le déplacement chimique est connu

- Le chloroforme deutéré (CDCl_3) RMN ^1H : s, 7,26 ppm ; RMN ^{13}C : 77,16 ppm
- Méthanol deutéré (CD_3OD) : RMN ^1H : s, 3,31ppm ; RMN ^{13}C : 49,00 ppm
- Diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d_6) : RMN ^1H : s, 2,54 ppm ; RMN ^{13}C : 40,45 ppm.

Les attributions de certains signaux ont nécessité des expériences complémentaires comme la RMN 1D (ATP : attached Proton Test) et la RMN 2D : corrélation ^1H - ^1H (COSY, couplage scalaire ^1J), corrélation ^1H - ^{13}C : HMQC (couplage ^1J), HMBC (couplage ^3J et/ou ^4J). Le tableau suivant montre la structure des différentes amines et le nombre d'équivalent utilisé.

Tableau 1: les amines et les équivalences utilisées

Masse estimée du gossypol	amines	Volume(ml) ou masse(mg) en équivalence
Dans 20 g de matière végétale nous avons estimé la masse de gossypol à 250 mg	 Aniline	0,9ml soit 10éq
	 Picolylamine	0,6ml soit 6éq
	 benzylamine	0,6ml soit 6éq
	 4-méthoxyphenethylamine	0,8ml soit 6éq

3-Résultats et discussion

La méthode SEChEM utilisée dans ce travail est basée sur une réaction modèle (Figure 3) dont le produit se précipite. En effet nous avons été motivés par la grande réactivité de la fonction aldéhyde du gossypol. Cette fonction peut réagir rapidement sur une amine primaire à travers une réaction de condensation pour générer une imine ou une énamine (base de schiff du gossypol) qui se précipite. Nous avons effectivement obtenu pour toutes les amines utilisées des précipités. Dans cette partie nous allons identifier à travers les spectres RMN du précipité de l'aniline, la base de Schiff synthétisée (DAG), avant de présenter les résultats obtenus suite aux conditions de SEChEM optimisées et ensuite appliquées aux autres amines.

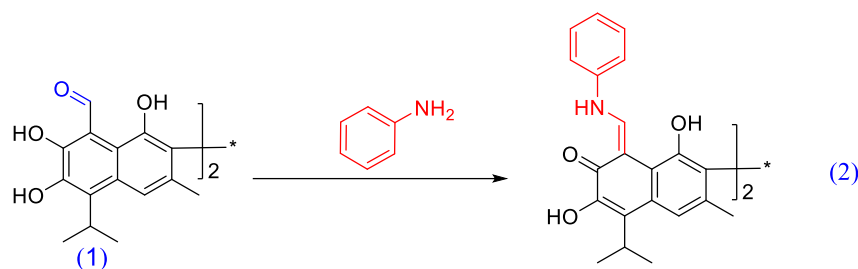
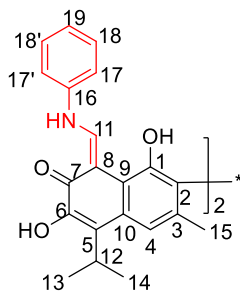


Figure 3: Réaction modèle

Précipité de aniline

La base de Schiff qui se formerait à partir de l'aniline est le dianillogossypol (DAG) dont la numérotation structurale est la suivante :



Les résultats de la RMN du précipité aniline sont les suivants:

RMN ^1H

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 14,94 (d, $j=10,5\text{Hz}$, 2NH), 10,20 (d, $J=11,4\text{Hz}$, 2H, =CH-11), 7,91 (s, 2H, 6-OH), 7,7 (s, 2H, CH-4); 7,4-7,3 (m, 8H, CH_{Ar} -17,17' & CH_{Ar} -18,18'); 7,2 (t, 2H, CH_{Ar} - 19); 5,8 (s, 2H, 1-OH); 3,7 (sept, 2H, CH-12); 2,1 (s, 6H, CH_3 -15); 1,58 (d, 6H, CH_3 - 13); 1,57 (d, 6H, CH_3 - 14)

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ_{C} 174,4 C_7 ; 154,2 C_{11} ; 149,4 C_1 ; 147,0 C_6 ; 139,5 C_{16} ; 132,8 C_3 129,9 $\text{C}_{18 \& 18'}$, 129,8 C_{10} 128,8 C_5 125,9 C_{19} 118,7 C_4 ; 118,2 $\text{C}_{17 \& 17'}$, 116,3 C_2 ; 114,5 C_9 105,1 C_8 ; 27,6 C_{12} ; 20,2 C_{14} 20,1 C_{15} .

La figure 4 montre les corrélations COSY qui renseignent sur l'environnement protonique de chaque proton de la molécule. En plus de ce renseignement, les corrélations carbone –hydrogène à savoir HMBQ et HMQC ont permis l'identification du DAG. Les résultats sont consignés dans le tableau 2.

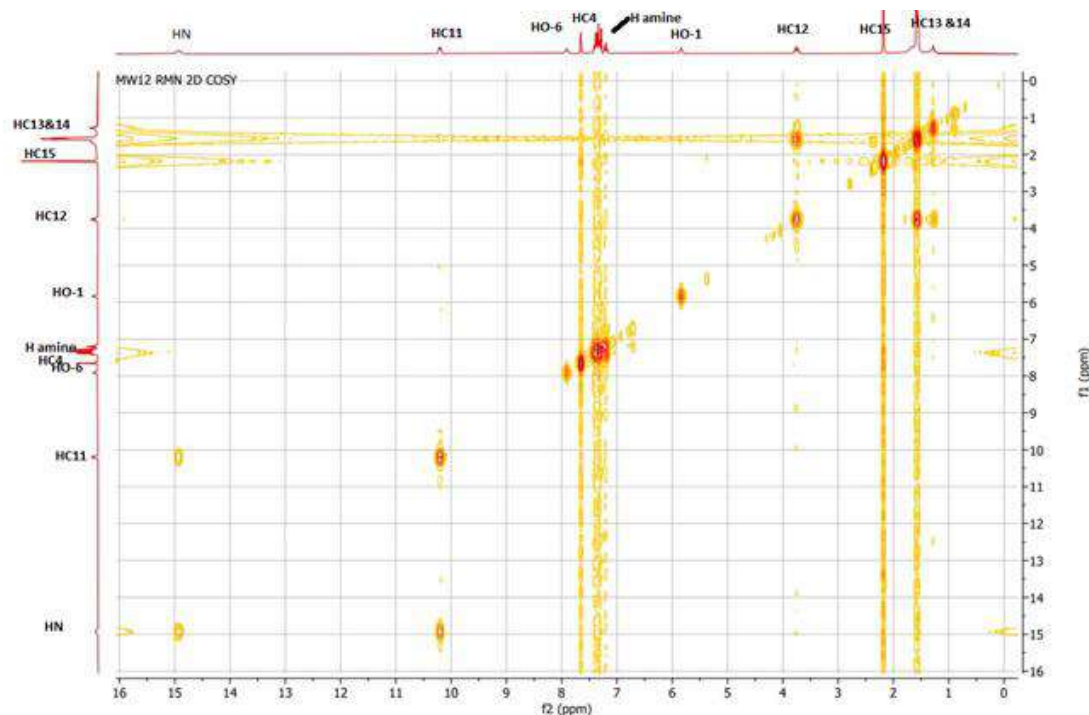


Figure 4: spectre COSY du précipité de l'aniline

Ces résultats montrent que le précipité de l'aniline est bien le dianilogossypol (DAG). Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par Mohamed boune *et al* [7] qui ont synthétisé à l'aide d'une large gamme d'amines les bases de Schiff dérivées du gossypol contenu dans le *cienfuegosia digitate cav*. Il y a une similarité entre nos spectres et ceux trouvés par Matlin *et al* [10] dans leurs travaux d'investigation structural des bases de Schiff du gossypol. Après la confirmation de la formation du dianilogossypol, les conditions SEChem ont été optimisées avec les autres amines citées dans la partie matériel et méthodes. Les résultats sont regroupés dans le tableau 3.

Tableau 2: les corrélations COSY, HMBC, HMQC

POSITION	δ_c	δ_H	COSY Corrélation H-H	HMBQ Corrélation H-C	HMBC corrélation H-C
				^1J	^2J ^3J
1/1'	149,4				
2/2'	116,3				
3/3'	132,8				
4/4'	118,7	7,7 (s, 2H)			$C_3/C_{3'}$; $C_{10}/C_{10'}$; $C_2/C_{2'}$; $C_5/C_{5'}$; $C_{15}/C_{15'}$;
5/5'	128,8				
6/6'	147,0				
7/7'	174,4				
8/8'	105,1				
9/9'	114,5				
10/10'	129,8				
11/11'	154,2	10,20 (d, $J=11,4\text{Hz}$,	HN	C_{11}	$C_{11}/C_{11'}$; $C_7/C_{7'}$; $C_{16}/C_{16'}$
12/12'	27,6	3,7 (sept,	$H_{13} \& 14$	C_{12}	$C_{12}/C_{12'}$; $C_{13}/C_{13'}$; $C_{14}/C_{14'}$; $C_{10}/C_{10'}$; $C_6/C_{6'}$
13/13'	20,3	1,58 (d,	$H_{12} \& 13$	C_{13}	$C_{12}/C_{12'}$; $C_{14}/C_{14'}$; $C_5/C_{5'}$
14/14'	20,2	1,57 (d)		C_{14}	$C_{12}/C_{12'}$; $C_{13}/C_{13'}$; $C_5/C_{5'}$

15/15'	20,1	2,1 (s,)		C_{15}	$C_{15}/C_{15'}$ $C_3/C_{3'}$	$C_2/C_{2'}$ $C_4/C_{4'}$
16/16'	139,5					
17/17'	118,2	7,4-7,3 (m, 8H)	H ₁₆ & 18	$C_{17}/C_{17'}$	$C_{16}/C_{16'}$ $C_{18}/C_{18'}$	$C_{19}/C_{19'}$
18/18'	129,9	7,4-7,3 (m, 8H)	H ₁₇ H ₁₈	$C_{18}/C_{18'}$	$C_{17}/C_{17'}$ $C_{19}/C_{19'}$	$C_{16}/C_{16'}$
19/19'	125,9	7,2 (t, 2H)		C_{19}	$C_{18}/C_{18'}$	$C_{17}/C_{17'}$
OH-1/1'		5,8 (s, 2H)				
OH-6/6'		7,91 (s, 2H)				
NH		14,94 (d, j=10,5Hz, 2NH)	H ₁₁			

Comme on peut le remarquer, les rendements sont variables en fonction de l'amine utilisée. Le picolylamine a donné le rendement le plus élevé 1,89% en extraction du gossypol grâce au renforcement de la nucléophilie de l'amine due à la présence de l'azote (possédant un doublet libre conjugué avec ceux du cycle) dans le cycle benzénique. Le para méthoxyphénéthylamine a donné un rendement faible par rapport à l'aniline. Ceci est due probablement à l'atténuation de l'effet électrodonneur du groupement méthoxy le long de la chaîne portant le groupement amine ou à l'encombrement. Ce résultat montre que la présence de l'azote dans le picolylamine renforce le caractère nucleophile de cette amine.

Tableau 3: Rendement de gossypol piégé par les amines

Base de Schiff (R-NH ₂)	RMN ¹ H	RMN ¹³ C	Rendement de gossypol (%)
	δ_H : 13,54 (d, 2NH), 9,89 (d, 2H, =CH-11); 8,42 (s, 2H, 6-OH); 7,91 (s, 2H, CH-4); 7,47 (CH _{Ar} -20); 7,4 (t, 2H, CH _{Ar} -19); 7,39 (d, 2H, CH _{Ar} -18); 7,3 (t, 2H, CH _{Ar} -20); 4,77 (d, 2H, CH-16); 3,7 (s, 2H, 1- OH); 2,5 (d, 2H, CH- 12); 1,9 (s, 3H, CH- 15); 1,4 (d, 6H, CH-13 & 14)	δ_C : 172,9 (C ₇); 162,6 (C ₁₁); 149,0 (C ₁); 147,1 (C ₆); 138,9 (C ₁₇); 133,2 (C ₂₀); 131,8 (C ₃); 129,7 (C ₁₉); 129,2 (C ₁₀); 127,4 (C ₅); 127,3 (C ₁₈); 118,2 (C ₄); 121,4 (C ₄); 117,1 (C ₂); 115,2 (C ₂); 114,7 (C ₉); 103,4 (C ₈); 53,9 (C ₁₆); 27,0 (C ₁₂); 20,3 (C ₁₃ & C ₁₄); 20,3 (C ₁₅)	0,91

	δ_H : 13,6 (d, 2NH), 9,9 (d, 2H, =CH-11); 8,6 (s, 2H, CH _{Ar} -21); 8,4 (s, 2H, 6-OH); 7,9 (s, 2H, CH-4); 7,9-7,8 (t, 2H, CH _{Ar} -19); 7,4 (d, 2H, CH _{Ar} -18); 7,3 (t, 2H, CH _{Ar} -20); 4,9 (d, 2H, CH-16); 3,7 (s, 2H, 1-OH); 2,5 (d, 2H, CH-12); 1,9 (s, 3H, CH-15); 1,4 (d, 6H, CH-13 & 14)	δ_C : 176,2 (C ₇); 163,1 (C ₁₁); 158,4 (C ₁₇); 151,3 (C ₂₁); 149,9 (C ₁); 145,0 (C ₆); 137,7 (C ₁₉); 131,8 (C ₃); 127,5 (C ₁₀); 126,4 (C ₅); 123,4 (C ₂₀); 122,5 (C ₁₈); 121,4 (C ₄); 117,1 (C ₂); 116,3 (C ₉); 104,7 (C ₈); 53,9 (C ₁₆); 27,0 (C ₁₂); 20,8 (C ₁₃ & C ₁₄); 20,7 (C ₁₅)
	δ_H : 13,2 (d, 2NH); 9,7 (d, 2H, =CH-11); 8,4 (s, 2H, 6-OH); 7,8 (s, 3H, CH ₃ -O); 7,4 (s, 2H, CH-4); 7,2 (d, 2H, CH _{Ar} -19 & 19'); 6,9-6,8 (d, 2H, CH _{Ar} -20 & 20'); 3,8-3,6 (m, 2H, CH-16); 2,9 (t, 2H, CH-17); 2-1,9 (s, 3H, CH-15); 1,4 (d, 2H, CH-12); 1,3 (s, 2H, 1-OH); 0,9-0,7 (d, 6H, CH-13 & 14)	δ_C : 172,2 (C ₇); 162,8 (C ₁₁); 156,9 (C ₂₀); 149,6 (C ₁); 146,3 (C ₆); 132,3 (C ₃); 130,4-130,2 (C ₁₉ & 19'); 127,3 (C ₁₀); 125,9 (C ₁₈); 120,5 (C ₅); 123,4 (C ₂₀); 117,0 (C ₄); 116,3 (C ₂); 115,4 (C ₉); 114,4 (C ₂₀ & C _{20'}); 104,1 (C ₈); 54,4 (C ₂₄); 53,7 (C ₁₆); 35,1 (C ₁₇); 27,0 (C ₁₂); 20,8 (C ₁₃ & C ₁₄); 20,8 (C ₁₅).

1,89

0,64

4-Conclusion

Ce travail vise à isoler le gossypol en évitant les deux dernières étapes du système classique d'extraction. Cet objectif est atteint puisque les résultats ont montré la formation des bases de Schiff dérivées du gossypol. Ces dernières sont beaucoup plus stables vis à vis de la lumière et de la chaleur. Il est facile de passer des bases de Schiff au gossypol pure en faisant l'hydrolyse en milieu acide.

1. Wang, X., et al., *Gossypol-a polyphenolic compound from cotton plant*. Advances in food and nutrition research, 2009. **58**: p. 215-263.
2. Dao, V.-T., et al., *Synthesis and cytotoxicity of gossypol related compounds*. European journal of medicinal chemistry, 2000. **35**(9): p. 805-813.
3. Sidi Boune, M.V., et al., *Development of SEChEM concept for isolation and chemical modification of gossypol directly from Cienfuegosia digitata*. Phytochemical Analysis, 2017. **28**(5): p. 410-415.
4. Carruth, F.E., *Contribution to the chemistry of gossypol, the toxic principle of cottonseed*. Journal of the American Chemical Society, 1918. **40**(4): p. 647-663.
5. Fabricant, D.S. and N.R. Farnsworth, *The value of plants used in traditional medicine for drug discovery*. Environmental health perspectives, 2001. **109**(suppl 1): p. 69-75.
6. Hron, R., et al., *Determination of (+)-, (-)-, and total gossypol in cottonseed by high-performance liquid chromatography*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1999. **76**(11): p. 1351-1355.
7. Sidi Boune, M.V., et al., *Highly Enantioselective Semisynthesis of (+)/(-)-Gossypol Schiff Base Derivatives from Ground Plant Material*. Journal of natural products, 2019. **82**(7): p. 1779-1790.
8. Willemsen, J., *The synthesis of (S)-(+)-gossypol via an asymmetric Ullmann coupling*. Chemical Communications, 1997(16): p. 1573-1574.
9. Lu, Y., et al., *Recent advances in gossypol derivatives and analogs: a chemistry and biology view*. Future medicinal chemistry, 2017. **9**(11): p. 1243-1275.
10. Matlin, S.A., et al., *Structural investigations of gossypol Schiff's bases*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 1990. **1**(3): p. 128-133.

Activités antibactériennes d'extraits de feuilles de *Hyptis suaveolens* et de *Lippia multiflora* contre trois souches bactériennes productrices de Beta-lactamase à spectre élargi

GOLY Kouassi Roselin Cyrille^{*1}, SORO Yaya², DADIE Adjehi³

¹ Département Sciences et Techniques, Université Alassane OUTTARA, 01 BP V 18 Bouaké 01 (Côte d'Ivoire)

² Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1093 Yamoussoukro (Côte d'Ivoire)

³ Laboratoire de Biotechnologie et Microbiologie des aliments, Université NANGUI ABRGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02 (Côte d'Ivoire)

* E-mail: mokannnoly@yahoo.fr

Résumé : L'incidence des maladies infectieuses a pris de l'ampleur ces dernières années du fait de l'émergence des bactéries résistantes. Cette étude vise à évaluer les potentialités antibactériennes de *Hyptis suaveolens* et *Lippia multiflora*. A cet effet, l'huile essentielle (HE) et des extraits hydro-éthanoliques (Eeth) 1 et 2 de feuilles ont été testés en milieux solide et liquide sur trois souches productrices de bêta-lactamase. Une éventuelle synergie d'action avec deux des antibiotiques conventionnels, a été recherchée par combinaison. Les diamètres d'inhibition varient de 17 à 28 mm pour les HE. *K. pneumoniae* et *Shigella sp* ont été extrêmement sensibles aux extraits hydro-éthanoliques. En milieu liquide, l'HE de *L. multiflora* a une plus forte activité antibactérienne. L'HE de *Lippia multiflora* a donné les plus faibles CMI : 0,9 et 3,7 mg/mL, contre *K. pneumoniae* et *Shigella sp* et *E. coli* respectivement. La dilution des antibiotiques dans l'HE de *H. suaveolens* accentue leur pouvoir inhibiteur contre *E. coli*. L'ofloxacine dissoute dans l'HE de *L. multiflora*, inhibe plus fortement la croissance de *E. coli* et de *Shigella sp*. La combinaison de l'HE avec ces antibiotiques a révélé une action synergique renforcée contre certaines souches. Cette synergie reste à élucider.

Mots clés : Huile essentielle, extraits hydro-éthanolique, activité antimicrobienne, *Hyptis suaveolens*, *Lippia multiflora*

Antibacterial activity of *Hyptis suaveolens* and *Lippia multiflora* leaf extracts against three extended-spectrum beta-lactamase producing bacterial strains

Abstract: The incidence of infectious diseases has increased in recent years due to the emergence of resistant bacteria. The aim of this study was to assess antibacterial potential of *Hyptis suaveolens* and *Lippia multiflora*. To this end, essential oil (EO) and hydro-ethanolic extracts (Eeth) 1 and 2 of the leaves were tested in solid and liquid media on three beta-lactamase-producing strains. A possible synergy of action with two of conventional antibiotics was sought by combination. Inhibition diameters ranged from 17 to 28 mm for EO. *K. pneumoniae* and *Shigella sp* were extremely sensitive to hydro-ethanol extracts. In a liquid medium, essential oil of *L. multiflora* has a stronger antibacterial activity. *Lippia multiflora* EO gave the lowest MIC: 0.9 and 3.7 mg/mL, against *K. pneumoniae* and *Shigella sp* and *E. coli* respectively. Dilution of antibiotics in *H. suaveolens* EO increased their inhibitory power against *E. coli*. Ofloxacin dissolved in *L. multiflora* EO inhibited the growth of *E. coli* and *Shigella sp* more strongly. Combination of EO with these antibiotics revealed a stronger synergistic action against certain strains. This synergy remains to be elucidated

Key words: Essential oil, hydroethanol extracts, antimicrobial activity, *Hyptis suaveolens*, *Lippia multiflora*

1- Introduction

Au cours des vingt dernières années, l'incidence des maladies infectieuses a pris de l'ampleur du fait de l'émergence des bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques conventionnels [1]. L'utilisation inadéquate des antibiotiques aussi bien en médecine humaine que vétérinaire, favorise l'émergence des bactéries multi-résistantes (BMR) qui peuvent se propager des animaux vers les humains par le biais des aliments et ont des conséquences sanitaires et environnementales [2]. Les souches concernées sont résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques et souvent sources d'impasses thérapeutiques. Des études menées à Abidjan (Côte d'Ivoire) entre 1998 et 2002 ont rapporté que 25% de *Staphylococcus aureus* isolés sont résistants à la méticilline [3]. Guessenn et al. [4] ont montré que parmi des souches de *Escherichia coli* isolées d'infections urinaires de malades hospitalisés, 95% présentaient une résistance à l'amoxicilline et 12,9% à la ciprofloxacine. Ainsi, l'épidémiologie des espèces multi-résistantes, potentiels agents des gastroentérites, représente-elle en Côte d'Ivoire, une préoccupation des autorités à charge de la santé et sécurité sanitaire des aliments [5].

Par ailleurs, il a été rapporté que près de 74 % des plantes médicinales possèdent des propriétés d'intérêt pharmacologique [6]. Selon les statistiques de l'OMS, près de 80 % de la population des pays en développement utilisent les plantes médicinales et cela a pris de l'ampleur à travers le monde [7]. Aujourd'hui, une des alternatives pour faire face à la problématique de la résistance microbienne est l'exploitation des vertus médicinales des plantes

[8,9]. Des extraits de plantes ont montré des activités antimalarique, antibactérienne, larvicide, insecticide et fongitoxique [10,11].

Cette étude vise à évaluer in vitro les potentialités antimicrobiennes d'extraits de *Hyptis suaveolens* et *Lippia multiflora*, deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne à la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques.

2-Matériel et Méthodes

2-1-Matériel végétale

Le matériel végétal est constitué de feuilles fraîches de *H. suaveolens* et *L. multiflora*, collectées de juillet à septembre 2013 dans le district de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). Les feuilles ont été identifiées par Amani N'guessan, botaniste de à l'Institut National Polytechnique Félix HOUPOUËTBOIGNY, et un échantillon a été déposé à l'Herbier. Les feuilles récoltées sont exposées au laboratoire à température ambiante ($27 \pm 2^\circ\text{C}$), à l'abri de la lumière directe du soleil pendant dix jours pour séchage.



A : Tiges feuillées de *Lippia multiflora* ;

B : Tiges feuillées de *Hyptis suaveolens*

Figure 2: Tiges feuillées de *Hyptis suaveolens* et de *Lippia multiflora*

2-2-Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées pour les tests biologiques ont été fournies par l'Unité des Antibiotiques de Substances Naturelles et Enquête sur la Résistance des Micro-organismes à des fins anti-Infectieuses (ASSURMI), Département de Bactériologie à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Les souches utilisées sont des souches cliniques productrices de Béta-lactamase à Spectre Elargi (BLSE) isolées chez des malades. Ce sont : *Escherichia coli* (n°150C/12) ; *Shigella* "sp." (n°1177C/10) et *Klebsiella pneumoniae* (n°141C/12). Outre ces trois souches cliniques, une souche de référence de *Escherichia coli*, (*Escherichia coli* CIP 7624 (ATCC 25922)) a aussi été testée.

Afin d'obtenir de jeunes colonies pour les tests, les différentes souches bactériennes ont été repiquées par stries et incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

2-3- Extraction d'huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été obtenues par entraînement à la vapeur d'eau pendant 3 heures à pression normale à l'aide d'un appareil Clevenger. L'huile recueillie est séchée sur sulfate de magnésium anhydre puis conservées à 4°C dans un récipient en bouteille hermétique fermé.

2-4- Procédure d'extraction hydro alcoolique

Les feuilles séchées sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique (RETSCH de type : SK100/C Gusseinsen) (broyat I). Après l'extraction de l'huile essentielle, le tourteau de feuilles est à nouveau séché dans les mêmes conditions que précédemment et puis broyé (Broyat II). Les broyats de type I (sans extraction de l'Huile essentielle) et II (après extraction de l'huile essentielle) obtenus sont tamisés et conditionnés dans des sachets en polyéthylène puis conservées au réfrigérateur à 4°C dans de l'azote liquide.

Les poudres de feuilles sèches obtenues (sans extraction et après extraction de l'huile essentielle) ont servi à la préparation des extraits éthanoliques de types 1 (sans extraction de l'huile essentielle = Eeth 1) et de type 2 (après extraction de l'huile essentielle = Eeth 2).

En effet, selon la méthode décrite par Zirihi *et al.*, [12], cent (100) g de poudre sont macérés dans 1 L d'un mélange éthanol/eau (70/30) (v/v) à température ambiante (28°C) par agitation pendant 24 heures. Après filtration sur coton puis sur papier Watmann (Watmann n°2), l'extrait a été concentré au 2/3 sous pression réduite à 40°C à l'évaporateur rotatif (Buchi 461 Water Bath) puis lyophilisé. La poudre résiduelle est l'extrait éthanolique à 70% (Eeth. I ou II) et est conservé à 4°C dans une bouteille hermétiquement fermée.

2-5- Préparation de l'échantillon et de l'inoculum

L'huile essentielle (HE) est mélangée au Tween 80 (Merck-Schuchardt) dans la ration Tween/HE (1/9) comme décrit par Opalchenova et Obreshkova [13].

Deux cent (200) mg d'extrait éthanolique (Eth 1 ou 2) sont dissouts dans 1 mL d'un mélange DMSO/eau distillée dans le rapport 1/13 (v/v).

Deux antibiotiques de référence que sont l'Oxacilline (Medicef, Tunisie) et l'Ofloxacin (Sanofi aventis, France) (200 mg), dissouts chacun dans 1 mL d'un mélange essentiel huile/Tween 80, ont également été testés.

2-6- Activité antibactérienne en milieu gélosé

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

En effet, des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés dans de la gélose Mueller-Hinton (MH) (Bio-Rad, France) préalablement préparée et coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. A partir de colonies jeunes (12 à 24 heures), une suspension bactérienne est préparée dans du Bouillon Mueller Hinton (MHB) (Bio-Rad, France) par introduction d'une colonie dans 10 mL de MHB. Après une homogénéisation du milieu, un volume de 0,1 mL de la suspension obtenue est introduit dans un tube contenant 10 mL de MHB. La suspension ainsi obtenue correspond à un inoculum bactérien d'environ 5.10^6 UFC/mL. Après un ensemencement par inondation de la gélose Mueller Hinton, un volume de 80 µL d'extrait est introduit dans le puit. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. L'activité antibactérienne des extraits sont évaluée par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits. La valeur moyenne des tests réalisés trois fois est retenue.

2-7- Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) correspond à la concentration la plus faible de l'extrait à partir de laquelle aucune croissance microbienne visible n'est observée [14,15]. Pour chaque extrait éthanolique, une gamme de concentration allant de 500 à 31,25 mg/mL est préparée dans de l'eau distillée par la méthode de la double dilution. L'inoculum bactérien est préparé dans du Bouillon Mueller Hinton (MHB) comme précédemment. Un volume de 50 µL de la gamme de concentration est mélangé à 0,95 mL d'inoculum bactérien contenu dans des tubes à hémolyse. La concentration ainsi diluée vingt fois permet d'obtenir une nouvelle gamme de concentrations de 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56 et 0,78 mg/mL. Un tube témoin contenant 50 µL d'eau distillée et 0,95 mL de bouillon stérile est préparé.

Pour l'huile essentielle, un volume de 100 µL est introduit dans 1,9 mL de Bouillon Mueller Hinton (MHB). Une série de double la dilution permet d'obtenir une gamme de concentration de 86, 43, 21,5, 10,75, 5,37, 2,68, 1,34 et 0,67 mg/mL. Un tube témoin contenant 100 µL d'eau distillée et 1,9 mL de bouillon stérile est aussi préparé.

Que ce soit pour les extraits éthanoliques que pour l'huile essentielle, la CMI correspond à la plus faible concentration d'extrait pour laquelle aucun trouble n'est constaté dans le tube, après une incubation à 37°C pendant 24 heures. La turbidité du milieu est examinée dans chaque tube en regardant (à l'aide de l'œil humain) à travers la lumière du jour. La transparence des tubes indique l'effet antimicrobien de l'extrait/l'huile essentielle testé(e). La turbidité montre son inefficacité (un signe de croissance bactérienne).

2-8- Détermination de la concentration minimale bactéricide

Après la détermination de Concentration Minimale Inhibitrice CMI, la Concentration minimale Bactéricide (CMB) est déterminée par un repiquage sur gélose (gélose Mueller Hinton) des tubes dans lesquels aucune croissance visible n'a été observée. A cet effet, des tubes témoins ont été préparés par culture en milieu gélosé à partir de dilutions de 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} , de l'inoculum de départ. Ces tubes correspondent respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de bactéries survivantes dans la culture. Après une incubation

à 37°C pendant 24 heures, la CMB est déterminée en comparant les tubes témoins aux tubes expérimentaux. Le premier tube expérimental dans lequel le nombre de germe déterminé est inférieur ou égale à celui de la dilution (10^{-4}), correspond au CMB.

2-9- Analyses statistiques

Les résultats ont été analysés par la méthode de la variance (ANOVA) en utilisant la version du logiciel STATISTICA 6,0 (traitement par facteur ANOVA 1). La comparaison des moyennes a été réalisée par le test de Tukey à 5 %.

3- Résultats et discussion

3-1- Rendements des extractions

Les rendements moyens des extraits d'huiles essentielles (HE) et éthanoliques à 70% (Eeth 1) sont respectivement de $0,34 \pm 0,20$ % et $13,01 \pm 1,30$ % pour *H. suaveolens* et $1,30 \pm 0,40$ % et $14,30 \pm 1,30$ % pour *L. multiflora* (Tableau 1). Après l'extraction de l'huile essentielle, les extraits éthanoliques à 70% (Eeth. 2) ont été obtenus avec des rendements de $14,40 \pm 0,50$ % et $13,80 \pm 1,70$ % respectivement pour *H. suaveolens* et *L. multiflora*. Les rendements des extraits à l'éthanol à 70 % sont supérieurs à ceux des huiles essentielles pour les deux plantes ($p < 0,01$).

Il n'y a pas de différence significative entre les rendements des extraits éthanoliques ($p > 0,01$). Le rendement de l'huile essentielle de *L. multiflora* est plus élevée que celles de *H. suaveolens*.

L'huile essentielle est extraite des feuilles de *H. suaveolens* avec un rendement de 0,34% similaire à celui obtenu par Iwalokun et al. [16] avec les feuilles d'un chémotype de la même plante 26. Cependant, des rendements plus faibles variant de 0,21% à 0,23% ont été respectivement obtenus par Malele et al. [17] et par Adjou et al [18].

L'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* est obtenue avec un rendement de 1,32 %. Ce rendement est inférieur à celui obtenu par Kunle et al. [19] (1,57 %). Les différences de rendement pourraient s'expliquer par la température, le taux d'humidité, les composants du sol, le cycle végétatif de la plante et la méthode utilisée pour l'extraction.

Tableau 1 : Rendements d'extraction de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *Hyptis suaveolens* et de *Lippia multiflora*

Extraits	Espèces végétales					
	<i>Hyptis suaveolens</i>			<i>Lippia multiflora</i>		
	Eeth 1	HE	Eeth 2	Eeth 1	HE	Eeth 2
Masse de broyat ou de feuilles (g)	36	300	36	36	300	36
Masse extrait (g)	4,68	1,02	5,16	5,16	3,96	4,99
Rendements (%)	$13,01 \pm 1,29^b$	$0,34 \pm 0,21^a$	$14,36 \pm 0,53^d$	$14,34 \pm 1,26^d$	$1,32 \pm 0,45^b$	$13,88 \pm 1,70^{bd}$

Eeth 1 : extrait hydro-éthanolique sans extraction de l'huile essentielle, **HE :** huile essentielle, **Eeth 2 :** extrait hydro-éthanolique de résidu d'extraction de l'huile essentielle

3-2- Activités antibactériennes des extraits en milieu gélosé

Le tableau 2 présente les résultats des activités antibactériennes des extraits en milieu gélosé.

Les extraits à l'éthanol à 70% (Eeth 1) ont inhibé la croissance bactérienne avec des diamètres allant de 6 ± 0 à 22 ± 0 mm pour *H. suaveolens* et de 6 ± 0 à 19 ± 0 mm pour *L. multiflora*.

Les huiles essentielles inhibent la croissance bactérienne avec des diamètres qui varient de 17 ± 0 à 28 ± 0 mm pour *H. suaveolens* et de 17 ± 0 à 25 ± 0 mm pour *L. multiflora*.

Après l'extraction de l'huile essentielle, les extraits à l'éthanol à 70% (Eeth 2) ont inhibé la croissance bactérienne avec diamètres variant de 12 ± 0 à 24 ± 0 mm pour *H. suaveolens* et de 8 ± 0 à 17 ± 0 mm pour *L. multiflora*.

L'analyse comparative a montré que les extraits à l'éthanol à 70 % (Eeth 2) de *H. suaveolens* inhibe plus fortement la croissance bactérienne ($p < 0,01$).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles varie en fonction des souches testées. En effet, l'huile essentielle de *L. multiflora* inhibe plus fortement la croissance de *Shigella* "sp" (25 mm), alors que celle extraite des feuilles de *H. suaveolens* inhibe plus fortement la croissance de *Klebsiella Pneumoniae* (28 mm). Les deux huiles essentielles ont des activités antibactériennes sensiblement égales contre les souches de *E. coli* ($p < 0,01$).

Tableau 2 : Diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *H. suaveolens* et de *L. multiflora*

		Diamètres de la zone d'inhibition (mm)					
		<i>Hyptis suaveolens</i>			<i>Lippia multiflora</i>		
		Eeth 1	HE	Eeth 2	Eeth 1	HE	Eeth 2
Souches testées	<i>K. p</i>	17	28	22,33	19	17	11,67
	<i>S. sp</i>	19,67	17	24	18,67	25	17
	<i>E. coli 1</i>	6	18,33	12	6	20,67	8
	<i>E. coli 2</i>	22	17,67	20,33	18,33	18,67	15,33

K. p: *Klebsiella Pneumoniae*; *S. sp.*: *Shigella sp.*; *E. coli 1*: *E. coli* ; *E. coli 2*: *E. coli* ATCC 25922

Eeth 1 : extrait hydro-éthanolique sans extraction de l'huile essentielle, *HE* : huile essentielle, *Eeth 2* : extrait hydro-éthanolique de résidu d'extraction de l'huile essentielle

3-3- Paramètres antibactériens des extraits à l'éthanol 70% et des huiles essentielles de feuilles de *Hyptis suaveolens* et de *L. multiflora* en milieu liquide

Les tableaux 3 et 4 présentent les paramètres antibactériens (MIC et MBC) des extraits à l'éthanol à 70% et de l'huile essentielle de feuilles de *Hyptis suaveolens* et de *L. multiflora* en milieu liquide.

L'activité bactéricide ou bactériostatique d'un extrait dépend de la valeur du rapport MBC/MIC. Selon Marmonier [20]., lorsque ce rapport est inférieur ou égal à quatre (≤ 4), la substance testée a un effet bactéricide. Dans le cas contraire, l'extrait a un effet bactériostatique.

Des trois extraits issus de feuilles de *H. suaveolens*, seule l'huile essentielle a un effet bactéricide ($MBC/MIC \leq 4$) contre les souches testées. *Klebsiella Pneumoniae* et *Shigella sp.*, souches productrice de bêta-lactamase ont été plus résistantes.

L'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* a un effet bactéricide ($MBC/MIC \leq 4$) avec une meilleure activité antibactérienne contre toutes les souches testées. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de cet extrait varient de 0,9 à 3,7 mg/mL avec une forte sensibilité pour la souche de *Klebsiella Pneumoniae* (CMI = 0,90 mg/mL) (tableau 4).

Des six extraits testés, seule l'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* a donné la meilleure activité antibactérienne sur toutes les souches bactériennes. La forte activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L. multiflora* a été mise en évidence par Goly et al. [21]. Ces derniers ont une CMI de 0,90 mg/mL contre des souches résistantes de *S. aureus* et *P. aeruginosa*, avec l'huile essentielle de *L. multiflora*.

Les extraits à l'éthanol à 70 % (Eeth 1 et 2) de feuilles de *H. suaveolens* et de *L. multiflora* sont sans effet sur les souches testées. Pourtant, selon Bagré et al. [22] et Zihiri et al. [12], l'éthanol facilite l'extraction des molécules à activités antibactériennes. Ces résultats sont différents de ceux de Goly et al. [21]. Effet, ces auteurs ont montré que l'extrait éthanolique obtenu après l'extraction de l'huile essentielle de feuilles de *H. suaveolens* a une forte activité antibactérienne contre *S. aureus* Méti R. et *P. aeruginosa* Ceft/Imp R. L'activité antibactérienne varie en fonction de la structure de la paroi bactérienne [23]. Aussi, la composition chimique des extraits varie-t-elle selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques [24].

Tableau 3 : Paramètres antibactériens de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *Hyptis suaveolens*

Paramètres antibactériens (mg/ mL)												
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>				<i>Shigella sp.</i>			<i>E. coli</i>			<i>E. coli</i> ATCC 25922		
Extraits	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
Eeth 1	>25	>25	nd	>25	>25	nd	>25	>25	nd	>25	>25	nd
HE	43	43	1	43	43	1	21,5	43	2	21,5	43	2

Eeth 2	>25	>25	nd	6,25	6,25	1	>25	>25	nd	6,25	>25	nd

nd : non déterminé, **CMI**: Concentration Minimale Inhibitrice, **CMB**: Concentration Minimale Bactéricide, **Eeth 1** : extrait hydro-éthanolique sans extraction de l'huile essentielle, **HE** : huile essentielle, **Eeth 2** : extrait hydro-éthanolique de résidu d'extraction de l'huile essentielle

Tableau 4 : Paramètres antibactériens de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *Lippia multiflora*

Paramètres antibactériens (mg/ mL)												
	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>			<i>Shigella</i> "sp"			<i>E. coli</i>			<i>E. coli</i> ATCC 25922		
Extraits	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CM B	CMB/CMI
Eeth 1	>25	>25	nd	>25	>25	nd	>25	>25	nd	>25	>25	nd
HE	0.90	1,8	2	3,7	7,5	2	3,7	3,7	1	3,7	3,7	1
Eeth 2	>25	>25	nd	6,25	6,25	1	>25	>25	nd	6,25	>25	nd-

nd : non déterminé, **CMI**: Concentration Minimale Inhibitrice, **CMB**: Concentration Minimale Bactéricide, **Eeth 1** : extrait hydro-éthanolique sans extraction de l'huile essentielle, **HE** : huile essentielle, **Eeth 2** : extrait hydro-éthanolique de résidu d'extraction de l'huile essentielle

3-4- Activités antibactériennes de la combinaison huile essentielle-antibiotiques

L'activité antibactérienne des combinaisons huile essentielle-antibiotique exprimée en diamètre de la zone d'inhibition, est traduite par les figures 2 et 3.

Les activités antibactériennes des deux antibiotiques utilisés sont caractérisées par les diamètres de zone d'inhibition variant de 18 à 45 mm et de 20 à 55 mm respectivement pour l'Oxacilline (Ox) et l'Ofloxacine (Of). La combinaison entre les huiles essentielles et les antibiotiques (Ox et Of) laisse voir soit une activité synergique, soit une activité antagonique selon la souche bactérienne.

En effet, la combinaison de l'Ofloxacine avec l'huile essentielle de feuilles de *H. suaveolens* montre activité antibactérienne synergique seulement contre la souche de *E. coli* productrice de BLSE. Le diamètre de la zone d'inhibition passe de 20 à 28 mm. Elle présente une activité antagonique contre toutes les autres souches bactériennes testées. La présence de l'huile essentielle de feuilles de *H. suaveolens* inhibe l'activité antibactérienne de l'Oxacilline. Sa combinaison avec cet antibiotique engendre une diminution du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de la plupart des souches bactériennes testées. Cette combinaison a un effet synergique que contre la souche de *E. coli* productrice de BLSE. Le diamètre de la zone d'inhibition passe de 18 à 36 mm.

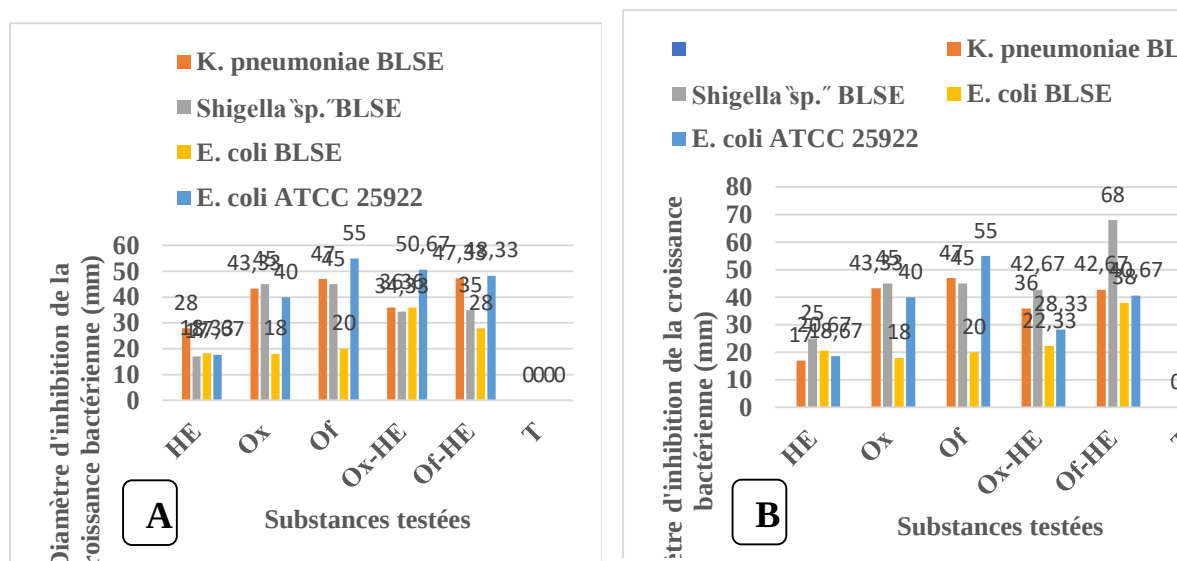
La combinaison de l'Ofloxacine avec l'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* a activité antibactérienne synergique contre les souches de *Shigella sp* et *E. coli* productrice BLSE. Le diamètre de la zone d'inhibition augmente et passe de 45 à 68 et 20 à 38 mm respectivement pour *Shigella sp* et *E. coli*. Alors que le diamètre de la zone d'inhibition diminue pour *Klebsiella Pneumoniae* et *E. coli* ATCC 25922 .

La combinaison de l'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* avec l'Oxacilline entraîne une diminution du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne. Seule la souche de *E. coli* productrice BLSE y est sensible. Le diamètre de la zone d'inhibition de sa croissance passe de 18 à 22 mm.

L'association de ces huiles essentielles avec ces deux antibiotiques (OX et Of) a permis de meilleures activités antibactériennes que contre la souche de *E. coli*. Cette combinaison de substance a un effet antagonique contre l'effet antibactérien de ces antibiotiques contre les autres souches testées.

Ces résultats sont différents de ceux de Goly et al. [21]. En effet, une étude similaire réalisée contre des bactéries résistantes a montré une forte activité synergique entre ces huiles essentielles (huile de feuilles de *Hyptis suaveolens* et de *L. multiflora*) et l'Ofloxacine contre *S. aureus* Méti R. et *P. aeruginosa* Ceft/Imp R. Dans le cas de notre étude, la combinaison de ces huiles essentielles avec ces mêmes antibiotiques a montré un effet antagonique contre *Klebsiella Pneumoniae* et *Shigella sp*, des bactéries productrices de bêta-lactamase à Spectre

Elargi (BLSE).



A : antibiotique-HE de *Hyptis suaveolens*; **B**: antibiotiques-HE de *Lippia multiflora*, **HE** : huile essentielle, **Ox**: Oxacilline, **Of**: Ofloxacin

Figure 2 : Diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne de la combinaison antibiotiques-huile

4-CONCLUSION

Les huiles essentielles testées ont une activité antibactérienne. Leur combinaison avec des antibiotiques révèle une action synergique contre certaines souches. Le résidu d'extraction d'huile essentielle contient encore des molécules à activités antimicrobiennes significatives sur les souches testées. L'isolement et la caractérisation de ces molécules pourraient guider plusieurs autres études contribuant à la lutte contre la bio-résistante bactérienne.

5- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Soro D., Kone M. W. et Kamanzi K., 2010. Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 40 : 307-317.
- [2] Masterton R., 2008. The importance and future of antimicrobial surveillance studies. *Clinical Infections Disease*, 47 (1) : 21-31.
- [3] Akoua-Koffi C., Guessennd N., Gbonon V., Faye-Ketté H. et Dosso M., 2004. La meticillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998-2001) : un nouveau problème en milieu hospitalier. *Médecine et maladies infectieuses*, 34 : 132-136.
- [4] Guessennd K. N., Loubienga S.W., Gbonon V., Kouassi-M'bengue A., Kacou-N'douba A., et Dosso M., 2004. Résistance aux antibiotiques de 241 Souches de *Escherichia Coli* Isolées des infections urinaires Des Patients hospitalisés au CHU De Cocody à Abidjan en 2001. *Journal of Sciences Pharmaceutical and Biology*, 5 (1) : 38-45.
- [5] Ouattara S. F. S., D'almedia M. A. et Kouakou K., 2009. Identification d'enterovirus par la technique cellulaire chez l'enfant de 0 à 5 ans à Boribana, quartier précaire d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, 32 (4) : 500-513.
- [6] Ginalin A. H. et Rahman A. U., 2005. Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 43-49.
- [7] Elujoba A. A., Odeleye O. M. et Ogunyemi C. M., (2005). Traditional medicine development for medical and dental primary health care delivery system in Africa. *African Journal Traditional Complementary and Alternate Medecine*, 2: 46-61.
- [8] Bagré I., Bahi C., Gnahoue K., Djaman A. J. et Guede-Guina F., 2007. Composition phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des feuilles de *Morinda morindoides* (BAKER) Milne-redh (rubiacaceae) sur *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*. *Journal of Sciences Pharmaceutical and Biology*. 8 : 15-23.
- [9] Adewale A., Winston A. M. et Olivia C., 2011. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation activity of crude extracts of *Bridelia ferruginea* leaf, a wound-healing plant of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 133 : 116-119.
- [10] Amusan, A.S., Idowu A.B. et Arowolo A.S., 2005. Comparative toxicity effect of bush tea leaves (*Hyptis suaveolens*) and orange peel (*Citrus sinensis*) oil extract on larvae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Tanzanian Health*, 7 : 174-178.
- [11] Chukwujekwu J.C., Smith P., Coombes P.H., Mulholland D.A. et Vanstaden J., 2005. Antiplasmodial diterpenoid from the leaves of *Hyptis suaveolens*. *Journal of ethnopharmacology* 102 : 295-297.

- [12] Zirihi G., Kra A. et Guédé-Guina F., 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa Pirifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albica*. *Revue de Médecine et Pharmacopée Africaine*, 17 : 11-19.
- [13] Opalchenova G. et Obreshkova D., 2003. Comparative studies on the activity of basil an essential oil from *Ocimum basilicum* L. against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *Journal of Microbiological Methods*, 54: 105-110.
- [14] Ouattara K., Djaman A. J., Coulibaly A., N'guessan J. D., M'baïasbe Y. J. et Guede Guina F., 2007. Activité antibactérienne de *Thonningia sanguinea* (THOS) sur *S. enterica* ser Enteritidis lysotype 6, une souche multirésistante. *Revue de Médecines et Pharmacopées africaines*, 20 : 1-8.
- [15] Oussou K. R., Yolou S., Boti J. B., Guessennnd K. N., Kanko C., Ahibo C. et Casanovad J., (2008). Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*, 24 (1): 94-103.
- [16] Iwalokun A., Otunba A. and Oyenuga O., *Current Ressources Journal of Biological Sciences*, 4(3), 265(2012).
- [17] Malele R., Mutaya Barwa C., Mwangi J., Thoiti G., Lopez A., Lucini E. and Zigadlo J., 2003. *Journal of Essential Oil Ressources*, 15, 438.
- [18] Adjou E.S. et Soumanou M.M., (2013). Efficacité des extraits de plantes contre les moisissures toxigènes isolées da l'arachide. *Journal of Applied Biosciences*, 70 : 5555-5566.
- [19] Kunle O., Okogun J., Egamana E., Emojevwe E. and Shok M., 2003. *Journal.of Phytomedecine*, 10, 59.
- [20] Marmonier A., Introduction to antibiotics studies techniques. Medical Bacteriology, Common Techniques (In French), p.227, 236 (1990).
- [21]. Goly C., Soro Y., Kassi B., Dadie A., Soro S. et Djè M., (2015). Antifungal activities of the essential oil extracted from the tea of savanna (*Lippia multiflora*) in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biology and Chemical Sciences* 9 (1): 24-34
- [22]. Bagré I., Bahi C., Ouattara K., Zirihi G.N., Djaman A.J., Coulibaly A. et N'guessan J.D., (2011). Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh sur la croissance « *in vitro* » de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie* 9 : 136-141.
- [23]. Dorman H. J. D. et Deans H. J. D., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88 (2): 308-316.
- [24] Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.

Optimisation de la production du bioéthanol à partir des biomasses locales : poudre de néré et fruits de rônier

TAKIN M'Ponkrou *, SEGBEAYA Kwamivi Nyonuwo

Laboratoire Chimie Organique et Science de l'Environnement (LaCOSE), Faculté des Sciences et Technique, Université de Kara ; B.P 404 Kara-Togo.

* Email : mponkrouakin@gmail.com Tél : 00228 93150066

Résumé : Au Togo, d'importantes quantités de biomasses organiques d'origines végétales à forte teneur en sucre ne sont pas valorisées. Ces biomasses constituent une solution intéressante en termes de production de bioéthanol. La présente étude s'intéresse à l'optimisation de la production de bioéthanol par bioconversion anaérobie des moûts sucrés de deux sources de biomasse locales : la poudre de néré et les fruits de rônier. Il examine les processus de production de bioéthanol à partir de ces biomasses, en mettant l'accent sur les techniques et les méthodes permettant d'améliorer le rendement de la production. Ceci implique l'identification et la mise en œuvre des conditions de fermentation optimales et l'exploration de nouvelles méthodes de traitement pour maximiser le rendement en bioéthanol. Les résultats obtenus ont montré que la fermentation du moût de 100 g de chaque substrat a permis de produire : 30 mL et 35 mL de bioéthanol à 85 ° à pH = 4 ; 40 mL et 45 mL de bioéthanol à 85,5° à pH = 4,5 respectivement avec la poudre de néré et les fruits de rônier. Grâce à une série de techniques et de méthodes, les résultats obtenus démontrent le potentiel prometteur de ces biomasses locales.

Mots clés : biomasse, optimisation, fermentation, bioéthanol

Optimization of bioethanol production from local biomass: Parkia biglobosa powder and Borassus aethiopum fruits

Abstract: In Togo, large quantities of organic biomass of plant origin with a high sugar content are not valorized. These biomasses offer an interesting solution in terms of bioethanol production. The present study focuses on optimizing bioethanol production by anaerobic bioconversion of sugar musts from two local biomass sources: néré powder and rônier fruits. It examines the processes of producing bioethanol from these biomasses, focusing on techniques and methods for improving production yields. This involves identifying and implementing optimal fermentation conditions and exploring new processing methods to maximize bioethanol yield. The results obtained showed that fermentation of the 100 g wort of each substrate produced: 30 mL and 35 mL of bioethanol at 85° pH = 4; 40 mL and 45 mL of bioethanol at 85.5° pH = 4.5 with néré powder and rônier fruit respectively. Thanks to a series of techniques and methods, the results demonstrate these local biomasses' promising potential.

Keywords : biomass, optimization, fermentation, bioethanol

1. Introduction

Les crises politiques, socio-économiques et les lourdes conséquences liées à l'utilisation des carburants fossiles avaient amené les dirigeants de la planète dans les années 1980 à penser aux énergies renouvelables et aux biocarburants. En Afrique en général et au Togo en particulier, il est nécessaire d'explorer toutes les cultures qui peuvent être utilisées à des fins de production de biocarburants et de retenir celles qui peuvent être économiquement rentables avec des risques sociaux et environnementaux maîtrisables.

De nos jours, le changement climatique, la dégradation et la pollution de la biosphère deviennent un sujet de préoccupation majeure dans un contexte d'explosion démographique, de menace de la sécurité alimentaire, d'industrialisation galopante et de demande d'énergie sans cesse croissante. Cette énergie, qui a rendu possible le développement industriel dans plusieurs régions du monde, est mal et sous-exploitée en Afrique en général et au Togo en particulier. Potentiellement riche en ressources d'énergies renouvelables et plus particulièrement en biomasse végétale, le Togo possède paradoxalement une très faible consommation énergétique par rapport à la moyenne africaine qui est de 0,6 kWh par habitant. Les enjeux énergétiques sont nombreux au Togo. Selon les études d'Ongono [1], une augmentation de 1 % du PIB dans le secteur industriel entraîne une augmentation de 0,3 % de la consommation d'énergie ; et lorsque la consommation d'énergie augmente de 1 %, la croissance dans

le secteur des services s'améliore de 0,6 % environ. Ainsi, le pays fait face à une demande d'énergie qui croît sous le coût du développement et de la pression démographique.

L'une des conséquences de l'amélioration des conditions de vie des populations est la forte demande en énergie thermique pour les ménages alors que, la cherté de la vie est un frein à toutes les couches sociales d'accéder à l'approvisionnement du gaz butane pour leurs besoins énergétiques [2]. Généralement dans les pays en développement, la source d'énergie la plus utilisée dans les ménages est celle du charbon de bois. L'usage excessif du bois et du charbon de bois entraîne la déforestation qui à son tour engendre un effet négatif sur l'environnement [2]. Selon le rapport de la Banque Mondiale en 2010 sur le bilan énergétique au Togo, la biomasse demeure la principale source d'énergie consommée. Elle représente en moyenne 70 à 80 % des consommations finales totales et sert à l'approvisionnement des secteurs domestiques et de l'artisanat. D'après le même rapport, au plan national (Togo), 61 % des ménages utilisent uniquement du bois, 24 % le charbon de bois et le bois de chauffe et 15 % uniquement le charbon de bois, 75 % des ménages ruraux utilisent le bois de chauffage avec une consommation de 347 kg/an/hab, tandis que 72 % des ménages urbains utilisent le charbon de bois pour environ 59 kg/an/hab [3]. Avec cette consommation vertigineuse du bois qui risque de s'accroître dans les années à venir et surtout vu qu'aucune disposition concrète n'est prise pour équilibrer la consommation d'énergie ligneuse avec la capacité de production des forêts, on peut estimer que le Togo tend vers une incapacité chronique à répondre à ses besoins en bois comme source d'énergie et à une disparition des forêts qui constituent les sources d'approvisionnement. Cette consommation accrue du bois et la forte dégradation des forêts au Togo est due au coût des énergies fossiles et la difficulté de desservir les régions enclavées.

La quête de sources d'énergie renouvelables et durables a pris une importance croissante au cours des dernières décennies, en réponse aux préoccupations environnementales et à l'épuisement des ressources fossiles [4]. De nos jours, le changement climatique, la dégradation et la pollution de la biosphère deviennent un sujet de préoccupation majeure dans un contexte d'explosion démographique, de menace de la sécurité alimentaire, d'industrialisation galopante et de demande d'énergie sans cesse croissante [5]. Cette énergie, qui a rendu possible le développement industriel dans plusieurs régions du monde, est mal et sous-exploitée en Afrique en général et au Togo en particulier [6]. Parmi les alternatives prometteuses, le bioéthanol se distingue comme un biocarburant potentiellement viable, capable de réduire les émissions de gaz à effet de serre et de diversifier les sources énergétiques [7]. Le bioéthanol est principalement produit par la fermentation de matières premières riches en sucres ou en amidons, telles que la canne à sucre, le maïs et la betterave sucrière [8]. Cependant, l'utilisation de matières premières alimentaires soulève des questions éthiques et de sécurité alimentaire, incitant les chercheurs à explorer des matières premières non alimentaires pour la production de bioéthanol [9].

Dans ce contexte, notre étude se concentre sur l'exploitation de deux ressources végétales africaines : les fruits de rôniers (*Borassus aethiopum*) et la poudre de néré (*Parkia biglobosa*). Ces plantes sont abondantes dans certaines régions d'Afrique de l'Ouest et présentent un potentiel inexploité pour la production de bioéthanol [10], [11]. *Borassus aethiopum* est un grand arbre, palmier poussant dans un sol sablonneux, d'environ 20-30 mètres de haut, avec un tronc droit. Le fruit est gros et fibreux, contenant généralement trois parties en forme de noix, chacune contenant une seule graine [12]. En raison de son importance utilitaire dans la construction [11] et de la forte menace à laquelle il est confronté, le rônier est répertorié comme plante prioritaire en Afrique subsaharienne par les experts de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) [13]. Les racines de la plante sont utilisées dans les remèdes traditionnels en Afrique de l'Ouest saharienne, et la sève fermentée donne une boisson alcoolisée connue sous le nom de *todi* dans les pays asiatiques et sahariens, mais le fruit de *Borassus* riche en sucre et en fibres est rarement apprécié [14]. Le rônier, également connu sous le nom de *palmyra*, produit des fruits riches en amidon et en sucres fermentescibles. De son côté, le néré, un arbre légumineux, est couramment utilisé pour ses gousses et ses graines, qui sont transformées en une poudre nutritive et multifonctionnelle. La pulpe qui entoure les graines est peu appréciée des locaux, malgré sa forte teneur en sucre [15].

L'objectif principal de cette étude est de caractériser les fruits de rôniers et la poudre de néré en termes de composition chimique et de potentiel fermentescible, et de développer des méthodes efficaces pour la production de bioéthanol à partir de ces matières premières. Nous analyserons les différents paramètres influençant le rendement en bioéthanol, tels que la concentration en sucres, et les conditions de fermentation. En fin de compte, cette recherche vise à évaluer la viabilité économique et environnementale de l'utilisation de ces ressources locales pour la production de bioéthanol, contribuant ainsi au développement de solutions énergétiques durables adaptées aux contextes régionaux. Ainsi, ce travail s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources endogènes et de promotion d'une bioéconomie circulaire, où les résidus agricoles et les plantes sous-utilisées jouent un rôle central. En outre, il offre une perspective intéressante pour les pays en développement cherchant à réduire leur dépendance aux carburants fossiles tout en stimulant les économies locales et en améliorant la sécurité énergétique.

2. Matériel et méthodes

Le matériel végétal utilisé est constitué de la chaire des fruits de rônier échantillonnés entre décembre et Mars dans la préfecture de la Kozah dans le quartier Koungouyo situé à l'Ouest de la ville à 5 km environ de l'université de Kara. Les fruits de néré sont collectés entre Janvier et Avril dans la préfecture de Dankpen située à 85 km environ à l'Ouest de la ville de Kara. L'étude a été réalisée de Février à Avril, la période de l'année où les deux biomasses sont disponibles.

La levure sèche active de boulangerie, *Saccharomyces cerevisiae* a été utilisée pour la fermentation alcoolique des broyats en bioéthanol. Ce matériel biologique a été bien conservé dans des endroits adéquats pour éviter sa dénaturation.

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation d'une masse de la biomasse végétale, dans une étuve isotherme à une température de 105°C et à la pression atmosphérique, jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon [16].

La méthode utilisée pour le dosage des sucres totaux est celle proposée par Dubois [17], cette méthode possède une très grande spécificité.

L'échantillon est chauffé en présence d'acide sulfurique concentré et du phénol à 5%. Les sucres s'hydrolysent en donnant des furfurals qui réagissent avec le phénol pour donner des composés colorés en jaune brun dont l'intensité est fonction de la concentration en sucre de l'échantillon et susceptibles d'un dosage spectrophotométrique UV-visible à la longueur d'onde de 490 nm.

En effet en milieu acide et à chaud, les sucres totaux ou les oses donnent des dérivés du furfural (l'hydroxyméthylfurfural dans le cas d'un hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose) ces dérivés se condensent avec le phénol pour donner un complexe de couleur jaune brun. Les termes « Sucres totaux » ou « oses neutres » sont utilisés pour désigner les monosaccharides neutres entrant dans la composition des polysaccharides. Un (1 mL) de jus pur de chaque fruit est dilué 1000 fois, après filtration, 0,5 mL du filtrat et 0,5 mL du phénol sont introduits dans trois tubes à essais l'ensemble est agité pour homogénéiser. Après 10 minutes, 2,5 mL d'acide sulfurique concentré est ajouté après agitation, le tout est placé au bain marie à 30°C pendant 30 minutes. Enfin, l'absorbance est lue au spectrophotomètre UV-visible à 490 nm [17].

3. Résultats et discussion (Times New Roman 11 normal)

3.1. Caractérisation physicochimique des biomasses.

Tableau I : Teneur en eau, cendre et en sucres totaux, puis taux de matières totales solubles (TMTS)

Paramètres	Fruits de rônier séché	Poudre du fruit de néré
Teneur en eau (%)	90,158 ± 1,53	56,543 ± 0,856
Teneur en cendre (%)	34,246 ± 0,345	24,103 ± 0,139
Sucres totaux (mg/g)	800,00 ± 0,035	0,267 ± 0,003

TMST (°Brix)	18,00 ± 0,1	10 ± 0,1

Le tableau montre que la teneur en eau varie de 05,22 à 90,53 ; la teneur en eau la plus élevée est obtenue dans les fruits de melon (90,53 %) et la plus faible est obtenue dans la poudre de néré (05,22 %). La différence des teneurs en eau serait liée à la nature de chaque substrat, la poudre de néré étant sous séchée d'avance et les autres sont des fruits gorgés d'eau. Nos résultats sont similaires aux valeurs trouvées dans la littérature. Pour les sucres totaux, la teneur en sucres totaux de nos biomasses varie de 40 à 200 ; la valeur la plus élevée est obtenue dans les fruits de rônier (*Borassus aethiopum*) (2000 mg/g) et la plus faible dans la poudre de néré (40 mg/g). Cette différence serait due à la composition phyco-chimique et à la nature de chaque biomasse. Quant au taux de solides solubles, les valeurs varient de 10 à 18. La valeur la plus élevée est obtenue dans les fruits de rônier (18 °Brix) et la plus faible dans la poudre de néré (10 °Brix). Ces résultats montrent que le bioéthanol de première génération à base des fruits de rônier (*Borassus aethiopum*) pourrait avoir le meilleur rendement car ayant une teneur en sucres totaux et un taux de matières totales solubles (TMTS (°Brix)) plus élevée comparé aux autres biomasses de première génération utilisées. Ces résultats sont proportionnels avec les résultats du Brix mesuré au cours de la fermentation à partir du réfractomètre (Tableau 3).

3.2. Teneur en macronutriments des biomasses

Tableau II : Teneur en eau, cendre et en sucres totaux, puis taux de matières totales solubles

Paramètres	Fruits de rônier	Poudre du fruit de néré
Glucides (%)	24,720 ± 0,539	18,884 ± 0,438
Protéines (%)	3,424 ± 0,057	8,226 ± 0,4085
Lipides (%)	1,918 ± 0,026	2,244 ± 0,001
Sucres totaux (mg/g)	800,00 ± 0,035	0,267 ± 0,003
TMST (°Brix)	18,00 ± 0,1	10 ± 0,1

Les glucides sont la source principale de sucre fermentescible pour la production de bioéthanol. Plus la teneur en glucides est élevée, plus la biomasse est potentiellement utile pour produire du bioéthanol. La teneur en glucide est généralement élevée dans les fruits de rônier séchés et dans la poudre du fruit de néré. Une teneur élevée en glucides indique que le fruit de rônier séché peut être une bonne source de sucre pour la fermentation. Cela pourra en faire des fruits de rônier séché un candidat prometteur pour la production de bioéthanol. La poudre de néré, avec une bonne teneur en glucides, peut également être utilisée pour produire du bioéthanol, bien que son rendement puisse être inférieur à celui du fruit de rônier. Les protéines ne contribuent pas directement à la production de bioéthanol et peuvent même être des inhibiteurs dans le processus de fermentation à des teneurs très élevées [18]. La teneur en protéines est relativement faible dans les biomasses utilisées, cela favoriserait la production à partir de ces biomasses car renfermant moins de composants non fermentescibles, augmentant l'efficacité de la production de bioéthanol car ces protéines constituent la source d'azote pour les levures de fermentation [19]. Aussi, une teneur élevée en protéines peut être défavorable pour la production de bioéthanol. Il pourrait être nécessaire de traiter ou d'éliminer les protéines pour optimiser le rendement en bioéthanol.

Les lipides, ne sont pas utilisés dans la production de bioéthanol et peuvent également nuire au processus de fermentation. Une faible teneur en lipides est avantageuse pour la production de bioéthanol, car cela signifie moins de composés non fermentescibles. Une teneur modérée en lipides peut nécessiter une étape de prétraitement pour éliminer ou réduire les lipides avant la fermentation. Les deux biomasses utilisées ont une teneur en lipides sensiblement égale relativement faible ; ceci prouve la capacité de ces biomasses à être transformées en bioéthanol. Fruit de rônier séché, avec une teneur élevée en glucides et des teneurs faibles en protéines et lipides, il semble être une biomasse plus favorable pour la production de bioéthanol. Quant à la poudre du fruit de néré, bien qu'elle

contienne une quantité notable de glucides, la présence de protéines et de lipides en quantités modérées pourrait nécessiter des traitements supplémentaires pour optimiser son utilisation dans la production de bioéthanol.

4. Conclusion

Le travail effectué a pour objectif d'évaluer le potentiel de production du bioéthanol à base des biomasses telles que les fruits de rônier et la poudre du fruit de néré. Les fruits utilisés dans ce travail sont pris dans leur état brut sans subir aucun prétraitement. La fermentation du moût de chaque biomasse a permis de produire : 44 mL de bioéthanol à 85,5° avec 100 g des fruits de rônier séchées et 25 mL de bioéthanol à 85,5° avec des rônes fraîches, 35,25 mL de bioéthanol à 76,8° avec de la poudre du fruit de néré.

Les résultats obtenus dans le présent travail démontrent que la biomasse de première génération utilisée a un grand potentiel pour la production du bioéthanol. Mais pour la biomasse de seconde génération, les processus de prétraitement et d'hydrolyse sont à améliorer afin de tirer profit de cette biomasse abondante. Le taux de solides solubles de la biomasse et le pH des moûts de fermentation sont les paramètres influençant la production du bioéthanol.

Il serait souhaitable de compléter le présent travail par une optimisation des différents paramètres liés à l'hydrolyse de la biomasse de seconde génération et à la fermentation alcoolique du moût des deux catégories de matières premières. Aussi, une analyse par GC/MS donnant la composition exacte de l'hydrolysate et du distillat des moûts, le suivi de la production du bioéthanol au cours de la fermentation, l'étude de la cinétique de fermentation auraient pu donner plus d'informations sur le déroulement de la fermentation.

Enfin, il serait intéressant d'étudier la possibilité de valoriser le résidu de la fermentation et confirmer son utilisation comme engrais chimique ou pour l'alimentation animale.

À la lumière de ces résultats, plusieurs perspectives peuvent être développées :

- Mener d'autres études afin d'optimiser les paramètres de production du bioéthanol à partir des déchets.
- Faire une étude technico-commerciale afin d'évaluer les coûts de la production.
- Faire l'analyse par GC/MS donnant la composition exacte de l'hydrolysate et du distillat des moûts, le suivi de la production du bioéthanol au cours de la fermentation, l'étude de la cinétique de fermentation

5. Bibliographie :

- [1] O. Patrice, "Munich Personal RePEc Archive Energy consumption and economic performance in Cameroon," no. 23525, 2010.
- [2] G. Madon, "Le bois, énergie de première nécessité en Afrique. Une ressource trop souvent négligée," *Afr Contemp*, vol. 261–262, no. 1, pp. 201–222, 2018, doi: 10.3917/afco.261.0201.
- [3] The World Bank, *République Togolaise: Revue des Politiques du Secteur de l'Energie et Revue du Sous-Secteur de l'Electricité*. 2013. [Online]. Available: <http://www.copyright.com/>.
- [4] L. Rocha-Meneses, M. Raud, K. Orupöld, and T. Kikas, "Potential of bioethanol production waste for methane recovery," *Energy*, vol. 173, pp. 133–139, 2019, doi: 10.1016/j.energy.2019.02.073.
- [5] B. A. F. Kosi Mawuéna Novidzro, Kodjo ANOUMOU and K. D. and K. H. K. Mamatchi MELILA, "Second Generation Bioethanol Production from Pineapple Peels," *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, vol. Vol.8, No., no. January, p. 17, 2021, doi: 10.24214/IJGHC/GC/8/4.
- [6] S. Djeddou, K. Boutemak, B. Cheknane, A. Hadj-Ziane, and F. M. Ayoub, "Etude de la production de bioéthanol de deuxième génération à partir d'un déchet agroalimentaire," *Journal of Renewable Energies*, vol. 21, no. 3, pp. 385–390, Sep. 2018, doi: 10.54966/jreen.v21i3.697.
- [7] N. Toure, K. Atobla, M. Cisse, and S. Dabonne, "Bioethanol production from cashew (*Anacardium occidentale* L.) apple juice by batch fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* E450," *Int J Biol Chem Sci*, vol. 13, no. 6, pp. 2546–2559, 2019, doi: 10.4314/ijbcs.v13i6.10.

- [8] J. Boucher, *Etude des possibilités de production d ' éthanol hémicellulosique dans le cadre d ' une bioraffinerie* To cite this version : HAL Id : tel-01278355 *Étude des possibilités de production d ' éthanol hémicellulosique dans le cadre d ' une bioraffinerie papeti*. 2016.
- [9] M. S. NOVIDZRO Kosi Mawuéna1*, HOMEZO Kokou Apollinaire1, D. K. and AMOUSSOU FAGLA Balbine2, MELILA Mamatchi1, and K. K. Honoré1, “Influence of Enzyme Concentration, Temperature and PH on the Enzymatic Hydrolysis Reaction in 2nd Generation Bioethanol Production with Sugar Cane Bagasse,” *J Chem Biol Phys Sci*, vol. 9, no. 4, 2019, doi: 10.24214/jcbps.a.9.4.29915.
- [10] L. C. Kouonon, K. G. Koffi, K. Adjoumani, A. D. S. Mobio, and K. A. E. Goba, “Phenotypical characterization of african locust bean (*Parkia biglobosa* (Jacq.) R. Br. ex G. Don, Fabaceae) from three savannahs types in Côte d'Ivoire,” *Int J Biol Chem Sci*, vol. 14, no. 2, pp. 555–569, May 2020, doi: 10.4314/ijbcs.v14i2.20.
- [11] D. S. O, B. A. K, and N. K, “Determination of mechanical characteristics and reaction to fire of RNIER (*Borassus aethiopum* Mart.) of Togo,” *Afr J Environ Sci Tech*, vol. 9, no. 2, pp. 80–85, Feb. 2015, doi: 10.5897/ajest2014.1767.
- [12] H. J. Pramod, A. V Yadav, V. N. Raje, M. Mohite, and G. Wadkar, “Antioxidant Activity of *Borassus flabellifer* (linn .) Fruits .,” *Asian J. Pharm. Tech.*, vol. 3, no. 1, pp. 16–19, 2013.
- [13] J. L. Cassou, “Le parc à rôniers (*Borassus aethiopum* Mart.) de Wolokonto dans le sud-ouest du Burkina Faso : structure, dynamique et usages de la rôneraie,” 1996.
- [14] T. K. Lim, “Edible medicinal and non-medicinal plants,” *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, vol. 1, pp. 1–738, 2012, doi: 10.1007/978-90-481-8661-7.
- [15] D. A. Alabi, Akinsulire O R, and Sanyaolu M A, “Qualitative determination of chemical and nutritional composition of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth,” *Afr J Biotechnol*, vol. 4, no. 8, pp. 812–815, 2005, [Online]. Available: <http://www.academicjournals.org/AJB>
- [16] J. W. Agger, P. J. Nilsen, V. G. H. Eijssink, and S. J. Horn, “On the Determination of Water Content in Biomass Processing,” *Bioenergy Res*, vol. 7, no. 1, pp. 442–449, 2014, doi: 10.1007/s12155-013-9388-2.
- [17] M. Dubois, K. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith, “A colorimetric method for the determination of sugars,” *Nature*, vol. 168, no. 4265, p. 167, 1951, doi: 10.1038/168167a0.
- [18] 2002 Ballerini et al., “Production d'éthanol à partir de biomasse,” 2002.
- [19] Madina Kechkar and N. Polytechnique, “PROCEDE DE CONVERSION DE LA BIOMASSE POUR LA PRODUCTION DURABLE DE BIOCARBURANTS,” Algérie, 2020.

Contribution à la mise au point d'un vaccin contre le paludisme placentaire

Bacary Soumana Diarra^{1, 2 *}, Mamadou A. Konare², Nouhoum Diarra², Alassane Dicko¹, Michal Fried³

¹Malaria Research and Training center (MRTC), Université des sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Bamako-Mali. BP : 1805, Tel : 20 22 52 77

² Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali – Faculté des Sciences et Techniques (FST) ; BPE 3206 ; Tel : 20 22 32 44

³Laboratory of Malaria Immunology and Vaccinology, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH, Rockville, Maryland, USA. MD20852, Tel: 4202126

*Email auteur correspondant : bsdiarra@icermali.org

Résumé

Le paludisme placentaire, provoqué par *Plasmodium falciparum*, reste un défi majeur en santé publique. Les érythrocytes infectés par ce parasite se fixent au placenta via le récepteur du sulfate de chondroïtine A (CSA), une adhésion médiée par la protéine PFEMP-1, membre de la famille VAR2CSA. Un des moyens de contrôler l'infection palustre est la maîtrise de l'activité de cette protéine. C'est pourquoi cette étude visait à évaluer l'effet inhibiteur des anticorps produits par des singes contre cette protéine. Des érythrocytes infectés par *P. falciparum* ont été prélevés chez les femmes enceintes reçues en consultation prénatale dans la Commune rurale de Ouélessébougou au Mali. Des tests d'inhibition de liaison au CSA ont été réalisés en utilisant ces érythrocytes infectés sur des plasmas des singes préalablement immunisés avec l'Anti- VAR2CSA. Une diminution significative des liaisons des érythrocytes infectés au récepteur CSA a été observée chez 17 femmes, atteignant jusqu'à 80 %. Les plasmas post-vaccinaux ont montré une capacité de réduction de liaison de 15 à 100% avec tous les parasites testés. Ces résultats constituent une approche novatrice dans la lutte contre le paludisme gestationnel, ouvrant ainsi une lueur d'espoir pour le développement d'un vaccin antipaludique pour les femmes enceintes.

Mots-clés : Paludisme gestationnel, Anticorps de singe, VAR2CSA, Mali

Contribution to the development of a vaccine against placental malaria

Abstract

Placental malaria, caused by *Plasmodium falciparum*, remains a major public health challenge. Erythrocytes infected by this parasite bind to the placenta via the chondroitin sulfate A (CSA) receptor, an adhesion mediated by the PFEMP-1 protein, a member of the VAR2CSA family. One way of controlling malaria infection is to master the activity of this protein. The aim of this study was therefore to evaluate the inhibitory effect of antibodies produced by monkeys against this protein. *P. falciparum*-infected erythrocytes were collected from pregnant women attending antenatal clinics in the rural commune of Ouélessébougou, Mali. CSA binding inhibition assays were performed using these infected erythrocytes on monkey plasmas previously immunized with Anti- VAR2CSA. A significant decrease in the binding of infected erythrocytes to the CSA receptor was observed in 17 women, reaching up to 80%. Post-vaccination plasmas showed a binding reduction capacity of 15 to 100% with all parasites tested. These results represent a novel approach to the fight against gestational malaria, opening up a hope for the development of a malaria vaccine for pregnant women.

Key words: Placenta malaria, Monkey Antibodies, VAR2CSA, Mali

1 Introduction

Le paludisme placentaire (PM) est un problème de santé publique qui présente des risques considérables pour la femme enceinte et l'enfant. Des statistiques récentes ont enregistré jusqu'à 50 000 décès maternels et 200 000 morts de naissances par an en Afrique Sharma et al, 2022 [1]. Pendant la grossesse, les parasites *Plasmodium falciparum* se séquestrent dans le placenta en se liant au récepteur sulfate de chondroïtine A (CSA) exprimé à la surface du syncytiotrophoblaste villositaire. Au fil des grossesses successives, les femmes développent des anticorps spécifiques qui inhibent l'adhésion des parasites à la CSA et qui sont associés à une réduction de la prévalence de l'infection, à une diminution de la densité des parasites et à une amélioration de l'issue de la grossesse Avril et al, 2011[2]. Le paludisme placentaire est associé à des résultats négatifs tant pour la mère que pour son nouveau-né. L'anémie maternelle sévère et l'insuffisance pondérale à la naissance (IPN) sont des séquelles bien établies du paludisme placentaire, et toutes deux sont associées à la mortalité maternelle et infantile. Les nombreux efforts d'élimination ou d'éradication du paludisme ont abouti à une diminution des taux d'incidence du paludisme au niveau mondial et dans la région Afrique en 2012 WHO, 2013 [3] Ces avancées restent toutefois fragiles, en raison du développement incessant des résistances des parasites aux antipaludiques et de l'extension progressive de la résistance des moustiques aux insecticides WHO, 2023 [4] Le développement de nouvelles stratégies notamment les vaccins s'imposent face à ce fléau notamment chez la femme enceinte. Les premières études *in vitro* ont examiné la liaison au CSA de 6 domaines DBL recombinants de VAR2CSA Avril et al, 2006; Boudin C, & Robert V, 2003 [5-6] . D'autres travaux ont montré que divers domaines VAR2CSA sont

impliqués dans la production d'anticorps ciblant des épitopes partagés entre différentes lignées de parasites Avril et al, 2008; Obiakor et al, 2013 [7-8] De même, certains travaux ont suggéré que l'espèce *P. falciparum* chez les primates non humains (PNH) constituerait le meilleur modèle pour l'avancement des interventions contre les VAR2CSA Davison et al, 2000 [9]. Cette étude avait pour but de tester de nouvelles formes de candidats vaccins contre le paludisme placentaire qui induiraient des anticorps avec une activité fonctionnelle semblable à des anticorps naturellement acquis.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique

Des isolats de *Plasmodium falciparum* provenant des femmes enceintes ont été utilisés pour déterminer leur capacité d'adhésion au CSA. Sur ces parasites sont portés les numéros des femmes chez lesquelles ils ont été collectés. Les anticorps VAR2CSA provenant de neuf (9) espèces femelles de *Aotus nancymae*, âgées de 2 à 13 ans provenant du Centre Keeling (University Texas MD Anderson Cancer Center, Michalena), ont été utilisés pour estimer le taux d'anti-adhésion des parasites au CSA (voir Tableau I). Tous ces animaux étaient en âge de se reproduire et sont été hébergés et soignés conformément au « Guide pour le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire »

Tableau V : Codes des isolats parasitaires et des anticorps

Années de collecte	Codes des isolats de parasites provenant des femmes enceintes	Total des parasites	Code des anticorps provenant des Aotus	Total des anticorps
2020	3249 ; 3267 ; 3270 ; 3362 et 3406	5	1943 ; 86270 ; 86352 ; 86502 ; 86523 ; 86524 ; 86548 ; 86555 et 86596	9
2021	3574 ; 3581 ; 3614 ; 3669 ; 3730 ; 3731 ; 3792 ; 3796 ; 3825 ; 3844 et 3897	12	1943 ; 86270 ; 86352 et 86523	

2.2. Evaluation de l'activité inhibitrice de liaison des anticorps naturels des parasites au CSA chez les singes (avant/après vaccination)

2.2.1. Test d'adhésion du parasite au CSA : Pour supprimer l'adhérence des récepteurs immobilisés (CD36, BSA et CSA) préalablement introduits dans une boîte de pétri par succion à l'aide d'un embout jaune et appliquer 20 µL de solution de blocage (BSA 3%) pendant 20-30 minutes à température ambiante (25 – 30 °C). Après avoir retiré la solution de blocage, la suspension de parasites provenant de la culture convenablement diluée a été ajoutée et incubé pendant 20 minutes à la même température. Après un rinçage avec du PBS, les cellules liées ont été fixées avec du glutaraldéhyde à 0,5% et colorées avec du Giemsa à 1% pendant 1 min. Les plaques ont été ensuite lavées avec l'eau du robinet et séchées avant d'être lues au microscope. Au minimum 20 champs ayant une densité parasitaire élevée sont comptés en vue d'estimer les résultats du "test de liaison" le Pourcentage de la liaison au CSA a été calculée à l'aide de la formule suivante : (le nombre d'IE se liant au CSA) / ([le nombre d'IE liant au CSA] + [le nombre d'IE liaison au CD36])

2.2.2. Test d'anti- adhésion du parasite au CSA :

Un volume de 16 µL de suspension parasitaire (convenablement dilué) a été introduit dans des tubes Eppendorf numérotés de 1 à 20. Au contenu de chaque tube, 4 µL d'immunoglobuline G (IgG) provenant des Aotus y ont été additionnés. Après une incubation de 15 min à la température ambiante (25 – 30°C) le mélange est versé dans une boîte de pétri contenant 1 à 20 cercles molécules de CSA préalablement préparé en vue de permettre au parasite d'être inhibé pendant 20 min. Le mélange est ensuite lavé 3 fois avec du PBS et les cellules adhérentes sont fixées avec du glutaraldéhyde à 0,5%.

Après coloration avec une solution de Giemsa à 1% pendant 1 min et rinçage à plusieurs reprises avec l'eau de robinet, la lecture est réalisée à l'aide d'un microscope. Après avoir compté au moins 20 champs ayant une densité parasitaire élevée, le taux d'inhibition a été évalué à l'aide de la formule ci-dessous.

$$\text{Taux d'inhibition} = \left[1 - \frac{\text{Nombre de cellules EI liées dans le sérum test}}{\text{Nombre de cellules EI liées dans le sérum contrôle}} \right] \times 100$$

2.3. Gestion et analyse des données

Les informations recueillies ont été saisies dans une base de données utilisant le Datafax version 5.5.1. Elles ont ensuite été analysées avec le logiciel Stata version 12.1. Le test de Khi2 de Pearson a été utilisé pour comparer les variables qualitatives. Les activités d'inhibitrices médianes des candidats immunogènes et celles du sérum ont été comparées respectivement à l'aide des tests de Kruskal-Wallis et Wilcoxon.

3. Résultats

3.1. Activité inhibitrice de liaison des anticorps des parasites au CSA chez les singes (avant/après vaccination)

La **Figure 1** représente la réactivité des IgG de Aotus contre la longueur complète VAR2CSA natif et leur capacité à bloquer l'adhésion des parasites au CSA.

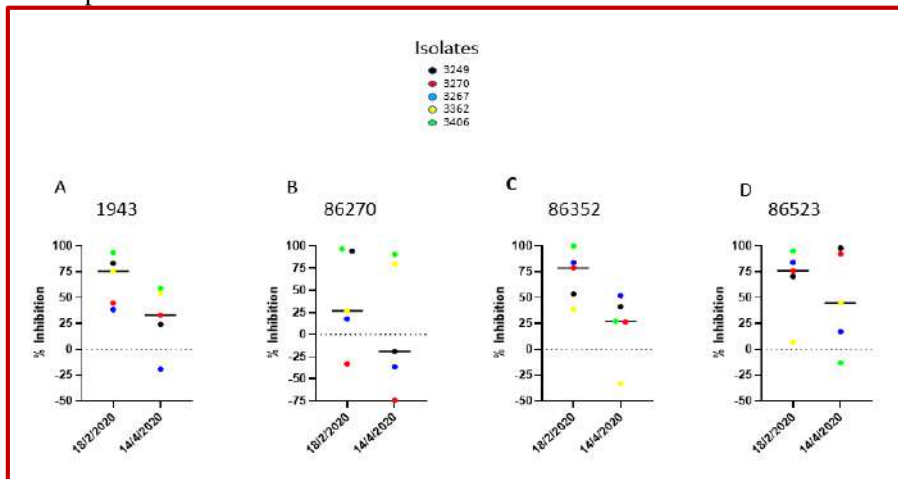


Figure 1 : Réactivité et capacité inhibitrice du plasma spécifique du VAR2CSA.

Des prélèvements de plasma (IgG) ont été effectués chez quatre Aotus (1943 (A), 86270 (B), 86352 (C) et 86523 (D) à deux moments différents. Ces plasmas ont été utilisés pour inhiber l'adhésion de cinq isolats de parasites (3249, 3270, 3267, 3362 et 3406) collectés chez des femmes enceintes. Nous avons observé la capacité de certains IgG à inhiber des fragments d'isolats parasitaires. Ainsi l'IgG 1943 (A) (18/02/2020) a inhibé 95% de l'adhésion des isolats 3406, 80% de 3249 et pour 75% de 3362. De même l'IgG 1943 (A) (14/04/2020) a inhibé environ 65% de l'adhésion des isolats 3406. Cependant le lot IgG 86270 (B) (18/02/20) a permis d'observer une forte inhibition de deux isolats parasitaires avec 100% pour 3406 et 96% pour 324. Par ailleurs les IgG 86352 (C) et 86523 (D) (18/02/2020) ont permis d'inhiber plus de 75% de l'adhésion des isolats 3406, 3249 et 3362 C.

La **Figure 2** illustre la réactivité et capacité inhibitrice du plasma spécifique du domaine complet VAR2SCA de NF54 et NF7G8.

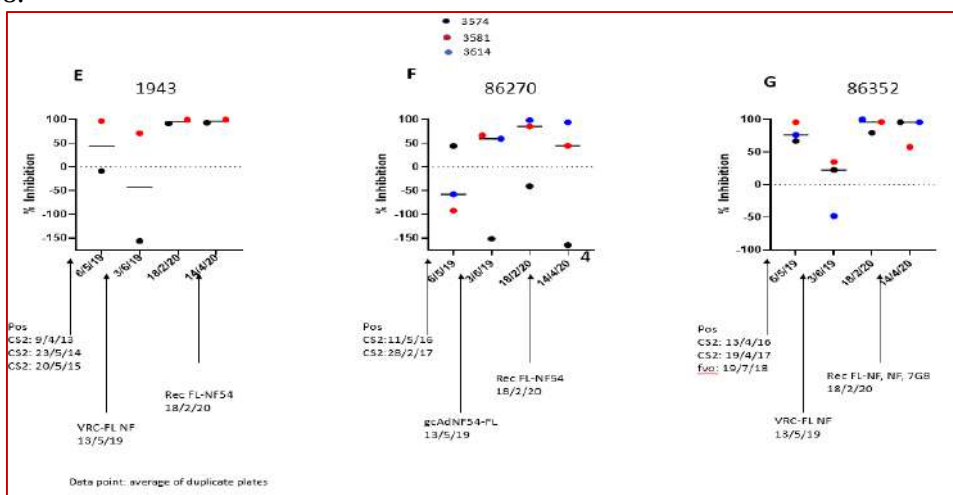


Figure 2 : Réactivité et capacité inhibitrice du plasma spécifique du domaine complet VAR2SCA de NF54 et NF7G8.

Trois Aotus femelles (1943 (E) 86270 (F) et 86352 (G) ont été testées positives à la souche CS2 de *Plasmodium falciparum* aux dates ci-après : 9/4/13, 23/5/14, 20/5/15. Après le premier prélèvement, les Aotus 1943 (E) et 86352 (G) ont été vaccinées avec le VRC-FL NF en dose 1 à la date du 13/5/19, tandis que l'Aotus 86270 (F) a reçu le vaccin à base de gcAdNF54-FL à la date 13/5/19. Les Aotus 1943 (E) et 86270 (F) à la date 18/2/20 ont été revaccinées avec le Rec FL-NF54 en dose 2 et le 86352 (G) a reçu une seconde dose de Rec FL-NF, NF, 7G8 (G). Des prélèvements de plasma (IgGs) ont été effectués sur ces Aotus avant et après chaque vaccination aux dates indiquées sur l'axe des abscisses (6/5/19, 3/6/19, 18/2/20 et 14/4/20). Ces IgGs ont été utilisés pour inhiber l'adhésion de trois isolats de parasites (3574, 3581 et 3614). Nous avons observé 100% d'inhibition avec l'isolat 3581 en pre-vaccination (prevac) dose 1, prevac dose 2 et postvac dose 2. En revanche les IgG obtenus en post vaccination dose 1 ont permis d'enregistrer 75% de taux d'inhibition pour les mêmes parasites 3581(E). Un taux de 100% d'inhibition a été observé avec l'isolat 3614 en postvacc dose 1 et postvac dose 2 (F) ; de même qu'en postvacc dose 1 et postvac dose 2 (G).

La **Figure 3** démontre la Réactivité et la capacité inhibitrice du plasma spécifique du domaine complet VAR2SCA de NF7G8.

Trois Aotus femelles (86502 (H), 86523 (I) et 86524 (J)) ont été testées positives à la souche CS2, fvo ou MC de *P. falciparum*. Après le premier prélèvement, les Aotus 86502(H) et 86523(I) ont été vaccinées avec le VRC-FL NF en dose 1 à la date du 13/5/19(H) tandis que l'Aotus 86524 (J) a reçu le vaccin à base de gcAdFCR à la date 13/5/19. Le 3/2/20, les Aotus 86502(H) et 86524(J) ont été revaccinées avec le Rec FL7G8 en dose 2 et le 86524(G) a reçu une seconde dose de Rec FL-NF, NF, 7G8. Des prélèvements de plasma (IgG) ont été effectués sur ces Aotus avant et après chaque vaccination aux dates indiquées sur l'axe des abscisses. Ces IgG ont été utilisés pour inhiber l'adhésion de quatre isolats de parasites (3655, 3669, 3730 et 3731). Une inhibition d'au moins 25% a été obtenue pour l'ensemble des parasites testés (H, I). Par exemple, avec le parasite 3655 nous avons observé plus de 55% d'inhibition en pre-vaccination dose 1, prevac dose 2, postvac dose 1 et postvac dose 2 (J). Avec le parasite 3655, ces taux d'inhibition étaient de 60% en pre-vaccination dose 1, prevac dose 2, postvac dose 1 et postvac dose 2 (I). Ils étaient encore plus élevés (80%) en pre-vaccination dose 1, prevac dose 2, postvac dose 1 et postvac dose 2 (H) avec le parasite 3669.

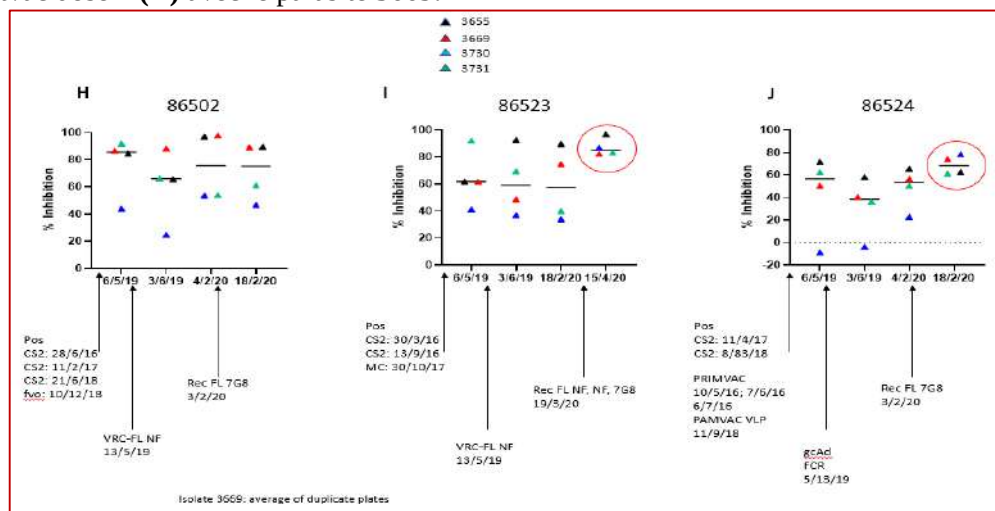


Figure 3 : Réactivité et capacité inhibitrice du plasma spécifique du domaine complet VAR2SCA de NF7G8.

La **Figure 4** démontre la Réactivité et la capacité inhibitrice du plasma spécifique du domaine complet NF54

VAR2CSA. Le modèle *A. nancymae* qui présente certaines des caractéristiques importantes de la maladie humaine serait donc une avancée majeure

5. Conclusion :

De nombreux isolats testés ont montré des capacités inhibitrices de liaison au CSA très promotrices. Ces capacités étaient fonction des isolats et des temps de collecte des anticorps chez les signes ($p < 0,05$). Les plus importantes capacités d'inhibition ont été observées avec les anticorps collectés après les dernières doses de vaccination. Ce qui révèle que la vaccination pourrait renforcer la large activité neutralisante contre l'interaction VAR2CSA-CSA. Ces résultats montrent que *A. nancymae* apparaît comme un bon modèle prometteur pour le paludisme gestationnel, dans lequel les parasites se séquestrent dans le placenta. Par conséquent, ce modèle serait utile pour les investigations de la pathogenèse et de l'immunité du paludisme gestationnel, ainsi que pour le développement de vaccins à base de VAR2CSA ou d'autres interventions contre le paludisme gestationnel.

6. Références bibliographiques

- [1] Sharma A, Jenkins B, Akue A, Lambert LE, Orr-Gonzalez S, Thomas ML, Mahamar A, Diarra BS, Dicko A, Fried M, Duffy PE. *Plasmodium falciparum* in *Aotus nancymae*: A New Model for Placental Malaria. *J Infect Dis.* 2022 Aug 26; 226 (3):521-527. doi: 10.1093/infdis/jiac096. PMID: 35290467; PMCID: PMC9417121
- [2] Avril M, Cartwright M. M, Hathaway M. J, & Smith J. D. Induction of strain-transcendent antibodies to placental-type isolates with VAR2CSA DBL3 or DBL5 recombinant proteins. *Malaria Journal*, (2011) 10 (1), 36. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-36>
- [3] WHO. World malaria report 2013. Geneva: World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/97008>; consulté le 20/12/2023.
- [4] WHO. World malaria report 2023. <https://reliefweb.int/report/world/world-malaria-report-2023>; consulté le 20/12/2023
- [5] Avril M, Gamain B, Lépolard C, Viaud N, Scherf A, Gysin J. Characterization of anti-var2CSA-PfEMP1 cytoadhesion inhibitory mouse monoclonal antibodies. *Microbes Infect.* 2006 Nov-Dec;8(14-15):2863-71. doi: 10.1016/j.micinf.2006.09.005. Epub 2006 Oct 17. PMID: 17095277.
- [6] Boudin C, & Robert V. *Plasmodium falciparum*: Épidémiométrie de la transmission homme-moustique et de l'infection chez le vecteur. *Bull Soc Pathol Exot* (2003).
- [7] Avril M, Kulasekara BR, Gose SO, Rowe C, Dahlbäck M, Duffy PE, Fried M, Salanti A, Misher L, Narum DL, Smith JD. Evidence for globally shared, cross-reacting polymorphic epitopes in the pregnancy-associated malaria vaccine candidate VAR2CSA. *Infect Immun.* 2008 Apr;76(4):1791-800. doi: 10.1128/IAI.01470-07. Epub 2008 Feb 4. PMID: 18250177; PMCID: PMC2292848.
- [8] Obiakor H, Avril M, Macdonald NJ, Srinivasan P, Reiter K, Anderson C, Holmes KL, Fried M, Duffy PE, Smith JD, Narum DL, Miller LH. Identification of VAR2CSA domain-specific inhibitory antibodies of the *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 using a novel flow cytometry assay. *Clin Vaccine Immunol.* 2013 Mar;20(3):433-42. doi: 10.1128/CVI.00638-
- [9] Davison BB, Cogswell FB, Baskin GB, Falkenstein KP, Henson EW, Krogstad DJ. Placental changes associated with fetal outcome in the *Plasmodium coatneyi*/rhesus monkey model of malaria in pregnancy. *Am J Trop Med Hyg.* 2000 Sep-Oct;63(3-4):158-73. doi: 10.4269/ajtmh.2000.63.158. PMID: 11388509.
- [10] Bigey P, Gnidehou S, Doritchamou J, Quiviger M, Viwami F, Couturier A, Salanti A, Nielsen MA, Scherman D, Deloron P, Tuikue Ndam N. The NTS-DBL2X region of VAR2CSA induces cross-reactive antibodies that inhibit adhesion of several *Plasmodium falciparum* isolates to chondroitin sulfate A. *J Infect Dis.* 2011 Oct 1;204(7):1125-33. doi: 10.1093/infdis/jir499. PMID: 21881129.
- [11] Doritchamou J, Bigey P, Nielsen M. A, Gnidehou S, Ezinmegnon S, Burgain, A, Moussougoudji A, Deloron P, Salanti A, Ndam, N. T. Differential adhesion-inhibitory patterns of antibodies raised against two major variants of the NTS-DBL2X region of VAR2CSA. *Vaccine* (2013), 31(41), 4516-4522. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.07.072>
- [12] Hoffmann-Veltung H, Anabire NG, Ofori MF, Janhmatz P, Ahlborg N, Hviid L, Quintana MDP. Analysis of allelic cross-reactivity of monoclonal IgG antibodies by a multiplexed reverse FluoroSpot assay. *Elife.* 2022 Jul 15;11:e79245. doi: 10.7554/eLife.79245. PMID: 35838346; PMCID: PMC9286747

- [13] Fernandez P, Viebig NK, Dechavanne S, Lépolard C, Gysin J, Scherf A, Gamain B. Var2CSA DBL6-epsilon domain expressed in HEK293 induces limited cross-reactive and blocking antibodies to CSA binding parasites. *Malar J.* 2008 Sep 4;7:170. doi: 10.1186/1475-2875-7-170. PMID: 18771584; PMCID: PMC2543044
- [14] Duffy PE, Fried M. Antibodies that inhibit *Plasmodium falciparum* adhesion to chondroitin sulfate A are associated with increased birth weight and the gestational age of newborns. *Infect Immun.* 2003 Nov;71(11):6620-3. doi: 10.1128/IAI.71.11.6620-6623.2003. PMID: 14573685; PMCID: PMC219546.

Evaluation des risques écologiques et sanitaires des pesticides contenus dans les eaux des fleuves transfrontaliers Comoé, Bia et Tanoé (Côte d'Ivoire)

KONE Siriki¹, **Gnonsoro Urbain Paul**^{3*}, KOUAME Konan Lopez³, Trokourey Albert²

¹Centre de Recherches Océanologiques (CRO), 29, rue des pêcheurs, BP V18 Abidjan, Côte d'Ivoire,

²Université Félix Houphouët Boigny, UFR SSMT, Laboratoire de Constitution Et Réaction de La Matière, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire

³Université Alassane Ouattara, UFR Sciences et Technologies, BP V 18, Bouaké, Côte d'Ivoire

*Auteur correspondant: (+225) 0707440725; urbainpaulgnonsoro@gmail.com

Résumé

Contexte : En Côte d'Ivoire, le secteur agricole demeure un moteur de la croissance économique. L'industrie agricole et les utilisateurs urbains de pesticides sont de plus en plus dépendants des pesticides qui peuvent influencer sur la qualité des cours d'eau et peuvent exercer une action toxique sur tous les maillons de la chaîne alimentaire. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur les résidus de ces substances à l'embouchure des systèmes aquatiques.

Objectif : Cette étude vise à étudier le risque potentiel de contamination des fleuves Bia, Tanoé et Comoé par les résidus de pesticides.

Méthodologie : 30 pesticides de différentes familles ont été recherchés dans 30 échantillons d'eau issus des différents fleuves par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) et le risque sanitaire potentiel a été évalué en utilisant l'index de Quotient de Risque (QR).

Résultats : Le calcul du Quotient de Risque suggère que les fleuves étudiés présentent un risque chronique pour les organismes aquatiques. Aussi, les teneurs en pesticides relevées dans le fleuve Bia sont susceptibles de poser un risque de santé chronique pour les enfants de 0 à 11 ans.

Conclusion : Les enfants constituent une population à risque pour l'exposition aux pesticides recherchés dans le fleuve Bia.

Mots clés : Côte d'Ivoire ; Pesticides ; risque pour la santé humaine ; risque écologique.

Ecological and human health risks assessment of pesticides present in the waters of the transboundary Comoé, Bia and Tanoé rivers (Cote d'Ivoire)

Abstract

Context: In Cote d'Ivoire, the agricultural sector remains a driver of economic growth. The agricultural industry and urban pesticide users are increasingly dependent on pesticides which can affect the quality of waterways and can exert toxic effects on all links in the food chain. However, few information is available on the residues of these substances at the mouth of aquatic systems.

Objective: This study aims to study the potential risk of contamination of the Bia, Tanoé and Comoé rivers by pesticide residues.

Methodology: 30 pesticides from different families were searched for in 30 water samples from different rivers by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and the potential health risk was assessed using the Risk Quotient (RQ) index.

Results: The calculation of the Risk Quotient suggests that the rivers studied present a chronic risk for aquatic organisms. Also, the pesticide levels found in the Bia River are likely to pose a chronic health risk for children aged 0 to 11 years.

Conclusion: Children constitute a population at risk for exposure to pesticides sought in the Bia River.

Keywords : Côte d'Ivoire ; Pesticides ; human health risk ; ecological risk.

1. Introduction

La contamination de l'eau par les pesticides est un problème mondial inquiétant en raison de l'utilisation intensive de pesticides dans l'agriculture pour répondre à une demande toujours croissante de production alimentaire [1]. Cette contamination dégrade la qualité de l'eau et menace la biodiversité et la santé humaine [2].

Les embouchures des fleuves transfrontaliers tels que les fleuves Comoé, Bia et Tanoé (Afrique de l'Ouest) sont des zones d'échanges avec les lagons Ebrié et Aby en Côte d'Ivoire. De ce fait, ils constituent des zones vitales pour la flore et la faune locales et migratrices. Or, les bassins versants de ces fleuves sont le siège d'activités agricoles utilisant des engrais et des pesticides dans un pays où l'économie repose essentiellement sur l'agriculture. En conséquence, les activités agricoles sont des sources potentielles de contamination de l'eau par des pesticides et des engrais via le ruissellement, l'érosion des sols et les dépôts atmosphériques [1, 3]. Les pesticides transférés dans les systèmes fluviaux atteignent souvent des valeurs supérieures aux limites légales [3-4]. Cependant, les études sur l'exposition aux pesticides dans l'eau des fleuves sont peu nombreuses en Afrique de l'Ouest, notamment en Côte d'Ivoire. Cette étude vise à déterminer l'état de contamination par les pesticides des eaux à l'embouchure/estuaire des fleuves Comoé, Bia et Tanoé afin de comprendre leurs occurrences et les risques potentiels pour l'environnement et la santé humaine. Pour atteindre cet objectif, nous avons comparé les

concentrations en amont et en aval et évalué les risques potentiels pour l'environnement et la santé humaine à travers le concept de Quotient de Risque.

2. Matériel et méthodes

2.1. Description de la zone d'étude

La zone d'étude comprend l'estuaire des fleuves Comoé, Bia et Tanoé situé au sud-est de la Côte d'Ivoire, en Afrique de l'Ouest (Figure 1).

2.2. Echantillonnage

Au total, 30 échantillons d'eau de 1 L chacun ont été prélevés dans des bouteilles en verre à l'aide d'un bateau entre mai 2019 et février 2020 sur une période couvrant la saison sèche, la saison des crues et la saison des pluies à plusieurs stations en amont et en aval des fleuves Bia, Tanoé et Comoé (figure 1).

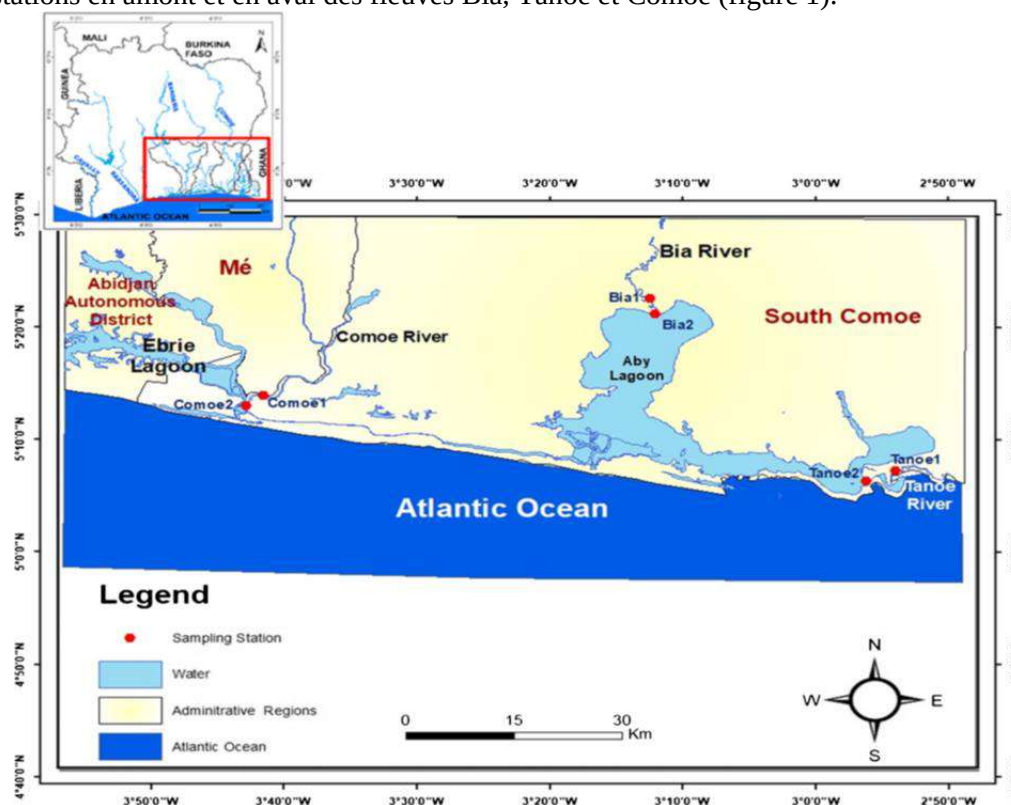


Figure 1: Emplacement des stations d'échantillonnage

2.3. Méthode d'analyse

Les pesticides ont été extraits d'échantillons d'eau par la procédure traditionnelle d'extraction liquide-liquide (LLE) adoptée par la méthode 3510C de l'US EPA [5] et Dasgupta et al. [6]. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un Chromatographe Liquide à Haute Performance (CLHP) de marque SHIMADZU modèle LC-20AT équipée d'un dégazeur DGU-20A5, d'un détecteur UV/Visible de marque SHIMADZU modèle SPD-20A, et d'un injecteur modèle SIL-20A.

Au total, 30 pesticides de 5 familles, en fonction de leurs fonctions chimiques, ont été analysés. Il s'agit de cinq organophosphorés dont le chlorpropham, le parathion-méthyl, le parathion-éthyl, le chlorfenvinphos et la vinclozoline ; onze urées substituées : fénuron, métoxuron, monuron, métabenzthiazuron, chlortoluron, monolinuron, isoproturon, diuron, métobromuron, buturon, linuron ; un carbamate : aldicarbe ; neuf triazines : prométryne, terbutryne, désisopropylatrazine, déséthylatrazine, simazine, cyanazine, atrazine, propazine, terbutylazine, une triazinone : métamitron ; une pyrimidine : criminidine ; et deux chloroacétanilides/organochlorés : le métolachlore et le métazachlore.

2.4. Évaluation des risques écologiques et sanitaires

Les risques écologiques chroniques ont été estimés à l'aide de l'indice de Quotient de Risque (RQ) tel que décrit dans Papadakis et al. [7] et Papadakis et al. [8]. RQ est le rapport entre la Concentration Environnementale

Maximale mesurée (MEC) qui représente le « pire scénario » et la Concentration Estimée Sans Effet (PNEC), comme le montre l'équation 1 [8-9]:

$$\text{Equation 1 : } RQ = \frac{MEC}{PNEC}$$

La PNEC a été calculée comme suit :

$$\text{Equation 2 : } PNEC = \frac{NOEC (CE50 \text{ ou } CL50)}{AF}$$

Une valeur RQ inférieure à 1 indique que le composé impliqué est moins susceptible de présenter un risque écologique chronique important ; Un RQ supérieur à 1 indique que le composé impliqué est plus susceptible d'entraîner un risque écologique chronique important [10-11]. Les risques pour la santé humaine ont été évalués au moyen des quotients de risque (RQ). Différentes étapes de la vie de 0 à 3 mois, 3 à 6 mois, 6 à 12 mois, 1 à 2 ans, 2 à 3 ans, 3 à 6 ans, 6 à 11 ans, 11 à 16 ans, 16 à 18 ans et > 18 ans ont été considérés pour augmenter la précision de l'évaluation des risques [12-13].

Une large population utilise l'eau du fleuve sans aucun traitement pour sa consommation directe. Par conséquent, le quotient de risque (QR) dépendant de l'âge pour chaque pesticide détecté a été calculé par le rapport entre la concentration maximale mesurée dans l'eau (MC) et la correspondance âge-besoin en eau potable (DWEL) [14].

$$\text{Equation 3 : } RQ = \frac{MC}{DWEL}$$

Les DWEL ont été calculées selon Sharma et al. [14]

$$\text{Equation 4 : } DWEL = \frac{DJA.BW}{DWI.AB.FOE}$$

La DJA (µg/kg/jour) est la Dose Journalière Admissible. Le poids corporel (BW) est le poids corporel médian (kg) de groupes d'âge spécifiques ; DWI est la consommation quotidienne d'eau (L/jour) de groupes d'âge spécifiques ; AB est le taux d'absorption gastro-intestinale supposé égal à 1 pour tous les composés étudiés ; et FOE est lié à la fréquence d'exposition (350 jours/365 jours) [12, 14]. Les valeurs des paramètres BW et DWI sont contenues dans les informations supplémentaires de l'article de Kone et al. [15].

Les valeurs de RQ supérieures à 1 indiquent la possibilité de risques pour la santé humaine. Les valeurs de RQ comprises entre 0,2 et 1 appellent à une évaluation plus détaillée, tandis que les RQ inférieurs ou égaux à 0,2 indiquent l'absence de risque pour la santé humaine [16].

3. Résultats et discussion

Les valeurs des RQ réparties par groupe d'âge sont présentées dans les tableaux 3, 4 et 5 respectivement pour Comoé, Bia et Tanoé. Les RQ diminuaient à mesure que l'âge augmentait dans la plupart des cas dans les trois fleuves. Les RQ variaient de 0,0006 dans le fleuve Comoé (métolaclor, groupe d'âge de 16 à 18 ans) à 4,7590 (pour la simazine, groupe d'âge de 0 à 3 mois) dans le fleuve Bia (tableaux 3, 4 et 5). Pour tous les pesticides, l'intervalle d'âge de 0 à 3 mois correspondait à un quotient de risque plus élevé. Les RQ de tous les pesticides détectés dans les fleuves Comoé et Tanoé étaient inférieurs à 1, ce qui implique qu'il est peu probable que les pesticides détectés dans les eaux de la présente étude présentent un risque pour la santé humaine dans ces fleuves. Dans le fleuve Bia, trois pesticides avaient des RQ > 1. Il s'agit de l'aldicarbe (RQ égal à 3,1 ; 2,4 ; 1,9 ; 1,1 ; 0,9 et 0,9 pour les tranches d'âge 0 à 3 mois, 3 à 6 mois, 6 à 12 mois, 1 à 2, 2 à 3 et 3 à 6 ans, respectivement), simazine (RQ égal à 4,7 ; 3,7 ; 2,9 ; 1,6 ; 1,4 ; 1,4 et 1,0 pour les tranches d'âge de 0 à 3 mois, de 3 à 6 mois, de 6 –12 mois, 1 à 2 ans, 2 à 3 ans, 3 à 6 ans et 6 à 11 ans, respectivement) et Parathion-éthyl (RQ est égal à 2,6 ; 2,0 ; 1,6 et 0,9 pour les tranches d'âge de 0 à 3 mois, 3 à 6 mois, 6 à 12 mois et 1 à 2 ans, respectivement) (tableaux 3, 4 et 5). Les données RQ suggèrent que les concentrations de pesticides dans le fleuve Bia sont susceptibles de présenter des risques pour la santé des enfants de 0 à 11 ans.

Tableau 3. Quotient de risque (QR) pour la santé humaine des pesticides détectés dans le fleuve Bia ; " ----" non calculé.

Pesticides	RQ									
	0-3 months	3-6 months	6-12 months	1-2 years	2-3 years	3-6 years	6-11 years	11-16 years	16-18 years	adults ≥18
Aldicarb	3,115	2,402	1,904	1,074	0,912	0,926	0,653	0,515	0,471	0,516
Atrazine	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
Buturon	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Chlorfenvinphos	0,158	0,122	0,096	0,054	0,046	0,047	0,033	0,026	0,024	0,026
Chlortoluron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Crimidine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cyanazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Desethylatrazine	0,591	0,456	0,362	0,204	0,173	0,176	0,124	0,098	0,089	0,098
Desisopropylatrazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Fenuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Linuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Metamitron	0,026	0,020	0,016	0,009	0,008	0,008	0,006	0,004	0,004	0,004
Métazachlor	0,012	0,010	0,008	0,004	0,004	0,004	0,003	0,002	0,002	0,002
Methabenzthiazuron	0,049	0,038	0,030	0,017	0,014	0,015	0,010	0,008	0,007	0,008
Metobromuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Metolachlor	0,006	0,005	0,004	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001
Metoxuron	0,276	0,213	0,169	0,095	0,081	0,082	0,058	0,046	0,042	0,046
Monolinuron	0,591	0,456	0,362	0,204	0,173	0,176	0,124	0,098	0,089	0,098
Monuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Parathion-ethyl	2,629	2,027	1,607	0,907	0,770	0,781	0,551	0,434	0,397	0,435
Parathion-methyl	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Prometryn	0,118	0,091	0,072	0,041	0,035	0,035	0,025	0,020	0,018	0,020
Propazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Simazine	4,759	3,669	2,909	1,642	1,394	1,415	0,998	0,786	0,720	0,788
Terbuthylazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Vinclozolin	0,177	0,137	0,108	0,061	0,052	0,053	0,037	0,029	0,027	0,029

Tableau 4. Quotient de risque (QR) pour la santé humaine des pesticides détectés dans le fleuve Comoé ; » ----- « non calculé.

Pesticides	RQ									
	0-3 months	3-6 months	6-12 months	1-2 years	2-3 years	3-6 years	6-11 years	11-16 years	16-18 years	adults ≥18
Aldicarb	0,046	0,035	0,028	0,016	0,013	0,014	0,010	0,008	0,007	0,008
Atrazine	0,011	0,008	0,007	0,004	0,003	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002
Buturon	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Chlorfenvinphos	0,394	0,304	0,241	0,136	0,115	0,117	0,083	0,065	0,060	0,065
Chlortoluron	0,005	0,004	0,003	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Crimidine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cyanazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Desethylatrazine	0,473	0,365	0,289	0,163	0,139	0,141	0,099	0,078	0,072	0,078
Desisopropylatrazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Fénuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Linuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Metamitron	0,013	0,010	0,008	0,005	0,004	0,004	0,003	0,002	0,002	0,002
Metazachlor	0,005	0,004	0,003	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Methabenzthiazuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Metobromuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Métolachlor	0,004	0,003	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Metoxuron	0,091	0,070	0,055	0,031	0,027	0,027	0,019	0,015	0,014	0,015
Monolinuron	0,197	0,152	0,121	0,068	0,058	0,059	0,041	0,033	0,030	0,033
Monuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Parathion-ethyl	0,986	0,760	0,603	0,340	0,289	0,293	0,207	0,163	0,149	0,163
Parathion- yl	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Prometryn	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Propazine	0,020	0,015	0,012	0,007	0,006	0,006	0,004	0,003	0,003	0,003
Simazine	0,016	0,012	0,010	0,005	0,005	0,005	0,003	0,003	0,002	0,003
Terbuthylazine	0,049	0,038	0,030	0,017	0,014	0,015	0,010	0,008	0,007	0,008
Vinclozolin	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Tableau 5. QR pour la santé humaine pour chaque pesticide détecté dans le fleuve Tanoé. "-----" non calculé.

Pesticides	RQ									
	0-3 months	3-6 months	6-12 months	1-2 years	2-3 years	3-6 years	6-11 years	11-16 years	16-18 years	adults ≥18
Aldicarb	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Atrazine	0,011	0,008	0,007	0,004	0,003	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002
Buturon	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Chlorfenvinphos	0,473	0,365	0,289	0,163	0,139	0,141	0,099	0,078	0,072	0,078
Chlortoluron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Crimidine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cyanazine	0,033	0,025	0,020	0,011	0,010	0,010	0,007	0,005	0,005	0,005
Desethylatrazine	0,473	0,365	0,289	0,163	0,139	0,141	0,099	0,078	0,072	0,078
Desisopropylatrazine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Fenuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Linuron	0,020	0,015	0,012	0,007	0,006	0,006	0,004	0,003	0,003	0,003
Metamitron	0,053	0,041	0,032	0,018	0,015	0,016	0,011	0,009	0,008	0,009
Metazachlor	0,004	0,003	0,003	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Methabenzthiazuron	0,054	0,042	0,033	0,019	0,016	0,016	0,011	0,009	0,008	0,009
Metobromuron	0,022	0,017	0,014	0,008	0,006	0,007	0,005	0,004	0,003	0,004
Metolachlor	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Metoxuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Monolinuron	0,079	0,061	0,048	0,027	0,023	0,023	0,017	0,013	0,012	0,013
Monuron	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Parathion-ethyl	0,394	0,304	0,241	0,136	0,115	0,117	0,083	0,065	0,060	0,065
Parathion- methyl	0,072	0,056	0,044	0,025	0,021	0,021	0,015	0,012	0,011	0,012
Prometryn	0,020	0,015	0,012	0,007	0,006	0,006	0,004	0,003	0,003	0,003
Propazine	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001
Simazine	0,134	0,103	0,082	0,046	0,039	0,040	0,028	0,022	0,020	0,022
Terbuthylazine	0,049	0,038	0,030	0,017	0,014	0,015	0,010	0,008	0,007	0,008
Vinclozolin	0,020	0,015	0,012	0,007	0,006	0,006	0,004	0,003	0,003	0,003

4. Conclusion

Dans cette étude, sur 30 pesticides, 15 ont été détectés à l'embouchure de le fleuve Bia, 18 à l'embouchure de le fleuve Comoé et 22 à l'embouchure de le fleuve Tanoé. Les résultats suggèrent que les fleuves Bia, Tanoé et Comoé sont d'importantes sources de pesticides dans les lagons Ebrié et Aby. Les fleuves Bia, Tanoé et Comoé

présentent des risques élevés pour les organismes aquatiques ; Les concentrations de pesticides dans le fleuve Bia sont susceptibles de présenter des risques pour la santé des enfants de 0 à 11 ans. Il est recommandé que les meilleures pratiques d'utilisation des pesticides soient promues en Afrique de l'Ouest pour prévenir et atténuer la contamination des ressources en eau par les pesticides agricoles et urbains.

5. Bibliographie

- [1] Sadowski A, Baer-Nawrocka A (2018) Food and environmental function in world agriculture—interdependence or competition? *Land Use Policy* 71:578–583. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2017.11.005>
- [2] Sabarwal A, Kumar K, Singh RP (2018) Hazardous effects of chemical pesticides on human health—Cancer and other associated disorders. *Environ Toxicol Pharmacol* 63:103–114. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.08.018>
- [3] Curchod L, Oltramare C, Junghans M, Stamm C, Dalvie MA, Rössli M, Fuhrmann S (2020) Temporal variation of pesticide mixtures in rivers of three agricultural watersheds during a major drought in the Western Cape, South Africa. *Water Res X* 6:100039. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2019.100039>
- [4] European Union (2013) Directive 2013/39/UE du Parlement Européen et du Conseil du 12 août 2013, modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'Eau. *Journal Officiel de l'Union Européenne*. pp. 17.
- [5] EPA. U.S. Environmental Protection Agency (US EPA) (1996) Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction. Method 3510C. (Revision 3 – December). SW846 CH 4.2.1.
- [6] Dasgupta S, Banerjee K, Utture S, Kusari P, Wagh S, Dhumal K, Kolekar S, Adsule PG (2011) Extraction of pesticides, dioxin-like PCBs and PAHs in water based commodities using liquid–liquid microextraction and analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1218:6780–6791. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.043>
- [7] Papadakis EN, Tsaboula A, Vryzas Z, Kotopoulou A, Kintzikoglou K, Papadopoulou-Mourkidou E (2018) Pesticides in the rivers and streams of two river basins in northern Greece. *Sci Total Environ* 624:732–743. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.074>
- [8] Papadakis EN, Vryzas Z, Kotopoulou A, Kintzikoglou K, Makris KC, Papadopoulou-Mourkidou E (2015) A pesticide monitoring survey in rivers and lakes of northern Greece and its human and ecotoxicological risk assessment. *Ecotoxicol Environ Saf* 116:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.033>
- [9] Palma P, Köck-Schulmeyer M, Alvarenga P, Ledo L, Barbosa IR, López de Alda M, Barceló D (2014) Risk assessment of pesticides detected in surface water of the Alqueva reservoir (Guadiana basin, southern of Portugal). *Sci Total Environ* 488:208–219. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.088>
- [10] Vryzas, Z., Alexoudis, C., Vassiliou, G., Galanis, K. and Papadopoulou-Mourkidou, E. 2011. Determination and aquatic risk assessment of pesticide residues in riparian drainage canals in northeastern Greece. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.04.011>
- [11] Kapsi M, Tsoutsi C, Paschalidou A, Albanis T (2019) Environmental monitoring and risk assessment of pesticide residues in surface waters of the Louros River (NW Greece). *Sci Total Environ* 650:2188–2198. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.185>
- [12] de Jesus Gaffney V, Almeida CMM, Rodrigues A, Ferreira E, Benoliel MJ, Cardoso VV (2015) Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water Res* 72:199–208. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.027>
- [13] Yang YY, Toor GS, Wilson PC, Williams CF (2017) Micropollutants in groundwater from septic systems: transformations, transport mechanisms, and human health risk assessment. *Water Res* 123:258–267. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.054>
- [14] Sharma BM, Bečanová J, Scherlinger M, Sharma A, Bharat GK, Whitehead PG, Klánová J, Nizzetto L (2019) Health and ecological risk assessment of emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, and artificial sweeteners) in surface and groundwater (drinking water) in the Ganges River Basin, India. *Sci Total Environ* 646:1459–1467. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.235>
- [15] Kone S, Koffi M Y, Gnonsoro UP, Trokourey A (2021) Transboundary river water pesticide pollution in historical agriculture areas in West Africa a case study in the Comoe, Bia, and Tanoé rivers (Cote d'Ivoire). *Arabian Journal of Geosciences*, 14(2068) : 15p. <https://doi.org/10.1007/s12517-021-08294-7>
- [16] Schriks, M., Heringa, M.B., van der Kooi, M.M.E., de Voogt, P. and van Wezel, A. P. 2010. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water Research*, 44, 461–476. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.08.023>

Variabilité chimique et activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'huile essentielle de feuilles de *Neuropeltis acuminata* de Côte d'Ivoire

Didjour Albert Kambiré^{1*}, Ahmont Claude Landry Kablan¹, Logopho Hyacinthe Ouattara¹, Jean Brice Boti², Félix Tomi³.

¹UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³UMR-CNRS 6134 SPE, Équipe Ressources Naturelles, Université de Corse, 20 000 Ajaccio, France.

(*) Auteur correspondant : Didjour Albert Kambiré ; E-mail : dakambire@gmail.com

Résumé :

Ce travail s'inscrit dans le contexte de valorisation des plantes aromatiques de Côte d'Ivoire. Il vise l'étude de la variabilité chimique de l'huile essentielle (HE) de feuilles de *Neuropeltis acuminata*, et l'évaluation de son activité anti-inflammatoire en vue d'une application thérapeutique. Trente échantillons d'HE ont été extraits de feuilles récoltées dans trois forêts du pays, puis analysés par combinaison de techniques chromatographiques (CC, CPG-Ir) et spectroscopiques (CPG-SM, RMN ¹³C). Ainsi, 103 constituants représentant 95,7 à 99,6% de la composition chimique des échantillons ont été identifiés. Le δ -cadinène-11-ol, a été isolé pour la première fois à partir d'une source naturelle, suite au fractionnement par CC de l'huile. Sa structure a été élucidée par RMN 1D et 2D. L'étude statistique par Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) et Analyse en Composantes Principales (ACP) a mis en évidence cinq groupes distincts dont les composés majoritaires sont : Groupe I ((E)- β -caryophyllène, kessane, δ -cadinène), groupe II (germacrène B, ledol, α -humulène, (E)- γ -bisabolène-12-ol, γ -élémane), groupe III (guaïol, germacrène D, atractylone, (E)- γ -bisabolène-12-ol, δ -cadinène, bulnésol), groupe IV ((E)-nérolidol, guaïol, sélina-4(15),7(11)-diène, bulnésol), groupe V ((E)- β -caryophyllène, α -humulène, α -muurolène). Cette HE a montré une capacité significative d'inhibition de la lipoxygénase (CI₅₀ : 0,059 $\pm$ 0,001 mg.mL⁻¹), suggérant un important potentiel anti-inflammatoire.

Mots clés : *Neuropeltis acuminata* ; huile essentielle de feuilles ; variabilité chimique ; activité anti-inflammatoire.

Chemical variability and *in vitro* anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Neuropeltis acuminata* leaves from Côte d'Ivoire

Abstract :

This work lies within the context of promoting aromatic plants from Côte d'Ivoire. It aims to study the chemical variability of the leaf essential oil (EO) of *Neuropeltis acuminata*, and evaluate its anti-inflammatory activity with a view to therapeutic application. Thirty oil samples were extracted from leaves collected in three forests of the country, then analyzed by a combination of chromatographic (CC, GC-RI) and spectroscopic (GC-MS, ¹³C NMR) techniques. Thus, 103 constituents representing 95.7 to 99.6% of the chemical composition of the samples were identified. δ -cadinene-11-ol was isolated for the first time from a natural source, after CC fractionation of the oil. Its structure was elucidated by 1D and 2D NMR. Statistical study by Hierarchical Ascending Classification (HAC) and Principal Component Analysis (PCA) highlighted five distinct groups whose majority compounds are: Group I ((E)- β -caryophyllene, kessane, δ -cadinene), group II (germacrene B, ledol, α -humulene, (E)- γ -bisabolene-12-ol, γ -elemene), group III (guaïol, germacrene D, atractylone, (E)- γ -bisabolene-12-ol, δ -cadinene, bulnesol), group IV ((E)-nerolidol, guaïol, selina-4(15),7(11)-diene, bulnesol), group V ((E)- β -caryophyllene, α -humulene, α -muurolene). This EO showed a significant lipoxygenase inhibition capacity (IC₅₀: 0.059 $\pm$ 0.001 mg.mL⁻¹), suggesting an important anti-inflammatory potential.

Keywords: *Neuropeltis acuminata*; leaf essential oil; chemical variability; anti-inflammatory activity.

1. Introduction

Le genre *Neuropeltis* de la famille des Convolvulaceae, comprend environ 13 espèces, dont 9 sont restreintes à la région Guinéo-Congolaise d'Afrique. Les 4 espèces restantes sont présentes en Asie tropicale [1,2]. *Neuropeltis acuminata* (P. Beauv.) est une liane ligneuse aux tiges contorsionnées atteignant 40 m de long et 25 cm de diamètre. Cette espèce est largement répandue du Sénégal à l'Angola et se retrouve principalement dans les forêts primaires sempervirentes. Ses tiges sont utilisées comme cordages dans la construction d'habitations en Côte d'Ivoire et au Ghana, tandis que ses feuilles sont consommées comme légumes au Gabon [1-5]. Au Sud du Cameroun, les fibres de la plante ont longtemps été utilisées comme éponges à vaisselle et gants de toilette [6].

Hormis quelques études sur les propriétés physico-chimiques des fibres de *N. acuminata* [6,7], aucune caractérisation chimique des constituants individuels de l'HE et des extraits aux solvants de la plante n'a été rapportée dans la littérature à notre connaissance.

Le présent travail s'inscrit dans la poursuite de la caractérisation chimique des HE des plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire [8-11]. Il vise d'une part à déterminer pour la première fois la composition chimique

de l'HE de feuilles de *N. acuminata*, à travers une étude de variabilité, et d'autre part, à évaluer *in vitro* son activité anti-inflammatoire. Le fractionnement par chromatographie sur colonne a permis l'isolement pour la première fois à partir d'une source naturelle du δ -cadinène-11-ol, dont la structure a été élucidée par RMN 1D et 2D.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal – Extraction et fractionnement de l'huile essentielle

Trente échantillons de feuilles fraîches de *N. acuminata* ont été récoltés dans 6 stations de 3 forêts : Forêt de Bossématié, Région d'Abengourou, Est de la Côte d'Ivoire (Station 1 : 6°29'26.0" N - 3°29'11.7" O) ; Forêt du Haut-Sassandra, Ouest du pays (Station 2 : 6°53'40.2" N - 6°55'36.3" O ; Station 3 : 6°57' 08,5" N - 6°59'00,5" O ; Station 4 : 6°54'52,7" N - 6°57'21,1" O) ; Forêt de Yapo-Abbé, Sud du pays (Station 5 : 5°41'08,0" N - 4°06'31,7" O ; Station 6 : 5°41'48,7" N et 4°05'31,0" O). Les récoltes ont été effectuées pendant la saison sèche (Janvier et Février 2021). Le matériel végétal a été authentifié par des botanistes du Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS) et du Centre National de Floristique (CNF) d'Abidjan, Côte d'Ivoire. Un spécimen témoin est déposé à l'herbier du CNF, Abidjan, avec la référence LAA 11029. Les échantillons d'HE (S1 à S30) ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Cinq échantillons, S3 (2,605g), S6 (3,280g), S13 (2,318g), S20 (2,148g) et S24 (4,110g) ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice. Pour chaque échantillon, sept fractions ont été éluées avec un mélange de solvants, *n*-pentane (P)/diéthyle éther (DE) de polarité croissante (P/DE 100/0 à 0/100). F1 et F2 (100% P) contiennent des oléfines, F3 à F6, des composés moyennement polaires et F7 (100% DE), des composés polaires. Des chromatographies fines sur colonne ont été réalisées sur les fractions F4 et F5 de S6, F4 et F5 de S20, F3 et F6 de S24, afin d'isoler plusieurs composés non identifiés.

2.2. Analyses CPG-Ir, CPG-SM, CPG-QTOF-SM et RMN - Étude statistique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

Toutes les analyses et l'identification des constituants ont été réalisées avec le matériel technique et les méthodes décrites dans notre précédente étude, qui décrit également les paramètres de l'étude statistique et le protocole expérimental de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* [8].

3. Résultats et discussion

Trente échantillons d'HE ont été extraites des feuilles de *N. acuminata* avec des rendements qui varient de 0,58 à 1,03%, puis analysés par combinaison de CPG-Ir, CPG-SM et RMN ¹³C, suivant une méthode informatisée développée à l'Université de Corse [12,13]. Divers composés ont été identifiés par les trois techniques. Les composés de squelettes germacrane et élémène nécessitent une attention particulière. En effet, dans des conditions thermiques de l'analyse CPG et CPG-SM, les germacrènes portant la sous-structure cyclodéca-1,5-diène se réarrangent partiellement ou totalement en élémènes correspondants (réarrangement sigmatropique [3,3]) [13]. Les composés sensibles à la chaleur sont l'une des principales causes de formation d'artefacts lors des analyses CPG et CPG-SM. Ainsi, la combinaison de différentes techniques est fortement recommandée pour une meilleure analyse qualitative et quantitative des HE. Le germacrène B et le γ -élémente d'une part, puis le furanodiène et le curzérène d'autre part, ont été détectés par CPG-SM et RMN ¹³C. Leurs teneurs correctes ont été obtenues par combinaison de CPG(FID) et RMN ¹³C [14]. Cependant, le δ -élémente, le β -élémente et la curzérénone étaient de véritables métabolites secondaires produits par la plante et non des produits réarrangés puisque le germacrène C, le germacrène A et la furanodiénone n'ont pas été détectés par RMN ¹³C.

3.1. Étude détaillée des échantillons d'huile essentielle S3, S6, S13, S20 et S24

En dépit de la combinaison de ces techniques complémentaires, plusieurs constituants sont restés non identifiés. Par conséquent, les échantillons S3, S6, S13, S20 et S24, provenant de 5 stations de récolte et présentant différents profils chimiques, ont été soumis séparément à des fractionnements successifs sur colonne de gel de silice. L'analyse des fractions a conduit à l'identification de plusieurs composés. En parallèle, 5 composés dont les données RMN n'étaient pas compilées dans les bases de données spectrales du laboratoire ont été isolés et leurs structures ont été élucidées par RMN 1D et 2D. Les données RMN ¹³C de 4 de ces composés ont été trouvées dans la littérature. Elles sont en accord avec nos données expérimentales et confirment les structures déterminées : 1,11-oxydocalaménène (**49**) isolé de la fraction F4.1.1 (19 mg, 94,5%) de l'échantillon S20 ; atracylone (**93**), fraction F3.1.2.1 (38 mg, 98,7%) de l'échantillon S24 ; (*E*)- γ -bisabolène-12-al (**101**), fraction F3.1.2.2 (27 mg, 96,3%) de l'échantillon S24 et (*E*)- γ -bisabolène-12-ol (**102**), fraction F6.3.4.1 (41 mg, 97,4%) de l'échantillon S24. (Figure 1, Tableau 1) [15-18]. Quant au dernier composé (δ -cadinène-11-ol (**96**)), son élucidation structurale et ses données RMN 1D et 2D sont rapportées ici pour la première fois.

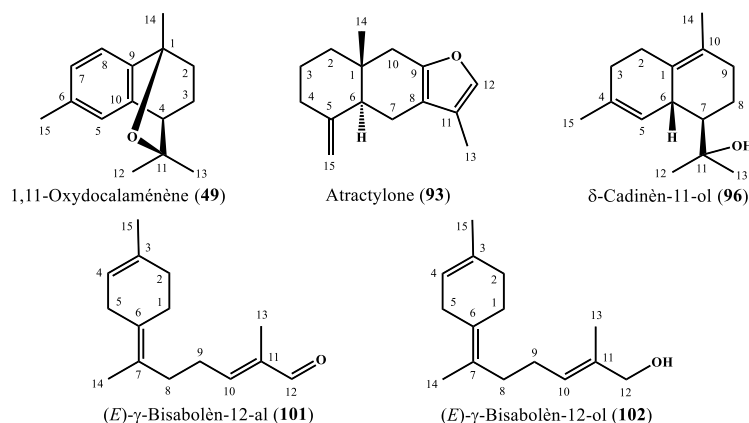

Figure 1 : Structures des composés isolés **49**, **93**, **96**, **101** et **102**.

Tableau 1 : Données RMN ¹³C des composés **49**, **93**, **101** et **102**

N°C	49		93		101		102		
	Exp	[15]	Exp	[16]	Exp	[17]	Exp	Exp*	
1	71,90	71,9	37,35	37,5	26,64	26,5	26,87	27,24	27,2
2	21,09	21,1	39,31	39,4	31,72	31,6	31,79	32,05	31,9
3	32,03	32,0	23,59	23,5	134,09	134,1	134,82	135,39	135,2
4	43,52	43,5	36,65	36,8	120,53	120,4	120,73	121,18	121,0
5	120,25	120,2	149,41	149,5	29,74	29,6	29,71	27,24	29,9
6	136,50	136,5	45,75	45,9	129,94	129,8	128,67	128,93	128,7
7	125,29	125,3	20,90	21,0	124,29	124,3	125,56	125,63	125,4
8	126,48	126,5	116,15	116,3	32,44	32,3	33,77	34,23	34,1
9	138,90	138,9	149,83	150,0	28,12	28,1	26,55	26,95	26,8
10	142,15	142,1	41,96	42,1	154,39	154,9	126,11	125,45	125,4
11	73,72	73,7	119,55	119,7	139,40	139,2	134,16	133,91	133,8
12	29,36	29,4	136,96	137,1	195,24	195,6	68,96	68,63	68,3
13	27,78	27,8	8,15	8,3	9,14	9,2	13,60	13,62	13,6
14	22,12	22,1	17,56	17,7	18,24	18,2	18,36	18,49	18,4
15	21,37	21,4	107,28	107,4	23,34	23,4	23,40	23,56	23,5

 Données en ppm, enregistrées dans le CDCl₃ (Exp) et dans le C₆D₆ (*).

3.1.1. Élucidation structurale du δ-cadinène-11-ol

Le composé **96** a été isolé dans la sous-fraction F.5.4.2 (12 mg, 96,7%) de l'échantillon S6. Son spectre de masse (IE) montre un pic de l'ion moléculaire (M⁺) à m/z = 220 et un pic M⁺-18 (m/z = 202), caractéristique d'un alcool sesquiterpénique. La masse exacte mesurée est de 220,1829 g.mol⁻¹ et correspond à la formule C₁₅H₂₄O (masse calculée = 220,1827 g.mol⁻¹). Les spectres RMN ¹H, ¹³C et DEPT concordent avec cette formule, qui indique 4 degrés d'insaturation (Tableau 2). La fonction alcool est confirmée par le carbone C11 (74,57 ppm). La présence de 4 signaux de carbones sp², impliqués dans 2 doubles liaisons C=C, démontre une structure bicyclique pour ce composé. Le spectre RMN ¹H met en évidence deux groupes méthyles liés aux carbones quaternaires sp² (H14 : 1,64 ppm, s large ; H15 : 1,67 ppm, s large) et un proton éthylénique (H5 : 5,71 ppm, sept : 1,5 Hz) appartenant à une double liaison tri- et tétra-substituée. Les corrélations du spectre COSY montrent deux groupes de protons formés par les séquences H2-H3 et H5-H6-H7-H8-H9. Les corrélations HMBC ont permis de construire le squelette bicyclique en reliant entre eux les groupes de protons observés. En effet, H15 corrèle avec C3, C4 et C5, tandis que le proton H7, corrélé à C11, C12 et C13, apparaît très informatif sur la localisation du groupe hydroxyle (2-hydroxy-isopropyle). Les corrélations des protons méthyliques H14 avec C1, C9 et C10 d'une part, ajoutées aux plots observés entre H2α, H2β et C1, C3, C4, C6, C10 d'autre part, conduisent à une structure de type hydroxy-cadinadiène. La stéréochimie relative des carbones C6 et C7 a été établie grâce aux corrélations spatiales NOESY entre les protons H6, H12 et H13, indiquant une stéréochimie *cis* de H6 et du groupe 2-hydroxy-isopropyle. Enfin, l'absence de corrélation entre H6 et H7 a permis d'aboutir à la structure du δ-cadinène-11-ol (Figure 1). Ce composé est isolé d'une source naturelle pour la première fois. Il a été mentionné

précédemment dans la littérature comme dérivé synthétique et seules ses données RMN ^1H ont été décrites. Les données RMN 1D et 2D de ce composé sont rapportées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Données RMN 1D et 2D du δ -cadinène-11-ol (composé **96**)

N°C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J; Hz)	COSY	HMBC	NOESY
1	130,26	C	—	—	—	—	—
2	27,45	CH ₂	α 2,70 β 1,98	ddd (12,0; 4,5; 2,6) m	2 β ,3 2 α ,3	5,7,10,3,6,4,1 1,3,4,6,10	2 β ,3,9,14 2 α ,3,6
3	32,32	CH ₂	2,04	m	3,2 α	2,1,4	2 α ,2 β ,15
4	134,13	C	—	—	—	—	—
5	128,74	CH	5,71	sept (1,5)	6	15,3,6,7,1	6,15
6	38,58	CH	2,79	large s	5,7	—	2 β ,5,9,8 β ,12,13
7	49,85	CH	1,41	ddd (11,0; 8,1; 3,1)	6,8	1,5,6,8,9,11,12,13	9
8	24,53	CH ₂	α 1,69 β 1,35	m m	7,9,8 β 7,9,8 α	9,6,7,11,10 6,7,10,11,12,13	8 β ,9 6,8 α ,9
9	31,40	CH ₂	1,95	m	9, 8b, 8a	1,10,7,8,14	2 α ,6,7,8 α ,8 β ,14
10	124,12	C	—	—	—	—	—
11	74,57	C	—	—	—	—	—
12	26,58	CH ₃	1,23	s	—	8,13,7,11	6
13	29,97	CH ₃	1,29	s	—	8,12,6,7,11	6
14	18,55	CH ₃	1,67	large s	—	1,10,9	2 α ,9
15	23,41	CH ₃	1,64	large s	—	3,5,4	3,5

3.1.2. Composition chimique des échantillons d'huile essentielle de feuilles S3, S6, S13, S20 et S24

L'étude détaillée par fractionnement des échantillons S3, S6, S13, S20 et S24, a permis d'identifier 103 composés, représentant respectivement 95,7, 97,9, 96,8, 99,6 et 98,1% de la composition chimique totale de ces échantillons (Tableau 3). Les cinq échantillons sont très riches en sesquiterpènes (90,2 à 97,5%). L'échantillon S3 est dominé par le germacrène B (15,5%) et le lédol (12,5%), suivis du (*E*)- γ -bisabolène-12-ol (6,1%), de l' α -humulène (5,8%), du γ -élémane (5,5%) et du kessane (5,2%). Les principaux constituants de l'échantillon S6 sont le (*E*)-nérolidol (23,3%) et le guaïol (12,2%), suivis du sélina-4(15),7(11)-diène (8,3%), du β -eudesmol (6,3%) et du bulnésol (5,2%). Le (*E*)- β -caryophyllène (20,0%), le kessane (11,5%), le δ -cadinène (8,4%), le cadina-1(10),4-diène-8 α -ol (8,1%) et le germacrène D (5,2%), sont les composés majoritaires de l'échantillon S13. L'échantillon S20 est largement dominé par le (*E*)- β -caryophyllène (34,4%) et l' α -humulène (27,1%), suivis de l' α -muurolène (6,6%) et du β -élémane (4,6%), tandis que le guaïol (11,6%), le germacrène D (10,2%), l'atractylone (10,0 %), le (*E*)- γ -bisabolène-12-ol (7,1%), le δ -cadinène (7,0%) et le bulnésol (6,2%) sont les composés prédominants de l'échantillon S24. Les cinq compositions chimiques déterminées présentent des variations qualitatives et quantitatives de leurs principaux constituants.

Tableau 3 : Composition chimique de cinq échantillons d'huile essentielle de feuilles de *N. acuminata*

N°	Composés	Ira	Irp	S3 (%)	S6 (%)	S13 (%)	S20 (%)	S24 (%)	Identification
1	(<i>Z</i>)-Hex-3-èn-1-ol	840	1388	0,1	0,1	0,1	tr	—	Ir, SM
2	Hexanol	854	1355	0,1	—	0,1	0,1	tr	Ir, SM
3	α -Thujène	923	1020	0,2	0,2	0,1	—	0,1	Ir, SM, RMN ^{13}C
4	α -Pinène	931	1016	0,1	tr	tr	tr	0,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
5	Sabinène	966	1127	0,6	0,3	0,5	0,1	0,6	Ir, SM, RMN ^{13}C
6	β -Pinène	971	1116	0,4	tr	tr	tr	0,2	Ir, SM, RMN ^{13}C
7	Myrcène	981	1166	0,1	0,1	—	tr	tr	Ir, SM
8	α -Terpinène	1010	1186	0,1	—	0,1	—	0,1	Ir, SM
9	β -Phellandrène *	1022	1215	—	tr	0,1	—	0,1	Ir, SM
10	Limonène *	1022	1205	0,1	0,1	—	tr	0,1	Ir, SM
11	(<i>Z</i>)- β -Ocimène	1026	1237	tr	0,1	0,1	—	0,3	Ir, SM, RMN ^{13}C
12	(<i>E</i>)- β -Ocimène	1037	1255	1,2	0,8	1,5	1,7	1,2	Ir, SM, RMN ^{13}C

13	γ -Terpinène	1049	1250	tr	0,2	0,1	–	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
14	Terpinolène	1079	1288	0,2	0,1	0,1	–	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
15	Linalol	1085	1550	tr	0,1	tr	0,1	tr	Ir, SM
16	Terpinèn-4-ol	1163	1604	0,1	0,1	tr	–	tr	Ir, SM
17	Néral	1217	1680	0,2	0,1	0,1	–	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
18	Géraniol	1236	1837	0,1	0,2	0,2	–	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
19	Géranial	1244	1732	0,1	0,1	0,1	–	0,1	Ir, SM
20	Thymol	1268	2190	1,3	tr	tr	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
21	Carvacrol	1277	2228	0,1	0,1	tr	–	–	Ir, SM
22	Cogeijérène	1282	1540	0,1	0,1	0,2	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
23	Bicyclo-élémente	1332	1483	0,1	tr	0,1	–	0,1	Ir, SM
24	δ -Élémène	1335	1472	0,4	0,2	2,2	0,2	2,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
25	α -Cubébène	1348	1459	0,1	0,2	tr	–	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
26	Cyclosativène	1369	1483	0,1	0,1	0,1	–	0,1	Ir, SM
27	α -Ylangène	1371	1468	0,1	0,1	0,1	tr	–	Ir, SM
28	α -Copaène	1375	1493	0,1	0,1	0,1	tr	tr	Ir, SM
29	β -Bourbonène	1383	1520	0,1	0,1	tr	–	0,1	Ir, SM
30	β -Cubébène *	1387	1539	0,2	0,3	0,4	0,1	1,0	Ir, SM, RMN ¹³ C
31	β -Élémène *	1387	1591	4,4	0,6	1,6	4,6	1,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
32	Cypérène	1399	1528	0,2	0,1	0,2	–	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
33	α -Gurjunène	1409	1531	0,7	tr	0,2	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
34	(E)- β -Caryophyllène	1417	1597	1,8	3,4	20,0	34,4	1,0	Ir, SM, RMN ¹³ C
35	β -Copaène	1426	1591	0,5	0,1	0,7	0,1	3,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
36	γ -Élémène #	1427	1640	5,5	0,3	1,3	0,3	1,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
37	trans- α -Bergamotène	1432	1586	0,1	tr	tr	tr	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
38	α -Guaïène	1435	1591	tr	0,1	–	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
39	Sesquisabinène A	1436	1647	tr	tr	tr	tr	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
40	Guaïa-6,9-diène	1437	1606	tr	tr	0,1	0,1	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
41	β -Gurjunène (Calarène)	1444	1591	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
42	(E)- β -Farnésène	1446	1661	0,1	0,4	0,1	tr	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
43	α -Humulène	1450	1670	5,8	1,6	2,7	27,1	1,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
44	cis- β -Bergamotène	1452	1671	0,3	0,2	0,2	1,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
45	allo-Aromadendrène	1456	1640	0,2	tr	0,1	0,2	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
46	Ishwarane	1461	1645	0,1	tr	0,3	–	–	Ir, SM, RMN ¹³ C
47	γ -Muuroolène	1469	1688	0,1	tr	0,2	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
48	4,5-diépi-Aristolochène	1471	1705	0,3	–	tr	–	–	Ir, SM, RMN ¹³ C
49	1,11-Oxydocalaménène	1472	1883	1,0	0,4	0,5	2,7	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
50	Germacrène D	1475	1709	3,0	1,1	5,2	1,0	10,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
51	trans- β -Bergamotène	1478	1684	0,1	tr	tr	–	0,1	Ir, SM
52	β -Sélinène	1481	1718	0,5	0,3	0,2	0,4	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
53	Furanodiène #	1482	1873	0,4	0,1	0,4	0,3	3,9	Ir, SM, RMN ¹³ C
54	Furano-élémente (Curzérène) #	1484	1873	0,1	tr	0,1	tr	0,1	Ir, SM
55	4-épi-Cubébol	1487	1871	0,2	0,4	–	–	–	Ir, SM, RMN ¹³ C
56	Bicyclogermacrène	1490	1732	0,9	0,7	0,7	0,3	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
57	α -Sélinène	1491	1723	0,7	0,2	0,4	0,2	2,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
58	α -Muuroolène	1494	1705	2,8	2,2	1,0	6,6	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
59	β -Bisabolène	1500	1727	0,8	0,9	0,4	0,2	1,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
60	Cubébol	1505	1885	tr	tr	0,7	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
61	γ -Cadinène	1507	1758	0,1	–	0,1	–	0,1	Ir, SM
62	(Z)- γ -Bisabolène	1510	1732	0,1	tr	tr	0,1	0,1	Ir, SM
63	δ -Cadinène	1514	1758	2,4	0,8	8,4	0,9	7,0	Ir, SM, RMN ¹³ C
64	Kessane	1521	1761	5,2	2,3	11,5	2,7	–	Ir, SM, RMN ¹³ C
65	(E)- γ -Bisabolène	1522	1758	1,1	0,4	tr	tr	3,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
66	Sélina-4(15),7(11)-diène	1528	1778	0,5	8,3	0,1	0,1	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C

67	β -Élémol	1534	2079	0,6	4,4	1,2	0,9	1,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
68	Sélina-3,7(11)-diène	1537	1778	0,2	tr	tr	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
69	cis-Cadinène éther	1545	1860	–	–	0,4	–	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
70	(E)-Nérolidol	1548	2042	0,5	23,3	1,6	0,7	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
71	Germacrène B #	1551	1829	15,5	0,9	3,2	0,7	3,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
72	Palustrol	1561	1924	1,5	1,2	0,2	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
73	cis-Hydrate de sesquisabinène	1564	2081	0,1	tr	0,6	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
74	Oxyde de caryophyllène	1570	1978	0,1	tr	0,3	2,5	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
75	Curzérénone	1575	2025	–	–	–	0,1	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
76	7-épi-cis-Hydrate de sesquisabinène	1576	2099	0,3	tr	0,7	tr	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
77	Viridiflorol	1581	2081	0,9	tr	0,1	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
78	Guaiol	1584	2088	0,6	12,2	2,3	1,8	11,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
79	Lédol *	1593	2025	12,5	0,3	1,3	1,0	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
80	Copabornéol *	1593	2183	1,4	tr	0,1	–	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
81	Eudesm-5-èn-11-ol	1595	2132	tr	0,2	0,3	tr	0,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
82	néo-Intermédéol	1599	2146	0,1	tr	tr	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
83	épi-Cubénol	1606	2048	tr	0,2	0,2	0,4	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
84	Alismol	1610	2248	tr	–	tr	0,5	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
85	Érémoligénol	1614	2196	0,1	–	–	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
86	10-épi- γ -Eudesmol	1617	2096	1,4	0,3	1,3	tr	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
87	τ -Cadinol	1625	2175	0,3	–	0,2	tr	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
88	τ -Muurolol	1628	2184	0,7	0,2	0,8	tr	0,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
89	α -Muurolol	1630	2212	0,2	tr	0,6	0,1	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
90	β -Eudesmol	1634	2225	0,2	6,3	1,9	0,7	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
91	α -Cadinol	1637	2228	1,2	0,7	0,5	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
92	α -Eudesmol	1638	2216	tr	2,1	0,6	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
93	Atractylone	1639	2121	1,0	3,3	2,7	1,5	10,0	Ir, SM, RMN ¹³ C
94	Intermédéol	1641	2249	0,1	0,8	0,2	0,2	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
95	Bulnésol *	1651	2207	0,4	5,2	1,5	1,0	6,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
96	δ -Cadinène-11-ol *	1651	2271	0,8	2,9	0,2	0,1	1,8	RMN 1D, 2D
97	α -Bisabolol	1666	2208	0,3	tr	0,5	0,1	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
98	épi- α -Bisabolol	1668	2214	0,2	–	0,2	–	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
99	Cadina-1(10),4-diène-8 α -ol	1671	2306	–	0,4	8,1	0,4	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
100	Germacrone	1673	2221	0,8	0,2	tr	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
101	(E)- γ -Bisabolène-12-al	1761	2348	0,7	1,1	tr	tr	1,9	Ir, SM, RMN ¹³ C
102	(E)- γ -Bisabolène-12-ol	1776	2549	6,1	2,5	1,0	0,3	7,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
103	(E)-Phytol	2098	2609	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
Monoterpènes hydrocarbonés				3,0	1,9	2,6	1,8	3,3	
Monoterpènes oxygénés				1,9	0,7	0,4	0,1	0,4	
Sesquiterpènes hydrocarbonés				55,4	26,2	62,2	81,7	43,8	
Sesquiterpènes oxygénés				34,8	68,7	31,3	15,8	50,7	
Autres composés				0,6	0,4	0,3	0,2	0,1	
Total identifié				95,7	97,9	96,8	99,6	98,3	

Ordre d'élution et pourcentages donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20) ; (#) composés thermosensibles dont les pourcentages sont déterminés par la combinaison de la CPG et de la RMN ¹³C ; Ir : indices de rétention sur colonnes apolaire (Ira) et polaire (Irp) ; tr = traces (<0,05%) ; RMN ¹³C : composés identifiés par RMN ¹³C directement dans les échantillons ; RMN ¹³C : composés identifiés par RMN ¹³C dans une fraction de chromatographie.

3.2. Variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *N. acuminata*

L'analyse des 30 échantillons d'HE de feuilles de *N. acuminata* a montré une large prédominance des sesquiterpènes (87,1-98,1%). Cependant, les constituants majoritaires varient considérablement d'un échantillon

à l'autre : (*E*)- β -caryophyllène (0,9 à 45,4%), kessane (0,1 à 32,5%), α -humulène (0,5 à 31,2%), (*E*)-nérolidol (0,2 à 30,8%), germacrène B (0,7 à 16,6%), germacrène D (0,5 à 14,4%), guaïol (0,3 à 13,8%), lédol (0,1 à 13,2%), atractylone (0,4 à 12,1%), cadina-1(10),4-dièn-8 α -ol (0,1 à 12,1%), δ -cadinène (0,4 à 12,0%), sélina-4(15),7(11)-diène (0,1 à 11,2%) et α -muurolène (0,1 à 10,9%). Ainsi, des analyses statistiques ont été effectuées sur les 30 compositions chimiques pour mettre en évidence leur variabilité. Cinq groupes distincts sont observables sur le dendrogramme de la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) : Groupe I (8 échantillons), Groupe II (4 échantillons), Groupe III (9 échantillons), Groupe IV (5 échantillons) et Groupe V (4 échantillons). Les cinq groupes ont également été mis en évidence par l'Analyse en Composantes Principales (ACP) (Figure 2). Les principaux facteurs F1 et F2 représentent 68,84% de la variance totale de la composition chimique. Le tableau 4 rapporte les teneurs moyennes (M) et les écarts-types (ET) des principaux composés discriminant les 5 groupes.

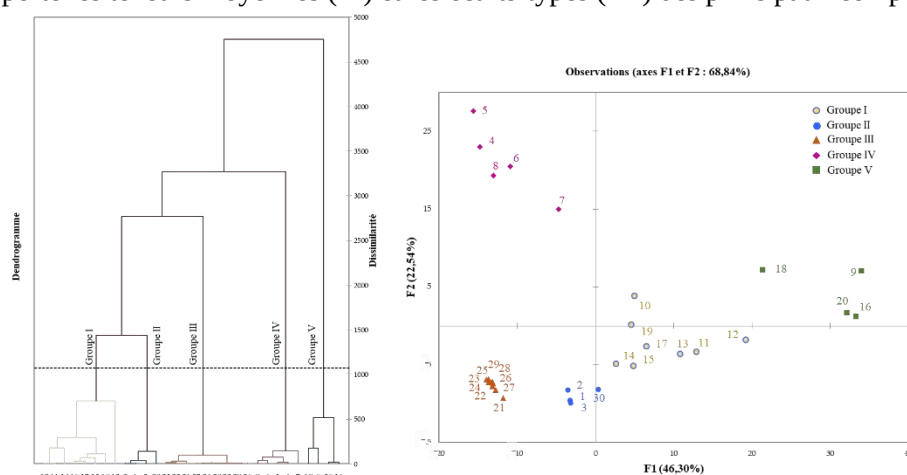


Figure 2 : Dendrogramme de la CAH et ACP des 30 échantillons

Le groupe I est dominé par le (*E*)- β -caryophyllène ($17,6 \pm 4,2\%$) et le kessane ($10,3 \pm 9,9\%$), suivis du δ -cadinène ($6,2 \pm 3,4\%$). Le kessane est absent des échantillons du groupe III. Les principaux constituants du groupe II sont le germacrène B ($13,4 \pm 3,1\%$) et le lédol ($10,6 \pm 2,7\%$), suivis de l' α -humulène ($6,6 \pm 2,1\%$) et du (*E*)- γ -bisabolène-12-ol ($5,8 \pm 0,4\%$). Les groupes I et II sont caractérisés par des teneurs élevées en sesquiterpènes hydrocarbonés (respectivement 58,6 et 55,8%, contre 34,5 et 30,7% de sesquiterpènes oxygénés). En revanche, les groupes III et IV sont composés d'échantillons riches en sesquiterpènes oxygénés (respectivement 49,1 et 67,7%, contre 42,1 et 27,0% de sesquiterpènes hydrocarbonés). En effet, le groupe III présente le guaïol ($11,4 \pm 2,0\%$), le germacrène D ($10,6 \pm 1,6\%$) et l'atractylone ($9,6 \pm 2,3\%$), suivis du (*E*)- γ -bisabolène-12-ol ($7,3 \pm 1,3\%$), du δ -cadinène ($7,3 \pm 0,4\%$) et du bulnésol ($5,9 \pm 1,2\%$) comme composés majoritaires. Le groupe IV est quant à lui dominé par le (*E*)-nérolidol ($23,8 \pm 5,4\%$) et le guaïol ($12,4 \pm 1,3\%$), suivi du sélina-4(15),7(11)-diène ($9,5 \pm 1,7\%$) et du bulnésol ($6,5 \pm 1,1\%$). Les sesquiterpènes hydrocarbonés sont largement prédominants dans le groupe V (75,3%, contre 20,6% de sesquiterpènes oxygénés). Le (*E*)- β -caryophyllène ($36,6 \pm 5,9\%$) et l' α -humulène ($18,9 \pm 12,1\%$), suivis de l' α -muurolène ($6,2 \pm 3,5\%$) en sont les composés prédominants. Par conséquent, la composition chimique de l'HE de feuilles de *N. acuminata* présente une variabilité qualitative et quantitative. Les 8 échantillons du Groupe I ont été récoltés à la station 2 de la forêt du Haut-Sassandra, tandis que les 4 échantillons du Groupe II proviennent de la forêt de Bossematié. Le groupe III est constitué des 9 échantillons de la forêt de Yapo-Abbé. Les échantillons des groupes IV et V ont été récoltés respectivement aux stations 3 et 4 de la forêt du Haut-Sassandra. La récolte ayant eu lieu au cours d'une même saison sèche dans les trois forêts, la variabilité chimique observée pourrait être liée aux sites de récolte, qui incluent des facteurs climatiques et pédologiques, bien que le stade végétatif et les facteurs génétiques ne puissent pas être exclus.

Tableau 4 : Variabilité chimique des composés majoritaire de l'huile essentielle de feuilles de *N. acuminata*.

Composé	Groupe I			Groupe II			Groupe III			Groupe IV			Groupe V		
	M% $\pm$ ET	Mi	Ma	M% $\pm$ ET	Mi	Ma	M% $\pm$ ET	Min	Ma	M% $\pm$ ET	Min	Ma	M% $\pm$ ET	Min	Ma
	x	n	x	x	n	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
β -Élémène	$2,2 \pm 0,9$	1,1	3,7	$4,6 \pm 0,5$	4,1	5,2	$1,4 \pm 0,2$	1,1	1,7	$0,8 \pm 0,3$	0,5	1,1	$3,1 \pm 1,1$	2,1	4,6

(E)- β -Caryophyllène	17,6 $\pm$ 4,2	12,525,0	2,6 $\pm$ 1,4	1,6 4,7	1,1 $\pm$ 0,1	1,0 1,2	3,3 $\pm$ 3,6	0,9 9,4	36,6 $\pm$ 5,9	32,5 45,4
γ -Élémène #	1,5 $\pm$ 0,7	0,9 3,2	5,0 $\pm$ 0,8	4,1 5,8	1,2 $\pm$ 0,4	0,8 2,0	0,4 $\pm$ 0,2	0,2 0,7	0,5 $\pm$ 0,3	0,3 0,9
α -Humulène	2,5 $\pm$ 1,3	1,1 5,2	6,6 $\pm$ 2,1	5,0 9,7	1,3 $\pm$ 0,3	0,5 1,7	1,0 $\pm$ 0,6	0,5 1,8	18,9 $\pm$ 12,1	6,3 31,2
Germacrène D	4,3 $\pm$ 1,1	3,0 5,8	3,5 $\pm$ 1,4	2,4 5,6	10,6 $\pm$ 1,6	9,0 14,4	1,2 $\pm$ 0,5	0,5 2,0	1,7 $\pm$ 0,8	1,0 2,4
Furanodiène #	0,2 $\pm$ 0,2	tr 0,4	0,6 $\pm$ 0,7	0,1 1,6	4,0 $\pm$ 1,2	2,2 5,9	0,3 $\pm$ 0,2	0,1 0,6	0,4 $\pm$ 0,2	0,2 0,6
α -Muuroène	1,2 $\pm$ 0,8	0,2 2,5	2,0 $\pm$ 1,3	0,1 2,9	0,1 $\pm$ 0,1	tr 0,3	2,7 $\pm$ 0,5	2,2 3,4	6,2 $\pm$ 3,5	2,8 10,9
δ -Cadinène	6,2 $\pm$ 3,4	1,8 12,0	2,2 $\pm$ 0,6	1,3 2,8	7,3 $\pm$ 0,4	6,5 7,8	0,8 $\pm$ 0,3	0,5 1,2	0,9 $\pm$ 0,4	0,4 1,4
Kessane	10,3 $\pm$ 9,9	1,4 32,5	4,8 $\pm$ 0,6	4,2 5,5	–	–	1,6 $\pm$ 1,3	0,1 2,7	1,2 $\pm$ 1,1	0,4 2,7
Sélina-4(15),7(11)-diène	1,0 $\pm$ 1,5	tr 4,3	0,5 $\pm$ 0,1	0,3 0,5	0,2 $\pm$ 0,1	tr 0,3	9,5 $\pm$ 1,7	7,4 11,2	1,1 $\pm$ 1,1	0,1 2,2
β -Élémol	2,2 $\pm$ 1,1	1,0 4,0	0,5 $\pm$ 0,3	tr 0,8	1,8 $\pm$ 0,3	1,5 2,5	4,5 $\pm$ 0,5	3,9 5,0	1,6 $\pm$ 0,9	0,9 2,9
(E)-Nérolidol	1,9 $\pm$ 2,1	tr 6,6	0,6 $\pm$ 0,1	0,4 0,7	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 0,2	23,8 $\pm$ 5,4	15,8 30,8	3,0 $\pm$ 3,4	0,3 7,8
Germacrène B #	3,4 $\pm$ 0,8	2,2 4,8	13,4 $\pm$ 3,1	10, 16, 2 6	3,4 $\pm$ 1,0	2,3 5,1	0,4 $\pm$ 0,5	tr 0,9	1,3 $\pm$ 0,7	0,7 2,2
Guaiol	4,2 $\pm$ 2,5	2,0 7,8	0,4 $\pm$ 0,3	tr 0,7	11,4 $\pm$ 2,0	6,9 13,2	12,4 $\pm$ 1,3	10,9 13,8	2,5 $\pm$ 0,8	1,8 3,5
Lédol	3,4 $\pm$ 3,1	0,4 8,2	10,6 $\pm$ 2,7	7,3 13, 2	0,2 $\pm$ 0,2	tr 0,6	0,6 $\pm$ 0,8	tr 1,9	1,8 $\pm$ 1,1	0,7 2,9
Atractylone	1,9 $\pm$ 1,2	tr 3,3	1,2 $\pm$ 1,4	tr 3,2	9,6 $\pm$ 2,3	4,8 12,1	3,0 $\pm$ 0,3	2,6 3,3	1,5 $\pm$ 0,5	0,8 2,1
Bulnésol	2,5 $\pm$ 1,2	1,4 4,2	0,4 $\pm$ 0,1	0,2 0,5	5,9 $\pm$ 1,2	3,2 7,2	6,5 $\pm$ 1,1	5,2 7,6	1,7 $\pm$ 0,9	1,0 3,0
Cadina-1(10),4-diène-8 α -ol	3,6 $\pm$ 4,8	tr 12,1	–	–	0,3 $\pm$ 0,1	0,1 0,6	0,1 $\pm$ 0,2	tr 0,4	0,6 $\pm$ 0,7	tr 1,6
(E)- γ -Bisabolène-12-ol	1,0 $\pm$ 0,4	0,4 1,6	5,8 $\pm$ 0,4	5,2 6,1	7,3 $\pm$ 1,3	5,3 9,4	4,4 $\pm$ 2,6	2,5 8,8	0,8 $\pm$ 0,5	0,3 1,4

(#): pourcentage calculé par combinaison de CPG(FID) et RMN ^{13}C ; M% $\pm$ ET: pourcentage moyen et Écart-Type; (–): non détecté; tr: traces (<0,05%).

3.3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'HE de feuilles de *N. acuminata* (échantillon S24) a été évaluée par la méthode d'inhibition de la lipoxgénase (LOX). En effet, les LOX sont des oxygénases non-hémiques contenant du fer, responsables de la formation de métabolites biologiquement actifs. Ce sont des enzymes clés dans la biosynthèse des leucotriènes qui sont des médiateurs de nombreux troubles liés aux processus inflammatoires tels que l'arthrite, l'asthme bronchique et le cancer [19-22]. La découverte de nouveaux inhibiteurs de la LOX est cruciale, car ils empêcheraient la surproduction de leucotriènes et pourraient ainsi constituer de nouveaux outils thérapeutiques pour le traitement des maladies humaines liées à l'inflammation. La capacité d'inhibition de la LOX du soja a été mesurée et considérée comme un indicateur potentiel de l'activité anti-inflammatoire. Les résultats des tests d'inhibition sont présentés dans le tableau 5. L'HE de feuilles de *N. acuminata* a inhibé l'activité de la LOX et cette inhibition augmente avec la concentration de l'HE (de 15,20% à 0,0125 mg.mL⁻¹ à 81,87% à 0,100 mg.mL⁻¹). Les valeurs des CI₅₀ ont été calculées pour l'HE et l'acide nordihydroguaiarétique (ANDG), un inhibiteur non compétitif de la LOX habituellement utilisé comme référence dans les tests anti-inflammatoires (Tableau 5) [20-22]. La CI₅₀ de l'HE (0,059 $\pm$ 0,001 mg.mL⁻¹) est que 4,5 fois supérieure à celle de l'ANDG (0,013 $\pm$ 0,003 mg.mL⁻¹). Ce faible rapport entre les deux valeurs permet de

considérer l'HE de feuilles de *N. acuminata* comme un inhibiteur significatif de l'activité de la LOX, suggérant un potentiel anti-inflammatoire [23].

Tableau 5 : Activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'huile essentielle de feuilles de *N. acuminata*

Activité anti-inflammatoire (Pourcentage d'inhibition de la LOX)		CI ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	
Concentration en huile (mg.mL ⁻¹)	Inhibition (%)	Huile essentielle	
			0,059 ± 0,001
0,0125	15,20 ± 0,30	*ANDG	0,013 ± 0,003
0,0250	24,59 ± 1,42		
0,0500	47,35 ± 2,09		
0,0800	64,92 ± 2,87		
0,1000	81,87 ± 0,33		

Les valeurs sont des moyennes de triplicats ± écarts-types; *ANDG: acide nordihydroguaiarétique.

4. Conclusion

Trente échantillons d'HE ont été analysés par combinaison de techniques chromatographiques (CC, CPG-Ir) et spectroscopiques (CPG-SM, RMN ¹³C). Au total, 103 constituants représentant 95,7 à 99,6% des compositions des échantillons ont été identifiés. Le fractionnement par CC a conduit à l'isolement pour la première fois d'une source naturelle du δ -cadinène-11-ol, dont la structure a été élucidée par RMN 1D et 2D. L'HE des feuilles de *N. acuminata* est un mélange complexe caractérisé par une énorme variabilité chimique à travers une prédominance de sesquiterpènes (87,1–98,1%) présentant divers squelettes. L'analyse statistique a révélé cinq groupes chimiques distincts. Les groupes I, II et V ont des teneurs élevées en sesquiterpènes hydrocarbonés (respectivement 58,6, 55,8 et 75,3%, contre 34,5, 30,7 et 20,6% de sesquiterpènes oxygénés) tandis que les groupes III et IV sont dominés par des sesquiterpènes oxygénés (respectivement 49,1 et 67,7%, contre 42,1 et 27,0% de sesquiterpènes hydrocarbonés). La variabilité chimique observée pourrait être liée à des facteurs climatiques et pédologiques relatifs aux sites de récolte. Concernant l'activité anti-inflammatoire, le faible rapport entre les CI₅₀ de l'HE et de l'ANDG indique que cette huile inhibe fortement l'activité de la LOX, suggérant ainsi un fort potentiel anti-inflammatoire.

5. Remerciements

Les auteurs remercient l'Université de Corse pour avoir accordé une bourse de recherche post-doctorale à D. A. Kambiré, ainsi que Monsieur H. Téré pour son aide précieuse dans l'identification de la plante.

Références bibliographiques

- [1] Lejoly, J.; Lisowski, S. Le genre *Neuropeltis* Wall. (Convolvulaceae) au Zaïre, au Gabon et au Cameroun. *Bull. Jard. Bot. Natl. Belg.* **1984**, *54*, 471–482. Available online: <http://www.jstor.org/stable/3667854> (visité le 18 Mars 2024).
- [2] Breteler, F.J. Description of a new species of *Neuropeltis* (Convolvulaceae) with a synopsis and a key to all African species. *Plant Ecol. Evol.* **2010**, *143*, 176–180. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2010.387>.
- [3] Burkill, H.M. *The Useful Plants of West Tropical Africa, Volume 1, Families A–D*, 2nd ed.; Royal Botanic Gardens: Richmond, UK, 1985; p. 960.
- [4] Tra Bi, F.H.; Kouamé, F.N.; Traoré, D. Utilisation of climbers in two forest reserves in West Côte d'Ivoire. In *Forest Climbing Plants of West Africa, Diversity, Ecology and Management*; Bongers, F., Parren, M.P.E., Traoré, D., Eds.; CABI Publishing: Wallingford, UK, 2005; pp. 167–181.
- [5] Irvine, F.R. *Woody Plants of Ghana, with Special Reference to Their Uses*; Oxford University Press: London, UK, 1961; p. 868.
- [6] Ebanda, F.B.; Evoung, Y.S.N.; Ateba, J.A.; Tchinda, J.B.S.; Yona, A.M.T.; Laynde, T. Evaluation of micromechanical properties of *Neuropeltis acuminata* (NA) fibers. *Int. J. Acad. Res. Reflect.* **2019**, *7*, 23–36.
- [7] Betene, A.D.O.; Betene, F.E.; Martoia, F.; Dumont, P.J.J.; Atangana, A.; Noah, P.M.A. Physico-Chemical and Thermal Characterization of Some Lignocellulosic Fibres: *Ananas comosus* (AC), *Neuropeltis acuminata* (NA) and *Rhectophyllum camerunense* (RC). *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* **2020**, *8*, 205–222. <https://doi.org/10.4236/jmmce.2020.84014>.
- [8] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Kablan, A.C.L.; Ballo, D.; Paoli, M.; Brunini, V.; Tomi, F. Chemical Variability and in vitro Anti-Inflammatory Activity of Leaf Essential Oil from Ivorian *Isolona dewevrei* (De Wild. & T. Durand) Engl. & Diels. *Molecules* **2021**, *26*, 6228. <https://doi.org/10.3390/molecules26206228>.

- [9] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Thierry, A.Y.; Barat, N.; Bighelli, A.; Tomi, F. Chemical composition of root and stem bark essential oils from Ivorian *Isolona dewevrei*: Structural elucidation of a new natural germacrone. *Nat. Prod. Res.* **2021**, *36*, 2105–2111. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1851219>.
- [10] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Yapi, T.A.; Bighelli, A.; Tomi, F.; Casanova, J. Leaf essential oil from Ivoirian *Isolona dewevrei* (Annonaceae): Chemical composition and structure elucidation of four new natural sesquiterpenes. *Flavour Fragr. J.* **2021**, *36*, 22–33. <https://doi.org/10.1002/ffj.3612>.
- [11] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Yapi, T.A.; Ouattara, Z.A.; Bighelli, A.; Casanova, J.; Tomi, F. New Natural Oxygenated Sesquiterpenes and Chemical Composition of Leaf Essential Oil from Ivoirian *Isolona dewevrei* (De Wild. & T. Durand) Engl. & Diels. *Molecules* **2020**, *25*, 5613. <https://doi.org/10.3390/molecules25235613>.
- [12] Tomi, F.; Bradesi, P.; Bighelli, A.; Casanova, J. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* **1995**, *1*, 25–34.
- [13] Ouattara, Z.A.; Boti, J.B.; Ahibo, A.C.; Sutour, S.; Casanova, J.; Tomi, F.; Bighelli, A. The key role of ¹³C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. *Flavour Fragr. J.* **2014**, *29*, 371–379.
- [14] Baldovini N, Tomi F, Casanova J. Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ¹³C-NMR. *Phytochem. Anal.* **2001**, *12*, 58–63.
- [15] Weyerstahl, P.; Marschall-Weyerstahl, H.; Christiansen, C. Constituents of Ayou Essential Oil (*Ayodendron barbeyana* Mez). *Flavour Fragr. J.* **1989**, *4*, 93–98. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730040302>.
- [16] Kim, H.-K.; Yun, Y.-K.; Ahn, Y.-J. Toxicity of Atractylon and Atractylonolide III Identified in *Atractylodes ovata* Rhizome to *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6027–6031. <https://doi.org/10.1021/jf0708802>.
- [17] Sciarrone, D.; Pantò, S.; Rotondo, A.; Tedone, L.; Tranchida, P.Q.; Dugo, P.; Mondello, L. Rapid collection and identification of a novel component from *Clausena lansium* Skeels leaves by means of three-dimensional preparative gas chromatography and nuclear magnetic resonance/infrared/mass spectrometric analysis. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *785*, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.069>.
- [18] Look, S.A.; Buchholz, K.; Fenical, W. 12-Hydroxy-E-γ-bisabolene, a new sesquiterpene alcohol from a Caribbean sea whip of the genus *Pseudopterogorgia* (Gorgonacea, Cnidaria). *Experientia* **1984**, *40*, 931–933. <https://doi.org/10.1007/BF01946443>.
- [19] Cutillas, A.-B.; Carrasco, A.; Martinez-Gutierrez, R.; Tomas, V.; Tudela, J. Thyme essential oils from Spain: Aromatic profile ascertained by GC-MS and their antioxidant, anti-lipoxygenase and antimicrobial activities. *J. Food Drug Anal.* **2018**, *26*, 529–544. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.05.004>.
- [20] Whitman, S.; Gezginci, M.; Timmermann, B.N.; Holman, T.R. Structure-activity relationship studies of nordihydroguaiaretic acid inhibitors toward soybean, 12-human, and 15-human lipoxygenase. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2659–2661. <https://doi.org/10.1021/jm0201262>.
- [21] Jazet Dongmo, P.M.; Kuate, J.; Ngouana, V.; Damesse, F.; Tchinda Sonwa, E.; Amvam Zollo, P.H.; Menut, C. Comparaison des propriétés anti-radicalaires et anti-inflammatoires des huiles essentielles de *Citrus reticulata* var. Madagascar et *Citrus sinensis* var. Casagrande du Cameroun. *Fruits* **2008**, *63*, 201–208.
- [22] Kamatou, G.P.P.; Viljoen, A.M.; Gono-Bwalya, A.B.; van Zyl, R.L.; van Vuuren, S.F.; Lourens, A.C.U.; Başer, K.H.C.; Demirci, B.; Lindsey, K.L.; van Staden, J.; et al. The in vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *102*, 382–390. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.034>.
- [23] Cachet, T.; Brevard, H.; Chaintreau, A.; Demyttenaere, J.; French, L.; Gassenmeier, K.; Joulain, D.; Koenig, T.; Leijts, H.; Liddle, P.; et al. IOFI recommended practice for the use of predicted relative-response factors for the rapid quantification of volatile flavouring compounds by GC-FID. *Flavour Fragr. J.* **2016**, *31*, 191–194. <https://doi.org/10.1002/ffj.3311>.

Effet de sept (07) combinaisons d'huiles essentielles sur les larves de la tique *Rhipicephalus microplus* des bovins

Anass Coulibaly¹, Abel S. Biguezoton², Delphine M. Héma¹, Firmin F. Dah¹, Ignace Sawadogo¹, Rémy K. Bationo¹, Moussa Compaoré³, Martin Kiendrebeogo³, Roger C.H Nèbié¹

¹Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Centre International de Recherche-Développement sur l'élevage en zone Subhumide (CIRDES), Unité des maladies à vecteur et Biodiversité (UMaVeB), 454 BP Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

³Laboratoire de Biochimie et de Chimie Appliquées (LA.BIO.CA), UFR/SVT, Université Joseph KI-ZERBO, 09 BP 848 Ouagadougou 09, Burkina Faso

Résumé

La tique de bétail *Rhipicephalus microplus* constitue l'un des plus importants ectoparasites de bétail et le plus nuisible dans les régions tropicales et subtropicales du monde [1]. La lutte conventionnelle contre cette tique repose principalement sur l'utilisation d'acaricides synthétiques [2]. Cependant, ces produits présentent non seulement un risque pour l'homme et l'environnement, mais conduit à l'émergence de populations de tiques résistantes [2]. Face à cette situation, la recherche d'acaricides naturels s'impose et les huiles essentielles apparaissent comme une alternative prometteuse. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité acaricide de sept combinaisons d'huiles essentielles sur les larves de ladite tique. Cette activité a été évaluée selon le test d'immersion des larves [4]. L'effet combiné des huiles essentielles a été déterminé en calculant les indices de combinaison [5]. Les résultats obtenus montrent que la combinaison n°6 constituée d'huiles essentielles de *Ocimum americanum*, *Ocimum gratissimum* et *Lippia multiflora* en proportions respectives de 1/6 :2/3 :1/6 a présenté le meilleur effet synergique (IC= 0,44). Ces résultats suggèrent que cette combinaison pourrait servir à l'élaboration d'un bio-acaricide efficace pour le contrôle des tiques de bétail.

Mots clés : Huile essentielle ; combinaison ; *Rhipicephalus microplus* ; bio-acaricide.

Effect of seven (07) essential oil combinations on bovine *Rhipicephalus microplus* tick larvae

Abstract

The cattle tick *Rhipicephalus microplus* is one of the most important ectoparasites of livestock and the most damaging in tropical and subtropical regions of the world [1]. Conventional control of this tick relies mainly on the use of synthetic acaricides [2]. However, these products not only present a risk for humans and the environment but also lead to the emergence of resistant tick populations [3]. Faced with this situation, the search for natural acaricides is imperative, and essential oils appear to be a promising alternative. This study aimed to evaluate the acaricidal activity of seven essential oil combinations on the larvae of the aforementioned tick. This activity was assessed using the larval immersion test [4]. The combined effect of the essential oils was determined by calculating combination indices [5]. The results show that combination no. 6, made up of essential oils of *Ocimum americanum*, *Ocimum gratissimum* and *Lippia multiflora* in respective proportions of 1/6 :2/3 :1/6, had the best synergistic effect (CI= 0.44). These results suggest that this combination could be used to develop an effective bio-acaricide for controlling cattle ticks.

Key words: Essential oil; chemical combination; *Rhipicephalus microplus*; bio-acaricide.

Introduction

Les tiques affectent 80 % du bétail mondial et sont associées à de nombreux impacts sanitaires et économiques dans les régions tropicales et subtropicales [6]. Les pertes économiques liées aux tiques sont estimées à environ 18,7 milliards de dollars par an [7]. Parmi les espèces de tiques infestant le bétail, *Rhipicephalus microplus* a l'impact économique le plus important en raison de sa large distribution, de sa capacité vectorielle, de ses habitudes de succion sanguine et de sa capacité à s'établir au détriment des autres espèces de tiques [8,9]. En Afrique de l'Ouest, *R. microplus* a été introduit en Côte d'Ivoire [10,11] et au Bénin [12] au début des années 2000. En l'espace d'une décennie, la tique s'est répandue au Togo, au Mali et au Burkina Faso [7,13,14]. Pour lutter contre la propagation de la tique *R. microplus*, la méthode la plus couramment utilisée demeure l'utilisation d'acaricides synthétiques [9,15,16]. Cependant, l'utilisation intensive et non contrôlée de ces produits a entraîné au fil du temps à l'émergence de populations de tiques résistantes à la plupart des acaricides disponibles [2,17]. De plus, l'utilisation de ces produits pollue l'environnement et présente un danger pour la santé humaine et animale [18]. Pour trouver une alternative plus efficace et plus respectueuse de l'environnement, les chercheurs sont de plus en plus tournés vers les extraits de plantes, notamment les huiles essentielles (HEs) dont les propriétés acaricides ont été prouvées [19,20]. Ces composés sont particulièrement intéressants en raison de leur faible rémanence et de leur chimie complexe ; ce qui empêche le développement de résistances [21,22]. Par

ailleurs, il a été démontré que la combinaison de plusieurs HEs présentait des effets synergiques vis-à-vis de divers organismes cibles [23,24,25].

Ocimum americanum, *Ocimum gratissimum* et *Lippia multiflora* sont les trois plantes aromatiques présentes au Burkina Faso dont les HEs ont prouvées individuellement leur activité acaricide contre la tique *R. microplus* [26,27].

La présente étude vise à rechercher une combinaison d'HEs très active à faible dose à partir du mélange des trois HEs. Les résultats de cette étude pourraient conduire ainsi au développement de nouvelles formulations bio-acaricides efficaces à partir de cette combinaison pour lutter efficacement contre les tiques de bétail.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal et animal

Le matériel végétal est constitué de parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *O. gratissimum* L, *O. americanum* L et *L. multiflora* Mold. collectées en septembre 2022 dans la région du Centre du Burkina Faso [28]. La souche adulte de *R. microplus* a été collectée sur des bœufs naturellement infestés au Sud-Ouest du Burkina Faso, dans la commune de Niangoloko [28].

2.2 Extraction et analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été obtenues par distillation pendant 3 heures à partir de la matière végétale fraîche à l'aide d'un extracteur de type Clevenger. Leurs compositions chimiques ont été déterminées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (GC) Hewlett Packard Model 5890A et un spectromètre de masse (MS) Hewlett Packard Model 5989A [28].

2.3 Détermination de l'activité acaricide

Pour l'évaluation de l'activité acaricide, différentes combinaisons ont été préparées en mélangeant les trois HEs en différentes proportions (Tableau 1). Le tween 20 à 3% a été utilisé pour préparer les solutions d'immersion des larves et comme témoin négatif.

Tableau 1: Combinaisons d'huiles essentielles [29]

Combinaisons	Proportions d'huiles essentielles			Volume total du mélange (mL)
	<i>O. americanum</i>	<i>O. gratissimum</i>	<i>L. multiflora</i>	
Combination 1	1/2	1/2	-	450
Combination 2	1/2	-	1/2	450
Combination 3	-	1/2	1/2	450
Combination 4	1/3	1/3	1/3	450
Combination 5	2/3	1/6	1/6	450
Combination 6	1/6	2/3	1/6	450
Combination 7	1/6	1/6	2/3	450

Le test d'immersion larvaire (LIT) modifié a été utilisé pour déterminer l'activité acaricide des HEs lorsqu'elles ont été testées séparément et en combinaison contre les larves de *R. microplus* [30]. Neuf (09) solutions d'immersion ont été utilisées : 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 et 45 mg/mL. Les taux de mortalité ont été déterminés selon la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité} = \frac{\text{Nombre de larves mortes}}{\text{Nombre total de larves}} \times 100$$

Ceux des groupes témoins ont été corrigés par la formule d'Abbott lorsque cette valeur dépassait 5 %. Les larves sans mouvement ont été diagnostiquées comme étant mortes et seules les larves ayant la capacité de se déplacer ont été enregistrées comme vivantes [31]. Le programme CompuSyn® version 1.0 a été utilisé pour déterminer l'effet combiné des HEs en calculant les indices de combinaison (IC) [32]. Les valeurs de l'indice de réduction de la dose (IRD) ont été calculées à partir de l'équation et de l'algorithme de l'IRD à l'aide du programme CompuSyn [33].

2.4 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R version 4.0.3. Les valeurs moyennes de chaque traitement ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) suivie du test de Tukey au niveau de signification de 5 % [28].

3. Résultats et discussion

3.1. Composition chimique des HEs

L'analyse chimique des HEs [28] a révélé que les trois HEs étaient principalement composées de composés monoterpéniques. Ces composés constituaient 91,3% de l'HE de *O. americanum* avec une prédominance de monoterpènes oxygénés (70,4 %). Dans l'HE de *O. gratissimum*, les monoterpènes représentaient 86,2 % avec 39,4 % de monoterpènes hydrocarbonés et 46,8 % de monoterpènes oxygénés. Quant à l'HE de *L. multiflora*, elle était composée de 71,9 % de monoterpènes, dont 55 % étaient hydrocarbonés et 16,8 % oxygénés.

3.2. Effets des interactions des combinaisons d'huiles essentielles

L'étude de l'activité acaricide des combinaisons d'HEs de *O. americanum*, *O. gratissimum* et de *L. multiflora* contre les larves de la tique *R. microplus* n'a pas été encore rapportée. Les résultats obtenus montrent que parmi les combinaisons binaires, la combinaison 1 (1/2 *O. americanum* + 1/2 *O. gratissimum*) s'est avérée la plus efficace, avec une valeur d'indice de combinaison (IC) inférieure de 0,76 et des valeurs d'indice de réduction de dose (IRD) de 3,62 et 2,08 respectivement pour l'HE de *O. americanum* et de *O. gratissimum* [28]. Pour les combinaisons tertiaires, la combinaison n° 6 a présenté les meilleurs effets synergiques, avec une valeur CI de 0,44 et des valeurs d'IRD de 9,52, 5,47 et 6,69 respectivement pour les HEs de *O. americanum*, *O. gratissimum* et de *L. multiflora* [28]. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont également démontré les effets synergiques des combinaisons binaires et triples d'HEs sur la tique *R. microplus* [29,34,35]. Les valeurs des IRD ont montré que la contribution de l'HE de *O. americanum* était plus favorable à la réduction de la dose, suivie de celles de *L. multiflora* et de *O. gratissimum* [28]. Cela montre que les combinaisons sont d'autant plus actives lorsque la teneur du mélange est plus faible en HE de *O. americanum*. Par contre, elles deviennent plus synergiques lorsque la concentration en HE de *L. multiflora* ou de *O. gratissimum* est plus élevée (combinaisons 6 et 7). Cela montre que la proportion des HEs individuelles d'une combinaison d'HEs ont une influence sur son efficacité. Sur l'ensemble des combinaisons d'HEs étudiées, les combinaisons tertiaires étaient les plus actives comparativement aux combinaisons binaires [28]. Ce résultat montre que le nombre d'HEs individuelles du mélange peut influencer l'activité de la combinaison. En effet, plus le nombre d'HEs individuelles est élevé plus l'activité de la combinaison augmente. L'activité acaricide observée par les sept combinaisons d'HEs sur les larves de la tique *R. microplus* pourrait s'expliquer probablement par leur composition chimique. En effet, il a été démontré que l'activité biologique d'une HE était intimement liée à sa composition chimique [36,37]. Cette activité peut être principalement attribuée aux composés monoterpéniques [38,39]. Dans cette étude, le thymol (29,5%), le γ -terpinène (20,5%) et le p-cymène (12,9%) étaient les constituants majeurs de l'HE de *O. gratissimum*. Pour l'HE de *L. multiflora*, elle contenait essentiellement le γ -terpinène (8,5%) et le p-cymène (25,4%) et le β -caryophyllène (12,6). L'activité acaricide de ces composés a également été rapportée. En effet, une étude menée au Brésil a montré l'activité acaricide du γ -terpinène et du p-cymène contre les larves de *R. microplus* tiques [40]. Pour le thymol son activité acaricide a été documentée dans de nombreuses études [41,42]. Quant au 1,8 cinéole et au camphre (17,4 %) des études ont également prouvé que ces composés étaient actifs sur *R. microplus* [43,44].

4. Conclusion

Cette étude a permis de première étude à mettre en évidence l'activité acaricide de sept combinaisons d'huiles essentielles de *O. americanum*, *O. gratissimum*, et de *L. multiflora* contre les larves de la tique *R. microplus*. L'HE de *O. gratissimum* a présenté la meilleure activité acaricide parmi les trois HE, et la combinaison n°6 constituée d'HE de *O. americanum*, *O. gratissimum* et de *L. multiflora* en proportions 1/6, 1/6 et 2/3 a présenté le meilleur effet synergique sur l'ensemble des sept combinaisons testées. Ces trois HE pourraient servir d'alternative pour synthétiser de nouveaux acaricides naturels et réduire la dépendance à l'égard des acaricides synthétiques existants. Ces résultats pourront servir à mettre au point de nouveaux acaricides naturels à base de la combinaison n°6 pour lutter efficacement contre les tiques de bétail. Cependant, les questions relatives à la toxicité des trois HEs et leurs mécanismes d'action doivent être étudiées.

5. Bibliographie

- [1] Rodriguez-vivas RI. (2017). Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology Research* ;117(1),3–29. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>
- [2] Abbas, R.Z., Zaman, M.A., Colwell, D.D., Gilleard, J., Iqbal, Z. (2014). Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management : the state of play. *Veterinary Parasitology*; 203 ; 6–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.006>.

- [3] Agwunobi, D.O., Yu, Z., Liu, J. (2021). A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. *Pesticide Biochemistry and Physiology* ;173,1–17. <http://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>.
- [4] Klafke, G.M., Castro-Janer, E., Mendes, M.C., Namindome, A., Schumaker, T.T.S. (2012). Applicability of in vitro bioassays for the diagnosis of ivermectin resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* ; 184 (2–4), 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.018>.
- [5] Chou, T.C. (2006). Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacological Reviews* ;58(3),621–681. <https://doi.org/10.1124/pr.58.3.10>.
- [6] Hurtado, J.B.O., Giraldo-Rios, C.(2019). Economic and health impact of the ticks in production animals. Ticks and tick-borne pathogens. In: Science open.Com. Place. IntechOpen, p. 19. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81167>.
- [7] De Clercq, E.M., Vanwambeke, S.O., Sungirai, M., Adehan, S., Lokossou, R., Madder, M. (2012). Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. *Experimental and Applied Acarology* ; 58 (4), 441–452. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9587-0>.
- [8] Lagunes-Quintanilla, R., Ines Domínguez-García, D., Martínez-Velazquez, M., Rosario- Cruz, R., 2017. Potential effects on *Rhipicephalus microplus* tick larvae fed on calves immunized with a Subolesin peptide predicted by epitope analysis Phylogenetic analyses of Pestiviruses View project. *Tropical Biomedicine* ; 33 (3), 728–738.
- [9] Rodríguez-vivas, R.I., Jonsson, N.N., Bhushan, C. (2018). Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol. Res* ; 117 (1), 3–29. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>.
- [10] Madder, M., Thys, E., Geysen, D., Baudoux, C., Horak, I. (2007). *Boophilus microplus* ticks found in West Africa. *Exp. Appl. Acarol* ; 43 (3), 233–234. <https://doi.org/10.1007/s10493-007-9110-1>.
- [11] Madder, M., Thys, E., Achi, L., Toure, A., De Deken, R. (2011). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* : a most successful invasive tick species in West-Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 53 (2), 139–145. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9390-8>.
- [12] Madder, M., Adehan, S., De Deken, R., Adehan, R., Lokossou, R. (2012). New foci of *Rhipicephalus microplus* in West Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 56 (4), 385–390. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9522-4>.
- [13] Adakal, H., Biguezoton, A., Zoungana, S., Courtin, F., De Clercq, E.M., Madder, M. (2013). Alarming spread of the Asian cattle tick *Rhipicephalus microplus* in West Africa-another three countries are affected: Burkina Faso, Mali and Togo. *Exp. Appl. Acarol.* 61 (3), 383–386. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9706-6>.
- [14] Toure, A., Diaha, C., Sylla, I., Kouakou, K. (2014). Récente recombinaison des populations de tiques prévalent en Côte d'Ivoire [Recent recombination of tick populations prevalent in Cote d'Ivoire]. *Int. J. Brain Cognit. Sci* ; 8 (2), 566. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i2.15.French>.
- [15] Ouedraogo, A.S., Zannou, O.M., Biguezoton, A.S., Patrick, K.Y., Belem, A.M.G., Farougou, S., Oosthuizen, M., Saegerman, C., Lempereur, L. (2021). Efficacy of two commercial synthetic pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) on *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus microplus* strains of the south-western region of Burkina Faso. *Trop. Anim. Health Prod* ; 53 (3),402. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02849-2>.
- [16] Yessinou, R.E., Akpo, Y., Adoligbe, C., Adinci, J., Assogba, M.N., Koutinhouin, B., Karim, I.Y.A., Farougou, S. (2016). Resistance of tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides and control strategies. *J. Entomol. Zool. Stud* ; 4 (6), 408–414.
- [17] Dzemo, W.D., Thekiso, O., Vudriko, P. (2022). Development of acaricide resistance in tick populations of cattle: a systematic review and meta-analysis. *Heliyon* 8 (1) , e08718. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08718>.
- [18] Benelli, G., Pavela, R. (2017). Repellence of essential oils and selected compounds against ticks—a systematic review. *Acta Trop* ; 179, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.025>.
- [19] Salman, M., Abbas, R.Z., Israr, M., Abbas, A., Mehmood, K., Khan, M.K., Sindhu, Z.U.D., Hussain, R., Saleemi, M.K., Shah, S. (2020). Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. *Vet. Parasitol.* <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109178>.
- [20] Selles, S.M.A., Kouidri, M., González, M.G., González, J., Sánchez, M., Gonzalez- Coloma, A., Sanchis, J., Elhachimi, L., Sonia Olmeda, A., Tercero, J.M., Valcarcel, F. (2021). Acaricidal and repellent effects of essential oils against ticks: a review. *Pathogens* 10 (11), 1379. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111379>.
- [21] Shezryna, S., Anisah, N., Saleh, I., Syamsa, R.A. (2020). Acaricidal activity of the essential oils from *Citrus hystrix* (Rutaceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae (Acari: ixodidae). *Trop. Biomed* ; 37 (2),433–442.
- [22] Singh, N.K., Miller, R.J., Klafke, G.M., Goolsby, J.A., Thomas, D.B., Perez de Leon, A.A. (2017). In-vitro efficacy of a botanical acaricide and its active ingredients against larvae of susceptible and acaricide-resistant strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini (Acari: ixodidae). *Tick. Tick-borne Dis.* 9 (2),201–206. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.09.005>.
- [23] Novato, T., Gomes, G.A., Zeringota, V., Franco, C.T., De Oliveira, D.R., Melo, D., De Carvalho, M.G., Daemon, E., De Oliveira Monteiro, C.M. (2018). In vitro assessment of the acaricidal activity of carvacrol, thymol, eugenol and their acetylated derivatives on *Rhipicephalus microplus* (Acari: ixodidae). *Vet. Parasitol* ; 260,1–4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.07.009>.
- [24] Jyoti, Singh, N.K., Singh, H., Mehta, N., Rath, S.S. (2019). In vitro assessment of synergistic combinations of essential oils against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Exp. Parasitol* ; 201,42–48. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.007>.
- [25] Balboné, M., Sawadogo, I., Soma, D.D., Drabo, S.F., Namountougou, M., Bayili, K., Romba, R., Meda, G.B., Nebié, H.C.R., Dabire, R.K., Bassole, I.H.N., Gnankine, O. (2022). Essential oils of plants and their combinations as an alternative adulticides against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) populations. *Sci. Rep.* 12 (1),19077. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23554-6>.
- [26] Héma, M. D., Biguezoton S.A. , Traoré A. , Koné M. , Zoungana S. , Nébié C. H. R. (2018). Activité acaricide des extraits hexaniques et des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques acclimatées au Burkina Faso, sur la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Science et Technique, Sciences Naturelles et Appliquées, (Spécial hors-série).* 353–361.
- [27] Coulibaly, A., Traoré, A., Bazié, B. V., Biguezoton, S. A., Ouattara, L. P., Konaté, A., Touré, A., Zoungana, S., Koné, M., & Nébié, C. H. R. (2019). Efficacité acaricide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les adultes d'une tique de bétail résistante aux acaricides de synthèse. *Science et Technique, Sciences Naturelles et Appliquées*, 38(1), 70–79.

- [28] Coulibaly, A., Biguezoton, A.S., Hema, M.D., Dah, F.F., Sawadogo, I., Bationo, K.R., Compaore, M., Kiendrebeogo, M., Nebie, C.H.R. (2023). Evaluation of synergism of essential oils on the cattle tick *Rhipicephalus microplus* in Burkina Faso. *Experimental Parasitology* ; 8 :255,108643. <http://doi.org/10.1016/j.exppara.2023.108643>
- [29] Díaz, L.E., Padilla, Camberos, E., Castillo Herrera, G.A., Estarrón Espinosa, M., Espinosa Andrews, H., Paniagua Buelnas, N.A., Gutiérrez Ortega, A., Martínez Velázquez, M. (2019). Development of essential oil-based phyto-formulations to control the cattle tick *Rhipicephalus microplus* using a mixture design approach. *Exp. Parasitol.* 201, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.008>.
- [30] Klafke, G.M., Castro-Janer, E., Mendes, M.C., Namindome, A., Schumaker, T.T.S. (2012). Applicability of in vitro bioassays for the diagnosis of ivermectin resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari: ixodidae). *Vet. Parasitol.* 184 (2–4), 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.018>.
- [31] Rosado-Aguilar, J.A., Aguilar-Caballero, A., Rodriguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R., Garcia-Vazquez, Z., Mendez-Gonzalez, M. (2010). Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Vet. Parasitol.* 168 (3–4), 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.022>.
- [32] Chou, T.-C., & Martin, N. (2005). *A computer program for quantitation of Synergism and antagonism in drug combinations, and the determination of IC50 and ED50 Values* (Inc. ComboSyn, Ed.; 1 st edition, Vol. 1).
- [33] Zhang, N., Fu, J., & Chou, T. (2016). Synergistic combination of microtubule targeting anticancer fludelone with cytoprotective panaxytriol derived from panax ginseng against MX-1 cells in vitro : experimental design and data analysis using the combination index method. *American Journal of Cancer Research*, 6(1), 97–104. www.combosyn.com.
- [34] Vinturelle, R., Mattos, C., Meloni, J., Nogueira, J., Nunes, M.J., Vaz, I.S., Rocha, L., Lione, V., Castro, H.C., Das Chagas, E.F. (2017). In vitro evaluation of essential oils derived from *piper nigrum* (Piperaceae) and *Citrus limonum* (Rutaceae) against the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Biochem. Res. Int.* 2017 (5342947), 9. <https://doi.org/10.1155/2017/5342947>.
- [35] Shezryna, S., Anisah, N., Saleh, I., Syamsa, R.A. (2020). Acaricidal activity of the essential oils from *Citrus hystrix* (Rutaceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae (Acari: ixodidae). *Trop. Biomed.* 37 (2), 433–442.
- [36] Djebir, S., Ksouri, S., Trigui, M., Tounsi, S., Boumaaza, A., Hadeif, Y., Benakhla, A. (2019). Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils of some plant species of *Lamiaceae* and *Myrtaceae* against the vector of tropical bovine Theileriosis: *Hyalomma scupense* (syn. *Hyalomma detritum*). *BioMed Res. Int.* 2019, 7805467 <https://doi.org/10.1155/2019/7805467>.
- [37] Jia, M., He, Q., Wang, W., Dai, J., Zhu, L. (2018). Chemical composition and acaricidal activity of *Arisaema anurans* essential oil and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: ixodidae). *Vet. Parasitol.* 261, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.08.006>.
- [38] Senra, T.O.S., Calmon, F., Zeringota, V., Monteiro, C.M.O., Maturano, R., Da Silva Matos, R., Melo, D., Gomes, G.A., De Carvalho, M.G., Daemon, E. (2013). Investigation of activity of monoterpenes and phenylpropanoids against immature stages of *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: ixodidae). *Parasitol. Res.* 112 (10), 3471–3476. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3527-8>.
- [39] Araujo, L.X., Novato, T.P.L., Zeringota, V., Maturano, R., Melo, D., Da Silva, B.C., Daemon, E., De Carvalho, M.G., Monteiro, C.M.O. (2016). Synergism of thymol, carvacrol and eugenol in larvae of the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*, and brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Med. Vet. Entomol.* 30 (4), 377–382. <https://doi.org/10.1111/mve.12181>.
- [40] Lima, A.S., Milhomem, M.N., Monteiro, O.S., Arruda, A.C.P., De Castro, A.M.J., Fernandes, Y.M.L., Maia, J.G.S., Costa-Junior, L.M. (2017). Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: ixodidae). *Parasitol. Res.* 117 (1), 59–65. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5662-0>.
- [41] Camargo-Mathias, M.I. (2018). *Inside Ticks: Morphophysiology, Toxicology and Therapeutic Perspectives*. Editora Unesp, São Paulo, p. 199. <https://doi.org/10.7476/9788595462861>.
- [42] Costa-Júnior, L.M., Miller, R.J., Alves, P.B., Blank, A.F., Li, A.Y., Pérez de León, A.A. (2016). Acaricidal efficacies of *Lippia gracilis* essential oil and its phytochemicals against organophosphate-resistant and susceptible strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet. Parasitol.* 228, 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.028>.

Optimisation de la teneur du 1,8-cinéole dans l'huile essentielle des feuilles *Aframomum exscapum* (Zingiberaceae) de Côte d'Ivoire par la distillation fractionnée

Koffi Affouet Muriel Laure ¹, Tanoh Amenan Evelyne¹, Gilles Figuerodo ², Tonzibo Zanahi Félix ¹

¹Laboratoire des Chimie Organique Structurale, UFR-SSMT, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22 Côte d'Ivoire

*koffiam2017@gmail.com

²Laboratoire de Chimie des Hétérocycles, des glucides et des huiles essentielles, Université Blaise-Pascale de Clermont-Ferrand, Campus des Cézeaux, 63177 Aubière, France Groupe thématique

Résumé

Les plantes aromatiques constituent aujourd'hui de véritables sources de matières premières et pourraient être une réponse aux problèmes de diversification des ressources végétales cultivables et du chômage [1]. L'espèce *Aframomum exscapum* avec une huile essentielle (HE) des feuilles, riche en 1,8-cinéole peut être une source potentielle de production de cette molécule [2, 3]. Ce travail a pour objectif d'optimiser la teneur de cette HE en

1,8-cinéole par la méthode de distillation fractionnée. L'HE a été extraite par entraînement à la vapeur à l'aide d'un appareil de type Clevenger et analysée au moyen de la CPG et du couplage CPG-SM. Trois qualités d'HE sont obtenues en fonction de la durée de distillation notamment à prédominance 1,8-cinéole / α -pinène ; 1,8-cinéole / germacrène D/ α -terpinéol/ β -caryophyllène et germacrène D/ β -caryophyllène/ α -terpinéol/1,8-cinéole. Cette étude a montré également qu'une distillation de 15 minutes permet d'obtenir une HE avec une teneur en 1,8-cinéole proche de celle exigée par la norme AFNOR NF T75-225. La culture intensive de la plante et l'évaluation des activités biologique et toxicologique de cette HE sont à envisager.

Mots clés : *Aframomum* ; huile essentielle ; distillation ; 1,8-cinéole.

Optimization of the content of 1,8-cineole in the essential oil of *Aframomum exscapum* leaves (Zingiberaceae) from Ivory Coast by fractional distillation

Abstract

Aromatic plants today constitute real sources of raw materials and could be a response to the problems of diversification of cultivable plants resources and unemployment [1]. The species *Aframomum exscapum* with an essential oil (EO) of the leaves, rich in 1,8-cineol may be a potential source of production of this molecule [2-3]. This work aims to optimize the 1,8-cineol content of this EO by the fractional distillation method. The EO was extracted by steam stripping using a Clevenger type device and analyzed using GC and GC-MS coupling. Three qualities of EO are obtained depending on the distillation duration, notably predominantly 1,8-cineol/ α -pinene,

1,8-cineol/germacrene D/ α -terpineol/ β -caryophyllene and germacrene D/ β -caryophyllene/ α -terpineol/1,8-cineol. This study also showed that a 15-minute distillation makes it possible to obtain an EO with a 1,8-cineol content close to that required by the AFNOR NF T75-225 standard. Intensive cultivation of the plant and evaluation of the biological and toxicological activities of this EO should be considered.

Key words: *Aframomum*; essential oil; distillation; 1,8-cineole.

1. Introduction

Les espèces du genre *Aframomum* appartenant à la famille des Zingiberaceae, sont des herbes pérennes de grande taille, rhizomateuses et aromatiques endémiques des flores tropicales de l'Afrique subsaharienne et de Madagascar [4-5]. En Côte d'Ivoire les feuilles de l'espèce *Aframomum exscapum* sont utilisées comme antitussif, antiseptique et aromate [6]. Des études ont montré une prédominance du 1,8-cinéole (eucalyptol) dans l'huile essentielle de ces feuilles [2-3] en Côte d'Ivoire comme en Guadeloupe. Dans la littérature, *Eucalyptus globulus*, est l'une des sources habituelles de production de cette molécule avec une teneur comprise entre 70% et 80% selon la norme AFNOR NF T75 – 225 [7]. C'est une huile essentielle très prisée et classée parmi les TOP 10 des productions d'huiles essentielles au niveau mondiale. Le 1,8-cinéole est connue pour ses nombreuses propriétés pharmacologiques inflammatoire, antioxydante, expectorante, antiseptique, antidiabétique, insecticide [8-11]. Dans ce présent travail il est question d'optimiser la teneur du 1,8-cinéole dans l'HE des feuilles de *A. exscapum* en vue de sa production et commercialisation.

2. Matériel et méthodes • Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles fraîches de *Aframomum exscapum* récoltées le 11 juillet 2023 à Nadia, un village situé dans la localité d'Alépé au Sud de la Côte-d'Ivoire.

• Méthode d'extraction de l'huile essentielle (HE)

L'HE a été obtenue par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un appareil de type Clevenger à partir de 1200 g de matériel végétal frais. Un prélèvement d'HE a été réalisée au fur et à mesure de la distillation selon des temps

précis à savoir 15min (F1), 30min (F2), 60 min (F3), 120 min (F4) et 180 min (F5). Une distillation a été également faite pendant 3H sans fractionnement (F6). Les échantillon d'HE ont été conservées à -18 °C.

• Conditions opératoires de la CPG et CPG/SM

L'analyse des HE a été faite à l'aide d'un chromatographe de type Agilent 6890 équipé d'une colonne capillaire HP5 de 30 m, de diamètre 0,25 mm et d'épaisseur du film 0,25 µm. La température du four a été programmée à 50 °C pendant cinq (5) minutes, suivie d'une augmentation de 5 °C/min jusqu'à 280 °C. La température de l'injecteur a été fixée à 280 °C et celle du détecteur à 300 °C. Le gaz utilisé est l'hydrogène (1 ml/min), et l'injecteur était en mode split 1/60. Le chromatographe de type Agilent 7890 a été couplé à un spectromètre de masse de type Agilent 5975 équipé d'une colonne HP5 de 30 m, de diamètre 0,25 mm et d'épaisseur 0,25 mm. L'énergie d'ionisation utilisée est égale à 70 ev, la température du four est programmée à 50 °C pendant cinq minutes puis 5 °C/min jusqu'à 280 °C. Le gaz vecteur utilisé était l'hélium (1 ml/min). L'injecteur était en mode split 1/100, et sa température programmée à 280 °C. L'identification des constituants chimiques a été faite par comparaison des indices de Kovats (KI) et des spectres de masse obtenus avec ceux des constituants authentiques standard des banques de données de la littérature (NIST, Wiley et Adams) et celle du laboratoire [12-14].

3. Résultats et discussion

L'analyse par CPG/SM des fractions d'HE des feuilles de *A. exscapum* a permis d'identifier trente-sept (37) constituants avec des proportions globales de 93,75% à 99,76% (tableau I). L'analyse des résultats du tableau 1 montre des variations au niveau du nombre, de la nature et du pourcentage des constituants entre les fractions d'HE des feuilles de *A. exscapum*. Concernant le nombre de constituants identifié, il croît de la fraction F1 (19) à la fraction F4 (37) puis diminue à F5 (29). Cette variation révèle une distillation progressive des constituants à mesure que le temps se prolonge jusqu'à épuisement des composés volatils.

Des différences s'observent également au niveau des taux des terpènes d'une fraction à une autre (tableau 1). Par exemple les fraction F1 et F2 sont tous deux dominées par les monoterpènes oxygénés (81,26% ; 79,66%) et hydrocarbonés (13,70% ; 10,27%). F2 doit cependant, sa particularité à une teneur beaucoup plus importante en sesquiterpènes hydrogénés (6,72%) par rapport à F1 (2,79%). Dans la fraction F3, le pourcentage des monoterpènes oxygénés est toujours dominant mais en baisse soit 56,62% tandis que celui des sesquiterpènes hydrogénés est en hausse (20,33%). La teneur des monoterpènes hydrogénés y est pratiquement constante (13,11%). La fraction F4 se distingue des autres par d'importants taux similaires en monoterpènes oxygénés (38,82%) et sesquiterpènes hydrogénés (34,05%). Contrairement aux quatre fractions précédentes, F5 est environ 2 fois plus abondante en sesquiterpènes hydrogénés (43,11%) qu'en monoterpènes oxygénés (22%) ainsi qu'en sesquiterpènes oxygénés (7,29%).

Ces résultats montrent une baisse des proportions des monoterpènes oxygénés au profit de celles des sesquiterpènes hydrogénés et oxygénés. Le même constat est fait avec les constituants de teneurs importantes. En effet le 1,8-cinéole voit sa teneur prépondérante dans les fractions F1 (73,87%) et F2 (71,55%) diminuer progressivement dans les fractions F3 (42,26%), F4 (21,25%) et F5 (8,60%). L'α-pinène n'est que majoritaire dans les fractions F1 (8,03%) et F2 (5,70%). L'α-terpinéol avec une quantité plus ou moins faible dans F1 (4,32%) et F2 (4,76%) devient majoritaire au fur et à mesure dans les autres fractions F3 (9,28%), F4 (13,30%) et F5 (11,00%). Il en est de même du germacrène D qui passe des teneurs moins élevées dans F1 (1,44%) et F2 (3,42%) à des taux élevés dans F3 (12,22%), F4 (16,86%) et F5 (20,60%). C'est aussi le cas du β-caryophyllène, de très faible teneur dans F1 (0,99%) et F2 (2,10%) passe à des proportions significatives dans les fractions F3 (6,34%) F4 (10,01%) F5 (12,50%). Un composé non identifié avec un pourcentage minoritaire dans F1, F2 et F3 devient majoritaire dans F4 (6,44%) et F5 (10,52%).

En fonction de la durée de distillation trois qualités d'HE se dégagent à savoir une HE à majorité :

- 1,8-cinéole (73,87% ; 71,55%) et α-pinène (8,03% ; 5,70%) de 15-30 min,
- 1,8-cinéole (42,26%-21,25%), germacrène D (10,22%-16,86%), α-terpinéol (9,28%-13,30%) et β-caryophyllène (6,34%- 10,01%) de 60-120 min et
- germacrène D (20,60%), le β-caryophyllène (12,50%), l'α-terpinéol (11,10%) et le 1,8-cinéole (8,60%) en 180 min.

Ces résultats montrent que plus le temps de distillation est court plus la teneur de l'HE en 1,8-cinéole est maximale. Il est à noter qu'une distillation sans fractionnement en 180 min (3 heures) donne une huile essentielle à majorité 1,8-cinéole (56,53%), germacrène D (6,90%), α-terpinéol (6,36%), α-pinène (5,70%) et β-caryophyllène (4,12%). Ce profil chimique est similaire de celui de la fraction obtenue en 60 min.

Dans la littérature cette méthode a été utilisée pour obtenir des HE de compositions différentielles pour certaines espèces. En effet, Satrani et collaborateurs par la distillation fractionnée ont obtenu 4 qualités de l'huile essentielle de *Myrtus communis* [15]. La première fraction est riche en α -pinène (42- 54,8%) et en 1,8-cinéole (27-53,6%), la seconde est prédominée par le 1,8-cinéole (83-95,8%), la troisième renferme majoritairement de l'acétate de myrtényle (36-55%) et du 1,8-cinéole (12-36%) et la quatrième est caractérisée par l'acétate de myrtényle (62-65%) [15]. Une autre étude a mis en évidence 3 types d'huile essentielle de *Ravensara Aromatica* Sonnerat en fonction de la durée de distillation notamment une huile essentielle dominée par le sabinène (52,39%) et l' α -pinène (12,49%) en une heure, le sabinène (38,88%), α -pinène (16,48%) et limonène (8,13%) en deux heures, le sabinène (24,56%), l' α -pinène (17,10%) et le germacrène D (13,62%) en trois heures et le β -caryophyllène (21,74%), le germacrène D (19,39%), l' α -pinène (14,56%) et le sabinène (14,38%) en quatre heures [16].

Tableau I : Composition chimique des fractions d'HE des feuilles de *A. exscapum* en fonction de la durée de distillation

Nombre	TR	KI _c	KI _L	Composés	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	8,936	902		2-heptanol	0,920	0,131	-	0,24		
2	9,667	926	930	α -thujène	0,14	0,10	0,40	0,24	-	0,10
3	10,063	934	939	α -pinène	8,03	5,70	2,90	2,85	2,70	5,70
4	11,454	973	976	sabinène	0,46	0,32	4,14	2,20	-	0,32
5	11,626	978	980	β -pinène	1,62	1,20	1,06	0,75	0,52	1,20
6	12,03	989	991	myrcène	1,20	0,90	0,91	0,60	0,50	1,00
7	12,689	1004	1003	α -phéllandrène	-	-	0,80	0,26	-	-
8	12,978	1017	1018	α -terpinène	-	-	0,10	0,07	-	-
9	13,244	1025	1026	para cymène	-	-	0,50	0,17	-	-
	1,32	1,32			10	13,403	1030	1031	limonène	1,70 1,42 1,70 1,27
11	13,545		1035	1,8-cinéole	73,87	71,55	42,26	21,25	8,60	56,53
12	13,707		1039	Z- β -ocimène	0,45	0,44	0,57	0,22	-	- 13 13,96
		1047	1050	E- β -ocimène	0,10	0,10	0,53	0,43	0,46	
14	14,36	1059	1062	γ -terpinène	-	0,10	0,57	0,26	0,12	0,10
16	15,77	1100	1097	linalol	2,74	2,95	4,32	3,26	1,61	2,60
16	15,77		1101	2 nonanol	-	-	0,18	0,09	-	0,14
17	17,905		1172	δ -terpinéol	0,18	0,19	0,32	0,42	0,40	0,24
18	18,214		1182	terpinéol-4-ol	0,16	0,21	0,45	0,59	0,40	0,20
19	18,683		1197	α -terpinéol	4,32	4,76	9,28	13,30	11,00	6,36
20	23,613		1378	α -copaène	-	0,10	0,26	0,52	0,81	0,21
21	23,832	1386	1384	β -bourbonnène	-	-	0,12	0,17	-	-
	0,40	0,50	0,16		22	23,916	1389	1390	β -cubébène	- 0,10 0,25
23	24,774		1423	β -caryophyllène		0,99	2,18	6,34	10,01	12,50 4,12
24	25,483		1452	Z- β -farnésène	-	-	0,13	0,26	0,40	0,11
25	25,652		1459	α -humulène	0,27	0,46	1,26	1,92	2,42	1,00
26	25,756		1463	dehydro aromadandrène		-	0,13	0,44	0,80	1,10 0,31
27	26,299	1484	1485	germacrène D	1,44 3,42	10,22 16,86	20,60 6,90	28 26,617	1498 1498	α -sélinène
	- 0,12	0,31	0,54	0,72 0,20						
29	26,737		1503	E,E- α -farnésène	-	-		0,10	0,15	0,23 0,10
30	26,855		1508	β -bisabolène	-	-	-		0,31	0,31 -
31	27,12		1519	β -sesquiphellandrène			-	-	0,25	0,50 0,80
	0,20									
32	27,244		1525	δ -cadinène	0,10	0,22	0,80	1,67	2,56	0,75
33	28,09		1560	E-nérolidol	0,44	0,67	1,80	3,11	4,63	1,56
34	28,676		1585	oxyde de caryophyllène			-	-	0,14	0,33 0,70
	0,21									
35	29,187		1608	époxyde II humulène	-	-		0,15	0,38	0,81 0,23
36	30,29		1658	α -cadinol	-	-	0,15	0,36	0,65	0,20
37	30,576		1671	intermédeol	-	-	0,20	0,33	0,50	0,16

38	31,072	1693		NI	0,19	0,31	0,80	1,75	2,90	1,02	39	31,8	1727		
				NI	0,43	0,60	1,45	2,00	2,35	1,51					
40	32,105	1741					0,64	1,12		6,44					
NI	2,80	10,52	3,86	TOTAL			99,76	99,66		97,10					
98,05	93,75	99,32													
				Monoterpènes Hydrogénés	13,70	10,27	13,11	9,32	5,58	10,20					
				Monoterpènes oxygénés	81,26	79,66	56,62	38,82	22	65,93					
				Sesquiterpènes hydrogénés	2,79	6,72	20,33	34,05	43,11	14,06					
				Sesquiterpènes oxygénés	0,44	0,67	2,44	4,50	7,29	2,36	Composés non terpéniques	0,30	0,31	0,50	0,22
0,00	0,38														
				Composés non identifiés	1,26	2,03	5,05	10,19	15,76	6,39					
				Nombre de constituants	19	24	35	37	29	31					

KI_C : indice de Kovats calculé ; KI_L : indice de Kovats de la littérature

4. Conclusion

Le travail entrepris, s'inscrit dans le cadre de la valorisation l'espèce *Aframomum exscapum* de Côte d'Ivoire. L'objectif était d'optimiser la teneur du 1,8-cinéole dans l'huile essentielle des feuilles de cette plante par la distillation fractionnée. Les investigations ont permis de montrer que l'extraction par fractionnement offre la possibilité d'obtenir de différentes qualités d'HE, particulièrement enrichie en 1,8-cinéole (73,87%) au bout de 15 min. Avec une telle teneur, cette espèce pourrait être une nouvelle source de production d'HE à 1,8-cinéole.

5. Bibliographie

- [1]- Nicholat Varlet. Huiles essentielles : production mondiale, échanges internationaux et évolution des prix. *Rivista Italiana*, EPPOS, (1991), 10, 383-399.
- [2]- Koffi A. Muriel, Z.F. Tonzibo, Koua Oi Koua, G. Bedi and J-C Chalchat. Essential Oil of *Aframomum exscapum* (Sims) Hepper from Côte d'Ivoire. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2011, 14(3), 274 – 277.
- [3]- Coupé A. M. de K. Martin, H. Joseph, S. Bercion and C. Menut, Chemical composition of essential oils from aerial parts of *Aframomum exscapum* (Sims) Hepper collected in Guadeloupe, French West Indies. *Flavour and Fragrance Journal*, 2006, 21, 902-905.
- [4]- J. Kerharo, J. G. Adams Pharmacopée sénégalaise traditionnelle, Vigot Frères, Paris, 1974,143, 787. [5]- Adjanohoun et L. Aké Assi. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte D'Ivoire. *Centre National de Floristique*, 1979, 32, 58.
- [6]- Adjanohoun E. J., Adjakidje V., Ahyi M. R. A., Aké Assi L. et al., Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo, ACCT, Paris. 1989, 671.
- [7]- A. Lobstein, F. Couic-Marinier and N. Koziol. Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. *Actualités Pharmaceutiques*, 2018,57 (573), 59-61.
- [8]- J. Zhang, X. Li, W. Cui, D. Lu, Y. Zhang, J. Liao, L. Guo, C. Jiao, L.Tao, Y. Xu and X. Shen. 1,8Cineole ameliorates experimental diabetic angiopathy by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in HUVECs via SIRT2. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2024, 177, 117085
- [9]- L. Masoori, A. Khalaf, F. Ezzatkah, R. Balana-Fouce, H. Mahmoudvand. Promising effects of 1,8 Cineole to control *Giardia lamblia* infection: Targeting the inflammation, oxidative stress, and infectivity. *Acta Tropica*, 2024, 255, 107201
- [10]- F. Ben Amara, S. Akermi, F. Driss, H. Cabral Marques, N. Costa, S. Smaoui, L. Mellouli, S. Bejar and S. Jeml. Exploring the bio-insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complexes: In vitro and in silico assessment against *Ephesia kuehniella* larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2024,202, 105917.
- [11]- Z-M. Cai, J-Q. Peng, Y. Chen, L. Tao, Y-Y. Zhang, L-Y. Fu, Q-D. Long and X-C. Shen. 1,8Cineole: A review of source, biological activities, and application. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2021, 23 (10), 938-954
- [12]-Adams RP Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured Publ. Corp. 1995, 302
- [13]- Davies N. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M Phases. *J Chromatogr.* 1990, 503, 1–3
- [14]- Jennings W, Shibamoto T. Quantitative analysis of flavor volatiles by gas capillary chromatography. *Academic Press*, New York. 1980
- [15]- B. Satrani, A. Farah et M. Talbi. Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis* L.) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 2013, 153(2), 235- 242.
- [16]- Falihery Jersin Luc RAOBELISON. Contribution à l'étude de la variabilité qualitative et quantitative de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sonnerat dans la région de Betanimainty. Mémoire de fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme d'Ingenieur Agronome, 2004.

Extraction assistée par ultrasons des composés phénoliques de *Combretum velutinum* D.C (Combretaceae)

TRAORE Lanciné^{1*}, KONAN N'Dri Séraphin¹, BAMBA Souleymane², COULIBALY Samuel Aimé¹, BEKRO Yves-Alain³

¹ UFR Sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Man, 225, Côte d'Ivoire

² Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement, UFR Environnement, Université Jean-Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Daloa, 225, Côte d'Ivoire

³ Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles, UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02 Côte d'Ivoire, Abidjan, 225, Côte d'Ivoire

Resumé :

Combretum velutinum (CV) est un arbuste abondamment présent dans les pays tropicaux et traditionnellement utilisé pour traiter de nombreuses affections. L'objectif de cette étude était d'optimiser par ultrasons l'extraction des polyphénols. Pour ce faire, deux procédés ont été utilisés, à savoir une extraction conventionnelle solide-liquide (ECSL) et l'extraction assistée par ultrasons (EAU). Ainsi, des mesures ont été effectuées en termes de rendements d'extraction (RDT), de teneurs en polyphénols totaux (TPT), de teneurs en flavonoids totaux (TFT). Le modèle cinétique de second ordre (MSO) a été utilisé pour étudier la cinétique d'extraction des polyphénols. Les études ont montré que l'EAU, par rapport à l'ECSL, présentait la plus grande efficacité pour RDT, TPT et TFT. Il faut que l'ECSL dure au moins 20 minutes pour obtenir les rendements à l'équilibre (Cs), alors que pour EAU, 5 minutes suffisent. Cs de ECSL était de 278 µgGAE.mgMS⁻¹, tandis que Cs de EAU était de 296 µgGAE.mgMS⁻¹. Aussi, l'EAU s'avère être une technologie utile pour améliorer le rendement d'extraction des polyphénols des feuilles de CV. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour déterminer les principaux paramètres influençant l'extraction, tels que la température, le ratio solide-liquide et la puissance de l'ultrason.

Mots clés : *Combretum velutinum*, extraction, modèle cinétique, ultrasons, polyphénols

Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Combretum velutinum* D.C (Combretaceae)

Abstract :

Combretum velutinum (CV) is a shrub abundantly found in tropical countries and traditionally used to treat many ailments. The objective of this study was to optimize the extraction of polyphenols using ultrasound. To do this, two processes were used, namely conventional solid-liquid extraction (CSLE) and ultrasound-assisted extraction (UAE). Thus, measurements were carried out in terms of extraction yields (EXY), total polyphenol contents (TPC), total flavonoid contents (TFC). The second-order kinetic model (SOM) was used to study the extraction kinetics of polyphenols. Studies have shown that EAU, compared to ECSL, has the greatest effectiveness for EXY, TPC and TFC. CSLE must last at least 20 minutes to obtain equilibrium yields (Cs), while for UAE, 5 minutes is sufficient. Cs of CSLE was 278 µgGAE.mgDM⁻¹, while Cs of UAE was 296 µgGAE.mgDM⁻¹. Also, UAE proves to be a useful technology to improve the extraction yield of polyphenols from CV leaves. However, further studies are needed to determine the main parameters influencing extraction, such as temperature, solid-liquid ratio and ultrasound power.

Keywords : *Combretum velutinum*, extraction kinetics, ultrasound, polyphenols

1. Introduction

Les polyphénols sont des métabolites secondaires sous forme d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans les plantes. Ils sont les plus répandus parmi de nombreux composés phytochimiques et suscitent un intérêt croissant en raison de leurs effets bénéfiques pour la santé. Ces effets bénéfiques ont été associés à leurs potentiels antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux et antimicrobiens [1].

Les polyphénols se trouvent dans des structures dures et insolubles telles que les vacuoles présentes dans les cellules végétales. Ils sont sous forme conjuguée avec des glucides et des acides organiques dans les plantes. Ce qui entrave leur extraction des organes végétaux par les méthodes d'extraction conventionnelles.

L'extraction assistée par ultrasons est un procédé économique, respectueux de l'environnement, économe en énergie et durable mis en œuvre dans l'industrie pour intensifier les phénomènes de transfert de masse dans les tissus cellulaires végétaux [2].

Combretum velutinum R.Br. ex G. Don, une plante de la famille des Combretaceae, dont les différents organes sont couramment utilisés en médecine traditionnelle dans la plupart des pays africains pour le traitement de plusieurs maladies. Ses feuilles sont utilisées contre les maux d'estomac, le paludisme, la diarrhée et l'inflammation ; ses racines sont utilisées en prévention des troubles circulatoires et des candidoses vaginales ; ses branches aident à traiter le diabète et son écorce traite les maladies bactériennes, l'insuffisance hépatique, les gonflements corporels et les morsures de serpent [3].

De nombreuses études pharmacologiques ont documenté les effets diurétiques, analgésiques, hypoglycémique, antihypertenseurs, antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires, et antioxydants de *C. velutinum* [3].

Dans une étude exploratoire mondiale sur les plantes terrestres, l'Institut national du cancer des États-Unis a découvert qu'un extrait de *C. molle* était potentiellement actif contre les cellules leucémiques lymphocytaires murines P-388. P [4]

Dans la présente étude, l'objectif était d'optimiser par ultrasons l'extraction des polyphénols à partir des feuilles de *Combretum velutinum*. Le modèle cinétique de second ordre a été adopté afin de mieux comprendre l'effet de l'ultrason sur le rendement en polyphénols.

2. Matériel et méthodes

2.1. Extraction conventionnelle solide-liquide (ECSL)

Des aliquotes de poudre de feuilles de *Combretum velutinum* ont été mises en contact avec un mélange acétone/eau (60 : 40 v/v) dans un erlenmeyer placé dans un bain marie à 40 °C ; le rapport solide/liquide était 1 : 60 g.mL⁻¹. Les prélèvements ont été effectués chaque 5 min de 0 à 40 min. Après centrifugation à 3 000 tr/min pendant 10 min, les surnageants ont été collectés pour des analyses spectrophotométriques. Les expériences ont été réalisées en triple.

2.2. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

Des aliquotes de poudre de feuilles de *Combretum velutinum* ont été mises en contact avec un mélange acétone/eau (60 : 40 v/v) dans un erlenmeyer placé dans un bain à ultrasons ([Model 1 : PS-40], Mumbai, d'une fréquence de 40 kHz et d'une puissance de 240 W) à 40 °C ; le rapport solide/liquide était 1 : 60 g.mL⁻¹. Les prélèvements ont été effectués chaque 5 min de 0 à 40 min. Après centrifugation à 3 000 tr/min pendant 10 min, les surnageants ont été collectés pour des analyses spectrophotométriques. Les expériences ont été réalisées en triple.

2.3. Teneur en Polyphénols Totaux (TPT)

La TPT des surnageants pour l'ECSL et pour l'EAU au cours du temps a été déterminée en utilisant la méthode Folin-Ciocalteu [5]. En effet, 100 µL d'extrait ont été mélangés avec 500 µL du réactif Folin-Ciocalteu à 10 % (v/v). Après 10 min, 500 µL de solution de Na₂CO₃ ont ensuite été additionnés au mélange ; l'ensemble a été incubé à température ambiante pendant 40 min. L'absorbance a été mesurée dans une cuve de quartz de 5 mL à l'aide d'un spectrophotomètre UV à faisceau unique (spectrophotomètre ONDA, UV-30SCAN, Chine) à 765 nm contre un blanc. Les TPT ont été exprimées en microgramme équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche (µg EAG/mg MS).

2.4. Cinétique d'extraction des polyphénols

Pour mieux comprendre le mécanisme cinétique d'extraction des polyphénols à partir des feuilles de *Combretum velutinum*, les TPT au cours du temps pour les procédés ECSL et EAU ont été étudiées selon un modèle de taux de second ordre en référence à des études antérieures [6]. Le modèle de taux de second ordre a fourni un ajustement du profil d'extraction et une explication adéquate du processus d'extraction des polyphénols.

L'équation du modèle cinétique du second ordre est (1) :

$$\frac{dC_t}{dt} = k(C_s - C_t)^2 \quad (1)$$

Le modèle cinétique du second ordre, où la vitesse de libération d'un composant dépend de sa concentration, est donné dans l'équation (2) :

$$C_t = \frac{C_s^2 kt}{1 + C_s kt} \quad (2)$$

Où C_t est la concentration des composés au temps t , C_s est la concentration des composés à saturation, k est la constante de vitesse d'extraction du second ordre.

3. Résultats et discussion

3.1. Effet de l'ultrason sur le rendement d'extraction

Le rendement d'extraction de *Combretum velutinum* avec l'extraction conventionnelle solide-liquide (ECSL) et l'extraction assistée par ultrasons (EAU) est illustré par la **Figure 1**. Le rendement de EAU (44%) était significativement plus élevée que celui de ECSL (36%) à 40 min, indiquant que la sonication a augmenté le rendement.

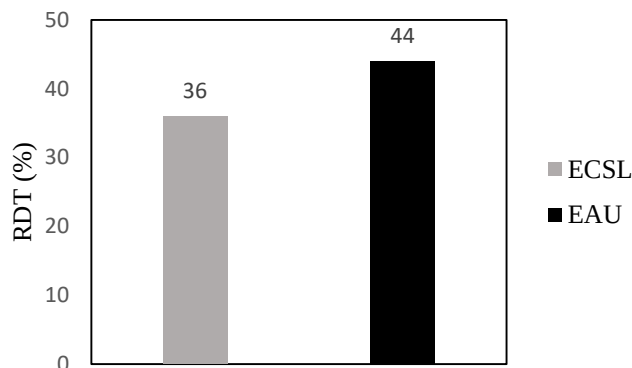


Figure 3: Rendements d'extraction (RDT) avec ECSL et EAU à 40 min

3.2. Effet de l'ultrason sur la teneur en polyphénols totaux (TPT)

La **Figure 2** fournit des informations que les teneurs en polyphénols totaux (TPT) des feuilles de *Combretum velutinum* avec ECSL et EAU. Il est évident que pour une durée de 40 min, ECSL a produit la teneur en polyphénols totaux la plus faible comparativement à EAU. 274 µgEAG/mg MS pour ECSL contre 289 µgEAG/mg MS pour EAU. Yang *et al.* [7], a montré que le traitement aux ultrasons avait des effets plus significatifs sur la libération des composés bioactifs et l'amélioration de l'effet antioxydant du pollen d'abeille de rosier (*Rosa rugosa*).

Les ondes ultrasoniques ont déterminé une augmentation de l'efficacité d'extraction en raison du processus de cavitation, qui implique le développement et l'élargissement de bulles de cavitation créées lors de la propagation de l'onde. La rupture cellulaire et le transfert de masse ont été causés par les microjets et les écoulements de solvant générés par l'implosion des bulles. Ces deux phénomènes ont entraîné une augmentation de la libération de polyphénols de la matrice vers le solvant [8].

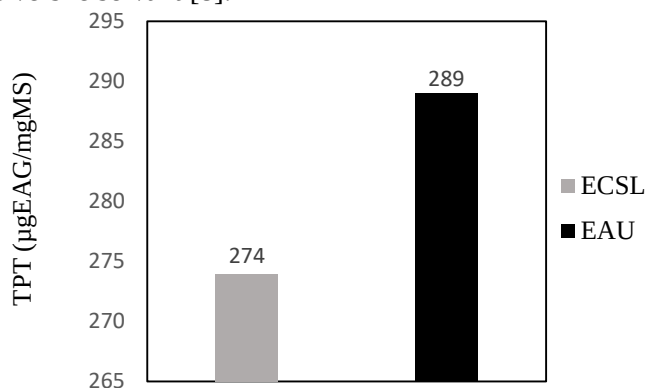


Figure 4: Teneurs en polyphénols totaux (TPT) avec ECSL et EAU

3.3. Modélisation cinétique de ECSL et EAU

La **Figure 3** montre la teneur en polyphénols totaux (TPT) en fonction du temps pour ECSL et EAU à l'aide du modèle cinétique de second ordre. Ce modèle a été précédemment mis en œuvre pour l'extraction de composés bioactifs à partir de plusieurs matrices telles que à partir de bio-résidus floraux de safran, de la propolis chinoise, d'écorces de grenade [6], [9], [10].

L'ajustement pour toutes les données expérimentales a été confirmé par les valeurs du coefficient de régression mathématique et de l'erreur quadratique moyenne relative. Plus la valeur de R^2 est élevée et plus la valeur du RMS est faible, meilleure est la qualité de l'ajustement [5].

Les résultats statistiques du R^2 , du RMS ont montré qu'avec le modèle cinétique du second ordre, les valeurs individuelles de R^2 étaient supérieures à 0,99, les valeurs du RMS étaient inférieures à 0.04 pour ECSL et EAU. Ainsi, le modèle cinétique d'ordre 2 peut potentiellement être approprié pour comprendre l'extraction des polyphénols des feuilles de *Combretum velutinum* en utilisant ECSL et EAU.

En analysant les courbes d'extraction dans les conditions opératoires, deux étapes d'extraction ont été détectées. Plus précisément, une augmentation rapide des teneurs en polyphénols totaux (TPT) au début du processus et une augmentation lente jusqu'à la teneur à la saturation.

De ce fait, une cinétique d'extraction typique a été observé, consistant en une étape de lavage rapide dominée par la séparation du solvant suivie d'une étape de diffusion lente régulée par la diffusion du soluté. Ceci est en phase avec la majorité des courbes d'extraction solide-liquide [6], [9], [10].

De plus, l'utilisation de la sonication a réduit le temps d'extraction à seulement 5 minutes avec une efficacité de plus de 90 % de TPT à la saturation, tandis que l'efficacité de ECSL était à moins de 80 % de TPT à la saturation après 20 minutes.

Au demeurant, le traitement aux ultrasons a considérablement augmenté l'extraction des polyphénols, suggérant le grand potentiel des ultrasons dans l'obtention d'extraits de *Combretum velutinum* riches en polyphénols.

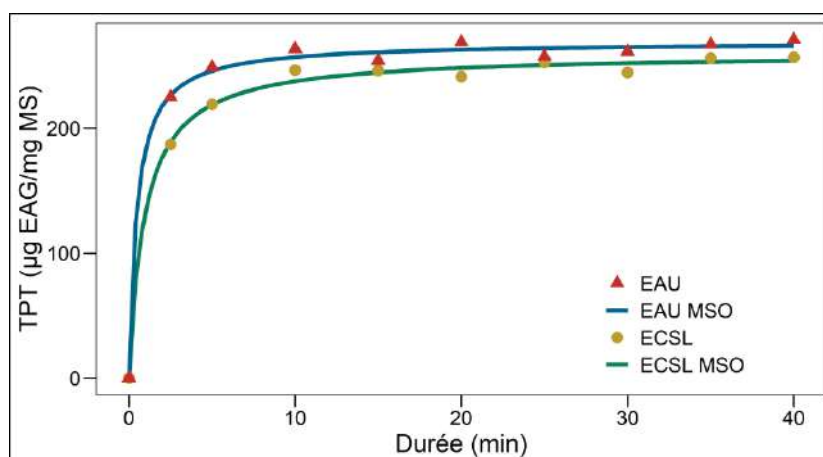


Figure 5 : Cinétiques d'extraction expérimentales (symboles) et simulées (courbes du modèle du second ordre (MSO)) des teneurs en polyphénols totaux (TPT) avec ECSL et EAU à 1 :60 g.mL⁻¹.

4. Conclusion et perspectives

En résumé, cette étude a utilisé l'approche assistée par ultrasons pour extraire les polyphénols des feuilles de *Combretum velutinum*. Les résultats ont montré que le rendement d'extraction et la teneur en polyphénols totaux (TPC) les plus élevés ont été obtenus avec les ultrasons. L'étude de la cinétique d'extraction a montré que les ultrasons augmentaient rapidement la teneur à la saturation (C_s), indiquant que les ultrasons pouvaient non seulement accélérer le processus d'extraction mais aussi augmenter la teneur d'extraction maximal des composés phénoliques. Ces résultats suggèrent que le traitement aux ultrasons douce est une approche prometteuse pour l'extraction des polyphénols de *Combretum velutinum* avec une efficacité élevée et un temps d'extraction court. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour déterminer les principaux paramètres influençant l'extraction, tels que la température, le ratio solide-liquide et la puissance de l'ultrason.

5. Bibliographie

- [1] C. S. Dzah *et al.*, "The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review," *Food Biosci*, vol. 35, p. 100547, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.FBIO.2020.100547.
- [2] S. S. Teh and E. J. Birch, "Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed cakes," *Ultrason Sonochem*, vol. 21, no. 1, pp. 346–353, Jan. 2014, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2013.08.002.

- [3] D. Miaffo, E. Ntumah Ankang, B. Maidadi, and A. Beram Gode, "Prophylactic effects of Combretum molle boughs on changes in the hematological, biochemical, and histological parameters in dexamethasone-induced insulin-resistant rats," *Phytomedicine Plus*, vol. 4, no. 2, p. 100544, May 2024, doi: 10.1016/J.PHYPLU.2024.100544.
- [4] P. Fyhrquist *et al.*, "Preliminary antiproliferative effects of some species of Terminalia, Combretum and Pteleopsis collected in Tanzania on some human cancer cell lines," *Fitoterapia*, vol. 77, no. 5, pp. 358–366, Jul. 2006, doi: 10.1016/J.FITOTE.2006.05.017.
- [5] F. Galgano *et al.*, "Extraction kinetics of total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins of lentil seed coat: Comparison of solvent and extraction methods," *Foods*, vol. 10, no. 8, p. 1810, Aug. 2021, doi: 10.3390/FOODS10081810/S1.
- [6] C. Da Porto and A. Natolino, "Extraction kinetic modelling of total polyphenols and total anthocyanins from saffron floral bio-residues: Comparison of extraction methods," *Food Chem*, vol. 258, pp. 137–143, Aug. 2018, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2018.03.059.
- [7] Y. Yang, J. liang Zhang, Q. Zhou, L. Wang, W. Huang, and R. dan Wang, "Effect of ultrasonic and ball-milling treatment on cell wall, nutrients, and antioxidant capacity of rose (*Rosa rugosa*) bee pollen, and identification of bioactive components," *J Sci Food Agric*, vol. 99, no. 12, pp. 5350–5357, Sep. 2019, doi: 10.1002/JSFA.9774.
- [8] M. Oroian, F. Ursachi, and F. Dranca, "Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Crude Pollen," *Antioxidants*, vol. 9, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.3390/ANTIOX9040322.
- [9] S. Peng, M. Zhu, S. Li, X. Ma, and F. Hu, "Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Chinese propolis," *Front Sustain Food Syst*, vol. 7, p. 1131959, Feb. 2023, doi: 10.3389/FSUFS.2023.1131959/BIBTEX.
- [10] K. Kaderides, L. Papaoikonomou, M. Serafim, and A. M. Goula, "Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction," *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, vol. 137, pp. 1–11, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.CEP.2019.01.006.

Métabolites secondaires des feuilles de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) et leurs activités dans les troubles gastroentériques

OKPEKON Aboua Timothée ^{1,*}, KOFFI Konan Léon ², BONY François Nicaise ², SERI Seri Chardin ¹, KPAÏBE André Sawa ², AMIN Christophe N'Cho ²

1. Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures, de la Matière et de Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.
2. Département de Chimie Analytique, Minérale et Générale, et Technologie Alimentaire, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny, BPV 34 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

* okpekon@yahoo.fr

Résumé : *Mareya micrantha* est une espèce très répandue dans toute l'Afrique intertropicale. En Côte d'Ivoire, elle se rencontre dans les formations secondaires de la région forestière où ses feuilles sont utilisées contre diverses formes de troubles gastrointestinaux. Les essais biologiques réalisés ont permis de montrer l'efficacité de différents extraits des feuilles sur ces affections. L'objectif de cette étude est de déterminer les principes actifs des feuilles de *M. micrantha* responsables de ses activités sur le dysfonctionnement du transit gastro-intestinal. L'extraction des composés des feuilles de *M. micrantha* a été réalisée par macération éthanolique et les isollements par fractionnements chromatographiques (SiO₂ et Sephadex® LH-20). Les essais d'activité antibactérienne et de myoactivité ont été réalisés en employant respectivement les techniques classiques de diffusions et les contractions du duodénum isolé de lapin. L'étude phytochimique a permis la caractérisation de quatre composés dont trois nor-cucurbitacines et un flavonoïde. Les évaluations biologiques de ces composés montrent que les nor-cucurbitacines aromatiques et le flavonoïde sont les principes actifs contre les troubles gastroentériques. L'extrait éthanolique des feuilles de *M. micrantha*, contenant des nor-cucurbitacines et des flavonoïdes, peut être proposé pour l'élaboration de médicaments à base de plante dans le traitement des affections liées aux troubles gastroentériques.

Mots clés : *Mareya micrantha*, Activité antibactérienne, Activité myostimulante, Molécules bioactives

Secondary metabolites from the leaves of *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) and their activities in gastroenteric disorders

Abstracts: *Mareya micrantha* is a very widespread species throughout intertropical Africa. In Cote d'Ivoire, it is found in the secondary formations of the forest region where its leaves are used against various forms of gastrointestinal disorders. The biological tests carried out have made it possible to demonstrate the effectiveness of different leaf extracts on these conditions. The objective of this study was to determine the active ingredients of *M. micrantha* leaves responsible for its activities on gastrointestinal transit dysfunction. The extraction of the compounds from the leaves of *M. micrantha* was carried out by ethanolic maceration and isolations by chromatographic fractionations (SiO₂ and Sephadex® LH-20). Antibacterial activity and myoactivity tests were carried out using classic diffusion techniques and contractions of the isolated rabbit duodenum respectively. The phytochemical study allowed the characterization of four compounds including three nor-cucurbitacins and one flavonoid. Biological evaluations of these compounds show that aromatic nor-cucurbitacins and the flavonoid are the active ingredients against gastroenteric disorders. The ethanolic extract of *M. micrantha* leaves, containing nor-cucurbitacins and flavonoids, can be proposed for the development of plant-based medicines in gastroenteric disorders treatment.

Keywords: *Mareya micrantha*, Antibacterial activity, Myostimulant activity, Bioactive molecules

1. Introduction

Communément appelée "Oya" en Français [1], *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg est une plante de la famille des Euphorbiaceae. En Côte d'Ivoire, elle se rencontre dans les formations secondaires de la région forestière où elle est utilisée à des fins purgatives, laxatives et ocytociques ainsi que contre la diarrhée, le téniasis, les douleurs rhumatismale et intercostale [2]. Les évaluations biologiques réalisées sur cette plante ont montré qu'elle possède des propriétés myoactive [3-5] et antimicrobienne [6,7]. Dans l'objectif de poursuivre nos recherches soutenues relatives à l'identification de molécules bioactives des plantes médicinales de Côte d'Ivoire [8], la présente étude sur les feuilles de *Mareya micrantha* a été menée. Dans ce rapport, nous présentons les composés issus de l'étude phytochimique systématique des feuilles de *Mareya micrantha* ainsi que leurs activités sur certaines bactéries couramment impliquées dans les infections entériques, en Côte d'Ivoire, comme *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella bongori* et *Staphylococcus aureus* [9]. L'activité contractile du muscle lisse étant d'un intérêt médical car pouvant permettre selon le cas de soulager les spasmes causés par les affections

intestinales telles que la diarrhée et la constipation [10], la myoactivité sur le muscle lisse du duodénum de lapin de certains de ces composés est également rapportée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de feuilles de *Mareya micrantha* collectées en mai 2017 à Yakassé-Mé (5° 48' 40'' N, 3° 57' 04'' O), dans le Département d'Adzopé au Sud-est de la Côte d'Ivoire. La plante a été authentifiée au Centre National Floristique (CNF) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ces feuilles ont été séchées au laboratoire (25°C environ) pendant deux semaines.

2.2. Matériel animal

Les lapins de l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (Leporidae) ont été prélevés des fermes d'élevage proches d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ils ont été acclimatés aux conditions de laboratoire au Laboratoire de Physiologie Animale de l'Unité de Formation et de Recherche de Biosciences (Université Félix Houphouët-Boigny) pendant des semaines afin de réguler et d'harmoniser leurs états physiologiques. Ils ont nécessité une alimentation adaptative à 26 ± 4 °C sous une humidité relative de 60 % avec une photopériode de 12/24 et un jeûne de 24-48 h avant les expériences. Ils ont été soigneusement examinés et confirmés comme étant en bonne santé au cours des procédures menées conformément aux principes et lignes directrices publiés par les Instituts Nationaux de Santé pour les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire.

2.3. Microorganismes testés

L'étude a été menée sur quatre souches bactériennes dont deux souches de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 27835 et *Escherichia coli* ATCC 25922) et deux isolats (*Enterococcus faecalis* CIP 815/18 et *Salmonella bongori* CIP 942/18). Ces souches bactériennes étaient celles disponibles au Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (UFHB), Abidjan-Côte d'Ivoire, au moment de nos essais.

2.4. Méthodes générales

Les rotations optiques ont été mesurées sur un polarimètre PolaAR 32 (Optical Activity Ltd., Ramsey, UK) équipé d'une lampe au sodium (589 nm) et d'une microcellule de 1 dm. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Vector 22 (Champs-sur-Marne, France). Les spectres UV ont été enregistrés dans le MeOH en utilisant un spectromètre Jenway 7315 (Staffordshire, Royaume-Uni). Les colonnes de chromatographie ont été réalisées sur gel de silice (Merck, 40-230 mesh) ou Sephadex® LH-20 (Pharmacia). Les CCM ont été effectuées sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ (Merck). Les spectres de RMN ¹H et ¹³C, ainsi que les spectres 2D (COSY, HSQC, HMBC et NOESY), ont été enregistrés dans le CD₃OD sur un spectromètre Bruker AC-400 (Champs-sur-Marne, France) fonctionnant à 400 MHz pour les spectres ¹H et 100 MHz pour les ¹³C. Les spectres de masse à basse résolution, APCIMS et ESIMS, ont été acquis à l'aide d'un spectromètre Bruker Esquire-LC_00040 (Champs-sur-Marne, France). Les spectres HRESIMS ont été enregistrés avec un spectromètre Bruker Esquire LC_00040 (Champs-sur-Marne, France). Les feuilles ont été broyées à l'aide d'un appareil Retsch (Illkirch-Graffenstaden, France).

2.5. Extraction, isolement et caractérisation des composés

Les extraits ont été obtenus par macération suivie de contre-extraction liquide-liquide à l'aide des solvants organiques de polarité croissante. Pour la macération, 3 kg de poudre de feuilles de *Mareya micrantha* ont été suspendus dans 10 L d'éthanol et l'ensemble soumis à une agitation mécanique pendant 24 h. La phase organique obtenue a été successivement filtrée sur du tissu, du coton puis sur du papier filtre N° 4 de type Schleicher & Schuell. Le filtrat obtenu, concentré à l'évaporateur rotatif de type Heidolph, a conduit à un résidu qui a été séché à l'étuve (40°C) pour constituer l'extrait brut éthanolique des feuilles (FE). Une portion de l'extrait FE (400 g), suspendue dans 600 mL d'un mélange Ethanol/Eau (1:3, v/v), a été contre-extraite en utilisant des solvants organiques de polarité croissante. Les sous-extraits hexanique (FEH), chlorométhylénique (FED), acétatique (FEA), butanolique (FEB) et aqueux résiduel (FEAr) ont été alors obtenus. Les grands groupes phytochimiques présents dans les extraits ont été mis en évidence en utilisant des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60F₂₅₄ (Merck) d'épaisseur 0,2 mm. Les révélateurs chimiques tels que le Fast Blue B, la vanilline sulfurique et le Dragendorff ont été utilisés pour la caractérisation des phénoloïdes, des terpénoïdes et des alcaloïdes, respectivement. L'isolement des composés à partir du sous-extrait chlorométhylénique (FED) a été réalisé par

chromatographies successives sur colonnes de gels de silice (Merck 60) et de Sephadex® LH-20, et par CCM préparative telles que décrites par Koffi et collaborateurs [5]. Ce qui a conduit aux composés **C1** (6,1 mg), **C2** (21,5 mg) et **C3** (28,6 mg). Concernant le sous-extrait acétatique (FEA), l'isolement a été d'abord réalisé par fractionnement sur colonne de gel de silice (Merck 60), sous pression atmosphérique, en utilisant un gradient d'éluant AcOEt/MeOH (100:0 à 94:6). Des dix fractions (FEAF1 à FEAF10) obtenues, la fraction FEAF9, presque monotache sur CCM, a été purifiée successivement sur colonnes de gels de silice (CH₂Cl₂/MeOH/HCOOH, 95:5:2) et de Sephadex® LH-20 (CH₂Cl₂/MeOH, 20:10) pour conduire au composé **C4** (26,0 mg). L'étude structurale de ces composés a été réalisée par l'analyse de leurs données spectrales (IR, SM, RMN 1D et 2D).

2.6. Evaluation des activités biologiques

Les essais d'activités biologiques ont été effectués en recherchant les propriétés antibactérienne et myostimulante des substances selon les méthodes décrites ci-après [5,7].

2.6.1. Activité antibactérienne

Les essais d'activité antibactérienne ont été réalisés en utilisant les méthodes de diffusion en milieux solide et liquide, respectivement. Pour la diffusion en milieu solide, elle a été réalisée en utilisant un milieu gélosé telle que décrite par Bauer et collaborateurs [11]. Une suspension bactérienne a été préparée dans l'eau distillée stérile à partir de colonies jeunes de 18 à 24 h de chacune des souches. L'inoculum a été ensemencé par inondation sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton. Des solutions de chaque extrait à 200 mg/mL et 100 mg/mL ont été préparées dans le DMSO (1/10). Des disques de papier buvard Wattman de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec 25 µL de chacune des solutions préparées et déposés sur la gélose ensemencée. En parallèle, des disques imprégnés de DMSO (1/10) et d'ampicilline à 10 µg/mL ont été pris respectivement comme témoins négatif et positif. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. A cet effet, une souche bactérienne est dite résistante si la mesure du diamètre de la zone d'inhibition est inférieure à 8 mm ; elle est dite sensible si cette mesure est comprise entre 9 et 14 mm, très sensible si celle-ci est comprise entre 15 et 19 mm. Au-delà de 20 mm, elle est dite extrêmement sensible [12]. Concernant la méthode de diffusion en milieu liquide, elle a été réalisée en utilisant la technique de la série de double dilution permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) telle que décrite par Shariffar et collaborateurs [13]. L'inoculum a été préparé pour chaque souche bactérienne dans du bouillon Mueller Hinton. La gamme de concentration de chaque extrait, de 50 à 0,39 mg/mL, a été préparée par des dilutions successives dans le DMSO (1/10). La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche a été définie comme étant la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe. Après la lecture de la CMI, la CMB a été déterminée par des repiquages en strie, sur une gélose neuve, des tubes sans croissance visible. Pour ce faire, il a été réalisé 24 h plus tôt, un témoin d'activité bactéricide en ensemencant en strie sur une gélose en boîte de Pétri, les dilutions 100, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ et 10⁻⁴ de l'inoculum de départ, correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants. La CMB a été obtenue à partir de la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants. Le rapport CMB/CMI (r) a été évalué pour déterminer l'effet bactéricide ($r \leq 2$) ou bactériostatique ($r > 2$) des substances testées.

2.6.2. Activité myostimulante

Les essais d'activité myostimulante ont été réalisés selon la méthode expérimentale décrite par Mea et collaborateurs [14]. En bref, le dispositif expérimental a été constitué d'une cuve à organe isolé contenant une solution physiologique de référence à pH 7,4 de Mac Ewen glucosée composée de NaCl (80 g/L), KCl (20 g/L), CaCl₂ (20 g/L), Na₂HPO₄ (15 g/L), NaHCO₃ (40 g/L), MgCl₂ (10 g/L) et de glucose (2 g/L). Cette cuve, oxygénée par un bulleur d'aquarium et plongée dans un bain-marie thermostaté, a été surmontée d'un flacon contenant la solution physiologique glucosée qui a permis son approvisionnement à partir d'un serpentin plongé dans un bain marie thermostaté. L'arrivée du Mac Ewen glucosé à la cuve à organe étant contrôlée par un robinet central. Des fragments de duodénum, prélevés sur le lapin à jeun, après une laparotomie, ont été maintenus en survie dans la solution de Mac Ewen glucosée, oxygénée et maintenus à une température constante de 38 °C. Pour l'expérience, un fragment du duodénum (3 cm environ) a été monté dans la cuve à organe isolé par une extrémité, l'autre extrémité étant reliée à un système de levier portant un stylet enregistreur. Ce stylet a permis l'inscription des mouvements contractiles de l'intestin isolé sur du papier d'enregistrement, enduit de noir de fumée, fixé sur un cylindre entraîné en mouvement rotatif, à vitesse constante, par un moteur. Un étalonnage du stylet inscripteur indique que, dans nos conditions expérimentales, une dénivellation d'une hauteur de 24 mm correspond à une force de 1 g (10 mN), soit 1 gramme force (1 gF), exercée par l'intestin. Concernant les essais, une solution mère

de concentration 10 mg/mL de chacune des substances (extrait ou molécule isolée) évaluées est constituée dans la solution physiologique de Mac Ewen. Des dilutions de chacune de ces solutions mères ont été effectuées et leurs effets sur l'activité contractile du duodénum isolé de lapin mesurés. Quant à l'étude du mécanisme d'action, l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA, SIGMA, USA) et l'acide éthylène glycol-bis (β -aminoéthyléther) N,N,N',N'-tétra-acétique (EGTA, SIGMA, USA), utilisés pour chélater le calcium résiduel du milieu physiologique dépourvu de calcium (milieu 0 Ca^{2+}), on été employés à des concentrations finales de 10^{-5} mg/mL dans le milieu Mac Ewen.

2.6.3. Analyse statistique

Le traitement statistique des données relatives à l'évaluation *in vitro* a été effectué à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5 (Microsoft, San Diego Californie, USA). Les valeurs sont exprimées sous formes de moyenne plus l'erreur standard sur la moyenne (Moy $\pm$ SD). L'analyse des variances (Anova) du test de comparaison multiple de Turkey-Kramer est utilisée pour apprécier la signification des différences observées. La valeur statistique est considérée significative si $p < 0,05$.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Analyses phytochimiques

La recherche des grands groupes phytochimiques de l'extrait éthanolique (FE) et de ses sous-extraits hexanique (FEH), chlorométhylénique (FED), acétatique (FEA) et butanolique (FEB) ainsi que du résidu de contre-extraction (FEAr) a révélé que ceux-ci renferment des composés phénoliques et terpéniques. Cependant, il a été noté une absence des alcaloïdes. L'extrait brut éthanolique (FE) et ses sous-extraits ont été obtenus avec des rendements variant de 2,8 à 22,4% (**Tableau I**).

Tableau I : Grands groupes chimiques de composés présents dans les différents extraits

Extrait ou Sous-extraits	Rendement ^a (%)	Constituants chimiques		
		Polyphénols	Terpènes	Alcaloïdes
FE	22,40	+	+	-
FEH	3,56	+	+	-
FED	2,80	+	+	-
FEA	3,92	+	+	-
FEB	6,10	+	+	-
FEAr	4,80	+	+	-

+ : présence ; - : absence ; ^a valeur calculée par rapport à la matière végétale

La purification systématique des sous extraits FED et FEA, les plus actifs sur les bactéries testées, a conduit à l'isolement de quatre composés dont trois de FED (**C1** à **C3**) et un de FEA (**C4**). Les analyses spectrales réalisées de ces composés ont permis d'établir les données ci-après mentionnées. Un examen minutieux de ces données a permis d'établir trois structures de type nor-curcubitacine, notamment la maremicranthine A (**C1**), la maremicranthine A glycoside (**C2**) et la maremicranthine B glycoside (**C3**), et une de type flavonoïde, le kaempférol-3-O- β -D-glucopyranoside (**C4**). Les structures de ces composés sont présentées dans la **Figure 1**.

Maremicranthine A (C1) : Cristaux oranges ; $[\alpha]_D^{27} + 9,7$ (c 1,50, MeOH) ; UV λ_{max} (nm) : 282, 230 ; IR ν_{max} (cm^{-1}) : 3313, 2925, 1662, 1615, 1484, 1243, 1019 ; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 6,96 (1H, dd, $J = 15,4$ and $7,1$ Hz, H-24), 6,70 (1H, d, $15,5$ Hz, H-23), 6,29 (1H, s, H-1), 5,39 (1H, t, $J = 7,7$ Hz, H-16), 4,09 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-15), 3,05 (1H, d, $J = 14,4$ Hz, H-12b), 2,82 (1H, dd, $J = 18,7$ et $9,4$ Hz, H-6b), 2,70 (1H, d, $J = 14,3$ Hz, H-12a), 2,63 (1H, d, $J = 7,3$ Hz, H-17), 2,59 (1H, m, H-6a), 2,56 (1H, m, H-7b), 2,50 (1H, d, $J = 7,1$, H-25), 2,30 (1H, d, $J = 3,1$ Hz, H-8), 2,20 (1H, m, H-7a), 2,09 (3H, s, H-28), 1,90 (3H, s, H-18), 1,38 (3H, s, H-21), 1,35 (3H, s, H-19), 1,09 (6H, d, $J = 6,5$ Hz, H-26/H-27), 0,97 (3H, s, H-29) ; ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) : 216,5 (C-11), 204,4 (C-22), 172,1 (C-1'), 156,8 (C-24), 143,8 (C-3), 142,3 (C-2), 129,6 (C-10), 126,9 (C-5), 124,5 (C-4), 122,0 (C-23), 110,3 (C-1), 79,5 (C-20), 75,7 (C-15), 74,0 (C-16), 54,9 (C-17), 52,1 (C-9), 51,8 (C-12), 51,9 (C-14), 48,2 (C-13), 44,0 (C-8), 32,6 (C-25), 29,1 (C-19), 24,7 (C-21), 24,5 (C-6), 21,75 (C-27), 21,73 (C-26), 20,9 (C-2'), 20,6 (18), 19,4 (C-7), 12,3 (C-29), 11,5 (C-28) ; SMHR-IES m/z 543,2946 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{O}_8$, 543,2958).

Maremicranthine A glycoside (C2) : Solide Poudre cristalline blanchâtre ; $[\alpha]_D^{27} - 10,8$ (c 1,42, MeOH) ; UV λ_{max} (nm) : 281, 231 ; IR ν_{max} (cm^{-1}) : 3313, 2925, 1662, 1615, 1484, 1243, 1019 ; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) : 6,97

(1H, dd, J = 15,4 et 7,1 Hz, H-24), 6,73 (1H, s, H-1), 6,68 (1H, d, 15,4 Hz, H-23), 5,40 (1H, t, J = 7,7 Hz, H-16), 4,60 (1H, d, J = 7,3 Hz, H-1''), 4,10 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-15), 4,01 (1H, dd, J = 12,1 et 2,3 Hz, H-6b''), 3,89 (1H, dd, J = 12,1 et 4,3 Hz, H-6a''), 3,55 (1H, t, J = 4,34 Hz, H-4''), 3,50 (1H, t, J = 4,1 Hz, H-2''), 3,48 (1H, t, J = 4,4 Hz, H-3''), 3,37 (1H, m, H-5''), 3,05 (1H, d, J = 14,4 Hz, H-12b), 2,86 (1H, dd, J = 18,6 et 9,2 Hz, H-6b), 2,71 (1H, d, J = 14,3 Hz, H-12a), 2,66 (1H, m, H-6a), 2,63 (1H, d, J = 7,3 Hz, H-17), 2,56 (1H, m, H-7b), 2,52 (1H, m, H-25), 2,34 (1H, d, J = 6,3 Hz, H-8), 2,23 (1H, m, H-7a), 2,12 (3H, s, H-28), 1,90 (3H, s, H-18), 1,385 (3H, s, H-21), 1,376 (3H, s, H-19), 1,09 (6H, d, J = 6,5 Hz, H-26/H-27), 0,94 (3H, s, H-29); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) : 216,4 (C-11), 204,4 (C-22), 172,1 (C-1'), 156,8 (C-24), 144,9 (C-3), 144,6 (C-2), 131,4 (C-10), 129,8 (C-5), 124,9 (C-4), 122,7 (C-23), 113,4 (C-1), 105,9 (C-1''), 79,5 (C-20), 78,1 (C-5''), 77,7 (C-3''), 75,6 (C-15), 74,8 (C-2''), 74,0 (C-16), 70,9 (C-4''), 62,1 (C-6''), 54,9 (C-17), 52,2 (C-9), 51,9 (C-12), 51,7 (C-14), 48,1 (C-13), 43,9 (C-8), 32,6 (C-25), 29,2 (C-19), 24,9 (C-6), 24,5 (C-21), 21,75 (C-27), 21,72 (C-26), 20,9 (C-2'), 20,6 (18), 19,4 (C-7), 12,3 (C-29), 11,5 (C-28); SMHR-IES *m/z* 705,3485 [M + H]⁺ (calculé pour C₃₇H₅₃O₁₃, 705,3486).

Maremicranthine B glycoside (C3) : Poudre amorphe blanchâtre ; [α]_D²⁷ – 25,2 (c 0,52, MeOH) ; UV λ_{max} (nm) : 245 ; IR ν_{max} (cm⁻¹) : 3321, 2929, 1679, 1615, 1246, 1027 ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 7,00 (1H, dd, J = 15,4 et 7,0 Hz, H-24), 6,76 (1H, d, J = 15,4 Hz, H-23), 5,42 (1H, t, J = 7,6 Hz, H-16), 4,52 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-1''), 4,43 (1H, dd, J = 14,4 et 5,4 Hz, H-2), 4,11 (1H, d, J = 8,1 Hz, H-15), 3,92 (1H, d, J = 6,0 Hz, H-6a''), 3,69 (1H, dd, J = 11,7 et 6,0 Hz, H-6b''), 3,42 (1H, m, H-3''), 3,31 (1H, m, H-2''), 3,30 (2H, m, H-4''/H-5''), 3,27 (1H, m, H-10), 3,21 (1H, d, 16,6 Hz, H-12b), 2,72 (2H, m, H-12a/ H-17), 2,62 (1H, m, H-6), 2,57 (1H, m, H-25), 2,28 (1H, m, H-8), 2,20 (1H, m, H-1b), 2,17 (1H, m, H-7b), 2,00 (1H, m, H-7a), 1,94 (3H, m, H-2'), 1,85 (1H, m, H-1a), 1,82 (3H, s, H-28), 1,42 (3H, s, H-21), 1,39 (1H, s, H-1a), 1,14 (6H, dd, J = 6,7 et 2,3 Hz, H-26/H-27), 1,13 (3H, s, H-18), 1,10 (3H, s, H-19), 1,11 (3H, s, H-29) ; ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) : 215,9 (C-11), 204,5 (C-22), 200,1 (C-3), 172,0 (C-1'), 159,9 (C-5), 156,9 (C-24), 132,0 (C-4), 122,1 (C-23), 105,1 (C-1''), 80,1 (C-2), 79,6 (C-20), 78,2 (C-5''), 78,1 (C-3''), 76,0 (C-15), 75,7 (C-2''), 73,8 (C-16), 71,5 (C-4''), 62,9 (C-6''), 55,9 (C-17), 52,4 (C-12), 51,5 (C-14), 50,1 (C-9), 46,3 (C-13), 45,9 (C-8), 41,4 (C-10), 33,2 (C-25), 32,7 (C-1), 28,9 (C-6), 24,5 (C-21), 23,3 (C-19), 21,8 (C-26/C-27), 21,6 (C-27), 21,1 (C-18), 20,9 (C-2'), 13,4 (C-29), 11,2 (C-28) ; SMHR-IES *m/z* 707,3647 [M + H]⁺ (calculé pour C₃₇H₅₅O₁₃, 707,3643).

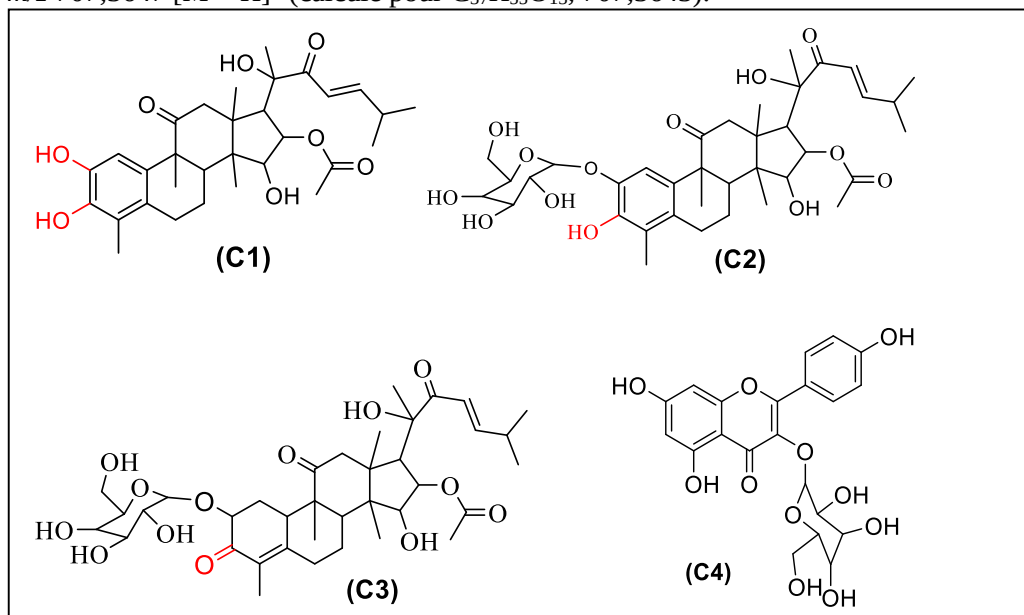


Figure 1 : Structures des composés isolés des sous-extraits FED et FEA

Kaempférol-3-O-β-D-glucopyranoside (C4) : Cristaux pourpres ; UV λ_{max} (nm) : 255, 355 ; IR ν_{max} (cm⁻¹) : 3388, 3275, 2929, 1714, 1615, 1542, 1027 ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 8,04 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-2'/H-6'), 6,88 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-3'/H-5'), 6,38 (1H, s, H-8), 6,19 (1H, s, H-6), 5,22 (1H, d, J = 7,4 Hz, H-1''), 3,69 (1H, dd, J = 14,0 et 9,7 Hz, H-6b''), 3,53 (1H, dd, J = 17,3 et 6,4 Hz, H-6a''), 3,44 (1H, m, H-2''), 3,40 (1H, m, H-3''), 3,34 (2H, m, H-4''), 3,21 (1H, m, H-5'') ; ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) : 179,6 (C-4), 166,1 (C-7), 163,0 (C-5), 161,6 (C-4'), 159,1 (C-2), 158,5 (C-9), 135,5 (C-3), 132,3 (C-2'/C-6'), 122,8 (C-1'), 116,1 (C-3'/C-5'), 105,0 (C-10), 104,2 (C-1''), 100,0 (C-6), 94,8 (C-8), 78,4 (C-5''), 78,0 (C-3''), 75,7 (C-2''), 71,4 (C-4''), 62,7 (C-6'') ; SMHR-IES *m/z* 449,0998 [M + H]⁺ (calculé pour C₂₁H₂₁O₁₁, 449,1084).

3.1.2. Activité antibactérienne

Les résultats de l'évaluation de la capacité antibactérienne de l'extrait éthanolique brut des feuilles (FE) indiquent que cet extrait possède une activité antibactérienne importante contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori*, avec des diamètres d'inhibition allant de $12,94 \pm 0,80$ mm à $15,57 \pm 0,30$ mm relativement aux concentrations testées (**Tableau II**). Quant aux composés isolés, ils n'ont été testés que contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori* aux concentrations de 5 mg/mL et 2,5 mg/mL. Il ressort que les composés **C1** et **C4** sont les plus actifs avec des diamètres d'inhibition allant de $13,01 \pm 0,42$ mm à $25,42 \pm 1,05$ mm. Toutefois, le composé **C1** semble être le plus actif sur *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition supérieurs à $21,00 \pm 0,95$ mm. Cependant, cette activité semble être modérée, comparée à celle de l'ampicilline (10 µg/mL) utilisée comme antibiotique de référence (**Tableau III**). Concernant les composés **C2** et **C3**, ils n'ont été que moyennement actifs sur ces deux souches avec des diamètres d'inhibition compris entre $8,28 \pm 0,31$ et $12,48 \pm 0,74$ mm.

Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) et de concentration minimale bactéricide (CMB) mesurées pour ces bactéries pathogènes à partir de l'extrait FE montrent que la CMI la plus faible ($6,25 \pm 0,28$ mg/mL) a été enregistrée avec *Staphylococcus aureus* contre une CMB de $11,65 \pm 1,88$ mg/mL. Concernant *Salmonella bongori*, la CMI était égale à la CMB avec une valeur de $7,50 \pm 0,81$ mg/mL (**Tableau IV**). Les rapports CMB/CMI calculés, inférieurs à 2 (**Tableau IV**), suggèrent que l'extrait brut éthanolique FE agit par une action bactéricide sur ces bactéries. Concernant les composés **C1** et **C4**, les valeurs de CMI ($320,0 \pm 8,8$ µg/mL à $730,0 \pm 10,9$ µg/mL) et CMB ($400,0 \pm 12,1$ µg/mL à $850 \pm 12,3$ µg/mL) obtenues ont permis de déterminer leur pouvoir bactéricide sur *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori* (**Tableau IV**).

Tableau II : Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait brut et de l'ampicilline

Souches bactériennes	Diamètres d'inhibition (mm) ^a		
	Extrait brut éthanolique (FE)		Ampicilline
	200 mg/mL	100 mg/mL	10 µg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	$14,09 \pm 0,20$	$12,94 \pm 0,80$	$31,08 \pm 2,40$
<i>Salmonella bongori</i>	$15,57 \pm 0,30$	$13,42 \pm 0,30$	$25,05 \pm 0,50$
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	$23,16 \pm 1,50$
<i>Escherichia coli</i>	$9,50 \pm 0,50$	$4,00 \pm 1,50$	$28,34 \pm 0,20$

^a Valeurs moyennes $\pm$ écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés

Tableau III : Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition, de CMI et de CMB des composés isolés

Composés	Diamètre d'inhibition (mm) ^a			
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella bongori</i>	
	5 mg/mL	2,5 mg/mL	5 mg/mL	2,5 mg/mL
C1	$25,42 \pm 1,05$	$21,00 \pm 0,95$	ND	ND
C2	$12,48 \pm 0,74$	$9,17 \pm 1,75$	ND	ND
C3	$09,41 \pm 0,46$	$8,28 \pm 0,31$	$10,71 \pm 1,01$	$11,06 \pm 0,71$
C4	$23,73 \pm 0,88$	$15,49 \pm 0,45$	$14,77 \pm 2,33$	$13,01 \pm 0,42$
Ampicilline (10 µg/ml)	$31,085 \pm 2,46$		$25,05 \pm 0,52$	

^a Valeurs moyennes $\pm$ écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés/ ND : non déterminé

Tableau IV : Valeurs des CMI, CMB (en µg/mL) et CMB/CMI des composés isolés.

Substances	Souches bactériennes	CMI ^a	CMB ^a	CMB/CMI
Extrait brut FE	<i>Staphylococcus aureus</i>	$6,25 \pm 0,28$	$11,65 \pm 1,88$	1,8
	<i>Salmonella bongori</i>	$7,50 \pm 0,81$	$7,50 \pm 0,81$	1,0
Composé C1	<i>Staphylococcus aureus</i>	$320,0 \pm 8,8$	$400,0 \pm 12,1$	1,25
	<i>Salmonella bongori</i>	ND	ND	ND
Composés C2 et C3	<i>Salmonella bongori</i>	> 1000	> 1000	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i>	> 1000	> 1000	ND
Composé C4	<i>Staphylococcus aureus</i>	$650,0 \pm 8,8$	$700,0 \pm 18,9$	1,08
	<i>Salmonella bongori</i>	$730,0 \pm 10,9$	$850,0 \pm 12,3$	1,16

^a Valeurs moyennes $\pm$ écart type ; n = 3 expériences indépendantes en sextuplés / ND : non déterminé

3.1.3. Activité myostimulante

Les résultats obtenus (**Figure 2**) montrent que l'extrait brut éthanolique FE provoque une augmentation dose-dépendante transitoire suivie d'une diminution des amplitudes des contractions rythmiques spontanées (force contractile) et une augmentation permanente du tonus de base (fréquence de contraction) des fragments de duodénum isolé de lapin (**Figure 2A**). En effet, la valeur de l'amplitude des contractions a passé de $0,5 \pm 0,00$ à $0,35 \pm 0,05$ gF tandis que celle du tonus de base a augmenté de 0 à $0,38 \pm 0,07$ gF. Il faut noter que les doses inférieures à 0,2 mg/ml étaient sans effets significatifs sur les contractions intestinales. Les effets myostimulants maximums de FE ont été obtenus pour la dose de 0,8 mg/mL, avec une diminution de l'amplitude des contractions de $62,50 \pm 7,21$ % ($p < 0,01$) et une augmentation du tonus de base de $0,63 \pm 0,12$ gF ($n = 3$). Ces effets sont restés constants pour des doses plus importantes. Les valeurs de concentration inhibitrice 50 % (CI₅₀) des contractions rythmiques intestinales et du tonus de base mesurées pour cet extrait sont respectivement de 0,75 mg/mL et 0,30 mg/mL (**Figures 3A et 3B**).

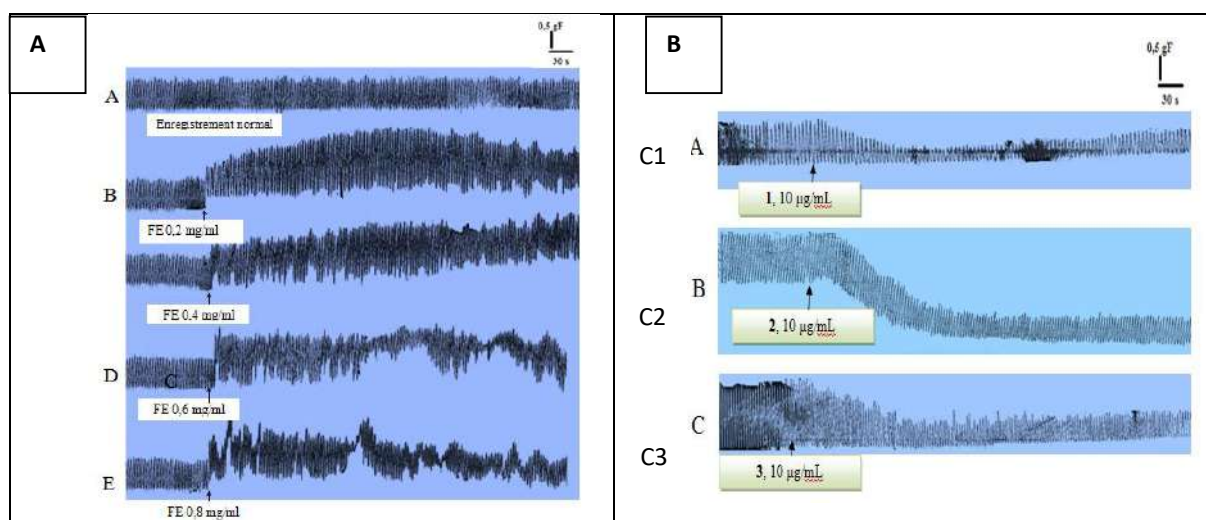
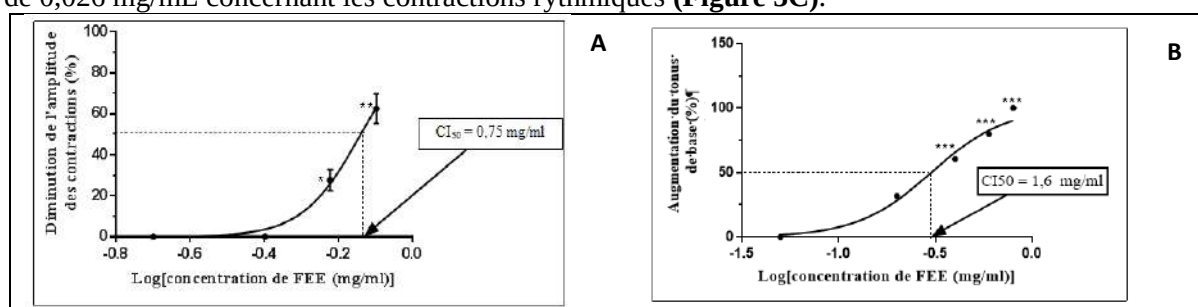


Figure 34 : Effets de l'extrait brut éthanolique FE et des molécules isolées sur le duodénum isolé de lapin
A : Effets doses-réponses de FE ; B : Effets doses-réponses de FE

Concernant les molécules isolées, seules les nor-cucurbitacines (C1–C3) ont été évaluées à la dose unique de 10 µg/mL (**Figure 2B**). Dans l'ensemble, toutes les molécules ont présenté des effets myorelaxants correspondant à une diminution à la fois de l'amplitude des contractions rythmiques et du tonus de base. Cette myoactivité semblant être plus renforcée avec le composé C2 avec des diminutions de l'amplitude des contractions rythmiques de $23,33 \pm 3,33$ % ($p < 0,001$) et du tonus de base de $0,56 \pm 0,01$ gF ($n = 3$), l'étude a été poursuivie avec celui-ci. Ce composé, administré à des doses croissantes de 10^{-2} à 10^2 µg/mL, entraîne des diminutions doses-dépendantes de l'amplitude des contractions rythmiques spontanées des fragments de duodénum isolé de lapin (**Figure 3C**). Les doses inférieures à 10^{-2} µg/mL sont sans effets significatifs sur les contractions intestinales, et au delà de 10^2 µg/mL, ces effets restent constants. Les effets myorelaxants maximums obtenus pour la dose de 10^2 µg/mL correspondent à une diminution de l'amplitude des contractions de $89,23 \pm 0,08$ % ($p < 0,01$) avec une CI₅₀ de 0,026 mg/mL concernant les contractions rythmiques (**Figure 3C**).



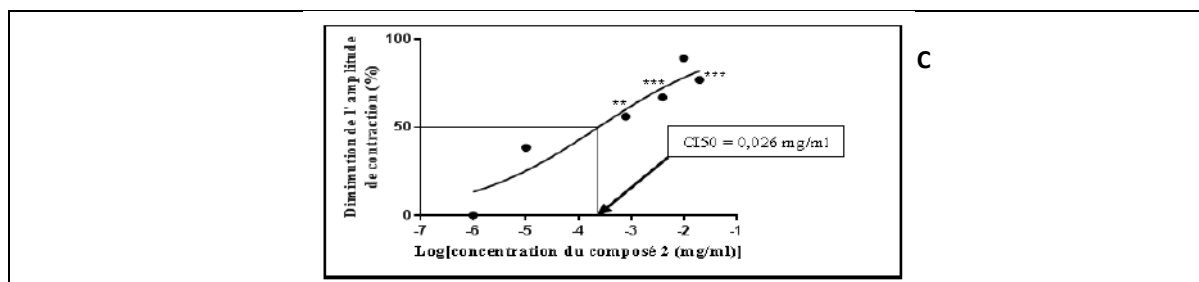


Figure 3 : Effets dose-dépendants de l'extrait brut éthanolique FE et du composé C2 sur le duodénum isolé de lapin (n = 3, * p < 0,05 ; ** p < 0,01, *** p < 0,001 par rapport aux enregistrements témoins)

A : Effets de FE sur les contractions intestinales de lapin ; **B** : Effets de FE sur le tonus de base des contractions intestinales ; **C** : Effets du composé C2 sur les contractions intestinales

Afin de comprendre le mode d'action de cette molécule sur le muscle lisse intestinal, des expériences ont été réalisées avec un milieu dépourvu de calcium (milieu 0 Ca^{2+}) en présence de chélateur de calcium comme l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) ou l'acide éthylène glycol-bis (β -aminoéthyléther) N,N,N',N'-tétra-acétique (EGTA). Ces chélateurs ont été employés à des concentrations finales de 10^{-4} mg/mL dans le milieu Mac Ewen. La **Figure 4** représente un enregistrement des effets de la molécule C2 à $10 \mu\text{g/mL}$ sur les contractions du duodénum isolé de lapin. A cette concentration, les effets de C2 ont été traduits par une diminution de l'amplitude des contractions rythmiques spontanées et un abaissement du tonus de base.

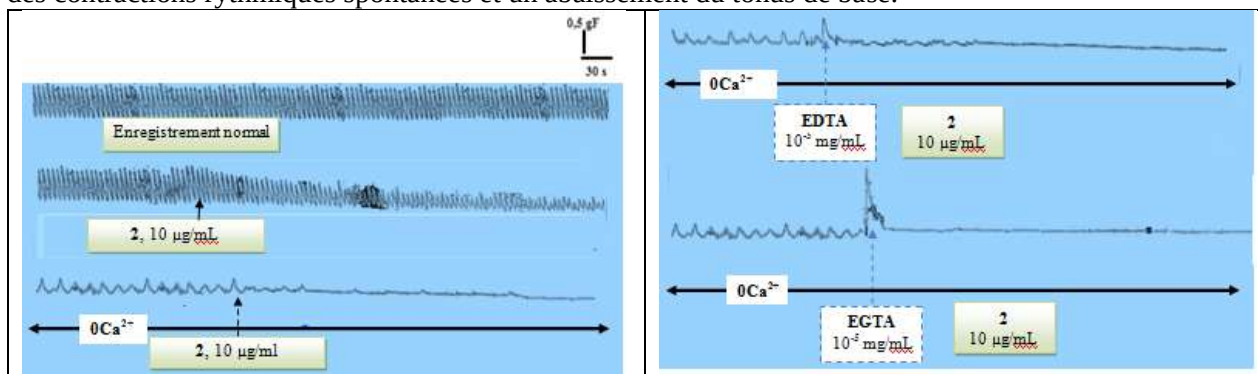


Figure 4 : Effets du composé C2 sur les contractions du duodénum isolé de lapin en milieu physiologique dépourvu de calcium, avec ou sans EDTA ou EGTA

3.2. Discussion

Mareya micrantha est une plante qui est utilisée en médecine traditionnelle africaine contre les infections liées au transit intestinal. L'étude menée sur l'extrait brut éthanolique (FE) des feuilles de la plante a concerné ses constituants phytochimiques responsables de ses activités sur le transit intestinal. L'activité antibactérienne a été réalisée sur *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella bongori* et *Staphylococcus aureus*, des bactéries couramment impliquées dans de nombreuses infections entériques [9]. Quant aux données d'activité physiologique, elles ont été obtenues grâce à la mesure de la myoactivité de l'extrait FE sur le muscle lisse du duodénum isolé de lapin. Au plan phytochimique, les résultats montrent que l'extrait brut éthanolique contient des phénoloïdes et des terpénoïdes. Ce qui corrobore les études de Doumbia et collaborateurs [15] (Doumbia et al., 2014). Le fractionnement de cet extrait a conduit à l'obtention de quatre (4) composés, dont trois (3) nor-cucurbitacines (C1-C3) et un (1) flavonoïde (C4). La particularité des composés C1 et C2 est qu'ils présentent un noyau A aromatique contrairement à C3. Les structures de ces composés ont été établies par comparaison de leurs données spectrales avec celles rapportées dans la littérature [5,7,16].

Les résultats des tests de sensibilité obtenus des souches testées montrent la présence d'une activité antibactérienne de l'extrait brut éthanolique sur *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori*. Les valeurs de CMI et CMB mesurées montrent que cet extrait agit sur ces bactéries par une action bactéricide. Le test de sensibilité réalisés sur les souches de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori* avec les composés isolés montre que ces bactéries sont plus sensibles aux composés C1 et C4. Pour les composés C2 et C3, la différence d'activité pourrait être liée à la présence d'unités osidiques dans leurs structures qui semble contribuer à une perte de l'activité. Par ailleurs, la forte activité de C1 et C4 pourrait être due à la présence de noyau phénolique au sein

de leur structure avec des OH totalement libres. En effet, les flavonoïdes en raison de leur richesse en groupements hydroxyles libres, sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes des bactéries, modifiant ainsi les équilibres enzymatiques [17]. Il est suggéré que les flavonoïdes agiraient en interférant avec l'incorporation de métabolites et de nutriments dans les cellules bactériennes ou en affectant les acides nucléiques des MRSA (*Staphylococcus Aureus* Méticilline Résistants) [17,18]. Aussi, la présence de groupement hydroxyle libre en position C-2 des nor-curcubitacines à noyau A aromatique semble être primordiale pour une meilleure activité antibactérienne.

Les résultats de la myoactivité montrent que l'extrait total éthanolique (FE) a fait augmenter de façon significative, et dose-dépendante, la force des contractions spontanées du muscle lisse du duodénum isolé de lapin. Celle-ci a été précédée d'une brève relaxation transitoire de ce muscle qui a disparu lorsqu'on a augmenté les doses de l'extrait. L'origine de cette phase transitoire serait due à la présence de certaines substances non cholinergiques telles que les composés phénoliques et les terpénoïdes [19]. Cet effet pharmacologique est comparable à celui des extraits aqueux des feuilles de *Mareya micrantha* [20] mais semble s'opposer à celui obtenu avec des extraits éthanoliques de ce même organe de la plante qui ont présenté une activité myorelaxante chez le cobaye [21]. Selon les résultats obtenus avec les composés isolés de l'extrait brut FE, ce sont les nor-cucurbitacines présentes dans cet extrait qui sont en partie responsables de cette action myorelaxante sur le muscle lisse intestinal, notamment celles à noyau A aromatique présentant une fonction osidique comme C2. Cette molécule présente un squelette de base semblable à celui des cucurbitacines E qui sont reconnues pour leur effet myorelaxant sur le muscle lisse intestinal [22]. Ces molécules inhiberaient les contractions des muscles lisses par activation des récepteurs muscariniques, majoritairement présents au niveau de l'intestin, qui vont favoriser la mobilisation du calcium extra- et intracellulaire [23-25]. La différence d'activité observée entre les nor-cucurbitacines isolées pourrait s'expliquer non seulement par la différence de fonctionnalisation au niveau des positions C-2 et C-3 de leur noyau A, mais également par la réduction de ce noyau. En effet, il est bien établi que les sites structuraux spécifiquement associés à cette activité sont la cétone α,β -insaturée en position C-22, le groupement acétate en position C-25 et/ou C-15, les fonctions hydroxyles libres situés sur les carbones C-16 et C-20 ainsi que sur le cycle A, avec les fonctions hydroxyles en position C-2 et/ou C-3 [26-28].

4. Conclusion

Cette étude a permis d'établir l'effectivité de l'extrait brut éthanolique des feuilles de *Mareya micrantha* sur les affections liées au transit intestinal, notamment son activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* et *Salmonella bongori*, deux des principales bactéries impliquées dans les infections entériques, ainsi que sa myoactivité sur le muscle intestinal. La purification des composés de cet extrait a conduit à la mise en évidence de dérivés de nor-curcubitacine, à noyau A phénolique avec des OH totalement libres ou non, et de kaempférol comme étant les principes actifs. La particularité de ces cucurbitacines est leur oxydation singulièrement inhabituelle en C-15. En plus, ces molécules réduisent les contractions rythmiques et baissent le tonus de base. Leur mécanisme d'action sur le muscle intestinal semble passer par le blocage du calcium aussi bien extracellulaire qu'intracellulaire. Ces résultats sont en parfaits accord avec l'usage fait en médecine traditionnelle des feuilles de cette plante. Plus loin, les molécules actives comme les nor-curcubitacines seront évaluées sur d'autres bactéries pathogènes afin d'établir leur spectre d'action mais également leur mécanisme d'action. L'extrait éthanolique des feuilles de *M. micrantha*, contenant des nor-cucurbitacines et des flavonoïdes, peut être donc proposé pour l'élaboration de médicaments à base de plante dans le traitement des affections liées aux troubles gastroentériques.

5. Références bibliographiques

- [1] O.M.S. Plantes et outils de la médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire. Ed. OMS (2022), p32. <https://www.afro.who.int/fr/publications/plantes-et-outils-de-la-medecine-traditionnelle-en-cote-divoire>.
- [2] Dosso M., Méité S., Yéo D., Traoré F., Djaman A.J., N'Guessan J.D. Cholinergic and histaminergic activities of the aqueous extract of *Mareya micrantha* (Benth). Müll Arg (Euphorbiaceae). *Asian J. Biochem.* (2013) 8(1), 24–32. DOI: [10.3923/ajb.2013.24.32](https://doi.org/10.3923/ajb.2013.24.32).
- [3] Doumbia I., Ouattara K., Coulibaly A.F., Yapi H.F., N'guessan J.D. Évaluation de l'effet cardioprotecteur de l'extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) chez le lapin. *Phytotherapie* (2014) 12(2), 128–134. DOI: [10.1007/s10298-014-0844-8](https://doi.org/10.1007/s10298-014-0844-8).
- [4] Dosso M., Soro D., Koffi A.E., Traoré F., N'Guessan J.D. Isolement par partition bio guidé du principe actif myostimulant de l'extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Benth) Mull. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Appl. Biosci.* (2017) 114, 11336–11344. DOI: [10.4314/jab.v11i4i1.7](https://doi.org/10.4314/jab.v11i4i1.7).

- [5] Koffi K.L., Bony F.N., Okpekon A.T., Bitty M.L.A., N Guessan K.J., Séon-Méniel B., Le Pogam P., Amin N.C., Aké M., Champy P. Compounds with myorelaxant activity from the leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Pharm. Phytochem.* (2020) 9(4), 48–59. DOI: [10.22271/phyto.2020.v9.i4a.11732](https://doi.org/10.22271/phyto.2020.v9.i4a.11732).
- [6] Zirihi G.N., Kra A.K.M., Soumahoro I.A., Guede G.F. Action du savon fait à partir des huiles de *Mitracarpus scaber* (Rubiaceae)-«miska», *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae)-«g243» et de *Cassia alata* (Caesalpiniaceae) sur la croissance in vitro de *Candida albicans* et *Trichophyton mentagrophytes*. *J. Sci. Pharm. Biol.* (2006) 7(1), 28–30.
- [7] Okpekon A.T., Koffi K.L., Bony F.N., Gono K.N., Kpaïbe A.S., Amin C.N. Activité antibactérienne et Constituants chimiques des feuilles de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2023a) 17(4), 1619–1630. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v17i4.26>.
- [8] Okpekon A.T., Seri C.S., Dade M.E.J., Agnes A.S., San Y., Kouakou Y.L. Phytochemical constituents of the stem barks of *Uvaria tortilis*, an endemic Annonaceae from Côte d'Ivoire. *Open J. Appl. Sci.* (2023b) 13, 888–895. DOI: [10.4236/ojapps.2023.136071](https://doi.org/10.4236/ojapps.2023.136071).
- [9] Sanogo Y., Guessend NK, Tra Bi HF, Kouadio J, Konan FK, Bamba M, Danho N, Bakayoko A, Yao K, Dosso M. Evaluation in vitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (Combretaceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2016) 10(3), 1139–1152. DOI: [http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i3.19](https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i3.19).
- [10] Rauf A., Akram M., Semwal P., Mujawah A.A.H., Muhammad N., Riaz Z., Munir N., Piotrovsky D., Vdovina I., Bouyahya A., Adetunji C.O., Shariati M.A., Almarhoon Z.M., Mabkhot Y.N., Khan H. Antispasmodic potential of medicinal plants: a comprehensive review. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021, Article ID 4889719. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/4889719>.
- [11] Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Tuck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized disc diffusion method. *Am. J. Clin. Pathol.* (1966) 45, 493–496. DOI: https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493.
- [12] Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C.E., Roura S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm. Wiss. Technol.* (2003) 36, 679–684. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4).
- [13] Shariffar F., Moshafi M.H., Mansouri S.H., Khodashenas M., Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* (2007) 18, 800–805. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.04.002>.
- [14] Mea A., Kouakou K.J., Abo K.J.C., Nguessan K.J., Irie Bi J.S., Kahou Bi G.P. Myostimulant effect of leaves of *Cassia occidentalis* (Caesalpiniaceae) on isolated rabbit duodenum. *Inter. J. Res.-Granthaalayah* (2017) 5(4), 301–310. DOI: [10.29121/granthaalayah.v5.i4.2017.1824](https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v5.i4.2017.1824).
- [15] Doumbia I., Ouattara K., Coulibaly AF, Yapi HF, N'guessan JD. 2014. Évaluation de l'effet cardioprotecteur de l'extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) chez le lapin. *Phytotherapie*, 12(2): 128–134. DOI: [10.1007/s10298-014-0844-8](https://doi.org/10.1007/s10298-014-0844-8).
- [16] Douhoré G.Y.T., Attioua K.B., Yaya S., Kabran A.F., Kablan A.L.C., Vedrenne M., Mathieu C., Vaca-Garcia C. Nor-cucurbitacins from the leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Fitothérapie*, (2020) 143, Article ID 104538. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104538>.
- [17] Donadio G., Mensitieri F., Santoro V., Parisi V., Bellone M.L., De Tommasi N., Izzo V., Dal Piaz F. Interactions with microbial proteins driving the antibacterial activity of flavonoids. *Pharmaceutics* (2021) 13(5), Article ID 660. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050660>.
- [18] Cushnie T.P.T., Lamb A.J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Inter. J. Antimicrobial. Agents* (2011) 38(2), 99–107. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014).
- [19] Capasso F., Muscolo N., Izzo A.A., Gaginella T.S. Dissociation of castor oil-induced diarrhea and intestinal mucosal injury in rat effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester. *Br. J. Pharmacol.* (1994) 113 (4), 1127–1130. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1994.tb17113.x>.
- [20] Méite S. Bahi C., Yeo D. Datte J.Y., Djaman J.A., N'guessan D.J. Laxative activities of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg (Euphorbiaceae) leaf aqueous extract in rats. *Complem. Altern. Med.* (2010) 10 (7). DOI: [10.1186/1472-6882-10-7](https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-7).
- [21] Tsai C.S., Guédé-guina F., Smith M.O., Vangah-Manda M., Ochillo R.F. Isolation of cholinergic active ingredients in aqueous extracts of *Mareya micrantha* using the longitudinal muscle of isolated guinea-pig ileum as a pharmacological activity marker. *J. Ethnopharmacol.* (1995) 45(3), 215–222. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)01219-P](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)01219-P).
- [22] DuPont H.L. What's new in enteric infectious diseases at home and abroad. *Curr. Opin. Infect. Dis.* (2005) 18(5), 407–412. DOI: [10.1097/01.qco.0000182535.54081.68](https://doi.org/10.1097/01.qco.0000182535.54081.68).
- [23] Soro Y.T., Traoré F., Bahi C., Koné P.P. Effets pharmacologiques de *Swartzia madagascariensis* (Caesalpiniaceae) sur l'activité contractile intestinale de lapin. *Rev. Med. Pharm. Afr.* (2004) 18, 59–70.
- [24] Dima T., Rakotonirina A., Kamgang R., Tankwa, Roger T., Wanda G.J.M.K. Effet de l'extrait au cyclohexane de *Bidens Phylosa* L. (Asteraceae) sur la motricité intestinale de rat. *Afr. J. Sci. Technol.* (2001) 2(1), 32–35. DOI: [10.4314/ajst.v2i1.44632](https://doi.org/10.4314/ajst.v2i1.44632).
- [25] Souza A., Kadjo J.A., Abo K. J. C., Datte J.Y., Traore F., M'batchi B. Myostimulating effect of the aqueous extract of *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss. (Meliaceae) in isolated *Taenia caeci* contractile activity. *Curr. Bioact. Compd.* (2007) 3(4), 291–294. DOI: [10.2174/157340707783220239](https://doi.org/10.2174/157340707783220239).

- [26] Bar-Nun N., Mayer A.M. Cucurbitacins-repressors of induction of laccase formation. *Phytochem.* (1989) 28(5), 1369–1371. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97748-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97748-3).
- [27] Ryu S.Y., Choi S.U., Lee S.H., Lee C.O., No Z., Ahn J.W. Cytotoxicity of cucurbitacins in vitro. *Arch. Pharm. Res.* (1995) 18, 60–61. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02976511>.
- [28] Duncan K.L., Duncan M.D., Alley M.C., Sausville E.A. Cucurbitacin E-induced disruption of the actin and vimentin cytoskeleton in prostate carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* (1996) 52, 1553–1560. DOI: [10.1016/s0006-2952\(96\)00557-6](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(96)00557-6).

Isolement et Identification d'un nouveau flavonol glycosilé des feuilles de *Guibourtia ehie* (Fabaceae)

KOFFI Yao Hermann *, OKPEKON Aboua Timothée, SERI Seri Chardin, DADE Joël Maxime Eric, AGNES Akpa Salemon, KOUADIO Affoué Yvette

Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

* hermann4954@yahoo.fr

Résumé : *Guibourtia ehie* (A.Chev.) J. Leonard (Fabaceae), un arbre de 30 à 45 m de hauteur avec un tronc de 60 à 90 cm de diamètre à écorce lisse, est fréquemment utilisé en médecine traditionnelle Ivoirienne pour traiter les ulcères, l'hypertension artérielle et les infections sexuelles. Le screening phytochimique avait montré la présence de saponines, de flavonoïdes, d'alkaloïdes, de terpènes et stérols qui semblent être responsables de ses propriétés antioxydante et antibactérienne. L'objectif de cette étude est d'identifier les composés responsables de ses activités. L'étude phytochimique a été réalisée sur l'extrait méthanolique des feuilles séchées rendues en poudre en utilisant les fractionnements chromatographiques (SiO₂ et Sephadex® LH-20). L'étude structurale a été réalisée en exploitant les données spectrales obtenues à partir des composés isolés (SM, RMN 1D et 2D). Les structures d'un nouveau flavonol glycosilé et de deux composés phénoliques, l'orcinol et le méthyle orsellinate, ont été caractérisées. La présence de ces composés dans les feuilles de *Guibourtia ehie* pourrait permettre d'expliquer l'usage thérapeutique de ces organes en tant qu'antioxydant et antibactérien, car ces métabolites secondaires sont connus pour leurs activités anticancéreuses, antiinflammatoires, antioxydantes et antibactériennes. Plus loin, le nouveau flavonol sera évalué pour ses propriétés antioxydante et antibactérienne.

Mots Clés : *Guibourtia ehie* ; *Fabaceae* ; Prenylflavonol ; 2''-O-Galloyl-epimédoside C

Identification of a new glycosylated flavonol from the leaves of *Guibourtia ehie* (Fabaceae)

Abstracts: *Guibourtia ehie* (A.Chev.) J. Leonard (Fabaceae), a tree 30 to 45 m high with a trunk 60 to 90 cm in diameter with smooth bark, is frequently used in Ivorian traditional medicine to treat ulcers, high blood pressure and sexual infections. Phytochemical screening showed the presence of saponins, flavonoids, alkaloids, terpenes and sterols which seem to be responsible for its antioxidant and antibacterial properties. The objective of this study is to identify the compounds responsible for its activities. The phytochemical study was carried out on the methanolic extract of powder dried leaves using chromatographic fractionations (SiO₂ and Sephadex® LH-20). The structural study was carried out by exploiting the spectral data obtained from the isolated compounds (MS, 1D and 2D NMR). The structures of a novel glycosylated flavonol and two phenolic compounds, orcinol and methyl orsellinate, were characterized. The presence of these compounds in the leaves of *Guibourtia ehie* could help explain the therapeutic use of these organs as antioxidant and antibacterial, because these secondary metabolites are known for their anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antibacterial activities. Further, the new flavonol will be evaluated for its antioxidant and antibacterial properties.

Keywords: *Guibourtia ehie*, *Fabaceae*, Prenylflavonol, Epimédoside C derivative

1. Introduction

Guibourtia ehie (A.Chev.) J. Leonard est un copalier de la famille des Fabaceae qui peut atteindre 45-50 m de haut, avec un tronc droit et cylindrique, sans branche jusqu'à 25 m. Les feuilles sont disposées en spirale, paripennées avec une paire de folioles ; les stipules sont semblables à des feuilles, jusqu'à 2 cm de long, et souvent persistantes ; les pétioles sont de 0,5-1 cm de long. L'aire de répartition du *Guibourti ehie* s'étend du Liberia au Gabon, où il est utilisé comme plante médicinale contre diverses affections. Elle est également utilisée pour le traitement de la gonorrhée, des ulcères, de l'hypertension artérielle et des infections sexuelles [1]. Le bois de la plante est également largement commercialisé à l'exportation [2]. Très peu de travaux dans la littérature traitent de la phytochimie du genre *Guibourtia* et des dérivés de chalcone, de stilbène et de flavonoïde ont été principalement isolés [1]. À partir des feuilles et du tronc de *Guibourtia ehie*, la rhaponticine, l'acide ellagique, la 2,6-diméthoxybenzoquinone, le lupéol, le taraxérol, la friedelan-3-one, le lanostérol, la scopoletine et la piloïne ont été récemment isolés [3]. Des activités antioxydantes et antibactériennes ont été attribuées à cette plante [3-4]. Dans le cadre de notre recherche de nouveaux composés bioactifs à partir de plantes médicinales ivoiriennes [5-7], l'espèce *Guibourtia ehie* a fait l'objet d'une étude systématique de ses constituants chimiques. Le présent article rapporte les résultats des études sur les feuilles de *Guibourtia ehie* qui ont permis d'isoler et d'élucider la structure d'un nouveau flavonol (1) et de deux composés connus (2-3).

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Guibourtia ehie* ont été collectées en avril 2019 dans la forêt d'Agbo 2 (6° 24' 6 "N, 4° 5' 56 "W), près de la localité d'Affery dans le Département d'Akoupé. L'espèce a ensuite été authentifiée par les botanistes du Centre National de Floristique (CNF), Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire). Le matériel végétal collecté a été lavé, coupé en petits morceaux et séché pendant deux semaines. Les échantillons secs ont été broyés et stockés à 25°C jusqu'à leur utilisation.

2.2. Méthodes générales

Les colonnes de chromatographie ont été réalisées sur gel de silice (Merck, 40-230 mesh) ou Sephadex® LH-20. Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60F₂₅₄ (Merck) et révélées sous lumière UV (254 et 366 nm) et/ou avec les réactifs vanilline-H₂SO₄, Lieberman (anhydride acétique-H₂SO₄) et Fast Blue B. Les spectres RMN 1D (¹H, ¹³C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC et NOESY) ont été enregistrés dans le CD₃OD sur un spectromètre Bruker AC-400 fonctionnant à 400 MHz pour les spectres 1H et à 100 MHz pour les spectres 13C. Les spectres de masse à basse résolution, APCIMS et ESIMS, ont été acquis à l'aide d'un spectromètre Bruker Esquire-LC_00040. Les spectres HRESIMS ont été enregistrés avec un spectromètre Bruker Esquire LC_00040.

2.3. Extraction et isolement des composés

La poudre de feuilles séchées de *Guibourtia ehie* (1kg) a été extraite dans un appareil de type Soxhlet avec du méthanol. Une fois le solvant éliminé, l'extrait brut (MeOH, 450 g) a été mis en suspension dans l'eau, puis contre-extrait séquentiellement en utilisant de l'hexane, du dichlorométhane et de l'acétate d'éthyle pour donner les sous-extraits à l'hexane (Hex), au dichlorométhane (Dic) et à l'acétate d'éthyle (Ae) ainsi que la fraction aqueuse résiduelle (Aqr). Le sous-extrait d'acétate d'éthyle (6,0 g) a été fractionné sur une colonne de gel de silice, éluée avec CH₂Cl₂/AcOEt (30:70 à 10:90), pour donner huit fractions (F1 à F8). La fraction F8 (245,3 mg) a été purifiée sur une colonne de Sephadex® LH-20 (CH₂Cl₂/MeOH, 2:1) pour donner le composé **1** (40 mg). Le sous-extrait au dichlorométhane (Dic, 4,5 g) a été fractionné sur une colonne de gel de silice en utilisant une élution CH₂Cl₂/MeOH (100:0 à 80:20) pour donner treize fractions (F1 à F13). La fraction F5 (340 mg) a ensuite été chromatographiée sur du gel de silice en utilisant n-C₆H₁₄/CH₂Cl₂ (30:70) pour fournir treize sous-fractions (F5-1 à F5-13). La sous-fraction F5-8 (115,3 mg) a été purifiée avec succès sur des colonnes de gel de silice (n-C₆H₁₄/DCM, 95:5) et de Sephadex® LH-20 (CH₂Cl₂/MeOH, 2:1), pour fournir le composé **2** (10 mg). La fraction F7 (620 mg) a été purifiée avec succès sur des colonnes de gel de silice (n-C₆H₁₄/CH₂Cl₂/MeOH, 5:90:5 et n-C₆H₁₄/AcOEt, 30:70) et de Sephadex® LH-20 (CH₂Cl₂/MeOH, 2:1) pour donner le composé **3** (5 mg).

2.3.1. 2''-O-Galloyl-epimedoside C (**1**)

Huile jaunâtre; UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 262 (4,5), 267 (4,0) nm; RMN ¹H (400 MHz, MeOD) et RMN ¹³C (100 MHz, MeOD) voir **Tableau I**; HR-ESIMS *m/z* 669,1823 [M+ H]⁺ (calculé pour C₃₃H₃₃O₁₅, 669,1819).

2.3.2. Orcinol (**2**)

Solide incolore ; RMN ¹H (400 MHz, MeOH); δ_H : 6.07 (dd; J = 0.40; 2.00; H-2); 6.12 (dd; J = 0.60; 2.80; H-4); 2.16 (dd; J = 0.60; 2.80; 5-CH₃); 6.11 (dd; J = 0.60; 2.80; H-6). RMN ¹³C (125 MHz, MeOH) ; δ_C : 159.3 (C-1); 100.7 (C-2); 159,3 (C-3); 108,6 (C-4); 141,1 (C-5); 21.6 (5-CH₃), 108,6 (C-6).

2.3.3. Methyl orsellinate (**3**)

Cristaux jaunes; ¹H NMR (400 MHz, MeOH); δ_H: 6.14 (d; J = 0.80; H-3); 6.16 (d; J = 0.80; H-5); 2.27 (s; H-6-CH₃); 3.79 (s; H-7-OCH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, MeOH); δ_C: 107.42 (C-1); 161.1 (C-2); 100.4 (C-3); 161.0 (C-4); 110.6 (C-5); 140.7 (C-6); 21.9 (C-6-CH₃); 170.1 (C-7); 51.7 (C-7-OCH₃).

3. Résultats et discussion

L'extrait brut MeOH des feuilles de *Guibourtia ehie* a été séquentiellement partitionné à l'aide d'hexane, de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle pour obtenir les sous-extraits correspondants. Les sous-extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle, séparés individuellement à l'aide de diverses techniques chromatographiques, ont permis d'isoler le nouveau flavonol, le 8-isopentenylkaempferol-7-O-β-D-(2'''-O-galloyl) glucopyranoside (**1**), ainsi que deux composés connus, l'orcinol (**2**) et l'orsellinate de méthyle (**3**) [8] (**Figure 1**). Les structures des composés isolés ont été élucidées par des techniques spectroscopiques comprenant des analyses UV, RMN et SM. Ces composés ont été isolés pour la première fois de *Guibourtia ehie*.

Le composé **1** a été obtenu sous forme d'une huile jaunâtre. La formule moléculaire de C₃₃H₃₂O₁₅, correspondant à dix-huit degrés de déficience en hydrogène, a été déduite du spectre HR-ESIMS qui révélait un pic d'ion à *m/z*

669,1823 $[M+H]^+$ (calculé pour $C_{33}H_{33}O_{15}$, 669,1819). Les ions fragments à m/z 517,1706 $[M-C_7H_5O_4+H]^+$ et 153,0185 $[C_7H_5O_4]^+$ étaient caractéristiques de la perte d'un fragment d'ester de l'acide gallique [9]. Les absorptions UV à 262 et 267 nm sont typiques d'un squelette de flavonol [10]. Le spectre de RMN ^{13}C du composé **1** (Tableau I) a révélé 33 résonances de carbone, parmi lesquelles 15 carbones ont été attribués à un squelette de flavonoïde, cinq à un groupement prényle, sept à un groupe galloyle et six à une unité de sucre. Le spectre de RMN ^1H (Tableau I) a révélé deux paires de protons aromatiques couplés, à δ_H 8,04 et 6,86 (2H chacun, d, $J = 8,9$ Hz), qui ont montré des corrélations HSQC avec des signaux de carbone à δ_C 130,9 et 116,2, respectivement, ce qui suggère un système RMN de couplage AA'BB' aromatique typique du cycle B.

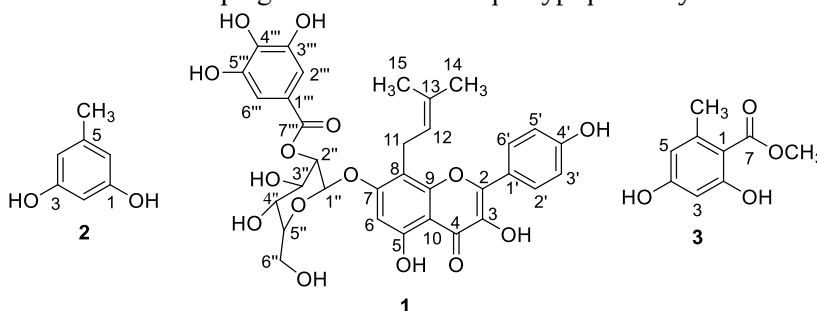
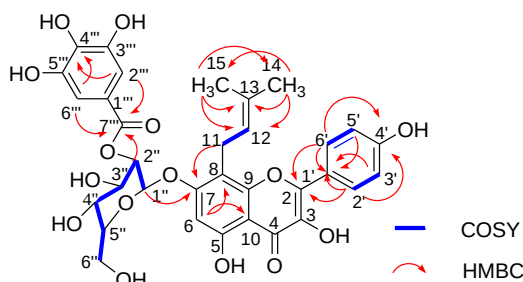


Figure 1 : Structure des composés isolés (1–3)

Sur le spectre HMBC, tous ces deux signaux de protons (δ_H 8,04 et 6,86) ont également montré des corrélations avec les signaux de carbone à δ_C 123,8 et 160,7 (Figure 2), indiquant que le premier était le déplacement chimique de C-1', et le second, celui de C-4' [11]. Le spectre de RMN ^{13}C a montré des résonances caractéristiques attribuées au cycle A et au cycle C d'un squelette de flavonol grâce aux signaux d'un groupe carbonyle conjugué à δ_C 177,9 (C-4) [12], d'un carbone aromatique alkylé à δ_C 106,3 (C-10) et de cinq carbones aromatiques oxygénés [δ_C 137,4 (C-3), 148,9 (C-2), 154,7 (C-9), 160,3 (C-5), 161,1 (C-7)]. Les spectres de RMN 1D (RMN ^1H et ^{13}C) et 2D (HSQC et HMBC) ont également montré des signaux indiquant la présence d'un groupe galloyle à travers les signaux d'un proton aromatique à δ_H 6,62 (1H, s) en corrélation avec le carbone à δ_C 98,6 (C-6) ; deux protons aromatiques à δ_H 7,09 (2H, s), en corrélation avec le signal de carbone à δ_C 110,5 (C-2''/C-6''), trois carbones aromatiques oxygénés [δ_C 146,4 (C-3''/C-5''), 139,9 (C-4'')], un carbone aromatique non-protoné à δ_C 121,4 (C-1'') et un carbone de carbonyle d'ester (δ_C 167,4, C-7'') [13]. Une de signaux de protons à δ_H 4,86 (1H, m, H-12), 3,34 (2H, m, Ha-11/ Hb-11), 1,65 (3H, s, Me-14) et 1,39 (3H, s, Me-15), a montré des corrélations avec les signaux de carbone à δ_C 123,4 (C-12), 22,9 (C-11), 25,5 (C-15) et 18,3 (C-14) sur le spectre HSQC, respectivement. Parmi eux, le signal de proton à δ_H 4,86 (1H, m, H-12) a montré des corrélations HMBC avec les signaux de carbone à δ_C 25,5 (C-15) et 18,3 (C-14), ainsi que celui à δ_H 1,65 (3H ; s) avec δ_C 123,4 (C-12) sur le spectre HMBC, suggérant la présence d'un groupe prényle [12]. La localisation de ce groupe prényle en C-8 a été confirmée par la corrélation HMBC entre H-11 (2H, m, 3,34) et C-7 (δ_C 161,1). La fraction de sucre a été identifiée comme étant du D-glucose par hydrolyse acide. Le signal de proton à δ_H 5,32 (1H, d, $J = 8,2$ Hz), ainsi que le signal de carbone à δ_C 100,3 ont été déduits comme étant le proton anomérique et le signal de carbone de la fraction Glc. La configuration β -pyranosyle de la liaison glycosidique de la fraction Glc a été déduite de la constante de couplage à $J = 8,2$ Hz du proton anomérique [14]. La corrélation HMBC entre H-1'' (1H, 5,32, d, $J = 8,2$ Hz) et C-7 (δ_C 161,1) indique que le groupe Glc est attaché à C-7 de l'aglycone. Sur le spectre ^1H - ^1H COSY, on a observé que le signal à δ_H 5,32 (H-1'') était corrélé à celui à δ_H 5,25 (H-2'') qui était également corrélé à l'autre à δ_H 3,77 (H-3'') (Figure 2). Le groupe galloyle situé en C-2'' de la fraction Glc a été suggéré par la corrélation HMBC de H-2'' (1H, 5,25, dd, $J = 8,4, 8,0$ Hz) du Glc au carbonyle du galloyle (δ_C 167,4) (Figure 2). Sur la base des résultats ci-dessus, le composé **1** a été déterminé comme étant le 8-isopentenylkaempferol-7-O- β -D-(2''-O-galloyl) glucopyranoside que nous avons nommé 2''-O-galloyl-epimedeside C [15].


Figure 2 : Importantes Corrélations 2D observées du Composé **1**

D'un point de vue chimiotaxonomique, les flavonoïdes prénylés ont été identifiés comme composants actifs dans environ vingt-six familles de plantes, principalement chez les Fabaceae, les Moraceae et les Euphorbiaceae, et peuvent être classés en six catégories : flavones prénylés, flavanones prénylés, chalcones prénylés, isoflavones prénylés, flavanes et isoflavanes prénylés [16]. Ceux dont l'aglycone est un squelette de 8-C-isopenténylflavonol, comme le **1**, et qui appartiennent au groupe des flavones prénylés ont été obtenus principalement dans les Rutaceae, les Berbéraceae, les Sapindaceae, les Asclépiadaceae, les Thymélaceae, les Euphorbiaceae, les Platanaceae et les Fabaceae [17]. Néanmoins, ceux obtenus dans la famille des Fabaceae avec ce type d'aglycone n'ont été signalés que dans les genres *Desmodium*, *Glycyrrhiza*, *Mundulea*, *Rhynchosia* et *Sophora*, tous de la sous-famille des Faboideae [18-20]. L'orcinol (**2**) et l'orsellinate de méthyle (**3**), ainsi que leurs dérivés, qui sont considérés comme omniprésents dans les lichens [8, 21], ont également été trouvés dans les bryophytes et les marchantiophytes [22, 23]. Chez les plantes supérieures, ces composés ont été identifiés dans quelques genres d'Apocynaceae [24], de Boraginaceae [25], d'Ericaceae [8], de Fabaceae [26], de Liliaceae [27], de Myrtaceae [28], de Nyctaginaceae [29], de Piperaceae [30], de Salicaceae [31] et de Styracaceae [32]. À notre connaissance, tous ces composés sont décrits ici pour la première fois dans le genre *Guibourtia* qui appartient à la sous-famille des Caesalpinoideae. Ils pourraient donc être utilisés pour établir une relation entre ces espèces.

TABLEAU I : RMN 1D et 2D du composé **1** dans le CD₃OD

Position	¹³ C (δ, ppm)	¹ H (δ, ppm) (m; J, Hz)	COSY	HMBC
Flavonol aglycone				
2	148,0	-		
3	137,4	-		
4	177,9	-		
5	160,3	-		
6	98,6	6,67 (1H; s)		C-7; C-8; C-10
7	161,1	-		
8	110,3	-		
9	154,7	-		
10	106,3	-		
1'	123,8	-		
2'	130,9	8,04 (2H; d; 8,9)	H3'; H5'	C-4'; C-2; C-2'
3'	116,2	6,86 (2H; d; 8,9)	H2'; H6'	C1'
4'	160,7	-		
5'	116,2	6,86 (2H; d; 8,9)	H2'; H6'	C1'
6'	130,9	8,04 (2H; d; 8,9)	H3'; H5'	C-4'; C-2; C-2'
Prényle				
11	22,4	3,34 (2H; m)	H12	C-7
12	123,4	4,86 (1H; m)	H11	C-14; C-15
13	132,7	-		
14	18,3	1,65 (3H; s)		C-13; C-12; C-15
15	25,5	1,39 (3H; s)		C-13; C-12; C-14
β-D-Glucopyranose				
1''	100,3	5,32 (1H; d; 8,2)	H2''	C-7
2''	74,9	5,25 (1H; dd; 8,2; 8,4)	H1''; H3''	C-1''
3''	76,8	3,77 (1H; d; 8,4)	H2''; H4''	
4''	71,4	3,59 (1H; d; 18,3)	H3''; H5''	
5''	78,5	3,63 (1H; dd; 2,3; 5,4)	H4''	
6''	62,3	3,98 (1H; Ha; dd; 8,0; 8,4)	H5''	

		3,80 (1H; Hb; t; 4,7)		
		Ester gallique		
1'''	121,4	-		
2'''	110,5	7,09 (1H;s)		C-7'''; C-6'''; C-4'''
3'''	146,4	-	-	
4'''	139,9	-	-	
5'''	146,4	-	-	
6'''	110,5	7,09 (1H;s)	;	C-7'''; C-2'''; C-4'''
7'''	167,4	-		

4. Conclusion

Cette étude a démontré que les feuilles de *Guibourtia ehie* sont une source naturelle de composés bioactifs, en particulier de phénols. Parmi les composés phénoliques, le 2"-O-galloyl-épimédoside C a été isolé pour la première fois dans cette étude sur les plantes. Ces composés isolés pour la première fois chez cette espèce se sont avérés avoir une signification chimiotaxonomique importante. La présence de ces composés dans les feuilles pourrait permettre d'expliquer l'usage thérapeutique de ces organes en tant qu'antioxydant et antibactérien, car ces métabolites secondaires sont connus pour leurs activités anticancéreuses, antiinflammatoires, antioxydantes et antibactériennes. Plus loin, le nouveau flavonol sera évalué pour ses propriétés antioxydante et antibactérienne.

5. Bibliographie

- [1] Kouao TA, Ouattara ZA, Kambiré DA, Kouamé BA, Mamyrbékova-Békro JA, Tomi P, Paoli M, Bighelli A, Békro YA and Tomi F: Caryophyllene-Rich essential oils of two species from Southern Côte d'Ivoire: *Guibourtia ehie* (A. Chev.) J. Léonard (Caesalpiniaceae) and *Oricia suaveolens* (Engl.) Verd. (Rutaceae). *Compounds* (2023) 3, 73–82.
- [2] Tosso F, Dainou K, Hardy OJ, Sinsin B and Doucet J-L: Le genre *Guibourtia* Benn., un taxon à haute valeur commerciale et sociétale (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* (2015) 19(1), 1–19.
- [3] Bongmo LVL, Nougba AB, Happi GM, Tabekoueng GB, Lateef M, Waffo AFK, Ali MS, Choudhary MI and Wansi JD: Phytochemical compounds of *Guibourtia ehie* and their antioxidant, urease and α -glucosidase inhibitory activities. *Nat. Resour. Hum. Health* (2022) 2, 306–312.
- [4] Obame-Engonga LC, Sima-Obiang C, Ngoua RL, Ondo JP, Traoré A and Koudou J: Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of *Guibourtia ehie* and *Syzygium rowlandii* medicinal plants from Gabon. *Int. J. Curr. Res.* (2017) 9, 56354–56360.
- [5] Okpekon TA, Kabran FA, Say VM, Evanno L, Maciuk A, Loiseau P, Champy P and Figadère B: Apoprunelelactone (APL), an antiprotozoal lactone from the stem barks of *Isolona cooperi* Hutch. & Dalziel (Annonaceae). *Nat. Prod. Res.* (2021) 35, 5112–5119. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1781116>.
- [6] Okpekon AT, Seri SC, Dade MEJ, Agnes AS, San Y and Kouakou YL: Phytochemical constituents of the stem barks of *Uvaria tortilis*, an endemic Annonaceae from Côte d'Ivoire. *Open J. Appl. Sci.* (2023) 13, 888–895.
- [7] Okpekon AT, Koffi KL, Bony FN, Gono KN, Kpaïbe AS and Amin CN: Activité antibactérienne et constituants chimiques des feuilles de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae). *Int. J. Chem. Biol. Sci.* (2023) 17(4), 1619–1630. <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v17i4.26>.
- [8] Zorrilla JG, D'Addabbo T, Roscetto E, Varriale C, Catania MR, Zonno MC, Altomare C, Surico G, Nimis PL and Evidente A: Antibiotic and nematocidal metabolites from two Lichen species collected on the Island of Lampedusa (Sicily). *Int. J. Mol. Sci.* (2022) 23, Article ID 8471. <https://doi.org/10.3390/ijms23158471>.
- [9] Ivanov I, Vasileva A, Tasheva D and Dimitrova M: Isolation and characterization of natural inhibitors of post-proline specific peptidases from the leaves of *Cotinus coggygria* Scop. *J. Ethnopharmacol.* (2023) 314, Article ID 116508. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116508>.
- [10] Mabry TJ, Markham KR and Thomas MB: The Systematic identification of flavonoids. Springer Verlag, New York 1970.
- [11] Kim E, Kim Y-M, Ahn J, Chae H-S, Chin Y-W and Kim J: Prenylated Flavonoid Glycosides with PCSK9 mRNA expression inhibitory activity from the aerial parts of *Epimedium koreanum*. *Molecules* (2021) 26, Article ID 3590. <https://doi.org/10.3390/molecules26123590>.
- [12] Zhao YD, Zhang X, Yang WY, Zhang RQ, Mu LT, Han L, Lv CN and Lu JC: New anti-pulmonary fibrosis prenylflavonoid glycosides from *Epimedium koreanum*. *Chin. J. Nat. Medicines* (2022) 20(3), 221–228.
- [13] Sannomiya M, Rodrigues CM, Oliveira GCA, Carvalho JCS, Da Costa LS, Spadari CC, Ferreira MJP, Vilegas W and Ishida K: Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *J. Ethnopharmacol.* (2022) 297, Article ID 115534. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115534>.
- [14] Seri CS, Okpekon TA, Yao-Kouassi PA, Magid AA, Sayagh C and Voutquenne-Nazabadioko L: Saponins and flavonoid glycosides from the leaves of *Ziziphus mauritiana* Lam. native of a forest area of Ivory Coast. *Phytochem. Lett.* (2020) 37, 5–9.

- [15] Pan C, Fujiwara Y, Horlad H, Shiraishi D, Iriki T, Tsuboki J, Ikeda T and Komohara Y: Flavonoid compounds contained in *Epimedium herba* inhibit tumor progression by suppressing STAT3 activation in the tumor microenvironment. *Front. Pharmacol.* (2020) 11, Article ID 262. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00262>.
- [16] Lv HW, Wang QL, Luo M, Zhu MD, Liang HM, Li WJ, Cai H, Zhou ZB, Wang H, Tong SQ and Li XN: Phytochemistry and pharmacology of natural prenylated flavonoids. *Arch. Pharmacol Res.* (2023) 46, 207–272.
- [17] Sun Q, Wang D, Li FF, Yao GD, Li X, Li LZ, Huang XX and Song SJ: Cytotoxic prenylated flavones from the stem and root bark of *Daphne giraldii*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2016) 26, 3968–3972.
- [18] Long G, Wang J, Min D, Xu Y, Jia J and Wang A: Research progress on flavonoids from the roots of *Sophora flavescens* Alt. and their biological activities. *Asian J. Tradit. Med.* (2021) 16(6), 385–397.
- [19] Boozari M, Soltani S and Iranshahi M: Biologically active prenylated flavonoids from the genus *Sophora* and their structure–activity relationship - A review. *Phytother. Res.* (2019) 33(3), 546–560.
- [20] Sasaki H, Kashiwada Y, Shibata H and Takaishi Y: Prenylated flavonoids from *Desmodium caudatum* and evaluation of their anti-MRSA activity. *Phytochemistry* (2012) 82, 136–142.
- [21] Do TH, Duong TH, Nguyen HT, Nguyen TH, Sichaem J, Nguyen CH, Nguyen HH and Long NP: Biological activities of lichen-derived monoaromatic compounds. *Molecules* (2022) 27, Article ID 2871.
- [22] Asakawa Y, Ludwiczuk A, Nagashima F, Toyota M, Hashimoto T, Tori M, Fukuyama Y and Harinantenaina L: Bryophytes: bio- and chemical diversity, bioactivity and chemosystematics. *Heterocycles* (2009) 77(1), 99–150.
- [23] Asakawa Y and Ludwiczuk A: Chemical constituents of bryophytes: structures and biological activity. *J. Nat. Prod.* (2018) 81(3), 641–660.
- [24] Abouzied AS, Abd-Rabo MM, Huwaimel B, Almahmoud SA, Almarshdi AA, Alharbi FM, Alenzi SS, Albsher BN and Alafnan A: In silico pharmacokinetic profiling of the identified bioactive metabolites of *Pergularia tomentosa* L. latex extract and in vitro cytotoxic activity via the induction of caspase-dependent apoptosis with S-phase arrest. *Pharmaceuticals* (2022) 15(9), Article ID 1132. <https://doi.org/10.3390/ph15091132>.
- [25] Dabole B, Zeukang R, Atchade AT, Tabopda T, Koubala BB and Mbafor JT: Cinnamoyl derivatives from *Cordia platythyrsa* and chemotaxonomical value of the *Cordia* genus. *Sci. J. Chem.* (2016) 4(3), 36–40.
- [26] Sharma MK, Narayan G and Chaturvedi S: A review article on medicinal importance of *Alysicarpus monilifer*. *Int. J. Res. Ayurveda & Yoga* (2019) 2(5), 23–36.
- [27] Yang F, Fan M-Y, Liu B-R and Zhang P-Z: Two new glycosides from *Dianella ensifolia* (L.) DC. *Phytochem. Lett.* (2022) 47, 18–20.
- [28] Sikder MAA, Kaisar MA, Rahman MS, Hasan CM, Al-Rehaily AJ and Rashid MA: Secondary metabolites from seed extracts of *Syzygium cumini* (L.). *J. Phys. Sci.* (2012) 23 (1), 83–87.
- [29] Liu Z, Zheng X, Wang Y, Tang M, Chen S, Zhang F, Li L, Zhang C and Sun Y: Lignans and isoflavonoids from the stems of *Pisonia umbellifera*. *RSC Adv.* (2018) 8, Article ID 16383. <https://doi.org/10.1039/C8RA02240B>.
- [30] Chouna HSD, Bankeu JJK, Fongang YSF, Dize D, Ponou BK, Bitchagno GTM, Awantu AF, Lenta BN, Fekam FB, Ngouela SA, Opatz T and Sewald N: Constituents of *Peperomia vulcanica* Baker & CH Wright (Piperaceae) with antiparasitic activity. *Phytochem. Lett.* (2021) 41, 14–20.
- [31] Ansari T, Saleem M, Asif M, Prasad S B, Kumar V and Meena R: Morphological, phytochemical and ethnopharmacological attributes of *Xylosma longifolia* Clos: a review. *J. Pharmacogn. Phytochem.* (2023) 12(1), 679–689.
- [32] Liu BL, Hu X, He HL, Qiu L, Li YZ and Ding WB: A new epicatechin glucopyranoside derivative from *Styrax suberifolius*. *Nat. Prod. Res.* (2019) 34 (14), 1977–1983.

Teneurs en coumarines aglycones et évaluation du potentiel antioxydant des feuilles *Dichrostachys cinerea* et de *Morinda lucida*

Demel Axel ADOU ^{1,2*}, Severin Yapo KATOU ^{1,2}, Kouassi Pierre-Alain KONAN ², Djele Alette Edwige ZIALE ², Janat Akhanovna Mamyrbékova-Békro², Yves-Alain Békro ²

1- Département des Sciences et Techniques, UFR des Sciences Médicales, Université Alassane Ouattara (UAO)

2- Laboratoire de Chimie Bio-Organique Et de Substances Naturelles, UFR des Sciences Fondamentales et Appliquées, Université Nangui Abrogoua (UNA)

*Auteur correspondant : demelaxel@gmail.com

Résumé

Objectif : Déterminer la composition phytochimique (qualitative et quantitative) et l'activité antioxydante des extraits éthérés de feuilles de *Dichrostachys cinerea* (DCF) et de *Morinda lucida* (MLF). **Méthodes :** L'extraction des coumarines a été réalisée selon les méthodes décrites par Grinkevitch et Safronitch (1993). La composition phytochimique (CCM et LC-MS) ainsi que la teneur totale en coumarines ont été déterminés. La droite d'étalonnage ($y = a x + b$) réalisée à l'aide de 2H-1-benzopyran-2-one a été utilisée pour la quantification Anuj *et al.*, (2012). L'activité antioxydante a été testée à l'aide du radical DPPH. **Résultats :** La CCM a révélé en plus des coumarines, la présence des flavonoïdes. L'auraptène, l'impératorine, les furanocoumarines et les hydroxycoumarines ont été identifiées par l'analyse LC-MS/MS. Par ailleurs, le dosage par spectrophotométrie à 275 nm a montré des teneurs en coumarines de $8,9354 \pm 0,0006$ mg EC/g et de $11,0068 \pm 0,0004$ mg EC/g respectivement pour DCF et MLF. En outre, les extraits ont des CR₅₀ de $0,01789 \pm 0,3 \times 10^{-5}$ % mg/mL pour DCF et de $0,04831 \pm 0,3 \times 10^{-5}$ % pour MLF.

Conclusion : Les propriétés pharmacologiques de ces espèces végétales de la flore ivoirienne seraient du fait de leur richesse en coumarines.

Mots-clés : Coumarines ; antioxydant ; CCM ; LC-MS

Aglycone coumarin content and antioxidant potential of *Dichrostachys cinerea* and *Morinda lucida* leaves

Abstract

Objective: To determine the phytochemical composition (qualitative and quantitative) and antioxidant activity of ethereal leaves extracts of *Dichrostachys cinerea* (DCF) and *Morinda lucida* (MLF). **Methods:** The extraction of coumarins was carried out according to the methods described by Grinkevitch and Safronitch (1993). The phytochemical composition (TLC and LC-MS) and total coumarin content were determined. The calibration line ($y = a x + b$) performed using 2H-1-benzopyran-2-one was used for quantification Anuj *et al.*, (2012). Antioxidant activity was tested using the DPPH radical. **Results:** TLC revealed in addition to coumarins, the presence of flavonoids. Aurapten, imperatorin, furanocoumarins and hydroxycoumarins were identified by LC-MS/MS analysis. Furthermore, the spectrophotometric assay at 275 nm showed coumarin contents of 8.9354 ± 0.0006 mg EC/g and 11.0068 ± 0.0004 mg EC/g respectively for DCF and MLF. Additionally, the extracts have CR₅₀s of $0.01789 \pm 0.3 \times 10^{-5}$ % mg/mL for DCF and $0.04831 \pm 0.3 \times 10^{-5}$ % for MLF. **Conclusion:** The pharmacological properties of these plant species of the Ivorian flora are due to their coumarins content.

Keywords : Coumarins ; antioxidant ; TLC ; LC-MS

1. Introduction

Dans le système biologique, les radicaux libres jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire, l'expression des gènes et le transport des ions [1,2]. Cependant, leurs quantités excessives peuvent avoir des effets délétères sur de nombreuses molécules, notamment les protéines, les lipides, l'ARN, l'ADN et les glucides [3,4]. D'où, un intérêt accru porté sur la recherche de nouveaux antioxydants notamment de sources naturelles s'est considérablement développée en raison de leurs avantages potentiels dans la prévention des maladies. La plupart des antioxydants naturels proviennent de fruits, de légumes et de plantes qui contiennent une grande variété de composés antioxydants notamment les coumarines, qui peuvent aider à protéger les dommages cellulaires dus au stress oxydatif et également à réduire le risque de maladies chroniques [3]. Les coumarines, constituent un groupe important de composés phénoliques utilisées pour la prévention et le traitement de nombreuses maladies, elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes [4], anticancéreuses, anticoagulantes [5]. Elles peuvent être distribuées dans toutes les parties de la plante en fonction des conditions de croissance [6-8]. C'est pourquoi, l'intérêt de cette étude a été porté sur *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn (Fabaceae) et *Morinda lucida* (L.) Benth (Rubiaceae). Ces deux plantes sont utilisées traditionnellement en Côte d'Ivoire pour apporter une riposte à diverses affections pathologiques : l'hypertension artérielle, le diabète ; maux d'yeux, stérilité [9,10]. Elles ont été choisies sur la base d'une démarche chimiotaxonomique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les feuilles desdites plantes ont été récoltées à Dabakala (8° 21' 48" nord, 4° 25' 43" ouest, Côte d'Ivoire) (*D. cinerea* (DC)) et à Alépé (5° 29' 46" nord, 3° 39' 49" ouest, ville au Nord-Est d'Abidjan) *M. lucida* (ML)). L'identification a été confirmée par le regretté ASSY Jean du Centre National de Floristique (CNF) d'Abidjan, conformément aux herbiers existants. Les feuilles ont été séchées (18°C) pendant deux semaines, ensuite broyées et conditionnées, pour les analyses.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction des coumarines aglycones

L'extraction a été réalisée selon les méthodes décrites par **Grinkevitch et Safronitch** [11]. 50 g de poudre végétale sont soumis à une hydrolyse (HCl, 2N, 300 mL, 2 h). Après filtration et séchage (48 h), le marc est repris dans l'hexane (24 h). Il a été ensuite épuisé avec le MeOH (100 mL) dans un Soxhlet pendant 2 h. Après élimination du solvant, la masse extraite est traitée par les solutions de KOH à 0,5% (m/v) (90 mL) et à 5% (m/v) (20 mL) pendant 1 h. La fraction alcaline a été traitée à l'éther éthylique (3 × 100 mL). Après décantation et séparation, une solution de HCl 5% (v/v) est additionnée (pH= 2). La masse réactionnelle est par la suite traitée à l'éther éthylique (3 × 100 mL).

2.2.2. Criblage phytochimique par CCM

Le criblage phytochimique par CCM a été mené selon les procédés d'identification tirés de la littérature [12,13].

2.2.3. Analyse LC-MS/MS

L'analyse a été réalisée sur une chaîne HPLC (Agilent 1260 Infinity) couplée à un spectromètre de masse (Q-TOF-MS Agilent 6530) équipé d'une source ESI. Une colonne C18 Sunfire® Waters de longueur 150 mm, de diamètre 2,1 mm et de diamètre des particules 3,5 µm a été utilisée. La phase mobile est constituée d'un gradient de solvants A (H₂O + 0,1% HCO₂H) et B (CH₃CN). L'analyse des données est effectuée à l'aide du logiciel Agilent MassHunter Workstation.

2.2.4. Dosage des coumarines par spectrophotométrie

Les teneurs en coumarines ont été évaluées selon la méthode de **Anuj et al., (2012)** [14]. La quantification des coumarines dans les extraits éthers a été déterminée en fonction d'une droite d'étalonnage ($y = a x + b$) réalisée à différentes concentrations (0,1954 – 25 µg/mL) dans les mêmes conditions que les extraits. Les teneurs en coumarines ont été exprimées en milligramme Équivalent Coumarines par gramme (mg EC/g) d'extrait.

2.2.5. Méthode de piégeage du DPPH par spectrophotométrie

La méthode de **Blois (1958)**, reprise par **Kabran et al. (2014)** a été employée pour mesurer l'activité antioxydante des extraits coumariniques [15,16]. Le DPPH est solubilisé dans le MeOH absolu pour obtenir une solution de concentration 0,3 mg/mL. Différentes gammes de concentrations d'extraits secs éthers (1 à 0,01 mg/mL) sont préparées dans le MeOH. Dans des tubes secs et stériles, sont introduits 1 mL d'extrait et 2,5 mL de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance du mélange est ensuite mesurée à 517 nm contre un blanc composé de 1 mL de MeOH pur et 2,5 mL de solution de DPPH. L'acide ascorbique (vitamine C) est le témoin positif de référence. Les pourcentages de réduction (% R) du DPPH sont calculés suivant la formule suivante :

$$\%R = ((A_b - A_e) / A_b) \times 100$$

A_b: absorbance du blanc, **A_e**: absorbance de l'échantillon

Pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % de la concentration de radical DPPH (**CR₅₀**) a été déterminée grâce au logiciel OriginPro 9.1 [17].

2.2.6. Analyse statistique

Les mesures expérimentales ont été effectuées en triple et les résultats exprimés en moyennes plus ou moins les écarts types (Moyenne ± SD). Une analyse de la variance à un facteur (ANOVA ONE WAY) a été effectuée à l'aide du logiciel OriginPro 9.1. La différence entre les moyennes a été considérée significative au seuil de 5%. Dans le cas où elle est significative ($p < 0,05$), les données ont été analysées par le test post-hoc de Tukey.

3. Résultats et Discussion

3.1. Composition phytochimique par CCM de l'extrait éthéré

Le criblage phytochimique réalisé par CCM a révélé en outre, la coprésence de flavonoïdes et des composés anthracéniques (**Tableau I**). L'exploitation des résultats en comparaison des données obtenues de la bibliographie, indiquent que les empreintes majoritairement décelées sont celles de coumarines (**Tableau 1**) [13, 18-20].

Tableau I : Synopsis de la composition phytochimique par CCM de l'extrait éthéré des feuilles de *D.cinerea*

Extraits	R _f : Couleur, Composé possible
DCF	0,08 : J ^{a1,b1,b2,c1e2} , <i>Cou,Flav</i> ; 0,13 : J ^{c1} - B ^{d2} -Jm ^{c2,e2} <i>Cou^{c,d}</i> ; 0,25 : J ^{a1,b1,c1,d1} - Bf ^{a2,b2,c2,d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (7-hydroxycoumarine ou 6,7-dialcoxy)</i> ; 0,38 : J ^{b1} -B ^{b2} , <i>Cou^{a,b} (3,4,5-trethoxypsoralène ou 6-hydroxy-5,7-dimethoxycoumarine)</i> ; 0,42 : J ^{a2} , Bf ^{b2,c2,d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (6-hydroxy-5,7-dimethoxycoumarine)</i> , <i>Flav</i> ; 0,50 : J ^{a1,c1,d1} , Bf ^{a2,b2,c2,d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (7-hydroxycoumarine ou 6,7-dialcoxycoumarine)</i> , <i>Flav</i> ; 0,61 : J ^{e1} -J ^{e2} , <i>Flav</i> ; 0,71 : J ^{c2} -J ^{d2} , <i>Cou^{c,d}</i> ; 0,86 : Or ^{e2} , <i>Flav</i> ; 0,75 : Vi ^{d2} , <i>Anth</i> ; 0,92 : Vi ^{a2} -J ^{b1} -Vi ^{b2} -Bvi ^{c2} , <i>Cou^{a,b,d} (8-hydroxy)</i> .
MLF	0,07 : J ^{a1,b1,c1,d1} , Or ^{a2,c2,d2} , B ^{b2} , <i>Cou^{a,b,c,d}</i> ; 0,12 : Bf ^{a2} , <i>Cou^a</i> ; 0,17 J ^{a1,b1,c1,d1} , Or ^{a2,c2} , Bf ^{b2,d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (6,7,8-trialcoxycoumarine)</i> ; 0,21 : Jm ^{e1} -Jv ^e , <i>Flav</i> ; 0,25 : J ^{a1} - B ^{a2} -Jm ^{b1} - B ^{b2} -J ^{c1} - B ^{c2} - J ^{d1} - B ^{d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (5,7-dialcoxy ou 6,7,8-trialcoxy ou Daph)</i> ; 0,33 : J ^{d1} , Bf ^{a2,b2,c2,d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (7-hydroxycoumarine ou 6,7-dialcoxycoumarine)</i> ; 0,55 : Bf ^{a2,b2,c2,d2} , <i>Cou^{a,b,c,d} (7-hydroxycoumarine ou 6,7-dialcoxycoumarine)</i> ; 0,63 : Or ^{c1,d1} , B ^{a2,b2,c2} <i>Cou^{a,b,c} (5,7-dialcoxycoumarine ou 6,7,8-trialcoxycoumarine)</i> , <i>Flav</i> ; 0,77 : J ^{c2} -J ^{d2} , <i>Cou^{c,d}</i> ; 0,87 : Vi ^{d2} , <i>Anth</i> ; 0,92 : Vi ^{a2} -J ^{b1} -Vi ^{b2} -Bvi ^{c2} , <i>Cou^{a,b,d} (8-hydroxy)</i> .

*B : bleu ; J : jaune ; Br : brun ; V : vert ; Vi : violet ; Bf : bleu-fluorescent ; R : rouge ; G : gris ; Or : orange ; Jm : jaune-marron ; Jv : jaune-vert ; B-V : bleu-vert ; B-Vi : bleu-violacé ; a¹ : Sans révélateur au visible ; a² : Sans révélateur à 366nm ; b¹ : NH₃ au visible ; b² : NH₃ à 365nm ; c¹ : Acétate de plomb basique ((CH₃CO₂)₂ Pb) au visible ; c² : Acétate de plomb basique ((CH₃CO₂)₂ Pb) à 365 nm ; d¹ : KOH au visible ; d² : KOH à 365nm ; e¹ : NEU au visible ; e² : avec NEU à 365 nm ; *Flav* : flavonoïdes ; *Cou* : coumarines ; *Anth* : anthracènes ; *5,7-dialcoxy* : 5,7-dialcoxycoumarines ; *6,7,8-trialcoxy* : 6,7,8-trialcoxycoumarines ; *Daph* : dérivé de la daphnétine ; *7-hydro* : 7-hydroxycoumarines ; *7-hydroxy* : 7-hydroxy-6-alcoxycoumarines ; *8-hydroxy* : 8-hydroxy-5-alcoxypsoralène.

3.2. Composition phytochimique par LC-MS/MS

3.2.1. Extrait des feuilles de *D. cinerea*

Il ressort des données de l'analyse par LC-MS en mode positif que l'extrait éthéré des feuilles de *D. cinerea* renferme plusieurs composés. Les pics 1, 2, 4, 5, 6, 7 et 8 observés correspondent aux coumarines. En effet, les fragmentations des pics 1, 2, 4, 5 et 7 à m/z caractéristiques tendent à confirmer au nombre des coumarines présentes, la coexistence de dérivés coumariniques à savoir respectivement l'auraptène, l'impératorine, la thunberginole, la 8-acétyl-7-méthoxycoumarine, l'acide 4,7,8-trihydroxy-6-méthoxy-2-oxo-chroman-3-carboxylique. Les pics 6 et 7 montrent la présence de l'aleuritine avec un pic moléculaire à m/z 417 [M+H]⁺ et des ions fils à m/z 400 ; 208 ; 196 ; 182 et 168 . **Fozdar et al. (1989)** ont obtenus les fragmentations similaires. Toutefois, l'identification de l'aleuritine à des temps de rétention différents pourrait s'expliquer par la présence dans sa structure moléculaire de centres stéréogènes [21]. En effet, **Etter et al. (2005)**, ont montré que les temps de rétention de la R-méthadone et de la S-méthadone sont respectivement de 4,9 et 6,0 min [22]. Le pic 8 indique la présence de la 5,8-diméthoxychalepense, une furanocoumarine, avec un ion moléculaire à m/z 315 [M+H]⁺ et des fragments fils à m/z 273 [M+H-C₂H₂O]⁺ (rupture du noyau furanique) ; à m/z 244[M+H-C₂H₂O-2CH₃]⁺ ; 228 [M+H-C₂H₂O-2CH₃-H₂O]⁺ (perte d'une molécule d'eau) et 203 [M+H-C₂H₂O-2CH₃-H₂O-CO]⁺.

3.2.2. Extrait des feuilles de *M. lucida*

L'analyse LC-MS en mode positif de l'extrait éthéré des feuilles de *M. lucida* révèle la présence de 24 composés. Dix (10) composés, dont six (6) coumarines (pics 1, 2, 3, 4 et 6) ; trois (3) acides phénoliques (pics 3, 5 et 7) et deux (2) anthocyanes (pics 7 et 8) ont été identifiés. Au nombre des coumarines, neuf (6) ont été identifiées par rapport à la similarité des fragments produits et des longueurs d'ondes UV déjà analysés. Ainsi, les attributions suivantes ont été faites : l'impératorine (pic 1) à m/z 271 [M+H]⁺ ; une coumarine (pics 2 et 10), de formule brute C₁₆H₁₄O₄, à m/z 271 [M+H] ; l'acide 4,7,8-trihydroxy-6-méthoxy-2-oxo-chroman-3-carboxylique (pics 3 et 5) à

m/z 271 $[M+H]^+$; l'auraptène, un éther de coumarine monoterpénique (pics 6), à m/z 299 $[M+H]^+$. Les pics 4 et 9 correspondent aux dérivés de la furanocoumarine, à m/z 271 $[M+H]^+$. L'ion moléculaire de la 2,3,6-trihydroxy-4-méthoxy-2,3-dihydro-7H-furo[3,2-*g*] chromèn-7-one (pic 4) a été observé à m/z 267 $[M+H]^+$, donnant après fragmentation les ions fils à m/z 237 $[M+H-CH_3O]^+$, perte d'un groupement méthoxy à m/z 209 $[M+H-CH_4O-CO]^+$ perte d'une molécule de monoxyde de carbone; 161, 147 et 118 [22].6

3.3. Teneurs en coumarines

Les teneurs en coumarines ont été déterminées à la longueur d'onde d'absorption maximale de 275 nm (λ_{max}) **Figure 1**.

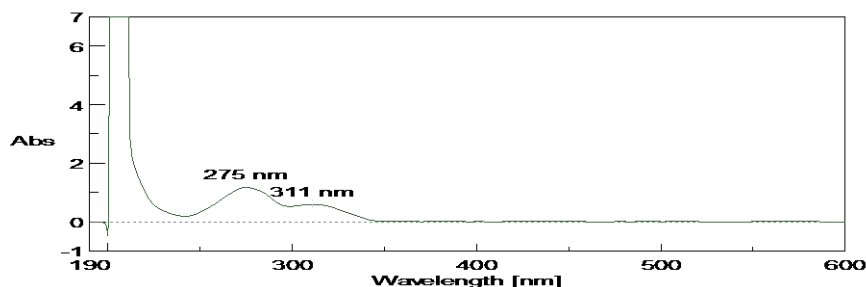


Figure 1 : Longueur d'onde d'absorption maximale de la coumarine

La droite d'étalonnage de la coumarine (**Figure 2**) montre que l'absorbance varie de façon linéaire avec la concentration de la coumarine, avec un coefficient de régression élevé ($R^2 = 0,999$).

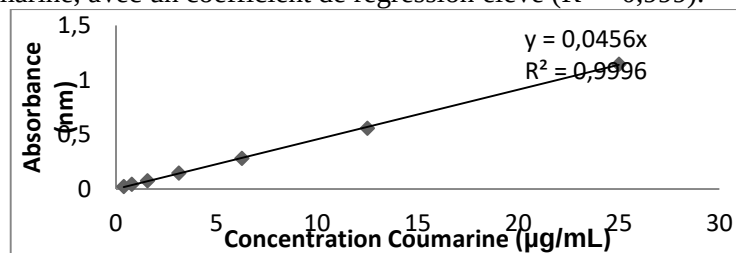


Figure 2 : Droite d'étalonnage de la coumarine

Les résultats (**Tableau 2**) montrent une teneur en coumarines aglycones variable. En effet, *D. cinerea*, avec une teneur de $22,1439 \pm 0,0006$ mg EC/g est l'espèce végétale la plus riche en coumarines. Cette richesse en coumarines observée chez les Fabaceae, représentée par *D. cinerea* a été signalée dans la littérature par [23]. Les organes de plantes qui produisent les coumarines en quantité importante sont ceux exposés aux prédateurs ou aux agents pathogènes [23]. En effet, selon **Wittstock et Gershenzon (2002)** cités par **Audray Dugrand-Judek (2015)**, les parties de plantes fréquemment attaquées, sont généralement protégées par une synthèse constitutive de composés défensifs, tandis que les autres mettent plutôt en place des défenses inductibles [24,25]. Toutefois, la teneur en coumarines d'une plante dépend des conditions environnementales ; et peut subir des variations au cours du temps [23, 26].

Espèce végétale	Organe	Teneur en coumarine (mgEC/g)
		Extrait éthéré
<i>D.cinerea</i> (Fabaceae)	Feuilles	$8,9354 \pm 0,0006$
<i>M.lucida</i> (Rubiaceae)	Feuilles	$11,0068 \pm 0,0004$

Tableau 2 : Teneurs en coumarines des extraits bruts et éthérés

3.4. Potentiel antioxydant par DPPH

Les extraits présentent des pourcentages de réduction du DPPH supérieur à 50% à partir de 0,03 mg/mL, à l'exception de MLF qui commence à piéger (ou réduire) le DPPH à 0,06 mg/ml (**Figure 3**). L'ANOVA appliquée à la moyenne des pourcentages de réduction à 0,25 mg/mL conduit à une valeur de $p < 0,05$. Ainsi, à la concentration de 0,25 mg/mL, DCF avec $94,691\% \pm 0,005$ présente le pourcentage de réduction le plus élevé. Le pourcentage de réduction le plus bas a été observé chez MLF ($87,924 \pm 0,009\%$) à la même concentration. [16].

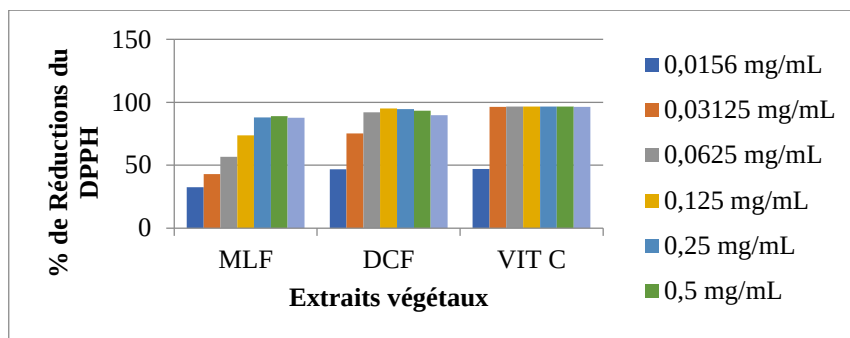


Figure 3 : Synopsis de l'activité antioxydante quantifiée des différents extraits étherés des feuilles

Les concentrations des extraits étherés des feuilles, nécessaires pour réduire 50 % de la concentration de DPPH ont été déterminées graphiquement. Les valeurs de la CR₅₀ déterminées sont consignées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Valeurs des CR₅₀ (mg/mL) des extraits étherés des feuilles

	Extrait		
	DCF	MLF	VIT C
CR ₅₀ (mg/mL)	0,01789±0,3x10 ⁻⁵ %	0,04831±0,3x10 ⁻⁵ %	0,016150±0,3x10 ⁻⁶ %

Au regard des CR₅₀, les plantes d'étude présentent des capacités de réduction du radical DPPH, comparativement à celle de la vitamine C. L'extrait ayant une valeur de CR₅₀ voisines à celle de la vitamine C est l'extrait DCF (0,01789 ± 0,3x10⁻⁵ % mg/mL).

4. Conclusion

Le présent travail a porté sur les études phytochimique et antioxydante des coumarines aglycones extraites des feuilles de *D. cinerea* et de *M. lucida*. Ces plantes ont été choisies selon une approche chimiotaxonomique. Le criblage phytochimique par CCM a mis en évidence la coprésence des coumarines et des flavonoïdes. L'identification des phytocomposés par LC-MS, a révélé la coexistence de coumarines simples, de furanocoumarines, d'isocoumarines et d'acides coumariques. Outre ces métabolites secondaires, nous avons noté la présence de phénylcoumarine, de pyranocoumarine et de bicoumarine. Par ailleurs, des flavonoïdes ont été signalés dans tous les extraits étudiés et un composé anthracénique, révélé uniquement dans l'extrait étheré des feuilles de *D. cinerea*. Les tests de l'activité antiradicalaire par spectrophotométrie a montré que les phytocomposés identifiés dans les extraits étherés étudiés, réduisent le radical DPPH avec un taux de réduction compris entre 32% et 95%.

Références bibliographiques

- [1] Migdal C., Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences* ; 27 : 405-412.
- [2] Kabran G. R. M., Tano M. B., Mamyrbékova- Békro J. A., Békro Y-A. (2021). Phytochemical study and evaluation of antioxidant power of selective tannic extracts of three medicinal plants of ivoirian flora. *American. Journal of. PharmTech Research* : 11(2): 2249-3387
- [3] Kostova I. (2006). Synthetic and Natural Coumarins as Antioxidants. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*; 6: 365-74.
- [4] Lü J-M, Lin PH, Yao Q, Chen C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* : 14: 840-60.
- [5] Kostova I. (2007). Studying plant derived coumarins for their pharmacological and therapeutic properties as potential anticancer drugs. *Expert Opinion on Drug Discovery*; 2: 1605-18.
- [6] Dugrand A., Olry A., Duval T., Hehn A., Froelicher Y., Bourgaud F. (2013). Coumarin and furanocoumarin quantitation in citrus peel via Ultra performance Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry (UPLC-MS). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*: 61 (45), 10677– 10684.
- [7] Bruneton J. (2016). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 5^{ème} édition. Lavoisier Tec & Doc. Paris, 1487 p.
- [8] Lacy A., O'Kennedy R. (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current. Pharm. Des.*, 10, 3797–3811.
- [9] Tra Bi F. H., Irié G. M., N'gaman K. C. C., Mohou C. H. B. (2008). Etudes de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux pathologies émergentes en Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*: 39-48.

- [10] Irié-N'guessan A. G. (2013). Rôle des ions potassium et de l'épithélium dans la relaxation du muscle lisse trachéal: application à la propriété antispasmodique de cinq plantes antiasthmiques issues de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan : 193 p.
- [11] Grinkevitch N. I., Safronitch L. N., (1993). Analyse chimique des plantes médicinales. *Vischayachkola, Moscou Russie*: 175 p.
- [12] Békro Y. A., Mamyrbekova-Békro J. A., Boua B. B., Tra Bi F. H., Ehilé E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences et Nature* : 4 (2), 217-225.
- [13] Cazes J. (2010). Coumarins: TLC Analysis. Encyclopedia of Chromatography, Third Edition. CRC Press, Telor & Francis Group, London-New York: 511-513.
- [14] Anuj M., Ashok K., Vipin S., Sarita S., Sharad K., Yogesh C. Y. (2012). Analytical method development of nutraceutical: umbelliferone. *Pharma Science Monitor*: 3 (1), 67-73.
- [15] Blois M. (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199 -1200.
- [16] Kabran G., R., M. (2014). Etude chimique et cytotoxique de dix plantes de Côte d'Ivoire, utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein. Thèse de doctorat, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire : 265 p.
- [17] Etekpó S. D., N'Gaman-Kouassi C. C., Mamyrbekova-Békro J. A., Békro Y-A. (2018). Antioxidant profiles of alcoholic tinctures from *heterotis rotundifolia* (sm.) Jacq.-fél. (melastomaceae) by dpph radical trapping. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, Volume 5, Issue 10, 39-45.
- [18] Ladiguina E. Y., Safronitch L. N., Otrichenkova V. E., Balandina I. A., Grinkevitch N. I. (1983). Analyse chimique des plantes médicinales. Edition Moskva, Vischaya, Schkola, 347 p.
- [19] Wagner H et Bladt S. (1996). Plant drug analysis in thin layer chromatography, Springer Verlag Berlin EdAtlas 2nd edition: 384 p.
- [20] Dekker M. (2003). Semiconductor photochemistry and photophysics. *Molecular and Supramolecular Photochemistry, New York*: 361 p.
- [21] Fozdar B. I., Khan S. A., Shamsuddin T., Shamsuddin K. M., Kintzinger J. P. (1989). Aleuritin, a coumarinolignoid, and a coumarin from *Aleurites fordii*. *Phytochemistry*: 28 (9), 2459-2461.
- [22] Etter M. L., George S., Graybiel K., Eichhorst J., Lehotay D.C. (2005). Determination of free and protein-bound methadone and its major metabolite EDDP: Enantiomeric separation and quantitation by LC/MS/MS. *Clinical Biochemistry*: 38, 1095–1102.
- [23] Venugopala K. N., Rashmi V., Odhav B. (2013). Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Research International*: 1-14.

Etudes chimique et biologique de *Ficus exasperata*

Didier G. Mouho^{1,*}, Andreia P. Oliveira², Charles Guillaume Kodjo³, Patrícia Valentão², Angel Gil-Izquierdo⁴, Paula B. Andrade^{2,**}, Zana Adama Ouattara³, Yves-Alain Bekro³, Federico Ferreres^{4,***}

¹ UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, Korhogo, BP 1328, Korhogo, Côte d'Ivoire.

² REQUIMTE/LAQV, Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Química, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, R. Jorge Viterb Ferreira, n° 228, 4050-313 Porto, Portugal

³ Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBONS/www.labcbosn.com), UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 B.P. 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire

⁴ Research Group on Quality, Safety and Bioactivity of Plant Foods, Department of Food Science and Technology, CEBAS (CSIC), P.O. Box 164, 30100, Campus University Espinardo, Murcia, Spain
E-mail addresses: * mouhod@yahoo.fr

Résumé

Ficus exasperata est un arbre tropical utilisé en médecine traditionnelle [1;2]. Malgré l'existence de quelques travaux sur les activités biologiques de cette espèce, sa composition chimique est encore mal connue [3]. Le but de ce travail était d'étendre les connaissances sur la phytochimie et les propriétés biologiques de cette variété. Les extraits aqueux des feuilles et écorces de tiges ont été analysés par HPLC–DAD–ESI/MSⁿ et UPLC–ESI–QTOFMS. L'évaluation du potentiel antioxydant vis-à-vis des radicaux libres (DPPH, oxyde nitrique et anion superoxyde), l'évaluation des activités antidiabétiques sur l'inhibition des enzymes α -amylase et α -glucosidase et enfin la viabilité sur les cellules gastriques cancéreuses humaines (AGS) ont été réalisées par spectrophotométrie. 31 composés phénoliques, comprenant des dérivés des acide cinnamoyle, flavonoïde-O-glycoside, flavonoïdemono-C-glycoside, flavonoïde-di-C-glycoside et une furanocoumarine uniquement dans les écorces de branches ont été déterminés. Parmi lesquels 26 sont signalés pour la première fois chez cette espèce. Les feuilles ont montré une activité antioxydante significative avec des CE₅₀ proche de la quercétine-3-O-rutinoside utilisée comme contrôle positif. Cependant, on note une faible activité sur l' α -amylase et aucune cytotoxicité sur les AGS. En définitive, cette étude contribue à la valorisation de *F. exasperata* qui pourrait servir d'aliment de base pour le bétail [3].

Mots clés : *Ficus exasperata* Vahl, Composition chimique, Antioxydant et Cytotoxicité

Chemical and biological studies of *Ficus exasperata*

Abstract

Ficus exasperata is a tropical tree used in traditional medicine [1-2]. Despite the existence of some work on the biological activities of this species, its chemical composition is still poorly known. The aim of this work was to extend the knowledge of the phytochemistry and biological properties of this variety. The aqueous extracts of leaves and stem barks were analyzed by HPLC–DAD–ESI/MSⁿ and UPLC–ESI–QTOF–MS. The evaluation of the antioxidant potential against free radicals (DPPH, nitric oxide and superoxide anion), the evaluation of the antidiabetic activities on the inhibition of the enzymes α -amylase and α -glucosidase and finally the viability on the cells human gastric cancers (AGS) were performed spectrophotometrically. 31 phenolic compounds, including derivatives of cinnamoyl acids, flavonoid-O-glycoside, flavonoid-mono-C-glycoside, flavonoid-di-C-glycoside and a furanocoumarin only in stem barks were determined. Among which 26 are reported for the first time in this species. The leaves showed significant antioxidant activity with EC₅₀ close to quercetin-3-O-rutinoside used as a positive control. However, there is low activity on α -amylase and no cytotoxicity on AGS. Ultimately, this study contributes to the valorization of *F. exasperata* which could serve as a staple food for livestock [3].

Keywords : *Ficus exasperata* Vahl, Chemical composition, Antioxidant and Cytotoxicity

1. Introduction

L'utilisation de matériaux d'origine végétale dans plusieurs compléments alimentaires et produits pharmaceutiques a augmentée ces dernières années. Les molécules bioactives ont reçu une attention accrue en raison de leur importance considérable dans la prévention et la gestion des maladies tant chez les hommes que chez les animaux [4-6]. La caractérisation chimique des plantes utilisées en médecine traditionnelle est essentielle pour rechercher de nouvelles alternatives pour les industries alimentaires et pharmaceutiques [4]. Par ailleurs certaines de ces plantes dite médicinales sont consommées par les herbivores sauvages tels les antilopes et les éléphants. C'est l'exemple de *Ficus exasperata*, cette espèce ligneuse fourragère connue pour ces nombreuses vertus thérapeutiques est également très appréciée par les ovins et les caprins. Selon la littérature les éleveurs utilisent cette plante dans le traitement des troubles gastro-intestinaux des petits ruminants [7;8]. Cette espèce qui est rependue sur le territoire ivoirien reste une alternative peu onéreuse de par ses propriétés médicinales et fourragères pour l'élevage [2 ; 3]. Cependant, des investigations chimique et biologique de cette

espèce pour corroborer ses utilisations est d'un intérêt capital. C'est dans ce cadre que se situe l'objectif de ce travail qui était d'étendre les connaissances sur la phytochimie et les propriétés biologiques de *F. exasperata*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les feuilles et écorces de branche de *F. exasperata* ont été récoltées à Bingerville en juillet 2016. La plante a été identifiée par le Dr Vangha Madeleine du Laboratoire de Physiologie et Botanique de l'Université Nangui Abrogoua. Les échantillons ont été collectés dans des sacs en plastique stériles et immédiatement transportés au laboratoire, lavés à l'eau courante et déshydratés à 20°C pendant 20 jours, à l'abri de la lumière du soleil. Le matériel végétal a ensuite été réduit en poudre et passé à travers un tamis d'un diamètre inférieur à 910 µm.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction

5 g de chaque de poudre de chaque échantillon ont été bouillis pendant 30 minutes dans 500 ml d'eau distillée. Les extraits obtenus ont été filtrés à l'aide d'un entonnoir Büchner puis lyophilisés. Les extraits lyophilisés ont été conservés dans un dessiccateur, à l'obscurité, jusqu'aux analyses. 2.2.2. **Analyse qualitative HPLC – DAD – ESI/MSⁿ**

Les analyses chromatographiques ont été réalisées avec une colonne Kinetex (5 µm, C18, 100 Å, 150 x 4,6 mm ; Phenomenex, Macclesfield, UK), avec quelques modifications [9]. La phase mobile était constituée de deux solvants : de l'acide hydroformique (1 %) (A) et de l'acétonitrile (B), en commençant par une bande de 10 % en utilisant un gradient pour obtenir 30 % de B à 30 min, 60 % de B à 35 min.

2.2.3. Analyse qualitative UPLC – ESI – QTOF – MS

La détermination de la masse exacte des pics observés a été réalisée à l'aide d'un système UPLC-ESI-QTOF -MS. 1 µL d'échantillon a été injecté en phase inverse. La phase mobile utilisée était un mélange d'eau acidifiée (acide formique à 0,1 %) (Phase A) et d'acétonitrile acidifié (acide formique à 0,1 %) (Phase B), à un débit de 0,5 mL/min. Les composés ont été séparés en utilisant les conditions de gradient suivantes : 10 % de B à 0 min pour obtenir 30 % de B à 10 min et 50 % de B à 11 min. Le système MS fonctionnait en mode d'ionisation négative, avec la plage de masse réglée entre 50 et 1 100 m/z en mode de résolution de balayage complet [10].

2.2.6 Potentialité biologique in vitro

2.2.6.1. Activité antioxydante

2.2.6.1.1. DPPH[•]

L'activité antiradicalaire a été évaluée par spectrophotométrie, selon une procédure décrite par Oliveira [11]. Les pourcentages d'inhibition (% I) sont calculés par Excel par l'expression suivante : $\% I = [100 - (At - Ab) * 100 / (Ac - Ab)]$

At : Absorbance test (extrait+ DPPH[•]) ; Ab : absorbance du blanc (extrait + méthanol) ; Ac : absorbance du contrôle (méthanol + DPPH[•]).

2.2.6.1.2. Radical oxyde nitrique (NO)

L'activité de piégeage du radical oxyde nitrique a été évaluée en utilisant la méthode décrite par Oliveira [11]. Les pourcentages d'inhibitions (% I) sont calculés par Excel par l'expression suivante :

$$\% I = [100 - (At - Ab) * 100 / (Ac - Ab)]$$

At : Absorbance test (Extrait+ SNP + Griess) ; Ab : absorbance du blanc (Extrait+ SNP + KH₃PO₄) ; Ac : (KH₂PO₄ + SNP+ Griess).

2.2.6.1.3. Radical anion superoxyde (O₂^{•-})

Cette méthode a été adaptée à partir de celle d'Oliveira et collaborateurs [11]. Les % I sont calculés par Excel par l'expression suivante : $\% I = [100 - (At) * 100 / (Ac)]$

%I : % d'inhibition ; At : Absorbance test (Extrait+ NADH + NBT + PMS) ; Ac : (KH₂PO₄ + NADH + NBT + PMS).

2.2.6.1.4. Peroxydation lipidique.

L'évaluation de l'effet sur la peroxydation des acides gras a été évaluée selon une méthodologie décrite précédemment par Ferreres [12]. Les pourcentages d'inhibitions (% I) sont calculés par Excel par l'expression suivante :

$$\% I = [100 - (At - Ab) * 100 / (Ac - Ab)]$$

At : Absorbance test (Extrait+ Tris-HCl + acide linoléique + FeSO₄+ Vit C+ éthanol-éther) ; Ac : absorbance du contrôle (Tris-HCl + acide linoléique + FeSO₄+ Vit C + éthanol-éther) ; Ab : absorbance du blanc (Extrait+ Tris-HCl + éthanol + FeSO₄+ Vit C + éthanol-éther).

2.2.7. Activité antidiabétique

2.2.7.1. Inhibition de l' α -amylase.

L'évaluation de la capacité à inhiber l' α -glucosidase a été déterminée, par spectrophotomètre, selon une méthode décrite par Figueiredo-González et collaborateurs [13]. Les pourcentages d'inhibitions (% I) sont calculés par Excel par l'expression suivante :

$$\% I = [(Ac - At) * 100 / Ac]$$

At : Absorbance test (Extrait+ Amidon + α -amylase + DNS) ; Ab : absorbance du blanc (Extrait+ Amidon + tampon + DNS) Ac : absorbance du contrôle (KH₂PO₄+ Amidon+ α -amylase + DNS).

2.2.7.2. Inhibition de l' α -glucosidase.

L'inhibition de l' α -amylase a été évaluée selon la procédure décrite précédemment par Figueiredo [13]. Les pourcentages d'inhibitions (% I) sont calculés par Excel par l'expression suivante :

$$\% I = [(AC10 - AC0) - (AT10 - AT0)] * 100 / (AC10 - AC0)$$

AT10 : Absorbance test deuxième lecture ; AT0 : absorbance test première lecture (Extrait+ PNP-G + α -glucosidase) ; AC10 : absorbance du contrôle deuxième lecture ; AC0 : absorbance contrôle première lecture (blanc) (K₂PO₄ + PNP-G + α -glucosidase).

2.2.8. Cytotoxicité des cellules AGS

2.2.8.1. Culture cellulaire

Les cellules AGS de culture cellulaire provenaient de l'American Type Culture Collection. Les cellules ont été cultivées dans du DMEM additionné de 10 % de FBS et de 1 % de pénicilline/streptomycine, et incubées à 37°C. Dans une atmosphère humidifiée à 5% de CO₂. Par la suite, elles ont étéensemencées dans des plaques de 96 puits à une densité de 15 000 cellules/puits. Après 24 heures, différentes concentrations des deux extraits aqueux dissous dans le milieu ont été ajoutées et les plaques ont été incubées pendant 24 heures supplémentaires.

2.2.8.2. Viabilité cellulaire

L'activité métabolique des cellules a ensuite été évaluée par leur capacité à réduire le MTT en formazan. Pour cela, du MTT (concentration finale 0,5 mg/mL) a été ajouté à chaque puits et la plaque a été incubée pendant 90 minutes à 37°C. Le formazan a été dissous par ajout d'un mélange DMSO/isopropanol (3:1) et quantifié par spectrophotométrie à 560 nm. Les résultats correspondent à la moyenne de quatre expériences indépendantes réalisées en triple et sont exprimés en pourcentage par rapport aux cellules témoins. Le pourcentage de viabilité cellulaire est calculé par l'expression suivante : **% de viabilité cellulaire = [(AT/AC)]*100** avec, AT : Absorbance des cellules traitées par l'extrait ; AC : Absorbance du contrôle (cellules non traitées)

2.2.9. Analyses statistiques

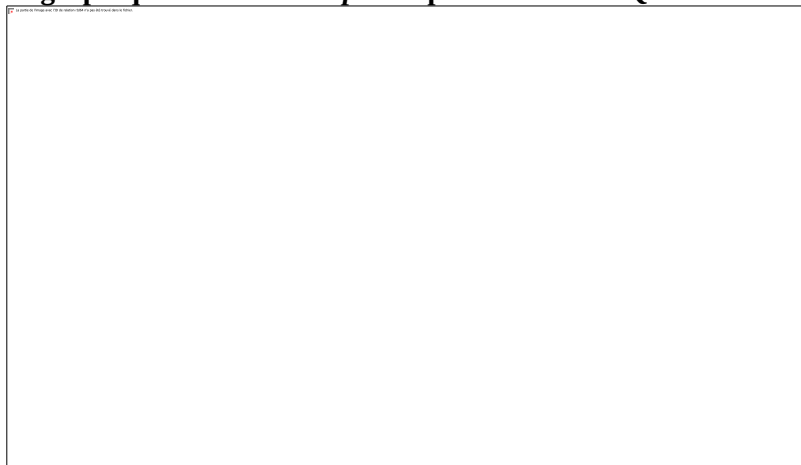
L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism 6. Les valeurs p inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement des extractions

Les extractions des feuilles et d'écorce des branches avaient respectivement pour rendement 27,52 et 14,80 %.

3.2. Profil chromatographique de *Ficus exasperata* par CLUP-ESI-QTOF-SM



AU : arbitrary unit ; min : minute ; UV : ultra-violet

Temps

Figure 1 : Chromatogrammes des extraits de feuilles et d'écorces de branches de *Ficus exasperata*

3.2.1. Dérivés cinnamoyle

Les composés **1-3**, **6-8** et **18** ont des spectres UV avec des allures comparables à ceux des dérivés cinnamoyle dont les bandes d'absorption sont autour de 297sh, 327 nm. Les différentes fragmentations qui ont permis d'élucider la structure sont consignées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Données caractéristiques des dérivées cinnamoyle issues des organes de *Ficus exasperata*.

1	Ac 3-Caf-Quin	3,2	296sh, 326	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353,0881	191(100), 179(40)
2	Ac 4-Caf-Quin	5,0	296sh, 326	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353,0881	191(60), 179(50), 173(100)
3	Ac 5-Caf-Quin	5,2	296sh, 326	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353,0881	191(100), 179(5)
6	Ac Fer-Sinp	6,9	298sh, 328	C ₂₁ H ₂₀ O ₈	399,0940	223(55), 205(100)
7	Dim Ac Caf-Mal	7,1	---	C ₂₆ H ₂₄ O ₁₆	591,0994	475(100) ^b , 359(40), 179(10)
8	Dim Ac Caf-Mal	8,1	298sh, 328	C ₂₆ H ₂₄ O ₁₆	591,0994	475(3), 359(6), 295(100) ^c , 179(25)
18	Dim Ac Fer-Mal	13,2	298sh, 326	C ₂₈ H ₂₈ O ₁₆	619,1303	327(60), 309(100) ^d , 193(20)

Tr : Temps de rétention ; UV: lumière ultraviolet ; M: Formule moléculaire et SM: première fragmentation et SM²: deuxième fragmentation ; ^a Ac 3-Caf-Quin: acide-3-O-Caféoyllequinique; Ac4-Caf-Quin: acide-4-O-Caféoyllequinique; Ac 5-Caf-Quin: acide-5-O-Caféoyllequinique; Caf: acide caffeylle; Ac Quin: acide quinique; Fer: ferulylle; Ac Sinp: acide sinapique; Ac Mal ac: acide malique; Dim: dimère. ^b Composé 7: SM³(475): 359(20), 179(100). ^c Composé 8: SM³(295): 179(70, -116), 133(100). ^d Composé 18 : SM³(309): 193(100,-116).

3.2.2. Flavonoïdes

3.2.2.1. Flavonoïdes-O-glycosides

Les pics **4**, **19**, **20**, **22**, **25**, **26**, **29** et **30** de la **Figure 1 (A et B)** présentent des spectres UV dont les bandes d'absorption sont comparables à ceux des flavonoïdes O-glycosides (λ UV $\approx$ 255, 266sh, 296sh, 354 nm). Le processus le plus souvent observé lors de la fragmentation des O-glycosides flavonoïdes est le clivage des liaisons O-C conduisant à la formation des ions $[M \pm H]^{+/-}$ comme principaux ions produits ; ce qui indique la présence de liaisons glycosidiques à un groupe hydroxyle phénolique. Dans ce cas, à la fois dans les modes négatif et positif, les ions $[M - 162 \pm H]^{+/-}$, $[M - 146 \pm H]^{+/-}$ et $[M - 132 \pm H]^{+/-}$ indiquent respectivement la perte d'un O-hexose, O-désoxyhexose (rhamnose) et O-pentose.

Tableau 2 : Données caractéristiques des flavonoïdes-O-glycosides issues des organes de *Ficus exasperata*.

Composés ^a	Tr (min)	UV (nm)	Formule (M)	[M-H] ⁻ , m/z	SM ² [M-H] ⁻ , m/z (%)		
					-162		[Ag-H]
4 Qct-3,7-di-Hex	6,1	---	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625,1408	463(100)		301(65)
19 Qct-3-(6-Rh)Gluc	13,9	255, 267sh, 350	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1458			301(100)
20 Qct-3-Gluc	14,3	256, 266sh, 296sh, 354	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,0882			301(100)
22 Kpf-3-(2-Rh)Hex	15,2	---	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,1510	447(40)	-146	429(20) 285(100)
					-44		
25 Qct-3-(6-Mln)Hex	16,0	256, 266sh, 300sh, 354	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	549,0885		505(100) ^b	
26 Qct-3-Hex-7-KRh	16,3	---	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₆	607,1306			463(100)
29 Kpf-3-Hex	17,3	266, 352	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447,0932			285(100)
30 Apg-7-(6-Rh)Hex	18,2	268, 336	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577,1560			269(100)

Tr : Temps de rétention ; UV: lumière ultraviolette ; M: Formule moléculaire et SM: première fragmentation et SM²: deuxième fragmentation ; **a** Qct: quercétine; Kpf: kaempférol; Apg: apigénine; Lut: lutéoline; Hex: hexoside; Gluc: Glucoside; Rh: rhamnoside; KRh: ketorhamnoside. . **b** 25 SM3(505): 463(15), 301(100).

3.2.2.2. Flavonoïdes-mono-C-glycosides

Les flavonoïdes-C-glycosides ne sont pas enclin à l'hydrolyse acide et leur fragmentation SM ne donne pas naissance à l'ion aglycone déprotoné. Dans la fragmentation SM des mono-C-glycosides, nous observons les ions [aglycone +71/+41]⁻ caractéristiques de leur nature (**Tableau 3**). Les composés **16**, **21**, **23**, **27** et **28** de la **Figure 1 (A et B)** présentent des données et des spectres UV dont les bandes d'absorption sont comparables à ceux des flavonoïdes mono-C-glycosides.

Tableau 3 : Données caractéristiques des flavonoïdes-mono-C-glycosides issues des organes de *F. exasperata*.

Composés ^a	Tr (min)	UV (nm)	Formule (M)	[M-H] ⁻ , m/z	SM ² [M-H] ⁻ , m/z (%)			
					-144	-(144+18)	[Ag+71] ⁻	
16 Apg-8-C-Gluc	12,4	270, 336	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431,0985			341(10)	311(100) [Ag+41]
21 Lut-8-C-(3/4-KRh)Hx	14,5	---	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₅	591,1353	447(55)	429(10)	357(100)	327(80)
23 Apg-7-O-KRh-8-CHx	15,3	---	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₄	575,1406	431(100) ^b			311(5)
27 Apg-7-O-16,4-KRh-8-CHx	---	---	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₄	575,1408	431(100) ^b		341(2)	311(10)
28 Apg-8-C-16,8(3/4-KRh)Hx	268, 338	---	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₄	575,1408	431(100) ^b	413(5)	341(60)	311(60)

Tr : Temps de rétention ; UV: lumière ultraviolet ; M: Formule moléculaire et SM: première fragmentation et SM²: deuxième fragmentation ; ^a Apg: apigénine; Lut: lutéoline; Hex: hexoside; Gluc: Glucoside; KRh: ketorhamnoside.
^b 23 MS³(431): 341(5), 311(100); 27 MS³(431): 341(10), 311(100); 28 SM³(431): 341(13), 311(100).

3.2.2.3. Flavonoïdes-di-C-glycosides

Les composés **5**, **9-15**, **17** et **24** de la **Figure 1 (A et B)** présentent des données et des spectres UV dont les bandes d'absorption sont comparables à ceux des flavonoïdes di-C-glycosides. La fragmentation SM de ces derniers donne des masses des ions caractérisées par les aglycones [aglycone +113/+83]⁻.

3.3. Activités antioxydantes

Les deux organes de *Ficus* ont montré une grande capacité à piéger le radical DPPH. Ils ont largement surpassé le témoin. Les écorces de branches de *Ficus* et la quercétine-3-O-rutinoside utilisée comme témoin présentent une activité quasi identique à piéger le radical oxyde nitrique. Cependant, les feuilles de *Ficus* ont montré un résultat légèrement au-dessus du témoin (tableau 4).

Tableaux 4 : Valeurs des CE₅₀ de l'activité antioxydante de *Ficus exasperata*

Activité antioxydante	<i>F. exasperata</i> ^a		
	Témoin	CE ₅₀ (µg/mL)	
		Feuilles	Écorces de branches
DPPH•	2364,00 ± 106,96 ^b	222,50 ± 8,00***	621,10 ± 38,98
•NO	575,00 ± 27,93 ^b	510,00 ± 77,47**	866,00 ± 32,36
O2•-	26,00 ± 4,73 ^b	50,00 ± 3,00***	561,00 ± 51,78
Peroxydation lipidique	66,29 ± 3,13 ^c	1241,92 ± 56,72	1342,07 ± 57,72

CE₅₀ : concentration efficace d'antioxydant pour inhiber de 50% les radicaux libres ou la peroxydation des lipides

^a les résultats sont exprimés en µg d'extrait / mL comme moyenne ± Ecartype de trois déterminations; ^b Valeur obtenue pour la quercétine-3-O-rutinoside, ^c valeur obtenue pour la quercétine. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, par rapport aux extraits aqueux des feuilles et écorces de branches

La capacité antioxydante des organes de *Ficus* contre le O₂•⁻ est faible comparativement à celle de la quercétine-3-O-rutinoside. Les extraits aqueux de *F. exasperata* ont montré une incapacité à inhiber la peroxydation des lipides car les valeurs des CE₅₀ sont très éloignées de celle de la quercétine utilisée comme témoin. Le test contre la peroxydation lipidique a eu lieu dans un système lipophile or les extraits aqueux ont des composants ayant des caractéristiques hydrophiles, ce fait pourrait expliquer leur faible capacité antioxydante par rapport au témoin. L'activité antioxydante des extraits de feuilles et des écorces de branches de *F. exasperata* pourrait résulter de la synergie des divers composés qui s'y trouvent. Les composés phénoliques devraient contribuer au potentiel antioxydant. En effet, les acides hydroxycinnamiques (**1-3**, **6-8** et **18**), les dérivés de quercétine (**4**, **19**, **20**, **25** et **26**), les dérivés de kaempférol (**22** et **29**) et les dérivés d'apigénine (**5**, **9-17**, **21** et **28**) sont largement connus pour avoir un potentiel antioxydant [**14-16**]. Ainsi, la plus forte capacité des feuilles pourrait être partiellement attribuée à des quantités plus élevées d'acide hydroxycinnamique dans ce matériel végétal. Les acides hydroxycinnamiques sont des composés ayant un potentiel antioxydant remarquable en raison de leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène [**17** ; **18**]. La présence de groupes hydroxyles sur le cycle benzénique et la double liaison dans la chaîne latérale éthylénique (**Figure 3**) qui est capable de stabiliser le radical phénoxy ou offre un site supplémentaire de réaction avec des espèces réactives, semblent être des caractéristiques structurales essentielles pour le potentiel antioxydant de l'acide hydroxycinnamique [**16**].



Figure 3: acide para-4-hydroxycinnamique

Les flavonoïdes sont connus comme antioxydants et il est bien établi que leur activité est corrélée au nombre de groupes hydroxyles et méthoxyles ainsi qu'à la glycosylation autour du squelette flavonoïde. Les molécules à substitution ortho-dihydroxyle (R₂ = OH) tels que les dérivés de la quercétine et de la lutéoline sont plus actifs que les dérivés de l'apigénine et du kaempférol dépourvus de cette substitution (**Figure 4**) [**15**]. Aussi, la présence

d'un groupe hydroxyle en C5, d'une double liaison entre C2 et C3, d'un hydroxyle en C3 ($R_1 = OH$) et du groupe oxo en C4 (**Figure 3**) augmente la résonance et contribue à son potentiel de piégeage [19]. Bien que les principaux flavonoïdes identifiés soient des dérivés de l'apigénine, un effet synergique entre les différents flavonoïdes et / ou entre les flavonoïdes et d'autres composés pourrait expliquer l'activité observée.

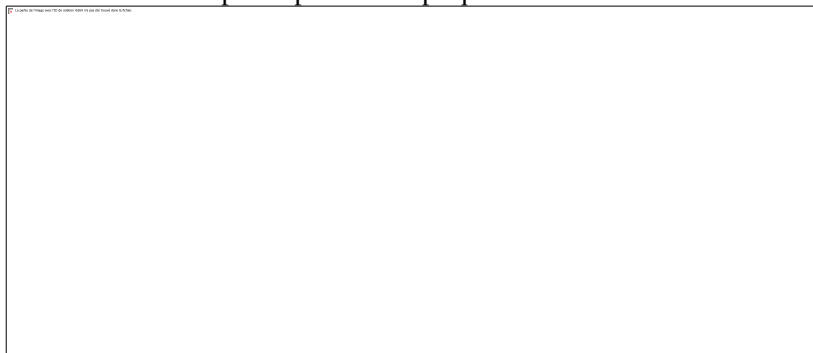


Figure 4: Structures des quelques dérivées de flavonoïdes

3.4. Activité antidiabétique

Les feuilles et écorces de branches de *F. exasperata* ont montré une capacité à inhiber l' α -amylase très inférieure à celle de l'acarbose utilisé comme témoin. Nous n'avons observé aucun effet sur l' α -glucosidase aux concentrations comprises entre 500 $\mu\text{g/mL}$ et 4000 $\mu\text{g/mL}$ (Tableau 5).

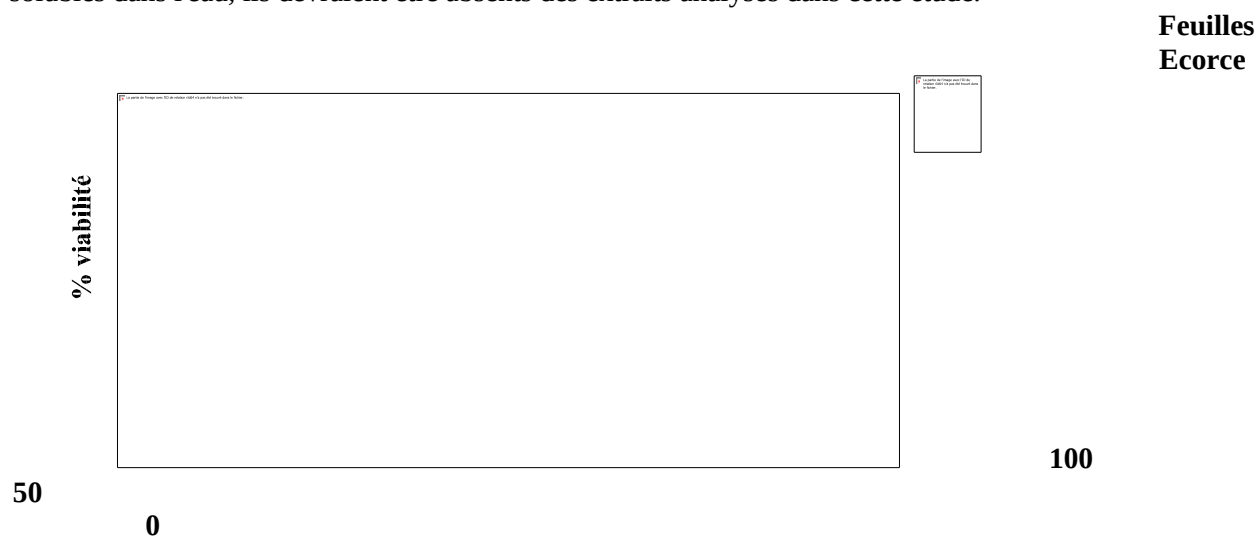
Tableau 5 : Valeurs des CE₅₀ des enzymes α -amylase et α -glucosidase de *Ficus exasperata*

		<i>F. exasperata</i> CE ₅₀ (µg/mL)	
	Contrôle positif	Feuilles	Écorces de branches
α-Amylase	1,40 ± 0,10 ^a	2069,00 ± 77,20 [*]	2518,00 ± 134,48
α-Glucosidase	356,00 ± 20,58		

CE₅₀ : concentration efficace d'antioxydant pour inhiber de 50% des enzymes α -amylase et α -glucosidase. ^a valeur obtenue pour l'acarbose. * $p < 0.05$, par rapport aux extraits aqueux des feuilles et écorces de branches.

3.5. Viabilité des cellules cancéreuse gastrique AGS par le test de réduction du MTT

Le potentiel des extraits aqueux des feuilles et écorces de branches de *Ficus exasperata* à inhiber la prolifération de la lignée gastrique cancéreuse (AGS) a été évalué pour la première fois. Ces extraits n'ont pas affecté la viabilité des cellules AGS aux concentrations testées. Une étude récente réalisée par Bafor et ses collaborateurs a décrit le potentiel cytotoxique des extraits acétate d'éthylque et hexanique provenant des feuilles et écorces de *Ficus* sur la lignée de cellules cancéreuses de l'ovaire (A2780) [20]. Ces auteurs ont trouvé une forte activité cytotoxique qui était essentiellement corrélée à la présence d'acides gras. Néanmoins, comme ces composés ne sont pas solubles dans l'eau, ils devraient être absents des extraits analysés dans cette étude.



Contrôle 62,5 125 250 500 1000 [Ficus exasperata] (µg/mL)

Les résultats sont présentés en moyenne $\pm$ erreur-type de la moyenne de quatre expériences, réalisées en triple, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ et **** $p < 0,0001$, par rapport au témoin respectif, F : feuille ; E : écorce.

Figure 4 : Histogramme de cytotoxicité de *Ficus exasperata* sur les cellules AGS

3. Conclusion

Les résultats obtenus ont fourni des informations sur la richesse en composés chimiques de *F. exasperata*. Ainsi, nous avons obtenu pour cette espèce trente et un (31) composés dont vingt-six (26) reportés pour la première fois dans la plante. Les feuilles sont principalement composées de dimère d'acide cafféoylmalique et d'acide fumarique tandis qu'un dérivé du bergaptol et l'acide malique sont les principaux métabolites des écorces de branches. Les tests antioxydants contre les radicaux DPPH, anion superoxyde et oxyde nitrique ont montré que l'extrait aqueux de *F. exasperata* a des activités antioxydantes significatives par rapport au témoin qui est la quercétine-3-Orutinoside. En ce qui concerne l'activité antidiabétique, *F. exasperata* a montré une faible activité sur l'inhibition de l' α -amylase et n'a eu aucun effet sur l'inhibition de l' α -glucosidase. Les tests de viabilité sur des cellules cancéreuses gastriques humaines ont révélé une absence de toxicité à l'égard de ces cellules pour *F. exasperata*. Ces résultats importants sur la composition chimique de *F. exasperata* et l'absence de toxicité des extraits aqueux de ses organes corroborent son utilisation par les populations. Nous envisageons d'une part, faire des tests sur l'hypertension artérielle, la toxicité aigüe et subaiguë (*in vivo*) et d'autre part, proposer *Ficus exasperata* pour la composition d'aliment pour le bétail.

4. Référence bibliographiques

- [1] Lansky E. P., Paavilainen H. M. Traditional herbal medicines for modern times. Figs: the Genus Ficus. New York. CRC Press Taylor & Francis Group, LLC (2011) 357 pp.
- [2] Akah P.A., Orisakwe O.E., Gamaniel K.S., Shittu A. Evaluation of Nigerian traditional medicines: II. Effects of some Nigerian folk remedies on peptic ulcer. Journal of Ethnopharmacology. (1998) 62 (2) ; 123-127.
- [3] Mesmin, K. Y., Kamélé, K. Y., Gervaise, K. A., Jules, K., Adama, B., Honora, T. B. F., & Witabouna, K. M. Activité Anthelminthique In Vitro Et Teneurs En Tanins Et Flavonoïdes De Huit Plantes Fourragères Utilisées En Elevage Des Petits Ruminants En Côte d'Ivoire. European Scientific Journal. (2018) 14(15) ; 1857.
- [4] Llorent-Martínez, E.J. ; Ortega-Barralés, P. ; Zengin, G. ; Mocan, A. ; Simirgiotis, M.J. ; Ceylan, R. ; Uysal, S. ; Aktumsek, A. Evaluation of antioxidant potential, enzyme inhibition activity and phenolic profile of Lathyrus cicera and Lathyrus digitatus: Potential sources of bioactive compounds for the food industry. Food and Chemical Toxicology. (2017) 107 ; 609-619.
- [5] Mocan, A., Zengin, G., Mollica, A., Uysal, A., Gunes, E., Crişan, G., Aktumsek, A. Biological effects and chemical characterization of Iris schachtii Markgr. extracts: a new source of bioactive constituents. Food and Chemical Toxicology. (2017) 112 ; 448-457.
- [6] Wu, S., Li, J., Quanxi, W., Cao, H., Cao, J., Xiao, J. Seasonal dynamics of the phytochemical constituents and bioactivities of extracts from Stenoloma chusanum (L.) Ching. Food and Chemical Toxicology. (2017) 108 ; 458-466.
- [7] Gnahoua G., M., Konan A., Louppe D. Ficus exasperata un arbre fourrager. Cirad. (2003).
- [8] Karhagomba B., Kayembe F., N. Plantes utilisées dans le traitement des helminthoses gastro-intestinales des petits ruminants dans le groupement d'Irhambi-Katana (Région du Bushi, Province du Sud-Kivu, Rép. Dém. du Congo). Recherches africaines. (1998) 1 ; 90-99.
- [9] Ferreres, F., Grosso, C., Gil-Izquierdo, A., Fernandes, A., Valentão, P., Andrade, P.B. Comparing the phenolic profile of Pilocarpus pennatifolius Lem. by HPLC-DADESI/ MSn with respect to authentication and enzyme inhibition potential. Industrial Crops & Products. (2015) 77 ; 391-401.
- [10] Garcia, C.J., García-Villalba, R., Garrido, Y., Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A. Untargeted metabolomics approach using UPLC-ESI-QTOF-MS to explore the metabolome of fresh-cut iceberg lettuce. Metabolomics (2016) 12 ; 138-150.
- [11] Oliveira, A.P., Valentão, P., Pereira, J.A., Silva, B.M., Tavares, F., Andrade, P.B. Ficus carica L.: metabolic and biological screening. Food and Chemical Toxicology (2009) 47 ; 2841-2846.
- [12] Ferreres, F., Lopes, G., Gil-Izquierdo, A., Andrade, P.B., Sousa, C., Mouga, T., Valentão, P. Phlorotannin extracts from Fucales characterized by HPLC-DAD-ESI-MSⁿ: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties. Marine Drugs (2012) 10 ; 2766-2781.

- [13] Figueiredo-González, M., Grosso, C., Valentão, P., Andrade, P.B. α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from *Myrcia* spp.: a stronger alternative to acarbose? *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. (2012) 118 ; 322-327.
- [14] Han J.-T., Bang M.-H., Chun O.-K., Kim D.-O., Lee C.-Y., Baek N.-I. Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. *Archives of Pharmacal Research* (2004) 27 (4) ; 390395.
- [15] Heo H.J., Kim Y.J., Chung D., Kim D.-O. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry* (2007) 104 (1) ; 87–92.
- [16] Razzaghi-Asl N., Garrido J., Khazraei H., Borges F., Firuzi O. Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure- activity relationships. *Current Medicinal Chemistry*. (2013) 20 (36) ; 4436-4450.
- [17] Foley S., Navaratnam S., Mc Garvey D.J., Land E.J., Truscott T.G., Rice-Evans C.A. Singlet oxygen quenching and the redox properties of hydroxycinnamic acids. *Free Radical Biology & Medicine*. (1999) 26 (910) ; 1202-1208.
- [18] Zhang J., Stanley R.A., Adaim A., Melton L.D., Skinner M.A. Free radical scavenging and cytoprotective activities of phenolic antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Research* (2006) 50 (11) ; 996–1005.
- [19] Aruoma O. I. Characterization of drugs as antioxydant prophylactics. *Free Radical Biology and Medicine* (2003b) 20 (5) ; 675-705.
- [20] Bafor E.E., Mckenna J., Rowan E.G., Edrada-Ebel R. Characterisation of the antiproliferative constituents and activity of *Ficus exasperata* (Vahl) on ovarian cancer cells—a preliminary investigation. *Natural Product Research*. (2017) 31 (18) ; 2164–2168.

Détermination de la teneur en composés polyphénoliques et évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles d'*Azelia africana* et de *Kahya senegalensis*, deux ligneux fourragers au Nord de la Côte d'Ivoire

KONE Monon^{1*}, KABLAN Ahmont Landry Claude², Koko Kouakou Konan Henri Joel¹

1-Département de Biochimie-Génétique, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire.

2-Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire.

*Courriel de l'auteur correspondant : konemonon2017@gmail.com

Résumé :

Dans les pays en développement, les plantes sont largement utilisées en élevage traditionnel. La connaissance du potentiel chimique et biologique de ces plantes pourrait permettre de mettre au point des formulations, accessibles aux éleveurs. L'objectif de cette étude est d'évaluer la teneur en composés phytochimiques ainsi que le potentiel antioxydant d'*Azelia africana* et de *Kahya senegalensis*. Les composés phytochimiques ont été extraits par macération des feuilles et dosés par méthode spectrophotométrique. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par les méthodes de FRAP et de DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait de *A. africana* a des teneurs élevées en polyphénols totaux ($242,33 \pm 14,29$ mg EAG/g) et en flavonoïdes totaux ($97,67 \pm 1,15$ mg EQ/g). L'extrait de *K. senegalensis* renferme un maximum de tanins ($59,33 \pm 4,16$ mg EAT/g). Les pouvoirs réducteurs du fer de *A. africana* ($68,16 \pm 0,07$ %) et de *K. senegalensis* ($67,99 \pm 0,07$ %) étaient sensiblement identiques. L'extrait de *A. africana* a montré une forte inhibition du DPPH ($IC_{50} = 2,95 \pm 0,05$ mg/mL) proche de celle de la vitamine C ($IC_{50} = 1,03 \pm 0,40$ mg/mL). *A. africana* et *K. senegalensis* sont riches en composés polyphénoliques ce qui expliquerait leur fort potentiel antioxydant. Ces deux plantes pourraient être utilisées dans la formulation d'aliment pour bétails.

Mots clés : composé polyphénolique ; activité antioxydante ; *Azelia africana* ; élevage traditionnel.

Determination of the content of polyphenolic compounds and evaluation of the antioxidant activity of *Azelia africana* and *Kahya senegalensis*, two woody fodder plants in northern Ivory Coast.

Abstract

In developing countries, plants are widely used in traditional breeding. Knowledge of the chemical and biological potential of these plants could lead to development of formulations accessible to breeders. The aim of this study is to evaluate the content of phytochemical compounds as well as the antioxidant potential of *Azelia africana* and *Kahya senegalensis*. The phytochemical compounds were extracted by spectrophotometric method. The evaluation of antioxidant activity was carried out using the FRAP and DPPH methods. The results showed that *Azelia africana* extract has high contents of total polyphenols ($242,33 \pm 14,29$ mg EAG/g) and total flavonoids ($97,67 \pm 1,15$ mg EQ/g). The extract of *Kahya senegalensis* contains a maximum of tannins ($59,33 \pm 4,16$ mg EAT/g). The iron reducing powers of *Azelia africana* ($68,16 \pm 0,07$ %) and *K. senegalensis* ($67,99 \pm 0,07$ %) were essentially identical. The extract of *Azelia africana* showed strong inhibition of DPPH ($IC_{50} = 2,95 \pm 0,05$ mg/mL) close to that of vitamin C ($IC_{50} = 1,03 \pm 0,40$ mg/mL). *A. africana* and *K. senegalensis* are rich in polyphenolic compounds which would explain their strong antioxidant potential. These two plants could be used in the formulation of livestock feed.

Key words : polyphenolic compound ; antioxidant activity ; *Azelia africana* ; traditional breeding.

1-Introduction

L'élevage urbain et périurbain au Nord de la Côte d'Ivoire, rencontre d'énormes problèmes surtout en saison sèche. A cette période, les éleveurs font face à une pénurie d'eau et de fourrage herbacé pour leurs animaux. La recherche d'espèces fourragères ligneuses devient plus que nécessaire. Le Nord de la Côte d'Ivoire, dispose d'un écosystème riche en espèces fourragères parmi lesquelles, *A. africana* et *K. senegalensis* qui font partie des fourrages ligneux les plus appréciés par le bétail [1]. Ces plantes bien que utilisées en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs pathologies, possèdent des propriétés alimentaires, et vétérinaires qui les rendent indispensables pour le bétail. Elles apportent les protéines, les minéraux et les vitamines nécessaires à l'équilibre alimentaire du bétail [2]. Des études antérieures ont montré que *A. africana* stimule la production du lait chez les vaches laitières [3] alors que *K. senegalensis* est riche en cendre, en fer, en phosphore, en magnésium et en calcium permettant ainsi de maintenir l'animal en bonne santé [4]. Ces espèces peuvent donc être utilisées à plusieurs fins dans l'élevage traditionnel. Les propriétés alimentaires et vétérinaires inhérentes aux plantes de notre étude sont probablement liées à leur composition phytochimique. Plusieurs études ont montré que les feuilles des plantes végétales contiennent des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, des stérols et terpènes, des

coumarines [5]. Les polyphénols, les flavonoïdes, les coumarines par leur activité antioxydante prononcée sont capables de lutter contre certaines pathologies inflammatoires, infectieuses, cancéreuses et cardiovasculaires [6]. La présence de composés polyphénoliques dans les feuilles des plantes pourraient être bénéfique pour le bétail. L'usage des feuilles de *K. senegalensis* et de *A. africana* comme fourrage a été documenté mais leur activité antioxydante reste insuffisamment étudié surtout en ce qui concerne *A. africana*. Cette étude permettra d'actualiser les données existantes et apporter une explication scientifique à l'engouement des éleveurs traditionnels quant à utilisation de ces deux plantes dans l'alimentation du bétail.

2-Matériel et méthodes

2.1-Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Azelia africana* et de *Khaya senegalensis*. Les feuilles ont été récoltées dans le mois de décembre 2023 à Boyo, département de Kouto région de la Bagoué (Côte d'Ivoire). Leur identification a été effectuée au centre national floristique de l'université Felix Houphouët Boigny, Abidjan, (Côte d'Ivoire). Les feuilles ont été séchées à l'abri du soleil à la température ambiante pendant dix (10) jours. Elles ont été ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique et réduites en poudre fine.

2.2-Préparation des extraits totaux

Les extraits ont été préparés à partir de 50 g de poudre végétale fine, soigneusement homogénéisée dans 1,5 L d'eau distillée à l'aide d'un mixer électrique. L'homogénat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu blanc, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Whatman n°3. Le filtrat obtenu a été ensuite concentré à l'étuve de type Med Center Venticel à 50°C pendant trois jours [7].

2.3-Dosage des composés phénoliques

2.3.1-Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux a été déterminée par la méthode décrite par [8] légèrement modifiée. La masse (1g) de chaque extrait a été dissout dans un volume (10 mL) d'eau distillée. Cette solution a été ensuite centrifugée à 3000 tr / 15 min. un volume (1mL) de la solution centrifugée a été diluée dans un volume (10 mL) d'eau distillée. A chaque volume d'extrait (0,5 mL) de concentration 100 µg/mL sont ajoutés respectivement 2,5 mL de Folin-ciocalteu dilués au 1/10 dans l'eau distillée et 2 mL de carbonate de sodium (1M). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 15 minutes. La densité optique est lue au spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc. Une solution d'acide gallique est préparée dans les mêmes conditions que l'extrait. Les teneurs en phénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

2.3.2-Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué suivant la méthode décrite par [9] légèrement modifiée. La masse (1g) de chaque extrait a été préparé dans un volume (10 mL) d'eau distillée. Cette solution a été ensuite centrifugée à 3000 tr / 15 min. un volume (1mL) de la solution centrifugée a été diluée dans un volume (10 mL) d'eau distillée. Un volume de 0,5 mL d'extrait méthanolique à 100 µg/mL est introduit dans un tube à essai. Au contenu du tube sont ajoutés successivement 0,5 mL d'eau distillée, 0,5 mL de chlorure d'aluminium, 0,5 mL d'acétate de potassium et 2 mL d'eau distillée. Le tube est laissé au repos pendant 20 min à l'obscurité et la densité optique est lue à 415 nm contre un blanc. Une solution mère de quercétine est préparée dans les mêmes conditions que l'essai. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont exprimées en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

2.3.3-Dosage des tanins

La masse (1g) de chaque extrait a été préparé dans un volume (10 mL) d'eau distillée. Cette solution a été ensuite centrifugée à 3000 tr / 15 min. un volume (1mL) de la solution centrifugée a été diluée dans un volume (10 mL) d'eau distillée. Dans un tube à essai contenant 0,5 mL de l'extrait, sont ajoutés 2,5 mL d'une solution du réactif à la vanilline phénolique (1%) préparée dans de l'acide sulfurique concentré. Le mélange est incubé durant 30 min et l'absorbance est lue à 500 nm contre un blanc préparé sans extrait [10]. La quantité de tanins est déduite à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide tannique et est exprimée en milligramme d'équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g d'extrait).

2.4-Evaluation de l'activité antioxydante

2.4.1-Mesure du pouvoir réducteur du fer

La mesure du pouvoir réducteur a été réalisée selon la méthode décrite par [11]. Un mL d'extrait de plante ou de vitamine C à différentes concentrations est mélangé séparément avec 2,5 mL de tampon phosphate (0,2 mM; pH 6,6) et de 2,5 mL de ferricyanure de potassium 1 %. Le mélange est incubé au bain marie à 50°C pendant 30 minutes. Après l'ajout de 2,5 mL d'acide trichloracétique 10 %, le milieu réactionnel est centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 minutes. A 2,5 mL du surnageant est ajouté 0,5 mL de chlorure de fer III à 0,1 %. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 700 nm.

2.4.2-Mesure du pouvoir anti-radicalaire

La mesure du pouvoir anti-radicalaire a été réalisée suivant la méthode utilisée par [12]. A partir d'une solution mère d'extrait de plante à 0,1 mg/mL, une gamme de concentration est préparée par double dilution successive. Puis à chaque concentration d'extrait, un même volume de solution méthanolique de DPPH est ajouté. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante (37°C) et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc. Une solution de vitamine C est préparée dans les mêmes conditions. Les pourcentages d'inhibition des radicaux DPPH sont calculés par la formule suivante : % Inhibition = [(ABS blanc – ABS échantillon/ABS blanc)] x 100

2.5-Analyses statistiques

Le tracer du graphique a été réalisé avec logiciel Excel. Les analyses statistiques des résultats ont été effectuées à l'aide du logiciel statistica version 7.1. Le test (LSD) de Fisher a été utilisé pour déterminer les différences significatives entre plusieurs moyennes. La valeur des moyennes est accompagnée de l'erreur standard sur la moyenne (Moyenne ± SEM). Les valeurs de probabilité $P \leq 0,05$ ont été considérées comme significatives.

3-Résultats et discussion

3.1-Teneurs des composés phénoliques

Les résultats des teneurs en composés phénoliques sont consignés dans le **tableau I**. Les plus fortes teneurs ont été obtenues au niveau des polyphénols totaux avec des valeurs allant de $56,94 \pm 0,02$ à $242,7 \pm 13,9$ mg EAG/g d'extrait. Cependant les plus faibles valeurs ont été enregistrées avec les tanins condensés ($24,67 \pm 2,88$ à $29,67 \pm 2,08$ mg EAT/g d'extrait). Les feuilles de *Azelia africana* ont enregistré les plus fortes teneurs en composés polyphénoliques. Une différence significative à $p \leq 0,05$ a été observée entre les teneurs des deux extraits au niveau des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Ces résultats traduisent que les feuilles de *Azelia africana* sont riches en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux que celles de *Kahya senegalensis*. Cela peut s'expliquer par la différence de composition génétique des espèces. Des résultats similaires ont été rapportés par [13]. Ces auteurs ont montré que les feuilles de *Kahya senegalensis* était plus riche en tanins condensés que celles de *Azelia africana*. Plusieurs travaux ont rapporté que l'écorce, les fruits et les feuilles de *Kahya senegalensis* révèlent la présence d'une forte quantité de tanins catéchiques, d'anthocyanes, de leucoanthocyanes, de flavonoïdes, de coumarine, de carbohydrates, de composés réducteurs et de saponines [14]. Des études menées par [5], sur les écorces de *K. senegalensis* ont montré des teneurs plus faibles en phénols totaux ($6,731 \pm 0,018$). Cela signifie que les feuilles de *K. senegalensis* seraient plus riches en composés polyphénoliques que les écorces. La composition des feuilles de *Kahya senegalensis* et de *Azelia africana* en composés phénoliques pourrait expliquer sa forte implication en médecine vétérinaire [15]. Selon ces auteurs, *Kahya senegalensis* serait impliquée à 21% dans la constitution de 86 recettes recensées vétérinaires au Nord-Bénin. Elle traite 23% de maladies et est très sollicitée dans le traitement des helminthoses et des maladies diarrhéiques [16].

Tableau I : Teneur en composés phénoliques des extraits

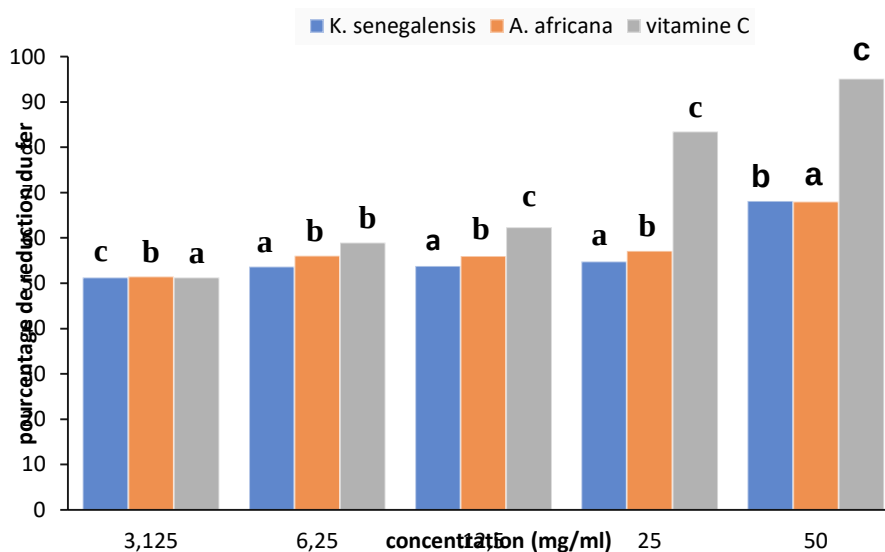
Teneur	Polyphénols totaux mg EAG/g d'extrait	Flavonoïdes totaux mg EQ/g d'extrait	Tanins condensés mg EAT/g d'extrait
<i>Kahya senegalensis</i>	$56,94 \pm 0,02^d$	$34,29 \pm 0,03^b$	$29,67 \pm 2,08^a$
<i>Azelia africana</i>	$242,33 \pm 14,29^e$	$97,67 \pm 1,15^c$	$24,67 \pm 2,88^a$

(a, b, c, d, e) désignent les classes statistiques à la différence significative $p \leq 0,05$ en allant de la teneur la plus faible à la plus forte

3.2-Activité antioxydante des extraits

Les différents pourcentages de réduction du fer par les extraits végétaux et la vitamine C sont représentés par le diagramme de la figure 1. Les pourcentages de réduction augmentent avec la concentration. Les plus grands

pourcentages de réductions $95,11 \pm 0,0\%$; $68,17 \pm 0,07\%$ et $67,99 \pm 0,08\%$ ont été obtenus dans l'ordre avec la vitamine C ; *Kahya senegalensis* et *Afzelia africana* à la concentration la plus grande (50 mg/mL). Tous les extraits ont obtenu des pourcentages d'inhibition supérieurs à 50 % à la plus faible concentration (3,125 mg/mL). L'analyse statistique indique qu'il n'existe pas de différence significative entre les valeurs moyennes des pourcentages de réduction des extraits végétaux et la vitamine C. De même, les valeurs des CI_{50} des deux extraits végétaux sont statistiquement identiques mais supérieures à celle de la molécule de référence (tableau II). Le pouvoir anti radicalaire étant inversement proportionnel à la CI_{50} , plus la valeur de la CI_{50} est faible, plus le pouvoir anti radicalaire est grand [17]. Ces résultats traduisent que ces deux plantes possèdent une activité antiradicalaire modérée et un fort pouvoir réducteur du fer. Ces plantes sont de bons antioxydants. Les teneurs élevées en polyphénols des feuilles pourraient justifier le pouvoir antioxydant des extraits étudiés. Les polyphénols totaux constituent de bons donneurs d'électrons et peuvent par conséquent faciliter la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} [18].



(a, b, c) désignent les classes statistiques à la différence significative $p \leq 0,05$ en allant du pourcentage le plus faible au plus forte

Figure1 : diagramme du pourcentage de réduction du fer ferrique en fer ferreux

Tableau II : Mesure du potentiel antiradicalaire des extraits

	<i>Afzelia africana</i>		<i>Kahya senegalensis</i>	
	Vitamine C	Extrait Aqueux	Vitamine C	Extrait Aqueux
DPPH (CI_{50}) (mg/mL)	$0,96 \pm 0,07^a$	$2,95 \pm 0,05^b$	$0,96 \pm 0,07^a$	$3,36 \pm 0,41^b$

(a, b) désignent les classes statistiques à la différence significative $p \leq 0,05$ en allant de la valeur de CI_{50} la plus faible à la plus forte

4-Conclusion

Les feuilles de *Afzelia africana* et de *Kahya senegalensis* contiennent de fortes teneurs en composés phénoliques. Les feuilles de *A. africana* présentent les meilleures teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Tous les extraits étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH et de réduire le fer ferrique en fer ferreux. Les extraits végétaux possèdent un pourcentage de réduction statistiquement identique à celui de la vitamine C prise comme molécule de référence. Ces extraits sont donc de bons antioxydants. Le pouvoir antioxydant des feuilles de *A. africana* et de *K. senegalensis* est dû à leur forte teneur des composés polyphénoliques. Ces plantes médicinales sont une source fiable de principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques et nutritionnelles. Les feuilles de *K. senegalensis* et de *A. africana* pourraient être utilisés pour traiter diverses pathologies en médecine traditionnelle et vétérinaire, notamment les maladies inflammatoires. Le pouvoir antioxydant des extraits des plantes étudiées pourrait justifier l'utilisation des feuilles de ces plantes par les éleveurs traditionnels dans l'alimentation du bétail surtout en période de saison sèche.

5-Références Bibliographiques

- [1] Silue N, Fofana JI, Silue S, Diarrassouba N, Kouassi AF, Kouako K., "Identification des espèces ligneuses utilisées dans l'alimentation des bovins dans la région du Poro (Nord de la Côte d'Ivoire)," *Agronomie Africaine*, vol. 26, no. 3, pp. 217-229, 2014.
- [2] Le Houerou N. H. (1980). L'inventaire du potentiel fourrager des arbres et arbustes d'une région du sahel malien. Méthodes et premiers résultats. In : les fourrages ligneux en Afrique : Etat actuel des connaissances, Le Houerou H.N. (Eds.), Addis Abeba, CIPEA, 481 p.
- [3] Houehanou T. D. (2006). Gestion pastorale et rôle des ligneux galactogènes épargnés dans les terroirs agricoles, dans la zone périphérique de la Djona (Nord -Est Bénin)," Thèse Ingénieur Agronome, Faculté des Sciences Agronomiques/Université Abomey Calavi, 51 p.
- [4] Kone M., Traore Y. Z., Konan K. F., Toure A., Koko K. K. H. J., Ouattara K. et Coulibaly A. (2019). Phytochimic Study, Antioxidant Activity and Nutritional Interest of Extracts from Leaves of *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (*Meliaceae*) Collected in the Northern Cote d'Ivoire. *Journal of Pharmaceutical Research International*. Vol. 31, no. 6 pp. 2-10.
- [5] Koudoro Y.A., Agbangnan D., Cokou P., Bothon D., Bogninou S.R., Alitonou G.A., Avlessi F. et Koko S.C.D. (2018). Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante à usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23: 441-450.
- [6] Ouattara L. H., Kabran G. R. M., Kadja A. B., Tano M. B., Mamyrbokova-Bekro J. A., et Bekro Y-A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes de Côte d'Ivoire utilisées dans le traitement traditionnel des hémorroïdes, *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 15 (4) : 881-893
- [7] Zirihi G. N., Kra A. K. M., Bahi C. et Guédé-Guina F. (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pirifolia* (Lamarck) o. Kuntze (*Asteraceae*) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue de Médecine et Pharmacopée Africaine*, 17: 11-18.
- [8] Li H. B., Chung K. W., Wong C. C., Fan K. W., Chen F. et Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102 : 771-776.
- [9] Huang D. O. B. et Prior R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- [10] Cleriana G., 2020. Dosage de Tanins condensés libres dans les aliments. HAL Id : hal-02961619 <https://hal.inrae.fr/hal-02961619>.
- [11] Topçu G., Ay M., Bilici A., Sankurkou C., Ozturk M. & Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, 103: 816-822.
- [12] Parejo I., Codina C., Petrakis C. & Kefalas P. (2000). Evaluation of scavenging activity assessed by col (II) EDTA-induced luminal chemiluminescence and DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) free radical assay. *Journal of pharmacology and toxicology methods*, 44: 507-512.
- [14] Takin M., Ahokpè M., Zohoun L., Assou E., Aïvodji N., Agossou E et Sezan A. (2014). Effect of total *Khaya senegalensis* (*Meliaceae*) barks extracts on hepatic liberation of glucose, *National Journal of Physiology, Pharmacy and pharmacology*, 4 :105-110.
- [13] Soulama S., Sanon O. H., Meda T. N. R et Boussim I. J. (2014). Teneurs en tanins de 15 ligneux fourragers du Burkina Faso, *Afrique Science*, 10(4) : 180 – 190
- [15] Dassou H. G., Ogni C. A., Yedomonhan H., Adomou A. C., Tossou M., Dougnon J. T. et Akoegninou A. (2014). Diversité, usages vétérinaires et vulnérabilité des plantes médicinales au Nord-Bénin, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(1) : 189-210,
- [16] Arbonnier M. (2009). *Arbres, Arbustes et Lianes des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest* (3e edn). Ed. Quae, MNHN. Imp. Louis Jean Imprimeur : Paris ; 355.
- [17] Evenamede K. S., Kpegba K. et Idoh. (2017). Comparative study of the toxicity of hydroethanolic Extracts of the Root and stem Barks of *Cassia sieberiana* D.C. on Wistar Rats. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 7 (3) : 47-52.
- [18] Pooja A. et Devang J. P. (2019). A Complete Review on Medicinally Active Herbal Weed : *Commelina benghalensis* L. (*Commelinaceae*). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 11(4) : 1165-1171

Caractérisation chimique des huiles essentielles de *Praxelis clematidea* de Côte d'Ivoire

KOUAO Toffé Alexis¹, KOUAME Bosson Antoine¹, YEO Doferé¹, KADJA Amani Brice¹, MALAN Djah François², MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna¹, BEKRO Yves-Alain¹

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Botanique et Valorisation de la Diversité Végétale Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Résumé : Les huiles essentielles font l'objet d'une énorme consommation dans divers secteurs industriels dont la pharmacie, la parfumerie, la cosmétique, l'agro-alimentaire, ce qui leur confère un caractère économique poussé. Ce travail s'inscrit dans la continuité de nos travaux sur la caractérisation des huiles essentielles des plantes aromatiques de Côte d'Ivoire. Cette étude a porté sur *Praxelis clematidea* L'objectif de cette étude est de déterminer la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de la plante portant les fleurs et celle de la plante sans les fleurs de *Praxelis clematidea*. Les huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation, ont été analysées par CPG-SM. 22 phytocomposés représentant de 89,2 à 89,3% de la composition chimique totale ont été identifiés. Les composés prédominants l'huile sont le germacrène D (19,9-27,8%), l' α -caryophyllène (15,7-19,7%), l' α -pinène (2,2-14,3%), l' α -santalène (11,9-14,4%), le bicyclogermacrène (7,7-10,3%). La teneur du β -caryophyllène (3,3-5,3%) identifié est non négligeable. Cette étude a permis la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de *Praxelis clematidea* de Côte d'Ivoire pour la première fois en Afrique. Une étude de variabilité de la composition chimique sur un grand échantillonnage est envisagée.

Mots-clés : Huile essentielle ; *Praxelis clematidea* ; CPG-SM.

Chemical characterization of essential oils of *Praxelis clematidea* from Côte d'Ivoire

Abstract: Essential oils are used extensively in a variety of industrial sectors various industrial sectors, including pharmaceuticals, perfumery and cosmetics, food industry, making them their economic importance. This work is a continuation of our work on the characterization of essential oils from aromatic plants in Côte d'Ivoire. This study focused on *Praxelis clematidea*. The objective of this study is to determine the chemical composition of the essential oils of the aerial part of the plant bearing the flowers and that of the plant without the flowers of *Praxelis clematidea*. The essential oils, obtained by hydrodistillation, were analyzed by GC-MS. 22 phytocompounds representing 89.2% to 89.3% of the total chemical composition have been identified. The predominant compounds in the oil are germacrene D (19.9-27.8%), α -caryophyllene (15.7-19.7%), α -santalene (11.9-14.4%), α -pinene (2.2-14.3%), bicyclogermacrene (7.7-10.1%). The content of β -caryophyllene (3.3-5.3%) identified was not negligible. This study allowed the determination of the chemical composition of *Praxelis clematidea* essential oil from Côte d'Ivoire for the first time. A study of chemical composition variability on a large sample is planned.

Keywords: Essential oil; *Praxelis clematidea*; GC-MS.

1. Introduction

Les plantes médicinales constituent une source importante de soins de santé dans le monde et la demande mondiale est de plus en plus croissante [1]. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel incontestable pour la découverte de nouvelles substances à propriétés thérapeutiques. Ainsi, les huiles essentielles (HE) ont acquis beaucoup d'intérêt comme sources potentielles de substances bioactives [2]. Leur étude est toujours d'une actualité brûlante et leurs propriétés anti-infectieuses ont été scientifiquement démontrées [3]. Les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature. Ainsi, la Côte d'Ivoire comme la plupart des pays tropicaux, abrite un ensemble d'espèces végétales importantes et variées qui possèdent plusieurs vertus thérapeutiques qui témoignent de leur utilisation contre le traitement de nombreuses maladies. Nonobstant cet état de fait, la littérature ne dispose que peu [4] voire pas, d'informations sur certaines de ces espèces.

Cette étude s'inscrit dans la continuité des travaux réalisés sur la caractérisation des huiles essentielles des plantes médicinales aromatiques de la Côte d'Ivoire [5-7]. *Praxelis clematidea* est une plante médicinale utilisée pour le traitement de la fièvre, du rhume. La littérature rapporte peu d'étude sur cette espèce.

Cette étude est donc une contribution à la caractérisation chimique des huiles essentielles extraites des parties aériennes de *Praxelis clematidea* de Côte d'Ivoire.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Le matériel végétal est essentiellement composé de feuille-tiges de *Praxelis clematidea*. Les organes ont été récoltés à l'Université NANGUI ABROGOUA (UNA) (5° 23' 19" Nord et 4° 0' 54" Ouest) d'Abidjan puis identifiés par les botanistes de ladite Université.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction

L'extraction des huiles essentielles a été faite à partir d'un hydrodistillateur de type Clevenger, pendant 4 h.

2.2.2. Analyse

Les huiles ont été analysées par CPG-SM. Les huiles essentielles sont diluées dans le dichlorométhane (1/100) avant d'être injectées.

L'identification des composés a été effectuée par comparaison des spectres de masse obtenues avec celles de la base de données de l'Institut National des Normes et de la Technologie (NIST) ou avec celles la base de données de chimie de l'Institut National de Santé (PubChem- en ligne). Les correspondances des spectres à partir de 70% sont acceptées

2. Résultats et discussion

L'analyse par CPG-SM des huiles essentielles obtenues a permis d'identifier 22 composés représentant (89,2-89,3%) de la composition chimique totale de l'huile essentielle (**Tableau I**).

Les huiles sont riches en sesquiterpènes (67,5-85,8%). La teneur en composés monoterpéniques dans les huiles varie de 3,2 à 20,5%.

Les composés prédominants les huiles essentielles extraites de *P. clematidea* sont le germacrène D (19,9-27,8%), l' α -caryophyllène (15,7-19,7%), l' α -pinène (2,2-14,3%), l' α -santalène (11,9-14,4%) et le bicyclogermacrène (7,7-10,3%). Cette variation serait due, selon quelques études scientifiques à certains facteurs écologiques tels que l'âge de l'espèce végétale et à la période du cycle végétatif pendant laquelle la récolte a été effectuée [8].

On note la présence du β -caryophyllène avec une teneur (3,3-5,3%) non négligeable. Selon les travaux de certains auteurs le β -Caryophyllène (30,34 %) est l'un des composés dominants la composition chimique de l'huiles des fleurs de l'espèce chinoise [4].

Tableau I : Composition chimique des huiles essentielles de *P. clematidea*

N°	Composés	Ir	% HE PAF	% HE PSF
1	α -Pinène	925	14,3	2,2
2	Conyryne	989	1,3	0,2
3	2-Carène	995	1,2	0,1
4	Limonène D	1023	2,2	0,2
5	Y-Terpène	1054	1,2	0,3
6	α -Terpinolène	1083	0,9	0,2
7	Acétate de bornyle	1280	0,7	0,2
8	α -Copaène	1368	1,00	1,2
9	β -Elemène	1385	2,4	3,1
10	β -Caryophyllène	1409	3,3	5,3
11	α -Santalène	1412	11,9	14,4
12	α -Bergamotène	1428	-	0,2
13	α -Caryophyllène	1441	15,7	19,7
14	Aromadandrène	1451	-	1,1
15	β -Santalène	1453	0,8	
16	Germacrène D	1468	19,9	27,8
17	Bicyclogermacrène	1482	7,7	10,1
18	β -Selinène	1489	-	1,1
19	Germacrène A	1506	1,1	0,9
20	δ -Cadinène	1516	0,5	0,7
21	Spathulénol	1568	2,9	-
22	α -Cadinol	1646	0,3	0,2
Monoterpènes hydrocarbonés			19,8	3
Monoterpènes oxygénés			0,7	0,2
Sesquiterpènes hydrocarbonés			64,3	85,6
Sesquiterpènes oxygénés			3,2	0,2
Autres			1,3	0,2
Total			89,3	89,2

PAF : Plante à fleurs ; PSF : Plante sans fleurs

Les compositions chimiques des HE renferment pratiquement les mêmes constituants dans des proportions proches ou variables à l'exception de β -selinène (1,1%) et de aromadendène (1,1%) qui sont présents dans l'HE de PSF et absents dans l'HE de PAF. Le spathulénol (2,9%) identifié dans l'HE de PAF est absent dans l'HE de PSF.

4. Conclusion

La présente étude nous a permis, par la CPG-SM de déterminer pour la première fois en Afrique la composition chimique des huiles essentielles de *P. clematidea*. Ces huiles sont constituées de plusieurs composés chimiques dominés par les sesquiterpènes. Une étude de variabilité de la composition chimique sur un grand échantillonnage est envisagée.

5. Bibliographie

- [1]. Hamilton, A.C . Medicinal plants conservation and livelihoods. *Biodiversity and conservation*, 2004, 18, 1477-1517.
- [2]. Bruneton, J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème}, Edition, Lavoisier Technique & Documentation, France, 1999, 101-120.
- [3]. Lamamra, M. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. *Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas-Sétif (Algérie)*, 2011, 107.
- [4]. Wang, Q.; Liu, Y.M.; Li, S.; Zhao, Y. et Wang, W. Composition chimique de l'huile essentielle de la plante envahissante *Praxelis clematidea* et sa répulsion et sa létalité pour *Diaphorina citri*. *Chinese Journal of Applied Entomology*. 2018, 55 ,117-125.
- [5]. Kouao, T.A.; Kouame, B.A.; Ouattara, Z.A.; Mamyrbekova-Bekro, J.A.; Bighelli, A.; Tomi, F. et Békro, Y.-A. Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire. *Natural Product Research*, 2021, 35, 2420-23.
- [6]. Monyn, E.D.; Kouame, B.A.; Boua, B.B.; Kouao, T.A.; Ehouman, E. et Kone, M.W. Chemical composition and preliminary investigation of anticancer property of essential oil extracted from *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae) against vulvar squamous cell carcinoma (CA 431). *International Journal of Current Research*, 2021, 13, 17058-17063.
- [7]. Kouao, T.A.; Ouattara, Z.A.; Kambiré, D.A.; Kouamé, B.A.; Mamyrbékova-Békro, J.A.; Tomi, P.; Paoli, M.; Bighelli, A.; Békro, Y.-A. et Tomi, F. Caryophyllene-Rich Essential Oils of Two Species from Southern Côte d'Ivoire: *Guibourtia ehie* (A. Chev.) J Léonard (Caesalpiniaceae) and *Oricia suaveolens* (Engl.) Verd. (Rutaceae). *Compounds*, 2023, 3, 73-82.
- [8]. Bekkara, A.F.; Bousmaha, L.; Bendiab, T.S.A.; Boti, J.B. et Casanova, J.C. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie et santé*, 2007, 7, 6-11.

Isolement des dérivés coumariniques de l'écorce de racine de *Detarium microcarpum* (Fabaceae)

Hama Hamadou Habibou*, Khalid Ikhiri

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et Synthèse Organique (LASNASO), Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni, BP 10662 Niamey-Niger

*Auteur de correspondance : hamahamadouhabibou@gmail.com

Résumé

Les coumarines sont douées d'activités biologiques variées dont l'activité anticoagulante, l'activité anticancéreuse, l'activité antibiotique, l'activité analgésique et anti inflammatoire ou encore, l'activité anti-VIH. Cette étude rapporte l'isolement des dérivés coumariniques de l'écorce de racine de *Detarium microcarpum* (Fabaceae). L'extrait brut au méthanol a été fractionné en utilisant l'hexane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol par extraction liquide – liquide en utilisant une ampoule à décanter. La fraction à l'acétate d'éthyle a été soumise à une colonne chromatographique sur gel de silice pour l'isolement des dérivés coumariniques. Les composés isolés ont été caractérisés par spectrométrie de masse, résonance magnétique nucléaire. Trois dérivés coumariniques ont été caractérisés dont la 5-méthyl-4,6-diméthoxy coumarine connue pour la première fois des substances naturelles, la 6-hydroxy-4-méthoxy-5-méthyl coumarine et la 4-méthoxy-5-hydroxyméthyl coumarine connues précédemment. Cette richesse en composés dérivés coumariniques confère au *Detarium microcarpum* diverses propriétés biologiques.

Mots clés : Coumarine ; *Detarium microcarpum* ; activité biologique.

Isolation of coumarin derivatives from *Detarium microcarpum* root bark (Fabaceae)

Abstract

Coumarins have a variety of biological activities, including anticoagulant activity, anticancer activity, antibiotic activity [1], analgesic and anti-inflammatory activity and anti-HIV activity [2]. This study reports the isolation of coumarin derivatives from the root bark of *Detarium microcarpum* (Fabaceae). The crude methanol extract was fractionated using hexane, ethyl acetate and n-butanol liquid-liquid extraction using a separating funnel. The ethyl acetate fraction was subjected to a silica gel chromatographic column for the isolation of coumarin derivatives. The isolated compounds were characterized by mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. Three coumarin derivatives were characterized, including 5-methyl-4,6-dimethoxy coumarin, known for the first time from natural substances and the previously isolated 6-hydroxy-4-methoxy-5-methyl coumarin ; 4-methoxy-5-hydroxymethyl coumarin. This wealth of coumarin-derived compounds confers various biological properties on *Detarium microcarpum*.

Key words: Coumarin ; *Detarium microcarpum* ; biological activity.

1. Introduction

Les composés phénoliques, aussi appelés polyphénols ou dérivés phénylpropanoïdes, possèdent une structure de base composée d'un cycle aromatique benzène hydroxylé : le phénol. Il existe une très grande diversité de polyphénols présentant des structures et des rôles différents. Il peut s'agir de molécules complexes, comme la lignine intervenant dans la structure de la plante, ou de molécules plus simples, impliquées dans les interactions avec l'environnement. Par exemple, les flavonoïdes interviennent dans la protection contre les ultraviolets (UV) et dans l'attraction des pollinisateurs grâce aux pigments anthocyaniques [1]. D'autres composés phénoliques sont synthétisés pour la protection de la plante contre les agresseurs comme par exemple les stilbènes [2], les coumarines et les furocoumarines [3].

Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo- α -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures [3] :

- Les coumarines simples (benzo- α -pyrones) ;
- Les furocoumarines (furobenzo- α -pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle furane en position 6 et 7 (furocoumarines linéaires) ou en position 7 et 8 (furocoumarines angulaires) sur un noyau coumarine simple ;
- Les pyranocoumarines (benzodipyrane-2-ones) qui résultent de la fusion d'un cycle pyrane sur un noyau coumarine simple, formant alors aussi des pyranocoumarines linéaires et angulaires ;
- Les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle phényl sur un noyau coumarine simple et sont issues du métabolisme de l'isoflavone, contrairement aux autres coumarines qui dérivent toutes de la même voie de biosynthèse.

La grande diversité des coumarines résulte dans l'ajout de groupements chimiques à ces quatre structures de base, telles que des hydroxylations, des méthoxylations, des prénylations, des géranylations ou encore des époxydations.

Aujourd'hui, on recense plus de 1300 coumarines différentes [4] décrites chez les plantes, mais aussi chez les champignons et les bactéries. À l'origine, elles ont été découvertes dans la fève de tonka (*Dipteryx odorata*, famille des Fabacées) qui en contient beaucoup. Des coumarines ont été répertoriées chez près de 30 familles de plantes différentes comprenant environ 150 espèces et dont les plus importantes sont : les Rutacées (ex : agrumes, rue officinale), les Apiacées (ex : persil, panais, carotte), les Clusiacées (ex : genre *Calophyllum*), les Caprifoliacées (ex : *Weigela florida*), les Oléacées (ex : genre *Fraxinus*), les Nyctaginacées (ex : *Bougainvillea spectabilis*) [5]. D'autres familles de plantes produisent aussi des coumarines comme les Lamiacées (ex : lavande) [6] et les Lauracées (ex : cannelle) [7].

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Les écorces de racines du *Detarium microcarpum* ont été fraîchement récoltées au mois de mars 2020 dans la région de Dosso (Niger). Elles ont été identifiées en comparaison avec un échantillon authentique des spécimens de l'herbier déposé sous le numéro 756 au Département de Biologie (Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Abdou Moumouni). Le matériel végétal a été séché à l'air libre à l'abri du soleil et à la température ambiante (37°C), puis réduit en poudre.

2.2 Extraction de la poudre végétale et fractionnement de l'extrait brut des écorces de racines de *D. microcarpum*

1 kg de poudre végétale des écorces de racines de *D. microcarpum* a été macéré dans 5L de MeOH pendant 48 heures sous agitation magnétique. Après filtration, l'extrait est évaporé à sec avec un évaporateur rotatif. 260g d'extraits bruts au MeOH obtenus sont dissous dans un minimum d'eau distillée (300 mL) pour donner une solution aqueuse de couleur marronne.

La solution aqueuse est partitionnée à l'aide d'une ampoule à décanter en trois parties, pour l'extraire séparément avec : hexane, acétate d'éthyle et le n-butanol. Chaque extraction est réalisée plusieurs fois, afin de tirer le maximum de substance de la phase aqueuse.

2.3 Isolement et purification de la fraction à l'acétate d'éthyle

La méthode généralement utilisée en première intention pour la purification de fractions est la chromatographie sur colonne ouverte. La taille de la colonne, la granulométrie de la phase stationnaire et la composition initiale de la phase mobile sont déterminées d'après la quantité et la qualité de l'échantillon à purifier et au moyen d'analyses CCM préalables [8]. Dans le présent travail, la phase stationnaire est du gel de silice 60 (Merck, Darmstadt, Germany) de granulométrie 230-400 μm .

120 g de la fraction à l'acétate d'éthyle fixée sur 120 g de silice ont subi une chromatographie sur colonne (105cm&6cm, 1200 g) élué à l'hexane et au mélange hexane/AcOEt et AcOEt/MeOH de polarité croissante. Mille quarante-six (1046) sous-fractions de 200mL chacune sont recueillies, concentrées et regroupées selon leur rapport frontal de CCM.

2.4 Elucidation structurale

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (^1H) et du carbone (^{13}C) ont été effectués dans différents solvants deutériés (CD_3OD , CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) sur un spectromètre de type Bruker AVANCE-III de fréquence 500 MHz (Karlsruhe, Germany) et Bruker DRX de fréquence 500 MHz (Rheinstetten, Germany). Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm) avec le tétraméthylsilane (TMS) comme référence interne. Les valeurs des constantes de couplages (J) sont exprimées en Hertz (Hz). Cependant, le couplage interatomique qui est visible par l'analyse des spectres bidimensionnels (**HSQC**, **HMB**, **COSY** et **NOESY**) permet d'élucider aisément la structure chimique du composé [9].

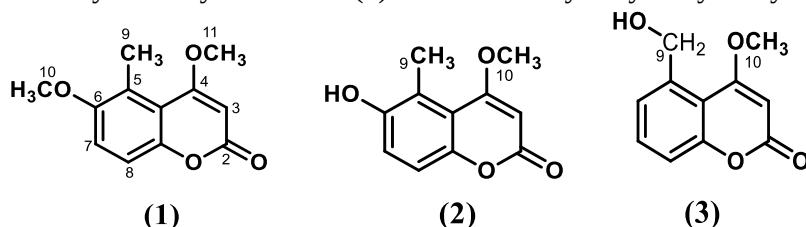
2.5 Techniques chromatographiques

Les différentes techniques de chromatographie sur colonne ont été réalisées en utilisant comme phase stationnaire le gel de silice de type Merck 60F₂₅₄ (granulométrie 230-400 mesh, Darmstadt, Allemagne) ou de gel de Séphadex LH-20. Les plaques préfabriquées de silice de grade 60F₂₅₄ sur feuille d'aluminium ont été employées pour la CCM analytique et ont été visualisées sous une lampe UV (254 et 365 nm), pulvérisées avec l'acide sulfurique 10 % et chauffées (100-150°C) à l'aide d'un séchoir électrique ou une plaque chauffante. Les masses des produits ont été mesurées à l'aide d'une balance électronique SWINS Précisa 125 A.

3. Résultats et discussion

3.1 Elucidation structurale des composés isolés

L'étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle des écorces de racines de *D. microcarpum* a permis d'isoler 3 métabolites secondaires caractérisés par des analyses spectroscopiques usuelles (RMN 1D et 2D), l'étude de leurs propriétés physiques, et par comparaison de ces données avec celles de la littérature. Il s'agit de la 5-méthyl-4,6-diméthoxy coumarine (1) connue pour la première fois des substances naturelles, la 6-hydroxy-4-méthoxy-5-méthylcoumarine (2) et la 4-méthoxy-5-hydroxyméthyl coumarine (3) isolées précédemment.



4. Conclusion

Cette étude a permis de connaître que la richesse en coumarine des écorces de racines de *D. microcarpum*. La coumarine (5-méthyl-4,6-diméthoxy coumarine (1)) isolée et connue pour la première fois des substances naturelles et les coumarines (6-hydroxy-4-méthoxy-5-méthylcoumarine (2) et 4-méthoxy-5-hydroxyméthyl coumarine(3)) sont isolées pour la première fois de l'espèce *D. microcarpum*.

Ces résultats confirment que *D. microcarpum* pourrait être un excellent candidat pour la formulation d'un phytomédicament à partir d'une source naturelle et l'identification chimique des composés bioactifs s'avère opportune.

5. Bibliographie

- [1] Wang, H., Conchou, L., Bessière, J.-M., Cazals, G., Schatz, B. and Imbert, E. (2013) Flower color polymorphism in *Iris lutescens* (Iridaceae): Biochemical analyses in light of plant–insect interactions. *Phytochemistry*, 94, 123–134.
- [2] Adrian, M. and Jeandet, P. (2012) Effects of resveratrol on the ultrastructure of *Botrytis cinerea* conidia and biological significance in plant/pathogen interactions. *Fitoterapia*, 83, 1345–1350.
- [3] Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S. and Matern, U. (2006) Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem. Rev.*, 5, 293–308.
- [4] Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A. and Adjipavlou-Litina, D. (2009) Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxigenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *DARU J. Pharm. Sci.*, 17, 99–103.
- [5] Venugopala, K.N., Rashmi, V. and Odhav, B. (2013) Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed Res. Int.*, 2013, 963248.
- [6] Brown, S.A. (1963) Biosynthesis of the coumarins IV. The formation of coumarin and herniarin in lavender. *Phytochemistry*, 2, 137–144.
- [7] Miller, K.G., Poole, C.F. and Pawlowski, T.M.P. (1996) Classification of the botanical origin of cinnamon by solid-phase microextraction and gas chromatography. *Chromatographia*, 42, 639–646.
- [8] Hostettmann, K. (1997). Tout Savoir sur le Pouvoir des Plantes Sources de Médicaments. Editions Favre, Lausanne.
- [9] Günther H. (1994). La spectroscopie de RMN: Principes de bases, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétiques nucléaires du carbone 13 en chimie. Elsevier Masson (Eds.).

Profil chimique et efficacité insecticide de combinaisons d'huiles essentielles de *C. citratus* et *H. suaveolens* récoltés au Burkina Faso

Constantin M. DABIRE^{1,2*}, Bily NEBIE¹, Dieudonné D. SOMA³, Remy K. BATIONO^{2,4}, Siaka SOSSO¹, Moussa NAMOUNTOUGOU³, Roger C.H. NEBIE⁴, Eloï PALE², Roch K. DABIRE³ et Pierre DUEZ⁵

¹ Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables, Université Nazi BONI, Burkina Faso

² Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquée, Université Joseph Ki-Zerbo, Burkina Faso

³ Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS), Bobo-Dioulasso BP 545, Burkina Faso

⁴ Centre National de Recherche en Sciences et Technologies, Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Burkina Faso

⁵ Service de Chimie Thérapeutiques et de Pharmacognosie, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Mons, Belgique

* Auteur correspondant ; E-mail : dabireconst@yahoo.fr

Résumé

Objectif : Cette étude vise à déterminer la composition chimique et l'efficacité insecticide de combinaisons d'huiles essentielles de *C. citratus* et *H. suaveolens*.

Méthodologie : Les huiles essentielles (HE), extraites par hydrodistillation des feuilles sèches de chaque plante, séparément, puis du mélange (co-distillation) des feuilles sèches (m/m : 50/50) et le mélange des HE pures (v/v : 50/50) ont été analysées par CPG/SM. Leurs propriétés insecticides ont été évaluées sur deux souches d'*Anopheles gambiae*.

Résultats : L'HE de *C. citratus* est majoritairement constituée de citral (74,32%) et de β -myrcène (13,66%). Celle de *H. suaveolens* contient majoritairement du 1,8-cinéole (59,62%) et du sabinène (12,06%). L'HE obtenue par co-distillation contient essentiellement de la pipéritone (40,80%), du 1,8-cinéole (24,64%) et du p-menth-4(8)-ène (13,20%) tandis que le mélange des HE pures contient majoritairement du citral (37,17%) et du 1,8-cinéole (19,79%). Toutes les HE, exceptée celle de *H. suaveolens*, ont provoqué environ 100% de mortalité sur la souche sensible d'*An. gambiae* à la concentration de 1%. Sur la souche résistante, l'HE obtenue par co-distillation a provoqué la plus forte mortalité (53,48%) à la concentration de 1%.

Conclusion : Les combinaisons des HE contiennent une diversité de molécules. Celle obtenue par co-distillation est la plus efficace sur la souche résistante d'*An. gambiae*.

Mots clés : Huiles essentielles, co-distillation, composition chimique, propriétés insecticides

Chemical profile and insecticidal efficacy of essential oil combinations of *C. citratus* and *H. suaveolens* harvested in Burkina Faso

Abstract

Objective : This study aims to determine the chemical composition and insecticidal efficacy of essential oil combinations of *C. citratus* and *H. suaveolens*.

Methodology : The essential oils (EO), extracted by hydrodistillation of the dry leaves of each plant, separately, then from the mixture (co-distillation) of the dry leaves (m/m: 50/50) and the mixture of the pure EOs (v/v: 50/50) were analyzed by GC/MS. Their insecticidal properties were evaluated on two strains of *Anopheles gambiae*.

Results : The EO of *C. citratus* mainly contains citral (74.32%) and β -myrcene (13.66%). That of *H. suaveolens* mainly contains 1,8-cineole (59.62%) and sabinene (12.06%). The EO obtained by co-distillation mainly contains piperitone (40.80%), 1,8-cineole (24.64%) and p-menth-4(8)-ene (13.20%) while the mixture of pure EOs mainly contains citral (37.17%) and 1,8-cineole (19.79%). All EOs, except that of *H. suaveolens*, caused approximately 100% mortality on the sensitive strain of *An. gambiae* at a concentration of 1%. On the resistant strain, the EO obtained by co-distillation caused the highest mortality (53.48%) at a concentration of 1%.

Conclusion : The combinations of EOs contain a diversity of molecules. That obtained by co-distillation is the most effective on the resistant strain of *An. gambiae*.

Keywords : Essential oils, co-distillation, chemical composition, insecticidal properties

1. Introduction

Le paludisme demeure l'une des endémies les plus préoccupantes en Afrique Subsaharienne. Il est causé par un parasite du genre *Plasmodium*, transmis à l'homme par la femelle de moustique du genre *Anopheles*. Selon le rapport 2021 sur le paludisme dans le monde, la région africaine de l'OMS comptait 95% des 241 millions de cas de paludisme et 96% des 627000 décès dus à cette maladie dans le monde [1]. Au Burkina Faso, il demeure la première cause de consultation et de mortalité. Selon les données de l'annuaire statistique en 2021, le nombre de cas de paludisme enregistrés étaient de 12,2 millions dont 4355 décès. La gestion de cette maladie a coûté à l'Etat et à ses partenaires financiers 110,13 milliards FCFA en 2020 et 121,23 milliards de FCFA en 2021 soit une hausse de 10,07% [2]. Les méthodes de lutte contre cette maladie sont multiples [traitement préventif intermittent, chimioprophylaxie, lutte antivectorielle (distribution des MILDA et pulvérisation intra-domiciliaire) et la

communication pour le changement de comportement] [2]. Cette stratégie a permis une baisse de la létalité du paludisme grave en population générale de 1,8% en 2012 à 0,7% en 2021[2]. Malheureusement, la perspective de l'élimination de paludisme à l'horizon 2030 pourrait être mis à mal par le phénomène de résistance de plus en plus accru des vecteurs majeurs responsables du paludisme (*Anopheles gambiae*) à la plupart des insecticides de synthèse. En effet, la résistance des moustiques *Anopheles* aux Pyréthroïdes, au DDT, aux Carbamates et à la Dieldrine est documenté depuis 2013. Cette résistance est liée en partie à l'utilisation anarchique des pesticides avec des conséquences sur la baisse d'efficacité des MILDA [2]. La recherche de moyens alternatifs d'origine naturelle, à moindre coût et surtout efficaces est d'avantage encouragé. Ainsi, de nombreuses études ont rapporté les propriétés insecticides des huiles essentielles (HE) sur plusieurs espèces de moustiques dont *Anopheles gambiae* [3-5]. Toutefois, des fortes doses sont en général nécessaires pour obtenir une efficacité importante sur les souches résistantes. Cela limiterait l'usage des HE au regard de leur coût assez élevé dû à leur faible rendement d'extraction et à leur extraction qui est énergivore [6]. Le défi actuel est de trouver des combinaisons optimisées, ce qui permettra un usage de petites quantités d'HE mais suffisamment efficaces. A cet effet, Balboné a rapporté des propriétés insecticides améliorées de la combinaison des HE pures de *Cymbopogon nardus* et *Ocimum americanum* sur les moustiques du genre *Anopheles* et *Aedes* [4]. En outre, Nébou et al. ont également rapporté des propriétés antifongiques et insecticides améliorées de l'HE obtenue par distillation simultanée (co-distillation) de *C. citratus* et *M. piperita* [3].

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf et *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. sont deux plantes aromatiques potentiellement pesticides respectivement de la famille des Lamiacées et des Poacées. Les HE de ces deux plantes respectivement riches en citral et β -caryophyllène, posséderaient des propriétés insecticides contre les moustiques *An. gambiae* [7, 8]. Toutefois, à notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur les combinaisons d'huiles essentielles de ces deux plantes. Cette étude vise à déterminer la composition chimique et l'efficacité insecticide de combinaisons d'HE de *C. citratus* et *H. suaveolens*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles sèches de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf et de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Les échantillons ont été collectés en Aout 2019 sur le site de l'Université Nazi-Boni, Burkina Faso (11°12'N ; 4°24'W). Les échantillons ont été identifiés sous les N° 961 et 964 respectivement pour *C. citratus* et *H. suaveolens* puis déposés à l'herbier de l'Université Nazi Boni. Les échantillons ont été séchés à l'abri de la lumière pendant sept jours à la température ambiante avant d'être soumis à l'extraction des HE.

2.2. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de deux souches de *Anopheles gambiae* s.l. : Kisumu (souche sensible) et VK-Labo (souche résistante). Les moustiques ont été livrés par l'insectarium de l'Institut de Recherche en Science de la Santé (IRSS) de Bobo-Dioulasso.

2.3. Extraction des huiles essentielles

Les HE ont été obtenues par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger à partir des feuilles sèches de *C. citratus* et de *H. suaveolens* séparément, puis à partir de leur mélange dans les proportions massiques 50/50. Les rendements d'extraction des HE (R) ont été déterminés selon la formule : $R = \frac{M_h}{M_v} \times 100$ où M_h est la masse d'HE obtenue et M_v , la masse de matière végétale sèche.

2.4. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

Les HE extraites et un mélange des HE pures des deux plantes dans les proportions volumiques 50/50 ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Le chromatographe de marque Agilent 8860 a été utilisé. Il a été couplé à un spectromètre de masse de type Agilent 5977B muni d'un analyseur quadripolaire. La séparation des différents constituants a été faite à l'aide d'une colonne capillaire DBWAX de type polyéthylène glycol (PEG) (60 m x 0,25 mm), (épaisseur du film 0,25 μ m) dans les conditions expérimentales suivantes : gaz vecteur : (hélium : 1 ml.min⁻¹), énergie d'ionisation (70 eV), température de l'injecteur (250 °C), température du détecteur (250 °C). Le four est programmé de 60 °C à 250 °C pendant 10 minutes avec un gradient de 2 °C.min⁻¹. L'injection est en mode split 1-10. L'identification des différents constituants des HE a été effectuée d'une part, par comparaison des spectres de masse des différents constituants avec ceux existant dans une banque de données NIST [9] et d'autre part, par comparaison de leur indice de rétention à ceux de la littérature[10].

2.5. Evaluation des propriétés insecticides des huiles essentielles

Les tests insecticides ont été réalisés au Laboratoire Bioessai de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé de Bobo-Dioulasso (IRSS-DRO) dans les conditions suivantes : température ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) et Humidité Relative ($80 \pm 10\%$). Les HE ont été testées sur du papier Wattman imprégné aux doses de 0,01 ; 0,1 et 1% selon le protocole de l'OMS relatif aux tests de sensibilité des moustiques en tubes OMS décrits par Wangrawa [11]. La Deltaméthrine 0,75% a été utilisé comme insecticide témoin.

2.6. Analyse statistique

Les données de tous les essais ont été analysées à l'aide du tableur Microsoft Excel et rapportées comme moyenne $\pm$ écart type. L'analyse de la variance ANOVA a été effectuée en utilisant le logiciel IBM SPSS 25.0. La comparaison des moyennes a été effectuée au seuil de 5% par le test de S-N-K.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle (HE) obtenue par co-distillation a présenté un rendement d'extraction plus élevé ($1,22 \pm 0,12\%$) que ceux des HE pures de *H. suaveolens* ($0,75 \pm 0,03\%$) et de *C. citratus* ($1,05 \pm 0,08\%$).

3.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les analyses chromatographiques ont permis d'identifier dans l'HE de *C. citratus* 14 composés représentant 96,16% du mélange total. Elle contenait majoritairement le géraniol (41,49%), le néral (32,83%), le β -myrcène (13,66%) et le géraniol (3,49%) (**figure 1**). La composition chimique de cette essence, dominée par le citral à 74,32% (géraniol et néral) et le β -myrcène est comparable à celle décrite dans plusieurs pays et au centre du Burkina Faso [12].

Vingt-huit (28) composés représentant 93,27% du mélange total de l'HE de *H. suaveolens* ont été identifiés. Elle est dominée par le 1,8-cinéole (39,58%), le sabinène (12,06%), le β -pinène (7,73%), le (E)-caryophyllène (7,49%), l' α -terpinolène (6,72%), l' α -pinène (3,48%), le bicyclogermacrène (2,63%) et le limonène (1,99%) (**figure 2**). Cette essence au chémotype 1,8-cinéole-sabinène très peut rependu par rapport à celui du caryophyllène-sabinène qui a été le plus souvent identifié la dans la région Ouest Africaine et en Asie du Sud notamment au Burkina Faso [12] et en Inde [13].

Dans le mélange des HE pures des deux plantes, il a été identifié 38 composés représentant 95% du mélange total. Ce mélange contient majoritairement le géraniol (20,75%), le néral (16,42%), le 1,8-cinéole (19,79%), le β -pinène (7,37%), le sabinène (6,03%), l' α -terpinolène (3,36%) et le (E)-caryophyllène (3,75%). Tous les constituants majoritaires des HE pures ont été identifiés mais à des proportions plus faibles, ce qui serait dû à un effet de dilution.

Quant à l'HE obtenue par co-distillation, 23 composés représentant 95,59% du mélange total y ont identifiés. Elle contient majoritairement la pipéritone (40,80%), le 1,8-cinéole (24,64%), le p-menth-4(8)-ène (13,20%), le limonène (6,09%) et l' α -pinène (4,73%) (**figure 3**). La pipéritone et le p-menth-4(8)-ène sont des nouveaux composés majoritaires formés lors de la co-distillation. Par ailleurs, le limonène présent uniquement dans l'essence de *H. suaveolens* à une teneur de 1,99% a été identifié dans celle obtenue par co-distillation à une teneur assez élevée (6,09%). En revanche, le néral (32,83%), le géraniol (41,49%), le β -myrcène (13,66%), le sabinène (12,06%), le β -pinène (7,73%) et l' α -terpinolène (6,72%), constituants majoritaires des deux HE pures étaient quasiment absents dans l'HE obtenue par co-distillation. Au regard des structures des molécules formées et de celles disparues, la pipéritone proviendrait de la cyclisation du néral et du géraniol (**figure 4**). Quant au p-menth-4(8)-ène, elle pourrait provenir d'une part, d'un réarrangement du sabinène et du β -pinène et d'autre part, de la cyclisation du myrcène (**figure 5**).

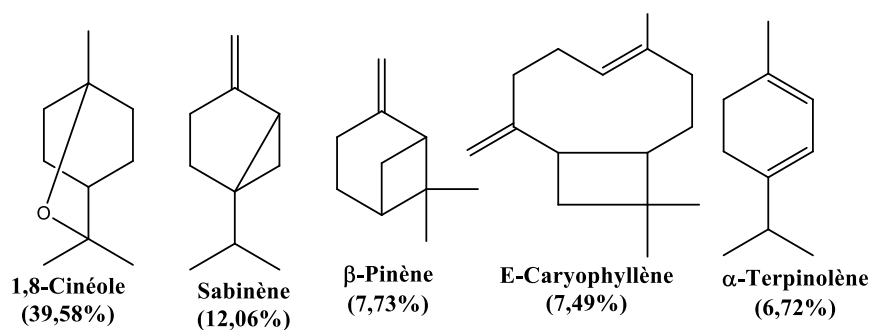


Figure 1 : Structures des constituants majeurs de l'huile essentielle de *H. suaveolens*

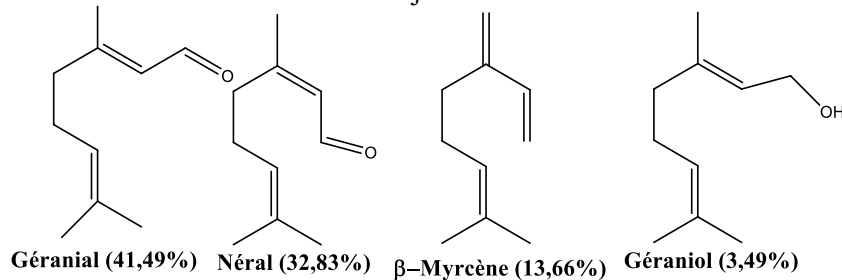


Figure 2 : Structures des constituants majeurs de l'huile essentielle de *C. citratus*

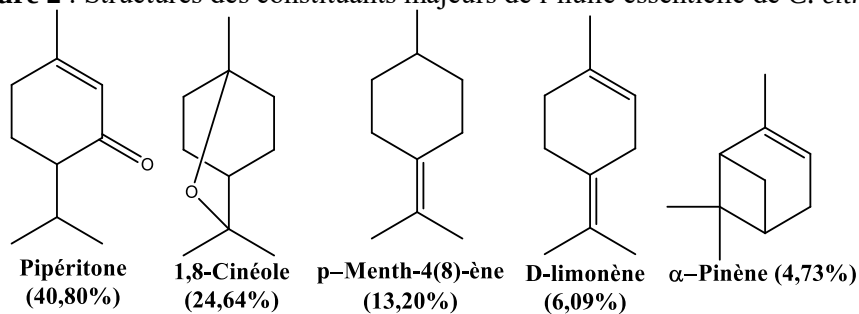


Figure 3 : Structures des constituants majeurs de l'huile essentielle obtenue par co-distillation

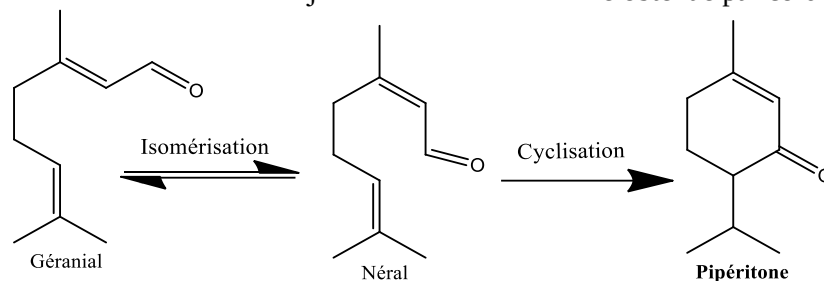


Figure 4 : Formation de la pipéritone à partir du néral et du géranial

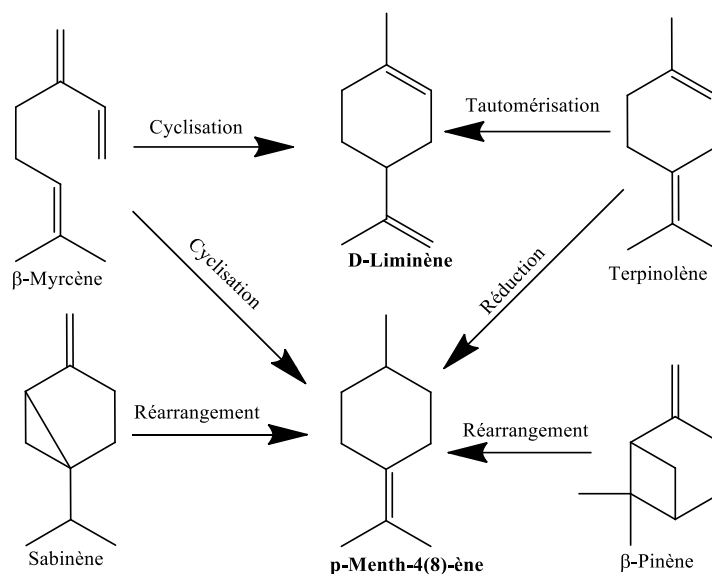
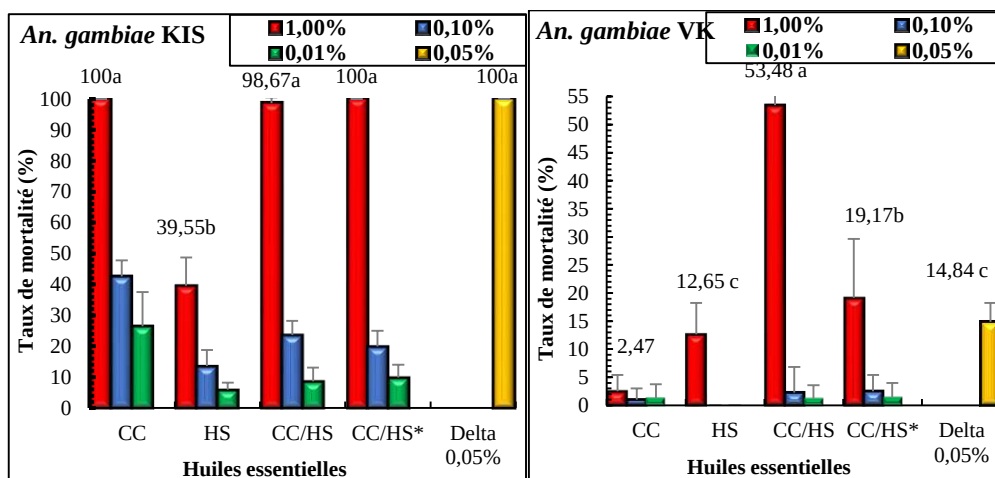


Figure 5 : Formations du p-menth-(4)8-ène et du limonène à partir du myrcène, du β-pinène, du sabinène et du terpinolène

3.3. Activité insecticide des huiles essentielles

Les résultats des tests insecticides montrent que toutes les HE sont efficaces contre les deux souches de *An. gambiae* (**figure 6**). L'analyse de la variance ANOVA montre des différences hautement significatives entre les taux de mortalité sur les souches sensible (dl= 12 ; F=227,477 ; P= 0,000) et résistante (dl= 12 ; F=28,819 ; P= 0,000). Toutes les HE ont provoqué des taux de mortalité d'environ 100% sur la souche sensible à la dose de 1%. Cependant, sur la souche résistante à la même dose, les taux de mortalité n'étaient que de 2,47 ; 12,65 ; 19,17 et 53,48% respectivement pour les HE de *C. citratus*, *H. suaveolens*, le mélange des HE pures et l'HE obtenue par co-distillation. La Deltaméthrine a provoqué des taux de mortalité de 100 et 14,84% respectivement sur les souches sensible et résistante. Des résultats similaires ont également été rapportés par plusieurs auteurs. En effet, Nonvhio *et al.* ont rapporté que l'HE de *C. citratus* du Bénin provoquait 100% de mortalité sur la souche sensible (Kisumu) d'*An. gambiae* à la dose de 22,6 µg/cm². Cependant, sur la souche résistante à la même dose, le taux de mortalité n'était que 4% [5]. De même, Wangrawa *et al.* ont obtenu avec l'HE de *H. suaveolens* du centre du Burkina Faso des concentrations létales CL₅₀ et CL₉₀ respectives de 0,85 et 1,38% sur la souche sensible (Kisumu) alors que sur la souche résistante (Goden), les CL₅₀ et CL₉₀ étaient respectivement de 1,86 et 2,82% [14]. Les différences de mortalité seraient liées d'une part la différence de patrimoine génétique des deux souches d'*An. gambiae* et d'autre part à la composition chimique de chaque HE [14]. L'HE obtenue par la co-distillation a présenté la forte mortalité sur la souche résistante de *An. gambiae*, ce qui pourrait être lié à des actions synergiques de la diversité de molécules qu'elle contient.



4. Conclusion

Les HE pures de *C. citratus* et de *H. suaveolens* sont dominées respectivement par le citral (74,32%) et le 1,8-cinéole (39,58%). Le mélange des HE pures contient toutes les molécules identifiées dans chaque HE pure. En revanche, l'HE obtenue par co-distillation contient des nouvelles molécules majoritaires telles que la pipéritone et le p-menth-4(8)-ène. Le mélange des HE pures et l'HE obtenue par co-distillation ont présenté les taux de mortalité les plus élevés la souche résistante d'*An. gambiae* respectivement de 19,17 et 53,48% contre 14,84% pour l'insecticide de synthèse (deltaméthrine 0,05%). Ces résultats montrent que la co-distillation de *C. citratus* et *H. suaveolens* permet d'améliorer l'efficacité insecticide de leurs HE sur les moustiques résistants aux insecticides de synthèse.

Références

1. O.W.H., World malaria report 2022. 2022: World Health Organization.
2. ONSP, Profil du Burkina Faso sur le paludisme. 2023.
3. Nebie B., Dabiré C.M., Bonzi S., Soma D.D., Bationo R.K., Sosso S., Namountougou M., Nébié R.C.H., Somda I., Palé E., Dabire R.K. and Duez P. Chemical constituents and biopesticide efficacy of two essential oil combinations of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf and *Mentha piperita* L. from Western Burkina Faso. *Mediterr. J. Chem.*, 2024. **14**(1): p. 79-87.
4. Balboné M., Alternative à la résistance aux pyréthrinoides au Burkina Faso: Évaluation des activités insecticides et répulsives-irritantes d'huiles essentielles de plantes locales seules et en combinaison sur les populations de *Anopheles gambiae* et de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Thèse de Doctorat, Université Joseph KI-ZERBO, 2022.
5. Nonviho G., Wotto V.D., Noudogbessi J-P., Avlessi F., Akogbeto M., Sohounhloué. Insecticidal activities of essential oils extracted from three species of Poaceae on *Anopheles gambiae* spp, major vector of malaria. *St. Cerc. St. CICBIA*, 2010. **11**(4): p. 411-420.
6. Nébié R.H.C., Tiemtoré A. and Yaméogo R.T. Etude de l'effet insecticide de mélanges d'huiles essentielles sur *Callosobruchus maculatus* F. prédateur du niébé. *Sci. Nat. Appl.*, 2009. **3**(1 et 2).
7. Wangrawa D.W., Ochomo E., Upshur F., Zanré N., Borovsky D., Lahondere C., Vinauger C., Badolo A. and Sanon A. Essential oils and their binary combinations have synergistic and antagonistic insecticidal properties against *Anopheles gambiae* s.l. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 2022. **42**: p. 102347.
8. Bossou A.D., Mangelinckx S., Yedomonhan H., Boko P.M., Akogbeto M.C., De Kimpe N., Avlessi F. and Sohounhloué D.C. Composition chimique et activité insecticide des huiles essentielles végétales du Bénin contre *Anopheles gambiae* (Gilles). *Parasit. Vectors*, 2013. **6**(1): p. 337.
9. Stein S., Mirokhin D., Tchekhovskoi D., Mallard G., Mikaia A., Zaikin V. and Sparkmanm. The NIST mass spectral search program for the NIST/EPA/NIH mass spectra library. Gaithersburg, MD: Standard Reference Data Program of the National Institute of Standards and Technology, 2002.
10. Babushok V., Linstrom P. and Zenkevich I. Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *J. Phys. Chem.*, 2011. **40**(4): p. 043101.
11. Wangrawa W.D. Activité biologique et modes d'action d'extraits de quatre plantes aromatiques contre *Anopheles gambiae* s.l. au Burkina Faso. 2017, Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO. p. 44.
12. Djibo A.K. Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du Burkina Faso appartenant aux familles des Lamiacées (*Hyptis spicigera* Lam. ; *Hyptis suaveolens* Poit., *Ocimum americanum* L.) et des Poacées (*Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng, *Cymbopogon giganteus* Chiov et *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). 2000, Université de Ouagadougou.
13. Tripathi A.K. and Upadhyay S. Repellent and insecticidal activities of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) leaf essential oil against four stored-grain coleopteran pests. *Int. J. Tropical Insect Sci.*, 2009. **29**(4): p. 219 - 228.
14. Wangrawa D.W., Badolo A., Ilboudo Z., Guelbéogo W.M., Kiendrébiogo M., Nébié R.C.H., Sagnon A. et Sanon A. Activité insecticide des huiles essentielles de plantes locales contre les souches de laboratoire et de terrain *Anopheles gambiae* s.l. du Burkina Faso. *J. Econ. Entomol.*, 2018: p. 1-10.

Activité hépatoprotectrice de *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del (Mimosaceae)

Doumbia Sékou^{1*}, Dembélé Daouda¹, Ballo Mahamadou¹, N'Guessan Bra Yvette Fofié³, Sanogo Rokia^{1,2}

¹Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Faculté de Pharmacie, Mali

²Institut National de Recherche sur la Médecine et Pharmacopée Traditionnelle, Mali

³Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Côte d'Ivoire

*Email auteur correspondant : s2doumbia@yahoo.fr

Résumé

Acacia nilotica est l'une des plantes les plus fréquemment citées dans la prise en charge des affections hépatiques au Mali. L'objectif était d'évaluer l'activité antioxydante et hépatoprotectrice des infusés des rameaux feuillés, des écorces de tronc et des fruits de cette plante. L'activité antioxydante a été déterminée en utilisant les méthodes de réduction du radical ABTS et du complexe ferrique (FRAP). Les concentrations inhibitrices 50 (ABTS) et efficaces 50 (FRAP) ont été déterminées. L'effet hépatoprotecteur des extraits a été évalué en dosant les enzymes hépatiques dans le sérum des rats intoxiqués par le CCl₄. La meilleure activité antioxydante a été obtenue avec l'infusé des fruits, avec une concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de 4,91±1,41 µg/mL et une concentration efficace 50 (CE₅₀) de 71,33±0,12 µg/mL. Les extraits ont induit une baisse significative des taux des transaminases comparativement à l'eau distillée avec plus de 50 % d'hépatoprotection. La silymarine, médicament témoin positif, a présenté plus de 60 % d'hépatoprotection. Les effets antioxydant et hépatoprotecteur des extraits de *A. nilotica* pourraient justifier son utilisation traditionnelle dans la prise en charge des affections hépatiques.

Mots clés : *Acacia nilotica* ; Activité hépatoprotectrice ; Activité antioxydante.

Hepatoprotective activity of *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del (Mimosaceae)

Abstract

Acacia nilotica is one of the plants most frequently cited in the treatment of liver diseases. The aim was to evaluate the antioxidant and hepatoprotective activity of leafy twigs, stem bark and fruits of this plant. The prepared extracts were infused. Antioxidant activity was determined using the ABTS radical reduction and ferric complex reduction (FRAP) methods. The inhibitory 50 (ABTS) and effective 50 (FRAP) concentrations were determined. The hepatoprotective effect of the extracts was evaluated by measuring liver enzymes in the serum of rats having received CCl₄. The best antioxidant activity was obtained with fruit infusions, with an IC₅₀ of 4.91±1.41 µg/mL and an EC₅₀ of 71.33±0.12 µg/mL. The extracts significantly (p < 0.001) lowered liver enzyme values compared to distilled water with more than 50 % hepatoprotection according to transaminase values. Silymarin, a positive control drug, showed more than 60 % hepatoprotection. The antioxidant and hepatoprotective effects of *A. nilotica* extracts could justify its traditional use in the management of liver diseases.

Keywords: *Acacia nilotica* ; hepatoprotective activity, antioxidant activity

1. Introduction

Les affections hépatiques deviennent de plus en plus fréquentes et constituent aujourd'hui un problème majeur de santé publique au monde et plus particulièrement en Afrique [1]. En absence d'une prise en charge adéquate, presque toutes les hépatopathies chroniques évoluent vers la cirrhose qui constitue l'une des principales causes de décès due aux hépatites [2]. L'OMS estime que 296 millions de personnes vivaient avec le virus de l'hépatite B (VHB) chronique en 2019 et a dénombré 1,5 million de nouvelles infections. Dans la même année, l'hépatite B a provoqué environ 820000 décès, principalement par cirrhose ou par carcinome hépatocellulaire [3]. Selon l'OMS, 58 millions d'individus étaient des porteurs chroniques du virus de l'hépatite C (VHC) et 290000 personnes sont mortes d'hépatite C en 2019 [4].

En 2020, la région africaine représentait plus de 26 % de la charge mondiale de morbidité due aux hépatites B et C, avec 125 000 décès associés [1]. Au Mali, Le nombre de porteurs chroniques du virus de l'hépatite B s'élevait à 1503000 contre 160000 pour le VHC [5].

La prise en charge des affections hépatiques repose de nos jours sur l'utilisation de certaines molécules telles que les interférons, les antirétroviraux, les cholérétiques et les cholagogues.

Certains de ces médicaments ont montré leur limite dans le traitement des hépatites virales. En outre, ils ont des coûts excessivement élevés et ne sont donc pas à la portée de la population moyenne. Dans ce contexte, le recours aux plantes médicinales constitue une importante voie alternative à explorer afin de valider leurs usages traditionnels.

Au Mali, un grand nombre de personnes avec les affections hépatiques font recours aux ressources de la médecine traditionnelle. Il ressort d'une enquête menée au service d'hépatogastro-entérologie de l'hôpital Gabriel Touré, que 62,3 % de patients avec les affections hépatiques utilisent les plantes médicinales dans la prise en charge de leurs maladies [6]. Les premiers travaux du Département Médecine Traditionnelle (DMT) ont permis de mettre

au point un médicament traditionnel amélioré (MTA) dénommé HEPATISANE® à base des feuilles de *Combretum micranthum* G. Don., utilisé comme cholérétique et cholagogue.

Dans le but d'agrandir la liste des MTA efficaces et moins chers pour les populations, nous nous sommes proposés de mener des études sur d'autres plantes utilisées par la médecine traditionnelle de l'Afrique de l'Ouest dans le traitement des affections hépatiques.

Objectif Général

Etudier l'activité hépatoprotectrice de *Acacia nilotica*

Objectifs spécifiques

- Evaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux de *Acacia nilotica*.
- Tester l'effet des extraits aqueux de *Acacia nilotica* sur l'hépatotoxicité provoquée par le tétrachlorure de carbone chez les rats.
-

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé a été constitué de rameaux feuillés, d'écorces de tronc et de racines de *A. nilotica*. Les échantillons de ces organes ont été récoltés en octobre 2021 à Kati (15 kilomètres de Bamako). Un spécimen des feuilles est disponible à l'herbier du DMT sous le numéro 3077/DMT. Les échantillons ont été séchés à l'ombre dans une salle bien aérée et ventilée pendant trois semaines avant d'être pulvérisés pour l'extraction.

2.2. Activité antioxydant

Deux méthodes ont été utilisées pour cette activité.

2.2.1. Méthode utilisant le radical 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

Le protocole utilisé ici est celui de Long *et al* avec quelques modifications. Une quantité de 19,20 mg d'ABTS a été diluée dans 5 mL d'eau distillée avant d'ajouter 3,375 mg de persulfate de potassium. Le mélange obtenu a été conservé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 12 à 16 heures. Une quantité de ce mélange a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance égale à 0,7 à 734 nm. Un volume d'un mL de cette solution dilution a été ajouté à 100 µL d'extrait dilué dans l'éthanol à des concentrations différentes. L'ensemble a été incubé pendant 30 minutes à l'obscurité à la température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 734 nm. Chaque mesure a été répétée 3 fois. Un mélange de méthanol/eau a servi de blanc pour l'appareil [7]. L'acide ascorbique et l'acide gallique ont été utilisés comme produit de référence. Les absorbances obtenues ont permis le calcul des pourcentages d'inhibition du radical ABTS selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A : Absorbance moyenne du contrôle négatif, B : absorbance moyenne de l'échantillon

L'activité anti-ABTS a été évaluée par la détermination des concentrations inhibitrices 50 (CI₅₀) obtenues à partir des pourcentages d'inhibition.

2.2.2. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

Un volume d'un mL d'extrait à différentes concentrations a été mélangé à 2,5 mL du tampon phosphate et 2,5 mL de ferricyanide de potassium [K₃Fe(CN)₆] à 1 %. L'ensemble a été vortexé et incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Il a été ensuite ajouté 2,5 mL d'acide trichloroacétique à 10 % et le mélange obtenu a été centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant (2,5 mL) a été ajouté à 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de chlorure ferrique à 0,1 % et l'ensemble a été lu au spectrophotomètre à 700 nm. L'appareil a été mis à zéro par un mélange eau distillée/buffer. L'acide ascorbique et l'acide gallique ont été utilisés comme produits de référence.

L'activité antioxydante a été déterminée en calculant la CE₅₀ (concentration efficace 50) qui est la concentration d'extrait permettant d'avoir une absorbance égale à 0,5. La CE₅₀ a été calculée en traçant la courbe de tendance pour chaque échantillon [8].

2.3. Activité hépatoprotectrice

L'activité hépatoprotectrice des infusés des trois organes de *A. nilotica* a été évaluée en utilisant le test d'intoxication hépatique induite par le CCl₄ [9].

Les rats ont été au préalable mis en jeun de nourriture avec accès libre à l'eau pendant 14 heures avant d'être répartis en 6 lots de 5. Les traitements ont été ensuite administrés comme suit :

- ✓ Lot I : eau distillé (10 mL/kg/jour pendant 7 jours)
- ✓ Lot II : eau distillé (10 mL/kg/jour pendant 7 jours + CCl₄ à 50 %)
- ✓ Lot III : infusés des rameaux feuillés (400 mg/kg/jour pendant 7 jours + CCl₄ à 50 %)
- ✓ Lot IV : infusé des écorces de tronc (400 mg/kg/jour pendant 7 jours + CCl₄ à 50 %)
- ✓ Lot V : infusés des fruits (400 mg/kg/jour pendant 7 jours + CCl₄ à 50 %)
- ✓ Lot VI : silymarine (100 mg/kg/jour pendant 7 jours + CCl₄ à 50 %)

Une heure après le traitement du 7^{ème} jour, les rats ont été intoxiqués per os par une solution de CCl₄ diluée à 50 % dans l'huile d'olive (2 mL/kg) sauf les rats du lot I. Ils ont ensuite été pesés et sacrifiés 24 heures après l'intoxication. Le sang a été prélevé sur tube sec, centrifugé à 2500 tours/minute, et le sérum obtenu a servi pour le dosage des paramètres biochimiques (transaminases, bilirubines totales, phosphatases alcalines, gamma glutamyl transférase). Les pourcentages d'hépatoprotection ont été calculés selon la formule suivante :

$$\text{Hépatoprotection} = \frac{T_1 - T_2}{T_1} \times 100$$

- ✓ T₁ : Valeur moyenne du paramètre biochimique dosé du lot contrôle négatif.
- ✓ T₂ : Valeur moyenne du paramètre biochimique dosé du lot traité par les extraits et la silymarine et intoxiqué.
- ✓

3. Résultats et discussion

Tous les extraits ont montré une bonne activité antioxydante dans les deux méthodes utilisées mais ce sont les fruits qui ont été meilleurs avec une CI₅₀ de 4,91 ± 1,41 et une CE₅₀ de 71,33 ± 0,12 µg/mL (tableau 1). La forte activité antioxydante des extraits pourraient être due à la présence des polyphénols notamment les tanins [10]. Ces données ont été semblables à celles rapportées par d'autres auteurs. Ainsi, Abdoul *et al* ont démontré l'activité antioxydante des extraits aqueux des écorces de tronc par la méthode de réduction des radicaux DPHH et ABTS et par le FRAP [11]. Les extraits aqueux de fruits ont également inhibé le radical ABTS de façon significative [12]. Gowri *et al.* (2011) ont aussi démontré l'activité antioxydante des extraits éthériques, acétoniques et éthanoliques des feuilles et des écorces de tronc de *A. nilotica* par la méthode utilisant le DPPH, le FRAP et l'inhibition de la peroxydation lipidique [13].

Tableau 1 : concentration inhibitrice 50 (ABTS) et concentration efficace 50 (FRAP) en µg/mL des extraits.

Extrait	CI ₅₀ (ABTS)	CE ₅₀ (FRAP)
Ecorce de tronc	13,36 ± 0,16 ^a	151 ± 0,73 ^a
Fruit	4,91 ± 1,41	71,33 ± 0,12
Rameau feuillé	14,63 ± 0,11 ^a	143,04 ± 1,20 ^a
Acide gallique	2,32 ± 0,16	24,07 ± 0,20

a : p < 0,001 (extraits fruits vs extraits rameaux feuillés et écorces de tronc)

Le CCl₄ a provoqué une élévation des paramètres biochimiques dosés (ALT, ASP, BT, PAL et GGT). Ces paramètres ont été significativement (p < 0,001) baissés par l'administration des extraits aqueux de *A. nilotica*. Selon les valeurs des ALT et des GGT, les rameaux feuillés ont présenté les plus grands pourcentages d'activité, soient respectivement 50,48 et 34,43 %. Les lots traités par les fruits et les écorces de tronc ont respectivement montré une diminution des valeurs des ASP de 58,35 et 51,41 % par rapport au lot contrôle négatif. Avec 41,04 %, les fruits ont également présenté la meilleure activité hépatoprotectrice selon les valeurs des PAL tandis que ce sont les extraits d'écorces de tronc qui ont été meilleurs (42,20 %) selon les BT, comparativement aux autres extraits. La silymarine utilisée comme produit hépatoprotecteur de référence a présenté des pourcentages d'hépatoprotection de 62,39 ; 60,88 ; 41,97 ; 33,08 et 36,61 % selon les valeurs respectives des ALT, des ASP, des PAL, des BT et des GGT (figures 1 et 2).

En général, la normalisation du taux des transaminases correspond à une réparation du parenchyme hépatique et une régénération des hépatocytes [14]. Basé sur cette hypothèse et la diminution des autres paramètres, les infusés des rameaux feuillés, des écorces de tronc et des fruits de *A. nilotica* favoriseraient la réparation du parenchyme hépatique et la régénération des hépatocytes. Par ailleurs, il a été démontré que tous les agents hépatotoxiques provoqueraient des dommages hépatiques par le stress oxydatif entraîné soit par leurs métabolites ou les produits

de dégradations de ces derniers. Le CCl_4 agit en produisant les radicaux libres, le trichlorométhyl et le trichlorométhyl peroxy, responsables de son effet hépatotoxique [15]. Cela suggère que l'activité antioxydante démontrée par les extraits aqueux de *A. nilotica* pourrait fortement contribuer à leur activité hépatoprotectrice. Des investigations menées par d'autres auteurs sur *A. nilotica* avaient démontré son effet protecteur sur le foie. Les extraits méthanoliques des parties aériennes ont restauré les paramètres biochimiques (ALT, ASP, PAL, BT et PT) et réduit le stress oxydatif chez les rats intoxiqués par le paracétamol [16]. De même, les extraits méthanoliques de graines protègent le foie des rats contre les dommages causés par le chlorure de cadmium [17].

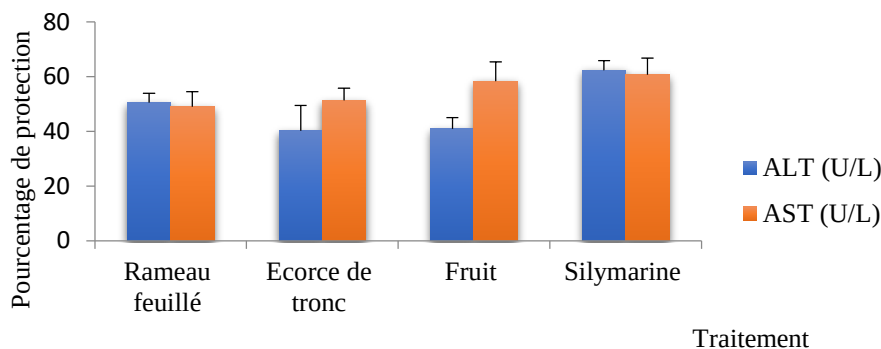


Figure 1 : pourcentage d'hépatoprotection des extraits de *Acacia nilotica* selon les valeurs des transaminases

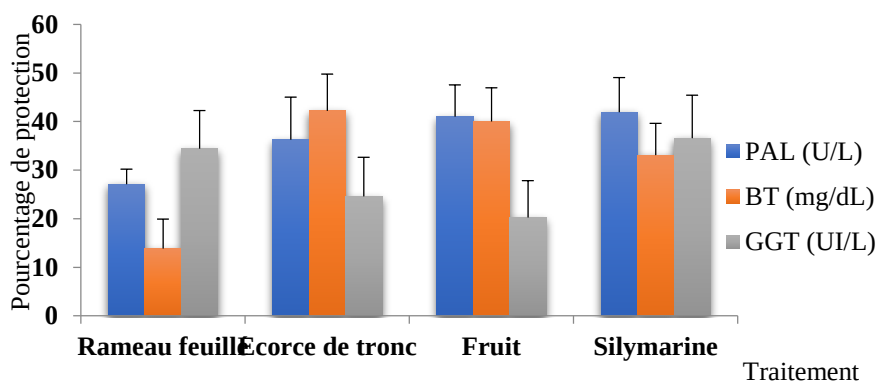


Figure 2 : pourcentage d'hépatoprotection des extraits de *Acacia nilotica* selon les valeurs des phosphatases alcalines, des bilirubines totales et des gamma-glutamyl transférases

Conclusion

Acacia nilotica présente des propriétés hépatoprotectrices pouvant expliquer son utilisation traditionnelle dans la prise en charge des affections hépatiques. En perspective, ces extraits seront testés sur l'hépatotoxicité provoquée par d'autres agents hépatotoxiques.

Bibliographie

- [1]. OMS. (2022). 91 millions d'Africains infectés par l'hépatite B ou C. <https://www.afro.who.int/fr/news/91-millions-dafricains-infectes-par-lhepatite-b-ou-c#:~:text=Il%20note%20que%20plus%20de,avec%20125%20000%20d%C3%A9c%C3%A8s%20associ%C3%A9s>. Consulté le 14/08/2023.
- [2]. Olave, M., C., Gurung, A., Mistry, P., K., Kakar, S., Yeh, M., Xu, M., Tsung-Teh, W., Michael, T., & Dhanpat, J. (2020). Etiology of cirrhosis in the young. *Human Pathology*, 96-103.
- [3]. OMS. (2020a). Hépatite B. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>. Consulté le 14/08/2023.
- [4]. OMS. (2020b). Hépatite C. [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c#:~:text=On%20estime%20%C3%A0%203%2C2,\(cancer%20primitif%20du%20foie\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c#:~:text=On%20estime%20%C3%A0%203%2C2,(cancer%20primitif%20du%20foie)). Consulté le 14/08/2023
- [5]. CSLS-TBH. (2020). Plan Stratégique National Intégré 2021-2025 de lutte contre le VIH/ SIDA, la tuberculose et les hépatites virales du Mali, 125p.

- [6]. Diarra, D. (2019). Plantes médicinales utilisées par les patients pour la prise en charge des affections hépatiques dans le district de Bamako, Thèse Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako, 158p.
- [7]. Long, L. H., Kwee, D. C. T., & Halliwell, B. (2000). The antioxidant activities of seasonings used in Asian cooking. Powerful antioxidant activity of dark soy sauce revealed using the ABTS assay. *Free Radical Research*, 32(2), 181-186.
- [8]. El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016). Radical-scavenging activity and ferric reducing ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016, 1-6.
- [9]. Sanogo, R., Germano, M. P., D'Angelo, V., Guglielmo, M., & De Pasquale, R. (1998). Antihepatotoxic properties of *Entada africana* (Mimosaceae). *Phytotherapy Research*, 12(S1), S157-S159.
- [10]. Abdoul, G. L. B., Traoré, A., Ouedraogo, M., Belemilga, M., Traore, T. K., Belemnaba, L., Ouedraogo, N., Lupu, A., Ouedraogo, S., & Guissou, I. P. (2019). Pharmacological study of trunk bark of *Acacia nilotica* var *adansonii* (Guill et Perr). *O Ktze* (Mimosaceae) : Assays, antioxidant and antispasmodic activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3-s), 524-530.
- [11]. Gu, H.-F., Li, C.-M., Xu, Y., Hu, W., Chen, M., & Wan, Q. (2008). Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. *Food Research International*, 41(2), 208-217.
- [12]. Abuelgassim, O. A. (2013). Antioxidant potential of date palm leaves and *Acacia nilotica* fruit in comparison with other four common Arabian medicinal plants. *Life Science Journal*, 10(4), 3405-3410.
- [13]. Gowri, S. S., Pavitha, S., & Vasantha, K. (2011). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of young leaves and barks of *Acacia nilotica* (L.) Del. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 160-164.
- [14]. Thabrew, M. I., Joice, P., & Rajatissa, W. (1987). A comparative study of the efficacy of *Pavetta indica* and *Osbeckia octandra* in the treatment of liver dysfunction. *Planta Medica*, 53(03), 239-241.
- [15]. Onu, A., Saidu, Y., Ladan, M. J., Bilbis, L. S., Aliero, A. A., & Sahabi, S. M. (2013). Effect of aqueous stem bark extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical, haematological, and histopathological parameters of rats. *Journal of Toxicology*, 2013, 1-9.
- [16]. Kannan, N., Sakthivel, K. M., & Guruvayoorappan, C. (2013). Protective effect of *Acacia nilotica* L. against acetaminophen-induced hepatocellular damage in wistar rats. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2013, 1-9.
- [17]. Koriem, K. M., Farrag, A. R. H., Badawy, M. A., & El-Toumy, S. A. (2009). Role of some Egyptian medicinal plants against liver and kidney toxicity induced by cadmium chloride. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 19(8), 524-534

Contribution à l'évaluation quantitative de l'influence de la fructification sur la composition chimique des familles de terpénoïdes de l'huile essentielle de feuilles de *Dacryodes edulis* (Agboville-côte d'ivoire)

Wognin Esse Leon^{1*}, Konan Yao Marius², Kambiré Didjour Albert³, Acafou Yapi Thierry², Boti Jean Brice², Soro Yaya¹, Touré Kidjegbo Augustin⁴, Tomi Félix⁵ et Tonzibo Zanahi Felix²

¹ Groupe de recherche Chimie de l'Eau et des Substances Naturelles, Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Chimie Organique Biologique, UFR-SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny, BPV 34 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³ UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Péléforo Gon Coulibaly, Korhogo BP 1328, Côte d'Ivoire.

⁴ Laboratoire des Mathématiques et des Nouvelles Technologies de l'Information, Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

⁵ Université de Corse-CNRS, UMR 6134 SPE, Equipe Chimie ET Biomasse Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France.

* esse.wognin@inphb.ci

Résumé : Les composants aromatiques d'une plante varient en fonction de la diversité. Ces différences modifient les propriétés chimiques de l'huile essentielle (HE). Cette variabilité chimique est due aussi au cycle végétatif. Cependant, la plupart des études restent qualitatives. Nous souhaitons évaluer le taux d'impact de la fructification sur l'HE des feuilles de *Dacryodes edulis* afin de valoriser la plante. Pour ce faire, des arbres ont été étiquetés, certains "arbre avec fruits : AAF" et d'autres "arbre sans fruits : ASF". Ces échantillons ont été soumis à des analyses CG-SM et RMN-¹³C. L'AFDM a permis de dégager trois groupes, tous les constituants chimiques étant répartis dans la famille des terpénoïdes. Seulement 80% d'AAF ont leur caractère AAF, et 66,67% d'ASF sont restés ASF. Enfin, il existe un caractère hybride avec 20 % d'AAF et 33,33 % d'ASF. Le premier groupe est principalement dominé par les monoterpènes hydrogénés, et secondairement par d'autres composés. Le troisième groupe est dominé d'abord par des sesquiterpènes hydrogénés, puis par des monoterpènes hydrogénés. Ainsi, le taux d'impact des fruits est de 20 %. Il reste à évaluer l'influence sur les propriétés biologiques et thérapeutiques de l'HE extraite des feuilles de *Dacryodes edulis*.

Mots Clés : taux; huile essentielle; feuille; *Dacryodes edulis*

Contribution to the quantitative evaluation of the influence of fruiting on the chemical composition of terpenoid families in the essential oil of *Dacryodes edulis* leaves (Agboville, Côte d'Ivoire)

Abstract: The aromatic components of a plant vary according to its diversity [1,2]. These differences modify the chemical properties of the essential oil (EO) [1]. This chemical variability is also due to the vegetative cycle [1,3,4]. However, most studies remain qualitative [3,4]. We aim to evaluate the impact of fruiting on the EO of *Dacryodes edulis* leaves, in order to enhance the value of the plant. To this end, trees were labelled, some "tree with fruit: AAF" and others "tree without fruit: ASF". These samples were subjected to GC-MS and ¹³C-NMR analysis. AFDM identified three groups, with all chemical constituents distributed within the terpenoid family. Only 80% of AAFs have their AAF character, and 66.67% of ASFs remain ASFs. Finally, there is a hybrid character with 20% AAF and 33.33% ASF. The first group is mainly dominated by hydrogenated monoterpenes, and secondarily by other compounds. The third group is dominated first by hydrogenated sesquiterpenes, then by hydrogenated monoterpenes. Fruit thus has a 20% impact rate. The influence of EO extracted from *Dacryodes edulis* leaves on its biological and therapeutic properties remains to be assessed.

Keywords: rate; essential oil; leaf; *Dacryodes edulis*

1. Introduction

Les composants aromatiques d'une plante ne sont pas immuables, ils varient en fonction de la diversité [1]. Ces différences peuvent être très importantes et modifier les propriétés chimiques, biologiques ou thérapeutiques de l'huile essentielle ; c'est pourquoi les chémotypes doivent être bien connus du praticien [1,2]. Cette variabilité chimique est intra- ou inter-espèces et peut être qualitative ou quantitative [1,3-8]. Cette variabilité chimique est observée dans les huiles essentielles de certaines plantes au cours des différents stades de leur croissance [1]. De nombreuses études ont donc été menées pour mettre en évidence l'influence du cycle végétatif sur la composition chimique des huiles essentielles [1,3-8]. Cependant, la plupart des études restent qualitatives [1,3-9]. Nous souhaitons évaluer l'impact de la fructification sur l'huile essentielle des feuilles de *dacryodes edullis*, afin de valoriser le safoutier. Pour ce faire, nous avons sélectionné des arbres particuliers, certains ne portant que des feuilles et d'autres portant à la fois des feuilles et des fruits. Des échantillons d'huile essentielle de feuilles ont été étiquetés "avec fruits" et "sans fruits". Ces échantillons ont été soumis à des analyses chromatographiques et spectroscopiques (CG-SM et RMN-¹³C). Nous souhaitons mettre en évidence l'influence de ce facteur en proposant une classification possible entre les HE provenant d'arbres avec fruits et celles provenant d'arbres sans

fruits. Nous validerons ensuite les hypothèses de variabilité chimique à l'aide de l'Analyse Factorielle des Données Multidimensionnelles (AFDM) et de la Classification Hiérarchique Ascendante (CAH).

2. Matériel et méthodes

Le safoutier ou *Dacryodes edulis* appartient à la famille des Burséracées. Il est originaire d'Afrique équatoriale et tropicale [10-14], et plus particulièrement du Golfe de Guinée (Nigeria, Cameroun, Gabon, Congo, Zaïre, etc.). Son aire de répartition actuelle s'étend de l'océan Atlantique à l'ouest (Sierra Leone à l'Angola), à l'Ouganda à l'est. En Côte d'Ivoire, les premières plantations de safoutiers ont été créées dans la région d'Azaguié-Brida, avant d'être popularisées dans la région de l'Agneby-Tiassa (capitale : Agboville). Le safoutier (*Dacryodes edulis*) est un bel arbre au tronc très droit et au port étalé, atteignant 8 à 12 m de haut, et parfois 20 à 25 m en forêt dense. Ses feuilles sont composées et imparipennées, avec des folioles oblongues, lancéolées, acuminées, glabres et très brillantes sur la face supérieure. Les inflorescences sont des panicules axillaires. Les fleurs sont brun foncé avec des pétales jaunes [13]. Le matériel végétal, composé de safou, de feuilles, a été collecté à GRAND MORIE, un village situé à une dizaine de kilomètres de la ville d'Agboville. Onze (11) échantillons de feuilles provenant de onze plantes distinctes, de texture et de taille différentes. Sur les 11 échantillons d'OE de feuilles, cinq (05) des arbres dont les feuilles ont été récoltées ont porté des fruits, tandis que les six (06) autres n'en ont pas porté. Les premiers ont été étiquetés "Arbre Avec Fruit : AAF" et les autres "Arbre Sans Fruit : ASF".

L'extraction des différentes huiles essentielles des espèces végétales étudiées a été réalisée à l'aide d'un appareil de type Clevenger pendant trois heures. L'HE est récupérée et séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis la masse est déterminée pour calculer le rendement. Les échantillons d'HE sont ensuite conservés au réfrigérateur, à l'abri de la lumière.

L'analyse GPC des échantillons HE a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Clarus 500 équipé d'un injecteur séparateur, de deux colonnes capillaires apolaires BP-1 (polydiméthylsiloxane) et polaires BP-20 (polyéthylène glycol) en silice fondue (50 m x 0,22 mm, épaisseur du film 0,25 μm) et de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID). La température du four est programmée de 60 à 220°C (80 min) à 2°C/min, puis maintenue isotherme à 220°C pendant 20 min ; Température de l'injecteur : 250°C ; Température du détecteur : 250°C ; Gaz vecteur : dihydrogène (H_2) (1,0 ml/min) ; Split : 1/60. Les indices de rétention (I_r) sont déterminés par rapport aux temps de rétention (T_r) pour une série de n-alcanes (C_7 - C_{28}) par interpolation linéaire (logiciel Perkin-Elmer "Target Compounds"). Les proportions relatives (en pourcentage) des constituants de l'échantillon sont obtenues par normalisation de la surface des pics sans utilisation de facteurs de correction.

Les HE sont analysées avec un spectromètre de masse Perkin Elmer Clarus SQ8S Turbo (quadripôle), directement couplé à un chromatographe Perkin Elmer Autosystem Clarus 580, équipé d'un injecteur automatique et de deux colonnes capillaires en silice fondue (50 x 0,22 mm épaisseur de film 0,25 μm), BP-1 (polydiméthylsiloxane) et BP-20 (polyéthylène glycol). Le gaz vecteur est de l'hélium (He) à un débit de 0,8 mL/min. L'injection est réalisée en mode fractionné avec un rapport de fractionnement de 1/60. La quantité d'échantillon injectée est de 0,5 μL . La température de l'injecteur est de 250°C, la température du four est programmée de 60°C à 220°C (80 min) avec un gradient de 2°C/min puis maintenue à une valeur isotherme pendant 20 min. La température de la source d'ions est de 250°C. L'ionisation moléculaire est réalisée en bombardant les molécules avec un faisceau d'électrons d'une énergie de 70 eV. Les spectres de masse par impact électronique sont acquis dans la gamme de masse 40-400 Da.

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AVANCE 400, 9,4 Tesla, fonctionnant à 100,623 MHz pour le carbone-13. Les spectres ont été enregistrés avec une sonde de 5 mm. Le solvant était du chloroforme deutéré (CDCl_3) additionné de tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en parties par million (ppm, échelle δ) par rapport au TMS pris comme référence interne.

Les constituants chimiques identifiés par SM et RMN- ^{13}C sont repérés sur le chromatogramme par leurs indices de rétention, sur les colonnes polaires et apolaires, ce qui permet de les quantifier. Les teneurs sont extraites de la colonne apolaire, sauf dans le cas des composés présentant des coélutions sur la colonne apolaire, pour lesquels les teneurs sont extraites de la colonne polaire.

Toutes les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel R (R Core Team, 2022) [15]. Sur la base des résultats des analyses chromatographiques et spectroscopiques, nous avons réalisé une analyse factorielle des données multidimensionnelles, sorte de combinaison de l'ACP (Analyse en Composantes Principales) et de la CAH (Classification Ascendante Hiérarchique).

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats : Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles de *Dacryode edulis* a été étudiée par une combinaison de méthodes chromatographiques (CG (Ir)) et spectroscopiques (CG-SM et RMN-¹³C). Elle a permis d'identifier 102 constituants représentant 93,4 % à 99,9 % de la composition chimique totale, selon les échantillons. Ces constituants chimiques sont regroupés dans les familles biochimiques terpénoïdes des terpènes hydrogénés, des terpènes oxygénés, des séquiterpènes hydrogénés, des sesquiterpènes oxygénés et d'autres composés. Les compositions chimiques de l'HE des échantillons de *Dacryodes edulis* sont présentées dans le tableau 1.

Tableau I : Composition chimique des familles de terpénoïdes de l'huile essentielle :

	Monoterpènes hydrogénés	Monoterpènes oxygénés	Sesquiterpènes hydrogénés	Sesquiterpènes oxygénés	Autres composés
AAF1	43,6	11,2	37,6	1	4,2
AAF2	44	7,2	33,9	2	9,7
AAF3	40	11,1	30,1	3,7	10,6
ASF4	34	8,3	40	4	9,2
AAF5	58,7	8,6	13,7	1,7	12,5
ASF6	45,5	2,3	31	2,3	12,3
ASF7	40,8	3,6	38,8	2,4	10,1
ASF8	54,6	13,8	25,8	1,2	3,2
AAF9	65,1	2,8	23,2	0,6	5,4
ASF10	36,1	3,3	49,1	1,8	7,5
ASF11	65,5	2	25,6	2,2	1,6

3.2. Discussion

Les huiles essentielles de feuilles sont dominées par les monoterpènes hydrogénés (34,0-65,5%), suivis dans des proportions similaires par les sesquiterpènes hydrogénés (13,7-49,1%), les monoterpènes oxygénés (2,0-13,8%), les autres composés (1,6-12,5%) et les sesquiterpènes oxygénés (0,6-4,0%) (Tableau 1).

Nous avons soumis les résultats des profils chromatographiques et spectroscopiques avec des outils qui ont un pouvoir descriptif et discriminant sur des données quantitatives et/ou qualitatives : il s'agit de l'Analyse Factorielle Multidimensionnelle des Données (AFMD), une combinaison de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) et de la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).

La figure 1 montre trois groupes (clusters), au lieu des deux attendus. Ces groupes sont obtenus par ressemblance de leurs compositions chimiques. Le groupe 1 (ou cluster 1) est une combinaison d'un cinquième d'AAF et de deux sixièmes ou d'un tiers d'ASF. Le groupe 2 (ou cluster 2) est constitué uniquement de quatre cinquièmes d'AAF. Le groupe 3 (ou cluster 3) est également constitué de quatre-sixièmes ou de deux tiers d'ASF. Ces résultats montrent que, seulement 80% des échantillons d'AAF ont leur caractère intrinsèque associé à l'AAF. D'autre part, seuls 66,67% des échantillons ASF portent leur caractère intrinsèque ASF. En outre, il existe un caractère hybride composé de 20 % d'AAF et de 33,33 % d'ASF.

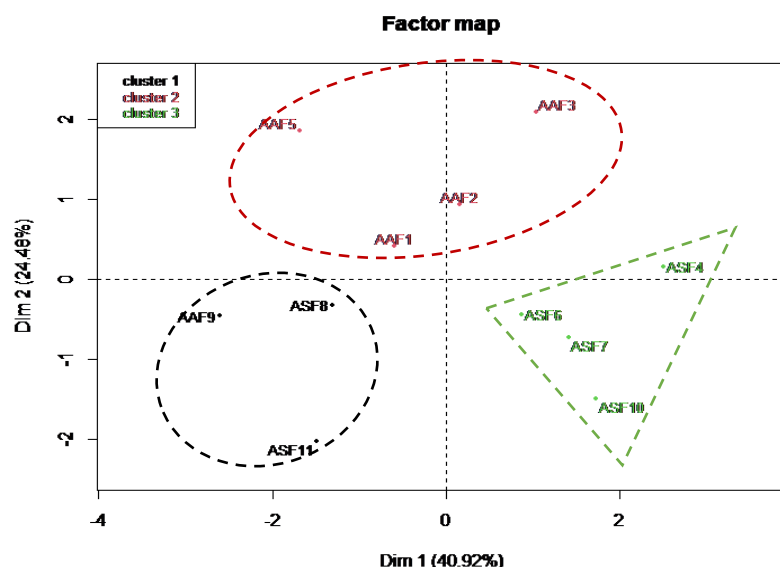


Figure 1 : Les onze échantillons d'huile essentielle de feuilles "Arbre Avec Fruit (AAF) et Arbre Sans Fruit (ASF)" projetés dans le premier plan factoriel de l'AFDM (ACP) : ces projections sont faites dans le but de regrouper les échantillons qui ont des compositions chimiques semblables, et subdivisés en trois groupes (clusters)

L'indépendance de ces groupes est validée par le résultat de la CAH présenté par la figure 2.

Hierarchical clustering on the factor map

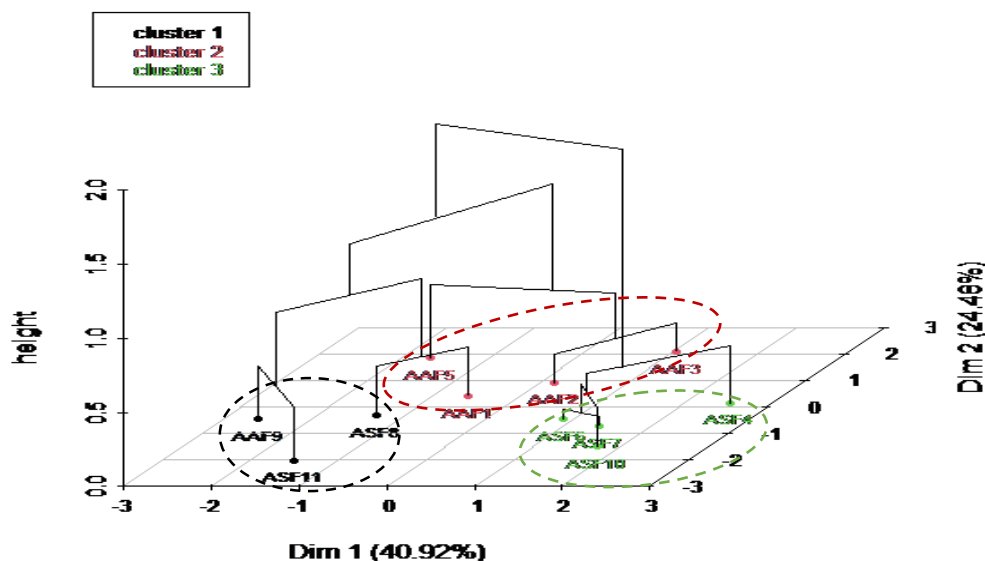


Figure 2 : Dendrogramme des onze échantillons d'huile essentielle de feuilles "Arbre Avec Fruit (AAF) et Arbre Sans Fruit (ASF)" projeté dans le premier plan factoriel de l'AFDM et subdivisé en clusters : la CAH valide l'hypothèse de la réduction du polymorphisme chimique en trois clusters

De cette étude, il ressort l'existence de trois caractères chimiques différents dont les échantillons moyens ont les compositions chimiques présentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 2). L'échantillon « ASF », qui est l'échantillon de référence, possède les mêmes teneurs de monoterpène et de sesquiterpène hydrogénés. Comparativement, l'échantillon « AAF » s'appauvrit en sesquiterpène hydrogéné et s'enrichit en monoterpènes hydrogéné et oxygéné. Ainsi, la présence de fruits sur le safoutier modifie globalement la composition chimique de l'HE distillée des feuilles. En outre, elle permet de créer un caractère chimique hybride dans lequel « les autres composés » s'appauvrissent encore au profit des monoterpènes hydrogénés.

Tableau II : Comparaison des compositions chimiques des échantillons des trois clusters

Clusters	Cluster 1 (ASF+AAF)	Cluster 2 (AAF)	Cluster 3 (ASF)

Terpénoïdes	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min
Monoterpènes hydrogénés	65,5	61,73	54,6	58,7	46,575	40	45,5	39,1	34
Monoterpènes oxygénés	13,8	6,2	2	11,2	9,525	7,2	8,3	4,375	2,3
Sesquiterpènes hydrogénés	25,8	24,87	23,2	37,6	28,825	13,7	49,1	39,725	31
Sesquiterpènes oxygénés	2,2	1,33	0,6	3,7	2,1	1	4	2,625	1,8
Autres composés	5,4	3,4	1,6	12,5	9,25	4,2	12,3	9,775	7,5

4. Conclusion

Pour étudier l'influence de la fructification sur l'huile essentielle des feuilles de *Dacryodes edulis*, nous avons choisi onze arbres dont six portent des fruits. L'analyse statistique appliquée aux compositions chromatographiques et spectroscopiques a permis de dégager trois groupes chimiques, tous les constituants chimiques étant répartis dans la famille des terpénoïdes. Nous avons obtenu les résultats suivants.

La présence de fruits de safoutier modifie les propriétés terpénoïdes de l'huile essentielle extraite des feuilles. Seulement 80% des échantillons d'AAF ont leur caractère intrinsèque associé à l'AAF. D'autre part, seuls 66,67% des échantillons ASF portent leur caractère intrinsèque ASF. En outre, il existe un caractère hybride composé de 20 % d'AAF et de 33,33 % d'ASF. Ainsi, le taux d'impact des fruits est de 20 %. Un contenu chimique des caractères est associé aux trois groupes. Le groupe 1 est principalement caractérisé par les monoterpènes hydrogénés, et les autres composés. Le contenu chimique associé au groupe est caractérisé par les monoterpènes hydrogéné et oxygéné. Le cluster 3, quant à lui, est caractérisé par les sesquiterpènes hydrogénés, et par les monoterpènes hydrogénés.

Il reste à voir comment ces caractéristiques chimiques, dues à la présence de fruits, pourraient avoir un impact sur les propriétés biologiques et thérapeutiques de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Dacryodes edulis*.

5. Bibliographie

- [1]. Franchomme, P. ; Jollois, R. et Pénéol, D. ; (2001), l'aromathérapie exactement Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle, ISBN: 2-87819-001-7, Editions Roger Jollois.
- [2]. Koudou J. ; Edou P. ; Obame L.C. ; Bassole I.H. et Figueredo G. (2008), Applied Sci. . 8. 3532-3535
- [3]. Wognin E.L., Brou A.F., Yapi T.A., Touré K. A., Tomi F. et Tonzibo Z. F. (2015). African Journal of Pure and Applied Chemistry. Vol. 9(2). pp. 18-26. February.
- [4]. Affia B.F., Wognin E.L. et Tonzibo Z.F. (2015), IJPSR; Vol. 6(5): 2214-2222.
- [5]. Boti J.B., Yao A.P., Koukoua G., N'Guessan Y.T. et Casanova J. (2006a), Flavour Fragr J vol. 21. p. 166-170.
- [6]. Boti J.B., Yao A.P., Tomi F., Koukoua G., N'Guessan Y.T. et Casanova J. (2007). Flavour Fragr J. vol. 22. p. 27-31.
- [7]. Yapi T.A., Boti J.B., Ahibo A.C., Bighelli A., Casanova J. et Tomi F. (2013). lavour Fragr J. vol. 28. p. 373-379.
- [8]. Ouattara Z.A., Boti J.B., Ahibo A.C., Casanova J., Tomi F. et Bighelli A. (2013). Phytochemical analysis. vol. 24. p. 574-580.
- [9]. Tonzibo Z.F., Koffi A.M., E. Léon Wognin. G. Bedi. J. C. Chalchat (2013). American Journal of Analytical Chemistry. 4.77-82.
- [10]. Adrians L (1943). Bulletin de //NEAC
- [11]. Troupin G (1950). Bull Soc R Bot Belg 83. 111-123
- [12]. Aubreville A (1962). Paris. France. Muséum national d'histoire naturelle. laboratoire de phanérogamie
- [13]. Bourdeau J (1971). Fruits 26 (10). 663-666
- [14]. Kengue J. Le safoutier (*Dacryodes edulis* (G Don) HJ am). Yaoundé. Cameroun. université du Cameroun. Thèse de Doctorat 3ème cycle. 154 p. 1990.
- [15]. R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Effet des alcaloïdes totaux de *Detarium microcarpum* (Guill et Perr) récolté au Mali sur les microtubules

Niaboula DEMBELE^{1*}, Mamadou BADIAGA¹, Salimatou CISSE², Mody CISSE³ Aimé SOMBORO², Nah TRAORE¹, Peter NICK⁴

¹Institut des Sciences Appliquées, USTTB, Mali

²Faculté des Sciences et Techniques, USTTB, Mali

³Faculté de Pharmacie, USTTB, Mali

⁴Institut de Technologies de Karlsruhe, KIT, Allemagne

*Email auteur correspondant : d.niaboula@gmail.com

Résumé

Detarium microcarpum, est une espèce confinée aux régions plus sèches d'Afrique occidentale et centrale utilisée pour traiter diverses pathologies dont le cancer. Le screening phytochimique a révélé la présence des métabolites secondaires dont les alcaloïdes. L'objectif était d'étudier l'effet des alcaloïdes totaux des racines de *D. microcarpum* sur les microtubules des lignées cellulaires végétales BY-2, TuA3-GFP et TuA3-GFP + IAA. Les extraits ont été incubés avec les lignées cellulaires pendant 2h puis visualisés au microscope à disque rotatif. Les alcaloïdes totaux à des concentrations de 0,05 et 0,1 mg/mL n'ont pas d'effet sur les microtubules. Les images des cellules traitées à des concentrations de 0,5 et 1 mg/mL montrent que les cellules sont en grande partie mortes. Cependant, certaines cellules vivantes BY-2 TuA3-GFP ont également montré des microtubules détruits comme celles des cellules traitées avec des fractions concentrées à 1 mg/mL. Les extraits alcaloïdiques ont conduit aux vacuolisation, dissolution et apoptose des cellules. Cette étude a démontré que les extraits alcaloïdiques de *D. microcarpum* possèdent des effets sur les microtubules des lignées cellulaires étudiées. Des recherches plus approfondies pourraient déterminer si les cellules sont affectées par la destruction des microtubules. En perspective, les microtubules des cellules animales seront étudiés.

Mots clés : *Detarium microcarpum*, Microtubules, Cancer, Mali

Effect of total alkaloids from *Detarium microcarpum* (Guill and Perr) harvested in Mali on microtubules

Abstract

Detarium microcarpum, is a species confined to drier regions of west and central Africa used to treat various diseases including cancer. Phytochemical screening revealed the presence of secondary metabolites (alkaloids). The objective was to study the effect of total alkaloids from *D. microcarpum* roots on microtubules of plant cell lines BY-2, TuA3-GFP and TuA3-GFP + IAA. The extracts were incubated with the cell lines for 2 h and then visualized under a rotating disk microscope. Total alkaloids at concentrations of 0.05 and 0.1 mg/mL have no effect on microtubules. Images of cells treated at concentrations of 0.5 and 1 mg/mL show that the cells are largely dead. However, some live BY-2 TuA3-GFP cells also showed destroyed microtubules like those in cells treated with fractions concentrated at 1 mg/mL. The alkaloidal extracts led to vacuolation, dissolution and apoptosis of cells. This study demonstrated that alkaloidal extracts of *D. microcarpum* have effects on the microtubules of the cell lines studied. Further research could determine whether cells are affected by microtubule destruction. In perspective, the microtubules of animal cells will be studied.

Keywords: *Detarium microcarpum*, Microtubules, Cancer, Mali

1. Introduction

Les plantes médicinales sont très bénéfiques et sont depuis longtemps économiquement indispensables. Elles contiennent des composés actifs utilisés pour guérir, soulager ou prévenir de nombreuses maladies humaines (Sary et Hans, 1998). La situation actuelle en Afrique et dans le monde représente évidemment un défi à notre capacité de repenser à d'autres traitements du cancer à partir des plantes médicinales, non seulement en raison de la richesse de la flore africaine qui reste très peu exploitée mais aussi du fait que de nombreux traitements efficaces contre le cancer ont été obtenus à partir de composés d'origine naturelle. Malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles restent le principal fournisseur de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. En dépit des nombreuses études menées sur *D. microcarpum*, aucun travail n'a été réalisé sur l'extraction des alcaloïdes des écorces de cette plante en vue d'évaluer sa potentielle activité anticancéreuse. Tous les organes de cette plante sont utilisés par les praticiens traditionnels pour traiter plusieurs maladies humaines dont le cancer, en Afrique de l'Ouest (Habibou *et al.*, 2022).

D. microcarpum appartient à la famille botanique des Fabaceae (Hassanin *et al.*, 2019) et est un petit arbre vivace principalement rencontré dans les régions les plus sèches de l'Afrique occidentale et centrale. Son habitat typique est la savane et est donc répandu dans les pays au sud du Sahara. L'arbre peut atteindre une hauteur de 10 m et possède un système racinaire horizontal. L'écorce, les feuilles et les racines ainsi que les fruits sont inclus dans le traitement de diverses maladies telles que la tuberculose, les rhumatismes, les maladies sexuellement

transmissibles, infections génito-urinaires, hémorroïdes, caries dentaires, douleurs abdominales, vers intestinaux ainsi que les Diarrhée, dysenterie, paludisme, lèpre, syphilis et impuissance. De plus, une décoction des écorces est utilisée pour soigner les maux de tête, les maux de gorge, les maux de dos et les règles douloureuses (AGBO *et al.*, 2017). Au Mali l'écorce est également utilisée pour traiter la rougeole, les démangeaisons, l'hypertension artérielle et la fatigue et une décoction de feuilles ou de racine sont utilisés pour la paralysie, la méningite, fatigue, crampes et difficultés à l'accouchement. De plus, le fruit de *D. microcarpum* est comestible et riche en vitamine C (Hassan *et al.*, 2010). Elle est aussi un traitement contre le paludisme. Au Burkina Faso, la pulpe est utilisée pour soigner les infections cutanées et utilisé au Nigeria pour les étourdissements (Kouyaté, 2005). Le screening phytochimique a révélé la présence des métabolites secondaires dont les alcaloïdes (Dembelé *et al.*, 2022)

Le but de ce travail est d'étudier les différents effets des extraits aqueux et fractions d'alcaloïdes de *D. microcarpum* sur les microtubules corticaux. Les microtubules sont des constituants essentiels de l'architecture dynamique de la cellule (Gigant *et al.*, 2005). Dans la cellule, la dynamique d'assemblage et de désassemblage de la tubuline en microtubules est contrôlée par de nombreuses protéines endogènes. Elle peut aussi être perturbée par des composés pharmacologiques exogènes qui, en affectant la formation du fuseau mitotique, arrêtent la division cellulaire et conduisent à l'apoptose.

2. Matériel et méthodes

Les feuilles, écorces et racines totales de *D. microcarpum* Guill. & Perr. ont été collectés à Tabarako (région de Sikasso) et Bougoula (région de Sanankoroba), entre octobre et novembre 2018. Ces sites ont été sélectionnés pour les critères suivants : (1) Utilisation de *D. microcarpum* dans la pratique médicale locale. (2) Conditions climatiques contrastées entre les sites. Sikasso se caractérise par une pluviométrie suffisante pendant la saison des pluies avec une végétation allant des savanes boisées aux forêts galeries. En revanche, à Sanankoroba, les pluies tombent de manière irrégulière. (3) Abondance de *D. microcarpum*, (4) faible niveau de pollution environnementale. Le matériel a été authentifié par le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) sur la base des caractères morphologiques des feuilles qui sont conservés à l'Institut National de Santé Publique (INSP) de Bamako (Mali) sous le numéro d'enregistrement 3053/DMT.

2.1. Extractions des alcaloïdes

Les alcaloïdes totaux ont été extraits avec un solvant non polaire en milieu alcalin. Le matériel végétal sec pulvérisé est macéré dans un solvant organique apolaire (cyclohexane) pendant 24 h. le filtrat obtenu est éliminé et le matériel végétal est séché et humecté avec une solution aqueuse alcaline, l'ammoniaque NH_4OH à 35% afin de déplacer les alcaloïdes de leur forme saline à leur forme basique. Le méthanol est ajouté afin d'extraire les alcaloïdes. Le mélange est mis sous agitation pendant 48h. Le chloroforme est ajouté au filtrat obtenu avec pour but de dissoudre les alcaloïdes "base". La phase organique contenant les alcaloïdes "base" est partiellement concentrée par distillation sous pression réduite à l'évaporateur rotatif et le concentré obtenu est extrait par une solution d'acide chlorhydrique à 5% afin de ramener les alcaloïdes sous forme de sels dissolvables dans la phase aqueuse acide qui est mis sous agitation pendant 24 heures. La solution aqueuse acide contenant les alcaloïdes sous forme de chlorures est alcalinisée avec du NaOH (1M) et nous procédons à un épuisement par un solvant organique non miscible pour récupérer les alcaloïdes sous forme "base". Le solvant organique contenant les « alcaloïdes bases » est séché sur Na_2SO_4 (ou MgSO_4) puis filtré et évaporé sous pression réduite par un évaporateur rotatif. On obtient alors un résidu d'alcaloïdes bruts constitué d'Alcaloïdes Totaux (AT).

2.2. Culture et traitement des cellules du tabac

L'étude a été menée avec des cellules en suspension de *Nicotiana tabacum* L. cv. qui est une lignée cellulaire de tabac 'Bright Yellow 2' (BY-2) GFP-TuA3 exprimant une fusion N-terminale de GFP [Green Fluorescent Protein] avec la tubuline sous le contrôle du promoteur CaMV 35S (Kumagai *et al.*, 2001) dans un milieu Murashige-Skoog modifié. Une lignée de culture cellulaire avec 5 μM d'acétate d'indole (IAA) a également été cultivée. Ces lignées étaient mises en place tous les 14 jours dans le milieu LM enrichi en kanamycine (25 mg/l) sous agitation à 150 tr/min à 26°C dans l'obscurité. Afin de déterminer l'effet des extraits d'alcaloïdes totaux obtenus à partir des feuilles, écorces et racines échantillonnées à Sanankoroba et Sikasso sur les lignées cellulaires, 5 μl des extraits dissous dans du DMSO (0,5 mg/ml et 1 mg/ml) ont été ajoutés à 100 μl de cellules et incubés pendant 2 heures. Des aliquotes des cellules traitées ont ensuite été observées au microscope à disque tournant. 10 μM d'oryzaline a été utilisé comme contrôle positif pour la désintégration des microtubules.

2.3. Analyse dose-réponse

L'analyse dose-réponse est menée pour déterminer les effets des alcaloïdes totaux extraits des racines récoltées à Sanankoroba. Différentes concentrations [0,05, 0,1, 0,5 et 1 mg/mL] ont été étudiées sur les microtubules des cellules TuA3-GFP et TuA3-GFP + IAA pour ce test. A 100 μ L de cellules, ont été ajoutés 5 μ L des extraits d'alcaloïdes. Chaque échantillon est laissé incubé pendant 2 h. Les cellules sont observées au microscope à disque tournant. Pour vérifier l'intégrité des microtubules corticaux *in vivo*, le logiciel ImageJ a été utilisé.

3. Résultats et discussion

3.1. Screening des extraits d'alcaloïdes totaux

Nous avons étudié les effets de tous les extraits d'alcaloïdes des feuilles, écorces et racines de *D. microcarpum* récoltées sur les sites de Sikasso et Sanankoroba sur les microtubules. 5 μ L de chaque échantillon ont été ajoutés à 100 μ L de chacune des lignées cellulaires TuA3-GFP et TuA3-GFP + IAA. Après 2 h d'incubation, les cellules ont été observées au microscope à disque tournant.

α -Tubulin-GFP BY-2

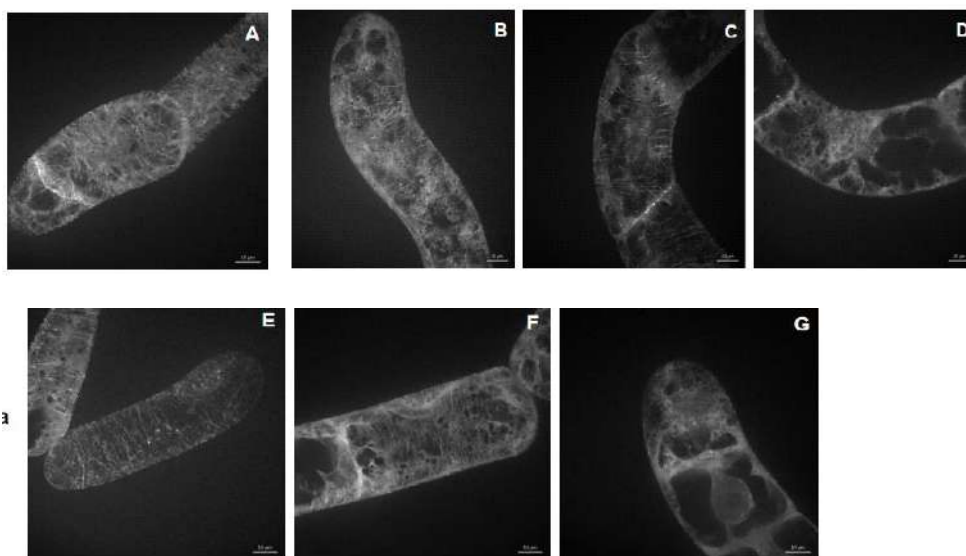


Fig.2 : Comparaison des microtubules corticaux dans les cellules BY-2 α -tubuline-GFP après ajout de fractions alcaloïdes. Les images ont été capturées à l'aide du microscope à fluorescence inversée Zeiss. **A.** Le contrôle sans ajout d'alcaloïdes, ainsi que les images des cellules après 2 h d'incubation avec des fractions d'alcaloïdes provenant de l'écorce, des feuilles et des racines. de *D. microcarpum* des sites de Sikasso et Sanankoroba à 0,05 mg/mL. **B. C** Échelle : 10 μ m

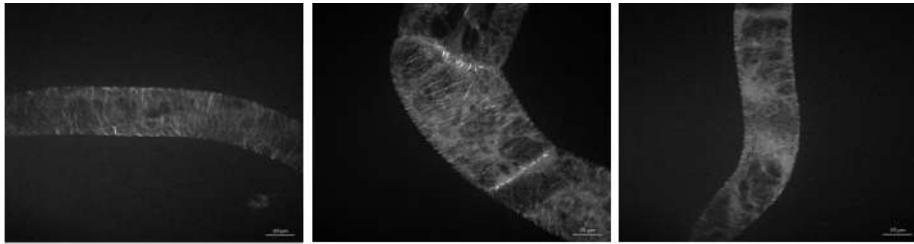
Après avoir ajouté 5 μ L d'échantillons de fraction d'alcaloïdes concentrée à 1 mg/mL pour un temps d'incubation de 2 heures, nous avons remarqué que la majorité des cellules étaient mortes, c'est pourquoi nous avons décidé de travailler avec une concentration plus faible de 0,05 mg/mL. La lignée cellulaire TuA3-GFP à laquelle IAA a été ajouté n'a pas été examinée pour ce screening. Nous pouvons voir un changement dans les enregistrements D, F et G. La structure des microtubules est modifiée comparativement au contrôle. De par son effet remarquable sur les microtubules corticaux que l'échantillon des racines de *D. microcarpum* du site de Sanankoroba, a été choisi pour effectuer un test afin déterminer une relation dose-réponse.

3.2. Test dose-réponse

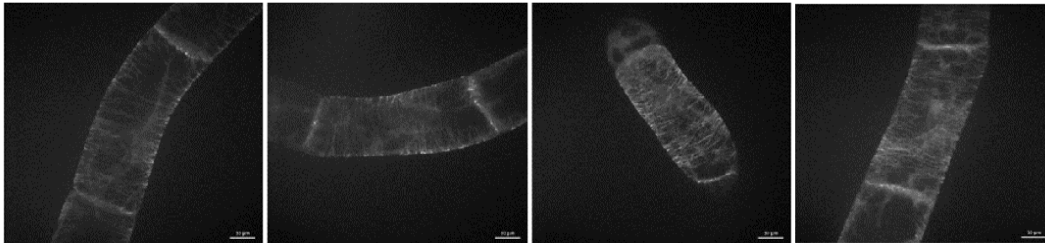
L'analyse dose-réponse est menée pour déterminer la dose de la substance d'intérêt qui devrait être efficace pour déclencher un certain effet. Dans ce cas, nous examinons jusqu'à quelle dose les extraits d'alcaloïdes totaux ont un effet sur les microtubules des cellules BY-2 TuA3-GFP. Pour ce test, les extraits d'alcaloïde ont été obtenus à partir des racines de *D. microcarpum* du site de Sanankoroba à des concentrations suivantes : 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL et 1 mg/mL.

α -Tubuline-GFP BY-2

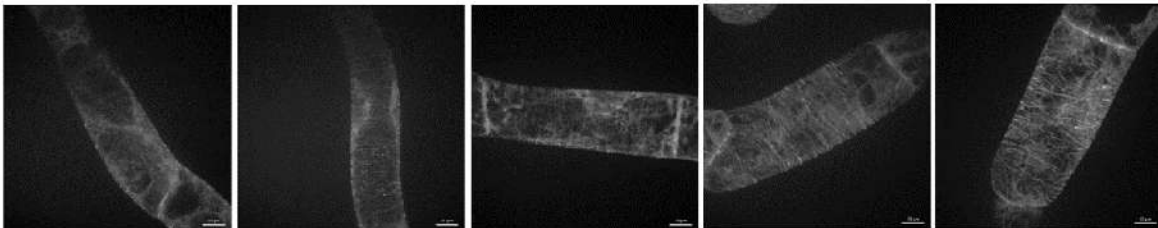
Contrôle :



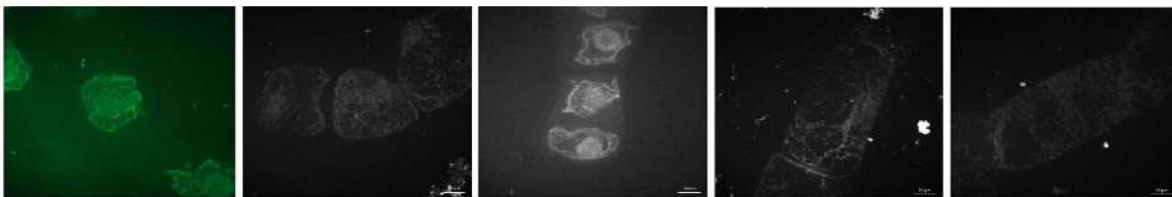
0,05 mg/mL



0,1 mg/mL



0,5 mg/mL



1 mg/mL

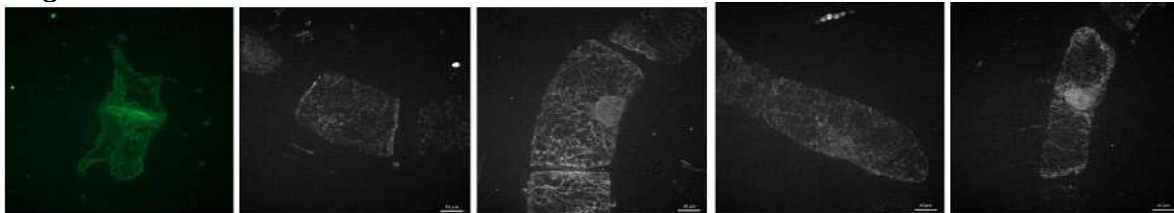
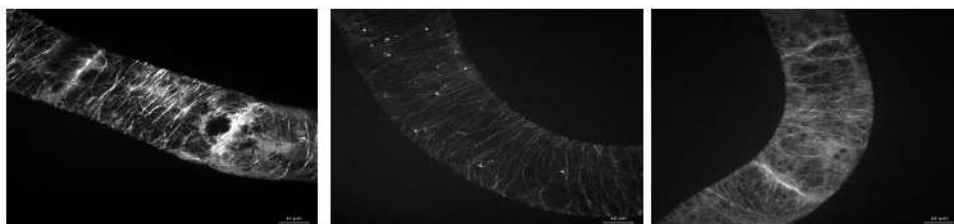


Fig. 3 : Comparaison des microtubules corticaux dans les cellules BY-2 TuA3-GFP après ajout de fractions alcaloïdes. Les photos étaient enregistrées avec le microscope à fluorescence inversée Zeiss. Sont présentés les contrôles sans ajout d'alcaloïdes, ainsi que les images des cellules après 2 h d'incubation avec 5 μ l de fractions alcaloïdes de la racine de *D. microcarpum* de Sanan Koroba. Des fractions alcaloïdes avec des concentrations de 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml et 1 mg/ml ont été ajoutées. Échelle : 10 μ m

α -Tubulin-GFP BY-2 + IAA

Contrôle:



0,05 mg/mL

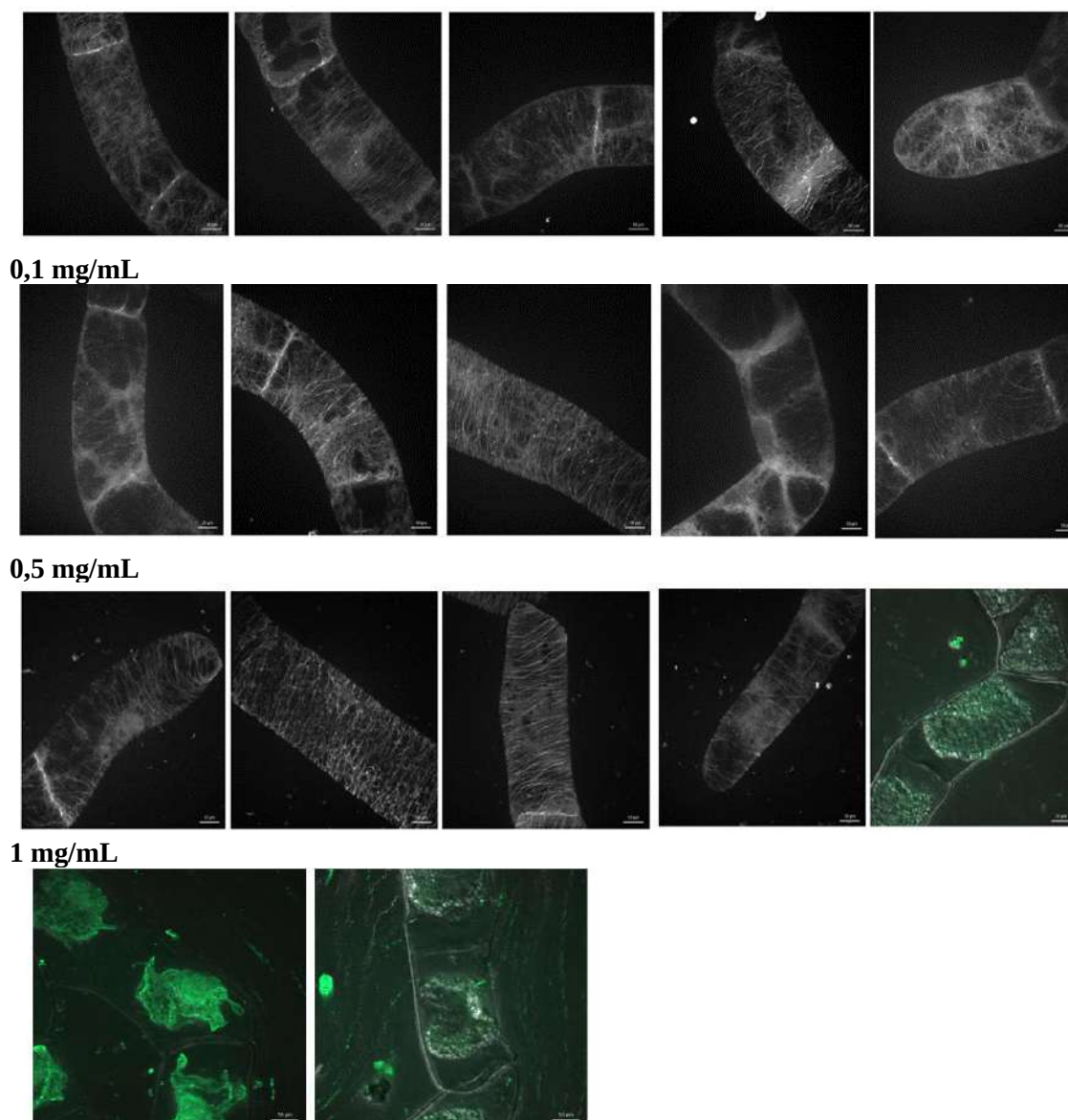


Fig. 4 : Comparaison des microtubules corticaux dans les cellules BY-2 TuA3-GFP + IAA après ajout de fractions alcaloïdes.

Les images ont été enregistrés à l'aide du microscope à fluorescence inversée Zeiss. Le contrôle est illustré sans l'ajout d'alcaloïdes, ainsi que les images des cellules après 2 h d'incubation avec 5 μ L de fractions alcaloïdes de racine de *D.microcarpum* du site de Sanankoroba. Des fractions alcaloïdes avec des concentrations de 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL et 1 mg/mL ont été ajoutées. Échelle : 10 μ m

Notons que les extraits d'alcaloïdes à des concentrations de 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL n'ont pas d'influence significative sur les microtubules tant avec les cellules qu'avec TuA3-GFP + IAA. Par rapport aux contrôles non traités, nous remarquons également dans les cellules traitées, des microtubules intacts dans leur disposition caractéristique (Fig. 3+4). Les images des cellules traitées avec des extraits d'alcaloïde à des concentrations de 0,5 et 1 mg/mL montrent, en grande partie des cellules mortes. Cependant, ce qui est frappant, d'une part, nous retrouvons des cellules encore vivantes possédant toujours des microtubules intacts. Alors que d'autre part, d'autres cellules BY-2 TuA3-GFP vivantes montrent des microtubules détruits comme ceux des cellules traitées avec des extraits concentrés à 1 mg/mL.

L'ajout de l'IAA aux cellules BY-2 TuA3-GFP n'a pas d'influence significative sur les effets des extraits d'alcaloïdes sur les microtubules.

Les images des cellules traitées avec l'extrait concentré de racine de *D. microcarpum* de Sanankoroba à 0,5 mg/mL montrent un changement dans la disposition des microtubules dans les cellules par rapport aux témoins.

Les microtubules ont d'une part perdu leur intégrité et leur disposition « parallèle » caractéristique dans la cellule. Les cellules traitées avec des extraits concentrés à 1 mg/ml étaient pour la plupart mortes.

Dans cette étude, nous avons mené un screening avec les extraits d'alcaloïdes issus des feuilles, écorces et racines de *D. microcarpum* de Sikasso et Sanankoroba sur les cellules BY-2 TuA3-GFP afin d'examiner les microtubules. A cet effet, 5 µL de chaque échantillon ont été ajoutés à 100 µL de cellules transgéniques TuA3-GFP et laisser incubé pendant 2 h. Les microtubules ont été visualisés au microscope à disque tournant. Suite au résultat obtenu lors du screening, un test dose-réponse a été réalisé. Il a été constaté que les extraits d'alcaloïdes avaient des effets sur les microtubules. L'ajout d'extraits d'alcaloïdes totaux concentrés de 0,5 mg/mL a même conduit à la mort cellulaire. Des alcaloïdes extraits de plantes sont également connus pour leur effet sur des microtubules. Pour citer les exemples les plus connus : la colchicine, un alcaloïde du colchique d'automne, inhibe la polymérisation de la tubuline, bloquant ainsi la division cellulaire et certaines fonctions leucocytaires (CRAT, 2024). Notons également les alcaloïdes de Vinca, la vinblastine et la vincristine, qui proviennent des feuilles de *Vinca rosea* (*Catharanthus roseus*). Ces composés ont été utilisés avec succès depuis plusieurs dizaines d'années pour traiter certains cancers. Bien que l'on sache depuis longtemps que la vinblastine cible la tubuline, son site de fixation était inconnu et son mécanisme d'action largement incompris (Gigant *et al.*, 2005). L'effet le plus prononcé a pu être observé avec l'extrait d'alcaloïdes totaux des racines de *D. microcarpum* récoltées sur le site de Sanankoroba, nous avons, ainsi décidé de continuer à travailler sur cet échantillon. Il faut cependant admettre qu'en raison du grand nombre d'échantillons, seul un enregistrement par approche a été effectué. Afin d'obtenir une impression meilleure et plus précise lors du prochain screening, plusieurs images doivent être prises par échantillon.

L'analyse dose-réponse a indiqué que les concentrations de 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL n'avaient eu aucun effet significatif sur les microtubules. Cependant, les extraits les plus concentrés de 0,5 mg/ml et 1 mg/ml ont entraîné la mort cellulaire. Mais si nous observons les cellules encore vivantes, nous remarquons que les microtubules de ces cellules sont encore bien intacts. Des recherches plus approfondies pourraient déterminer si les cellules meurent parce que les microtubules sont affectés, ou en raison d'autres effets causés par les alcaloïdes. Les alcaloïdes ont un certain nombre d'autres mécanismes d'action sur les cellules. Par exemple, les alcaloïdes peuvent s'insérer dans l'ADN cellulaire, provoquant une modification de la structure, ce qui conduit à la perturbation de la transcription de certains gènes et les conséquences qui en résultent sont une erreur de la synthèse des protéines correspondantes (Faddeeva et Beliaeva 1997 ; Maiti 2001). De plus, ils sont capables d'inhiber la synthèse de la choline estérase et de l'ATP mitochondriale (Ulrichová *et al.* 1983 ; Singh et Sharma 2018, Somboro, 2010).

4. Conclusion

A l'issue de cette étude, les résultats obtenus ont démontré que les extraits alcaloïdiques de *D. microcarpum* possèdent des effets sur les microtubules des lignées cellulaires transgéniques TuA3-GFP. Il a été constaté que les extraits d'alcaloïdes totaux des racines de *D. microcarpum* du site de Sanankoroba avait plus d'effet sur les lignées cellulaires BY-2 TuA3-GFP et TuA3-GFP + IAA. Ces extraits ont conduit à la vacuolisation, à la dissolution et à l'apoptose des cellules. Des recherches plus approfondies pourraient déterminer si cette mort cellulaire est due à la destruction des microtubules. En perspective, les microtubules des cellules animales seront étudiés.

5. Bibliographie

- AGBO, I R, A A MISSIHOUN, R VIHOTOGBE, E A ASSOGBADJO, C AHANHANZO, et C AGBANGLA. 2017. « Impacts des usages traditionnels sur la vulnérabilité de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. (Caesalpinaceae) dans le district phytogéographique Zou au Bénin (en Afrique de l'Ouest) ». *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11 (2): 730-42.
- CRAT, Centre de référence des agents tératogènes (CRAT) 2024. En ligne <http://www.sistepaca.org/popup/centre-de-r%C3%A9f%C3%A9rence-des-agents-t%C3%A9ratog%C3%A8nes-crat>
- Dembele, Niaboula, A. Somboro A., Badiaga M., Cisse S., Cisse M., Togola I., Nick P., et Traore N. 2022. « Ethnobotanical survey and phytochemical screening of aqueous extracts from *Detarium microcarpum* Guill. Perr in Mali ». *Journal of Medicinal Plants Research* 16 (10): 280-87. <https://doi.org/10.5897/JMPR2022.7256>.
- Faddeeva, M. D.; Beliaeva, T. N. (1997): Sangvinarin i elliptitsin: tsitotoksicheskie alkaloidy, vydelennye iz izvestnykh protivopukhlevykh rastenii, i vnutrikletchnye misheni ikh deistviia. In: Tsitologiya 39 (2-3), S. 181–208

- Gigant, B, C Wang, R Ravelli, et M Knossow,. 2005. « Bases structurales de la régulation de la tubuline par un médicament anticancéreux, la vinblastine ». *Medecine Sciences* 10 (21): 814-15.
- Habibou, Hama Hamadou, Mahamane Idi Issa Abdoulahi, Chaibou Moctar, Chaibou Ousmane Zakari, Hama Garba Rahila, et Ikhiri Khalid. 2022. « Phytochemistry and pharmacology activities of *Detarium microcarpum* (Fabaceae) used in the treatment of parasitic diseases in Niger: A review ». *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 11 (2): 60-67. <https://doi.org/10.22271/phyto.2022.v11.i2a.14377>.
- Hassanin, Hinawi A.M., Marwa Koko, Mohammed Abdalla, Wanmeng Mu, et Bo Jiang. 2019. « *Detarium Microcarpum*: A Novel Source of Nutrition and Medicine: A Review ». *Food Chemistry* 274 (février): 900-906. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.070>.
- Kouyaté. 2005. « Aspects ethnobotaniques et étude de la variabilité morphologique, biochimique et phénologique de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. au Mali ». Université de Gand, Belgique. 207.
- Maiti, M. (2001): Molecular aspects on the interaction of sanguinarine with B-form, Z-form and HLform DNA structures. In: 0975-0959. Online <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/19793>.
- Singh, Nitika; Sharma, Bechan (2018): Toxicological Effects of Berberine and Sanguinarine. In: *Front. Mol. Biosci.* 5, S. 21. DOI: 10.3389/fmolb.2018.00021.
- Somboro, Aimé Ainin. 2010. "CONTRIBUTION A L'ÉTUDE ETHNOBOTANIQUE, PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES D'UNE PLANTE MÉDICINALE MALIENNE : *Guiera Senegalensis* J. F. Gmel (COMBRETACEAE).
- Sary F., Hans S (1998). The National guides to medical herbs and plants. Tiger Books. Int. Plc. U
- Ulrichová, J.; Walterová, D.; Preininger, V.; Slavík, J.; Lenfeld, J.; Cushman, M.; Simánek, V. (1983): Inhibition of acetylcholinesterase activity by some isoquinoline alkaloids. In: *Planta Med* 48 (2), S. 111–115. DOI: 10.1055/s-2007-969901.

Etude phytochimique et toxicité de l'extrait hydroéthanolique de feuilles de *Dichapetalum guineense* (DC.) Keay

Kodjo Selom Evenamede¹, Kokou Idoh², Komi Michael Fulbert Adanlemegbe¹, Essowè Badanèzi Potcho¹, Kafui Kpegba¹, Agbonon Amegnona²

1 : Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat), Faculté des Sciences, Université de Lomé,

2 : Laboratoire de Physiologie/pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé-Togo.

*Auteur correspondant : E-mail : ev_selom@yahoo.fr

Résumé :

Cette étude vise à réaliser le screening phytochimique et à évaluer la toxicité de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Dichapetalum guineense*. L'étude phytochimique a été effectuée grâce aux tests de coloration et de précipitation. Pour l'étude de la toxicité aiguë, une dose unique de 5000 mg/kg de l'extrait a été administrée à des rats Wistar sains par voie orale. Pour l'étude de la toxicité subchronique, des doses de 300 et 600 mg/kg ont été administrées quotidiennement aux rats mâles et femelles pendant 28 jours. Les analyses hématologiques, biochimiques et les coupes histologiques des organes internes sont réalisées après les traitements. Les résultats montrent la présence de divers métabolites secondaires dans l'extrait, avec une absence notable d'alcaloïdes. À la dose unique de 5000 mg/kg, aucun effet toxique n'est observé, avec une DL₅₀ supérieure à 5000 mg/kg. Les doses répétées de 300 et 600 mg/kg n'ont pas entraîné de changements significatifs dans les poids relatifs des organes ou dans la plupart des paramètres biochimiques et hématologiques, à l'exception d'une augmentation significative de la glycémie à la dose de 600 mg/kg. En conclusion, l'extrait hydroéthanolique de *D. guineense* semble sûr à la dose thérapeutique. Une étude supplémentaire serait nécessaire pour identifier ou isoler le composé responsable de l'hyperglycémie observée.

Mots clés : *Dichapetalum guineense*, phytochimie, extrait hydroéthanolique, toxicité.

Phytochemical study and toxicological assessment of hydroethanolic extract of *Dichapetalum guineense* (DC.) keay leaves

Abstract

The aim of this study was to carry out phytochemical screening and assess the toxicity of the hydroethanolic extract of *Dichapetalum guineense* leaves. The phytochemical study was carried out using staining and precipitation tests. For the acute toxicity study, a single dose of 5000 mg/kg of the extract was administered orally to healthy Wistar rats. For the subchronic toxicity study, doses of 300 and 600 mg/kg were administered daily to male and female rats for 28 days. Haematological and biochemical analyses and histological observations of the internal organs were carried out after the treatments. The results showed the presence of various secondary metabolites in the extract, with a notable absence of alkaloids. At the single dose of 5000 mg/kg, no toxic effects were observed, with an LD₅₀ greater than 5000 mg/kg. Repeated doses of 300 and 600 mg/kg did not result in significant changes in relative organ weights or in most biochemical and haematological parameters, with the exception of a significant increase in blood glucose at 600 mg/kg. In conclusion, the hydroethanol extract of *D. guineense* appears to be safe at therapeutic dose. Further study would be required to identify or isolate the compound responsible for the hyperglycaemia observed.

Keywords: *Dichapetalum guineense*, phytochemistry, hydroethanolic extract, toxicity.

1. Introduction

Les plantes médicinales et leurs différents extraits contiennent des métabolites secondaires responsables de leur propriétés thérapeutiques utiles dans le traitement des maladies. Bien que les soins de santé à base de plantes soient considérés comme sûrs, certains sont connus pour être toxiques à fortes doses et d'autres peuvent avoir un effet négatif potentiel après une utilisation prolongée. En effet, plusieurs études réalisées sur les traitements traditionnels à base de plantes ont fait état de problème de toxicité ou d'interaction pouvant causer des échecs thérapeutiques ou des accidents [1, 2].

Il a été rapporté à titre d'exemple que *Ephedra sinica*, une plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour ses propriétés cardiovasculaires a été interdite en Europe. En effet, elle a entraîné de nombreux cas d'accidents cardiovasculaires, d'accidents vasculaires cérébraux et des troubles psychiatriques pendant son utilisation pour la perte de poids [3, 4]. De plus, les cas d'intoxications par *Callilepis laureola*, une plante utilisée dans le traitement traditionnel des troubles digestifs et l'infertilité largement répandue en Afrique du Sud, ont été signalés. Cette plante a provoqué beaucoup de décès dans la population. En effet, elle a été incriminée, dans la survenue de troubles cardio-vasculaires et d'hépatite avec une nécrose hépatocellulaire majeure lors des autopsies de plus de 1500 personnes décédées dans la province du Kwazulu-Natal [5, 6].

Dichapetalum guineense. (Caesalpiniaceae ; synonyme : *Dichapetalum madagascariense*) est une plante tropicale répandue en Afrique de l'Ouest (Ghana, Togo, Bénin,...). Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle

dans le traitement de plusieurs maladies telles que le paludisme [7] et l'hypertension [8]. Elle est également utilisée pour soigner le diabète chez les femmes enceintes au Bénin et l'hypertension [9]. Par ailleurs une molécule nommée Dichapétain A a été isolée de la racine de la plante au Ghana par Achenbach et collaborateurs [10].

Malgré son utilisation répandue, peu de données toxicologiques sont disponibles concernant la sécurité d'une exposition répétée aux feuilles de *D. guineense*. Dans le cadre d'une évaluation de la sécurité de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *D. guineense*, des études phytochimique et toxicologique ont donc été réalisées pour étudier sa toxicité potentielle après une administration orale unique et répétée pendant 28 jours chez des rats Wistar.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal

La plante (*Dichapetalum guineense*) a été collectée en mars 2023 à Lomé (Togo). L'authentification botanique a été confirmée au Département de Botanique, Université de Lomé, où un spécimen de coupon de *D. guineense* a été déposé à l'herbier de la flore Togolaise.

2.2. Screening phytochimique

Nous avons déterminé les grands groupes chimiques de la plante (poudre de feuilles) par une étude basée sur des tests de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation ainsi que par des examens en lumière ultra violette [11].

2.3. Préparation des extraits bruts

La poudre issue de l'extrait de *D. guineense* (100 g) a été versée à température ambiante dans un litre du mélange éthanol-eau (70/30 ; v/v) pendant 72 h, en remuant à intervalles de temps réguliers. Le mélange résultant a été filtré et le filtrat a été concentré par évaporation du mélange éthanol-eau à 40°C sous pression réduite en utilisant un évaporateur rotatif (BUCHI, Suisse).

2.4. Animaux

Des rats Wistar sains des deux sexes pesants entre 130 et 150 g ont été obtenus du laboratoire de physiologie animal de l'Université de Lomé. Ces rats ont été utilisés pour l'étude des toxicités aiguë et sous-chronique. Ils ont été divisés en trois (3) groupes de 5 rats par groupe. Chaque groupe contenait trois (3) rats mâles et deux (2) femelles. Les animaux ont été logés dans une pièce et maintenus dans les conditions environnementales standards du cycle 12/12 h lumière/obscurité. Ils ont été logés dans des cages et ont été nourris régulièrement. L'expérience a été effectuée conformément aux lignes directrices établies par l'OCDE (2002) [12].

2.5. Toxicité aiguë

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait des feuilles de *D. guineense* a été réalisée selon la directive 423 de l'organisation pour la coopération économique et le développement (OCDE, 2002)[12].

2.6. Toxicité subchronique

Pour étudier la toxicité subchronique par voie orale des extraits de l'extrait des feuilles de *D. guineense*, le protocole de l'OCDE (2008)[13].

2.7. Dosage des paramètres hématologiques

Les échantillons de sang prélevés dans les tubes contenant un anticoagulant (EDTA) ont été immédiatement utilisés pour déterminer les taux de globules blancs (GB), des globules rouges (GR), d'hémoglobine (Hb), de plaquettes et d'hématocrite (HCT), le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH). Ces paramètres hématologiques ont été déterminés en utilisant un analyseur automatique d'hématologie (Mindray BC-2800, Chine).

2.8. Dosage des paramètres biochimiques

Les échantillons de sang dans les tubes sans anticoagulant ont été centrifugés à 3000 trs/min pendant 10 min. Les sérums recueillis, conservés à -20 °C, ont servi à doser les enzymes telles que les transaminases (alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase d'aspartate (ASAT)), la phosphatase alcaline (PAL), les

protéines totales (PT), la bilirubine totale (BT), le cholestérol total et les triglycérides comme des indicateurs biochimiques de dommage et/ou du dysfonctionnement du foie. Le dysfonctionnement du rein a été évalué au niveau du sang par le dosage du taux de créatinine et de l'urée. Le taux de glucose a été dosé pour évaluer la fonction pancréatique. Les Kits pour le diagnostic standard procurés chez Human GmbH, D-65205 (Wiesbaden, Allemagne) ont été utilisés pour la détermination spectrophotométrique des paramètres biochimiques.

2.9. Coupes histologiques

Après le sacrifice des rats, les organes (cœur, foie, reins, poumons) ont été prélevés, lavés avec de l'eau physiologique, et conservé dans le formol à 10%. Un examen macroscopique des organes est effectué, avant leur fixation, pour noter tout changement de couleur ou de forme des organes.

2.10. Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel GraphPad[®] Prism 8.4.3 Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM). L'étude statistique a été effectuée par une analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Tukey pour évaluer les différences significatives entre les groupes. Les valeurs sont considérées comme significativement différentes lorsque $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Screening phytochimique

L'étude phytochimique réalisée a montré que l'extrait des feuilles de *Dichapetalum guineense* de la flore togolaise contient des grands groupes chimiques à savoir : des flavonoïdes, anthraquinones, tanins, composés réducteurs, les mucilages, les terpènes, les saponosides et les coumarines. Cependant les tests n'ont pas révélé la présence des alcaloïdes, anthocyanes et quinones libres dans l'extrait (Tableau 1).

La richesse de l'espèce *D. guineense* en ces métabolites secondaires actifs pourrait alors expliquer l'utilisation traditionnelle de cette plante pour traiter de nombreuses maladies telles que le paludisme [7] et le diabète chez les femmes enceintes [14]. Par ailleurs d'autres auteurs ont aussi montré dans leur étude que les différents types de composés chimiques mis en évidence dans l'extrait hydroéthanolique de cette plante ont des effets thérapeutiques avérés [15, 16]. En comparant nos résultats à ceux des travaux de Kakpo *et al.*, (2019), on constate qu'ils ont détecté la présence d'alcaloïdes dans les feuilles *D. guineense* tandis que les coumarines et les terpénoïdes y sont absents. Cette différence constatée serait due à la nature du sol, le climat et la période de récolte de la matière végétale [16].

Tableau 1 : Résultats de screening phytochimique des extraits hydroéthanolique et aqueux de *D. guineense*

Famille recherchée	Extrait Hydroéthanolique
Flavonoïdes	+
Alcaloïdes	-
Tanins	+
Terpénoïdes	+
Mucilages	+
Composés réducteurs	+
Saponosides	+
Coumarines	+
Anthraquinones	+
Anthocyanes	-
Quinones libres	-

(-) = Réaction négative

(+) = Réaction positive

3.2. Etude de la toxicité aiguë par voie orale

La dose de 5000 mg / kg n'a pas causé de mortalité ou de signes cliniques de toxicité aiguë chez les rats observés pendant une courte période de 48 heures et une longue période (14 jours). Aucune anomalie n'a été observée au niveau des organes lors de la nécropsie. Des études antérieures ont montré que tout produit dont la DL₅₀ est

supérieure à 5000 mg/kg par voie orale peut être considéré comme pratiquement non toxique [17]. La DL_{50} étant supérieure à 5000 mg/kg, alors ceci présage une sécurité d'emploi de l'extrait hydroéthanolique de *D. guineense*.

3.3. Étude de la toxicité orale subchronique de 28 jours

3.3.1. Comportement général et mortalité

L'administration orale par voie orale de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *D. guineense* (*D.* pendant 28 jours consécutifs n'a induit aucun symptôme évident de toxicité chez le rat, y compris pour la dose la plus élevée testée (600 mg / kg de poids corporel par jour). Aucune létalité n'a été enregistrée pendant les 28 jours de l'administration d'extrait. Aucune différence de comportement général, de consommation de nourriture et d'eau n'a été observée entre les groupes de rats.

3.3.2. Effet de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *D. guineense* sur le poids corporel des rats

A des doses de 300 mg / kg et de 600 mg / kg, l'extrait hydroéthanolique n'a pas d'effet significatif ($p < 0,05$) sur le poids corporel des rats traités (figure 1). Dans la première semaine, on note une augmentation remarquable du poids des rats quelle que soit la dose d'extrait administrée (300 mg/kg et 600 mg/kg). Il en est de même pour les rats n'ayant reçu que de l'eau distillée (témoins). A la fin du gavage, on constate qu'il n'y a pas de différence significative de poids entre les rats témoins et ceux ayant reçu les extraits de *D. guineense*. La réduction significative ou le changement du poids corporel est un indicateur sensible de toxicité après exposition aux substances toxiques (médicaments, substances bioactives)[18]. Dans cette étude, aucun changement significatif du poids corporel n'a été observé chez les rats des groupes traités par rapport à ceux du groupe témoin (figures 1) après un traitement quotidien durant 28 jours.

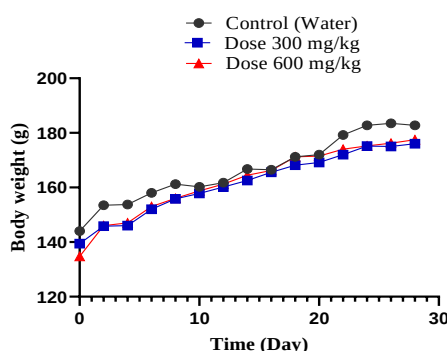


Figure 1 : Effets de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *D. guineense* sur l'évolution pondérale des rats

3.3.3. Effets de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Dichapetalum guineens* sur le poids relatif des organes

Le poids relatif d'un organe renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier. A la fin des quatre (4) semaines de traitement à l'extrait hydroéthanolique (EHE) de *D. guineense*, les poids relatifs des organes prélevés n'ont pas varié significativement ($P < 0,05$) par rapport à ceux des témoins (Tableau 2) et quelle que soit la dose administrée lors de l'expérimentation. Un changement significatif des poids relatifs des organes internes est un indicateur relativement sensible dans l'étude de toxicité après exposition aux substances bioactives [18-20]. Dans cette étude, on a constaté qu'il n'y a pas eu de changement significatif concernant le poids relatif des organes (le cœur, les reins, le foie, les poumons et la rate).

Tableau 2 : Effet de l'extrait hydroéthanolique (EHE) des feuilles de *D. guineense* sur le poids relatif des organes des rats

Organes	Témoins	Doses de l'EHE de <i>D. guineense</i>	
		300 mg/kg	600 mg/kg
Cœur	0,648 ± 0,031	0,583 ± 0,020	0,606 ± 0,044
Foie	6,422 ± 0,650	5,925 ± 0,521	5,505 ± 0,264
Rate	0,640 ± 0,053	0,618 ± 0,081	0,620 ± 0,068
Reins	0,998 ± 0,054	0,899 ± 0,023	0,949 ± 0,074

Poumons $1,111 \pm 0,078$ $1,080 \pm 0,11$ $1,067 \pm 0,089$

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM (n = 5) ; Pas de différence significative entre le groupe contrôle et les groupes traités ($P < 0,05$) ; (ANOVA one way suivi de test de comparaison multiple de Tukey).

3.3.4. Effet de l'extrait hydroéthanolique de feuilles de *Dichapetalum guineense* sur les paramètres biochimiques

Le tableau 3 présente les effets de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *D. guineense* (300 mg/kg et 600 mg/kg) sur les paramètres biochimiques chez les rats (mâles et femelles). Les résultats révèlent que l'administration orale de cet extrait pendant les 28 jours d'expérimentations n'a pas d'effet prononcé sur les paramètres biochimiques chez les rats à l'exception de la Glycémie et du Cholestérol total. Ces derniers ont diminué très significativement ($P < 0.05$) par rapport au contrôle à la dose de 600 mg/kg administrée aux animaux. Par contre le phosphatase alcaline (PAL) a subi une augmentation non significative ($P > 0.05$) par rapport au rat témoins selon la dose utilisée. Par ailleurs les paramètres tels que les Triglycérides, la Bilirubine totale et l'Urée ont subi une légère baisse non significative ($P > 0.05$) par rapport aux rats témoins quelle que soit la dose utilisée (300 mg/kg et 600 mg/kg) lors de l'expérimentation. Un dysfonctionnement rénal peut être évalué par des mesures simultanées de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique [21]. Dans cette étude, les changements (diminution non significative ($P > 0,05$)) des concentrations plasmatiques de l'urée des rats traités par l'extrait aux deux doses ne peuvent à eux seuls indiquer une altération de la fonction rénale puisque qu'aucune différence significative n'a été retrouvée entre le taux de créatinine des rats traités et celui des rats témoins. Par ailleurs, l'extrait a induit une hausse de la glycémie à la fin du traitement pour toutes les doses administrées. Cette augmentation de la glycémie est significative ($P < 0.001$) chez les rats traités à la dose de 600 mg/Kg. Ce résultat n'est pas en accord avec celui de Klotóé *et al.*, [14] qui ont montré la plante est utilisée dans le traitement du diabète chez les femmes enceintes au Bénin. Cette différence serait due au fait que notre extrait (espèce togolaise) est dépourvu d'alcaloïdes tandis que l'espèce béninoise en contient [22]. Il est montré que la présence d'alcaloïdes dans un extrait pourrait diminuer le taux de glucose sanguin [23]. Les changements non significatifs du niveau des ASAT et ALT observés montrent d'une part que l'extrait hydroéthanolique de *D. guineens* ne possède pas d'effet hépatotoxique et d'autre part, l'extrait n'a pas provoqué d'effets toxiques sur le tissu cardiaque (Tableau 2 et Figure 2).

Tableau 3 : Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Dichapetalum guineense* sur les paramètres biochimiques

Paramètres biochimiques	Témoins	Doses de l'EHE de <i>D. guineense</i>	
		Dose : 300 mg/kg	600 mg/kg
Triglycérides (g/L)	$0.572 \pm 0,079$	0.538 ± 0.123	0.485 ± 0.109
Glycémie (g/dl)	$0,600 \pm 0,062$	$0.740 \pm 0,026$	$0,823 \pm 0,020^{**}$
Cholestérol total	0.658 ± 0.031	0.682 ± 0.039	$0.510 \pm 0.024^{**}$
Protéines totales (g/l)	73.520 ± 1.661	73.960 ± 1.966	72.100 ± 0.609
Créatinine (mg/l)	$4.012 \pm 0,121$	$4,208 \pm 0,203$	$3.558 \pm 0,254$
Bilirubine totale	1.066 ± 0.124	0.962 ± 0.099	$0,865 \pm 0.102$
Bilirubine directe	0.836 ± 0.081	0.840 ± 0.081	0.765 ± 0.103
Urée	0.346 ± 0.116	0.320 ± 0.054	0.259 ± 0.038
ALT (UI/I)	45.180 ± 3.954	50.480 ± 7.345	39.650 ± 1.510
AST (UI/I)	168.700 ± 20.96	192.900 ± 16.110	165.100 ± 5.435
PAL (UI/I)	143.600 ± 6.323	144.700 ± 20.490	200.100 ± 19.700

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, n = 5 ; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ différence significative par rapport aux Témoins (ANOVA one way suivi de test de comparaison multiple de Tukey) ; ASAT : Aspartate Aminotransférase ; ALAT : Alanine aminotransférase ; PAL : Phosphatase Alcaline

3.3.5. Effet de l'extrait de *Dichapetalum guineense* sur les paramètres hématologiques chez les rats

L'analyse hématologique n'a montré aucune modification significative au niveau des paramètres hématologiques (Tableau 3). Les paramètres hématologiques donnent des informations sur les fonctions hématopoïétiques (évaluation de cellules de la lignée myéloïde) [24] ; les changements de ses paramètres hématologiques au niveau du contenu sanguin constituent une valeur prédictive pour la toxicité [18].

L'administration répétée de l'extrait aux différentes doses (300 mg / kg et 600 mg / kg) après 28 jours a montré une légère augmentation non significative ($p > 0,05$) de certains paramètres hématologiques (HGB, PLT, HTC et GB). Ce qui suggère un éventuel effet stimulateur des fonctions hématopoïétiques. Une analyse critique de ces

résultats suggère que l'extrait hydroéthanolique de *D. guineense* pourrait avoir un effet antipaludique comme l'indique les enquêtes ethnobotaniques réalisées au sein de la population togolaise [7]. En effet, une étude antérieure a montré que les plantes antipaludiques auraient un effet stimulateur sur le système hématopoïétique et immunitaire [25]. En plus une augmentation des globules blancs indique le renforcement de la défense de l'organisme [26]. En ce qui concerne les plaquettes (PLT) sanguines, ça concentration a augmenté non significativement ($P > 0,05$) à la dose de 300 mg / kg. Par contre elle a diminué significativement ($P < 0,05$) à la dose de 600 mg / kg par rapport au groupe témoin et au groupe ayant reçu la plus faible dose ($P < 0,01$). Les résultats obtenus sont disparates pour l'extrait hydroéthanolique de *D. guineense* et ne permettent pas de mener une discussion. Les résultats révèlent également une légère augmentation non significative ($P > 0,05$) des taux des globules rouges (GR) corrélée par une augmentation non significative ($P > 0,05$) des taux d'hémoglobine (HB) et d'hématocrites (HTC) pour toutes les doses administrées. Ces indices suggèrent que l'extrait n'est pas toxique pour les paramètres hématologiques. Les résultats obtenus dans cette étude, montrent que la plupart des paramètres hématologiques sont normaux pour les groupes traités avec l'extrait et quelle que soit la dose administrée.

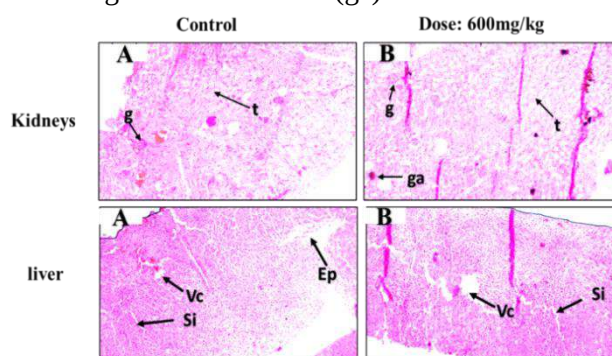
Tableau 4 : Effet de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *D. guineense* sur le taux des paramètres hématologiques

Paramètres sanguins	Témoins	Doses de l'EHF de <i>D. guineense</i>	
		300 mg/kg	600 mg/kg
Globules blancs ($10^9/L$)	13.270 $\pm$ 2.400	17.33 $\pm$ 2.835	16.28 $\pm$ 1.627
Globules rouges ($10^{12}/L$)	7.938 $\pm$ 0,520	8.232 $\pm$ 0,085	8,308 $\pm$ 0,120
Taux d'hémoglobine (g/dL)	14.240 $\pm$ 0.408	14.660 $\pm$ 0.294	14.50 $\pm$ 0,219
Hématocrite : HTC (%)	41.42 $\pm$ 1.216	42.88 $\pm$ 1.011	43.08 $\pm$ 0,737
VGM (fL)	52.74 $\pm$ 2.206	52.12 $\pm$ 1.359	51.68 $\pm$ 0.858
TCMH (pg)	18,14 $\pm$ 0.729	17.78 $\pm$ 0.404	17.66 $\pm$ 0.233
CCMH (g/dL)	34.38 $\pm$ 0.166	34.16 $\pm$ 0.116	33,58 $\pm$ 0.114
PLT ($10^3/\mu L$)	1022 $\pm$ 35.80	1118. $\pm$ 22.32	814 $\pm$ 68.45**

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ ESM, n = 5 ; *P < 0,05 ; **P < 0,01 (ANOVA one way suivi de test de comparaison multiple de Tukey) ; TH : taux d'hémoglobine ; HCT : taux d'hématocrite ; VGM : volume globulaire moyen ; TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; PLT : plaquette.

3.3.6. Histologie des organes des rats :

Les coupes (Figure 2) montrent une architecture normale du foie (une veine centrolobulaire et des hépatocytes bien distincts) et du rein. Aucun signe de toxicité au niveau tissulaire n'a été observé au niveau du foie. Dans le cas des reins on constate un glomérule anormal (ga).



g = glomerulus, ga = abnormal glomerulus, t = tubule, Vc = centrilobular vein, Ep = portal space, Si = sinusoids.

Figure 2: Histological sections of kidneys and liver

5. Conclusion

Les métabolites secondaires ont été mis en évidence dans l'extrait hydroéthanolique de *D. guineens* afin de contribuer à une meilleure valorisation de la plante. Par ailleurs l'extrait n'est pas toxique à la dose unique de

5000 mg/kg de poids corporel. Son seuil de toxicité indique que la toxicité est légère. En plus, il n'a pas induit véritablement de modifications par rapport aux paramètres biochimiques chez les rats traités. Ce qui rassure que l'extrait n'ait pas d'effet toxique sur le foie, les reins et le pancréas. Pour les paramètres hématologiques, l'extrait a induit une augmentation du taux de glycémie chez les animaux traités à différentes doses sur une longue durée. L'ensemble des résultats toxicologiques obtenus est en faveur d'une sécurité d'emploi modérée de l'extrait hydroéthanolique à la dose thérapeutique sur une courte et longue durée.

Références

- [1]. Salhi, S. ; Fadli. ; Zidane, L. et Douira, A. Mediterranean Botany. (2010) ; 31 :133.
- [2]. Falya, Y. ; Sumiwi, S.A. et Levita, J. Mini Review. IOSR-JPBS (2020) 15(2) :25-32.
- [3]. Gagnon, A. ; Groleau, P. ; Korsia-Meffre, S. ; Richez, F. et Senart, S. Le guide des plantes qui soignent. Issyles-Moulineaux : Vidal, 2010, p 465.
- [4]. Koudou, D.D. Durand & Schinz, une plante utilisée dans le traitement traditionnel du diabète en Côte d'Ivoire. Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire) ; Numero d'ordre 493 ; 2019.
- [5]. Peyrin-Biroulet, L. ; Barraud, H. ; Petit-Laurent, F. ; Ancel, D. ; Watelet, J. ; Chone, L. ; Hudziak, H. ; Bigard, M.A. et Bronowicki, J.P. Gastroentérologie clinique et biologique. (2004) 28(6-7); 540-550.
- [6]. Koudou, D.D. Durand & Schinz, une plante utilisée dans le traitement traditionnel du diabète en Côte d'Ivoire. Côte d'Ivoire : Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire) ; Numero d'ordre 493 ; 2019.
- [7]. Gbeassor, M. ; Kossou, Y. ; Amegbo, K. ; De Souza, C. ; Koumaglo, K. et Denke, A. Journal of ethnopharmacology. (1989) 25(1) ;115-118.
- [8]. Gbolade, A. Journal of ethnopharmacology. (2012) 144(1) ;1-10.
- [9]. Ali-Rachedi, F. ; Meraghni, S. ; Touaibia, N. et Mesbah, S. Bulletin de la société royale des sciences de liège 2018.
- [10]. Achenbach, H. ; Asunka, S. ; Waibel, R. ; Addae-Mensah, I. et Oppong I. Natural Product Letters (1995) 7(2) ; 93-100.
- [11]. Wuvi, K. ; Kpegba, K. ; Lawson, A.M, Evenamede, K.S. et Simalou, O. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry (2023) 12(5) ;194-201.
- [12]. OECD : Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD). Health Effects Test No. 423, Acute oral toxicity-acute toxic class method. In : OECD. Edited by Paris ; 2001 : 1-14.
- [13]. OECD. Repeated dose oral toxicity test method. In : OECD Guidelines for testing of chemicals, N° 407. Paris, France. In : Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). Edited by Paris. Paris, France ; 2008 : 1-13.
- [14]. L F, K.J. ; Dougnon, V. ; Koudokpon, H. ; Fanou, V.B.A. ; Dandjesso, C.F. L. Journal of Animal & Plant Sciences. (2013) 18(1) ; 2647-2658.
- [15]. Nene Bi, S.A. ; Traore, F. ; Zahoui, O. et Soro T. Revue Internationale des Sciences et Technologie. (2008) 4(2) :287-305.
- [16]. Evenamede, K.S. ; Kpegba, K. ; Simalou, O. ; Boyode, P. ; Agbonon, A. et Gbeassor M. International Journal of Biological and Chemical Sciences. (2017) 11(6) ; 2924-2935.
- [17]. Olela, B. ; Mbaria, J. ; Wachira, T. et Moriasi, G. Evid Based Complement Alternat Med. (2020) 2020 ;5651390.
- [18]. Ouedraogo, G.G. ; Ouedraogo, M. ; Lamien-Sanou, A. ; Lompo, M. ; Goumbri-Lompo, O.M. et Guissou, P.I. British Journal of Pharmacology and Toxicology. (2013) 4(5) ;194-200.
- [19]. Teo, S.K. ; Stirling, D.I. ; Thomas, S.D. ; Evans, M.G. et Khetani, V.D. International journal of toxicology. (2003) 22(3) ; 215-226.
- [20]. Célia, O. ; Hamida-Saida, C. ; Fella, H. ; Loubna, M. ; Samira, D. ; Rym, H. ; Nouria, N. et Fairouz, S. Rev Agrobiol. (2017) 7(2) :562-573.
- [21]. Krstic, D. ; Tomic, N. ; Radosavljevic, B. ; Avramovic N. ; Dragutinovic, V. ; Skodric, S.R. et Colovic M. Current medicinal chemistry. (2016) 23(19) :2018-2040.
- [22]. Kakpo, A.B. ; Yayi, E. ; Lenta, B.N. ; Assogba, F.M. ; Toclo, P.M. ; Boyom, F.F; Baba-Moussa, L. et Gbenou, J. International Journal of Innovation and Applied Studies. (2019) 25(3) ;1034-1047.
- [23]. Tédong, L. ; Djomeni, D. ; Dimo, T. ; Asongalem, A. ; Sokeng, S. ; Flejou, J. ; Callard, P. et Kamtchouing, P. Phytothérapie (2007) 5(4) :182-193.
- [24]. Morabandza, C.J. ; Gombe-Assoungou, H. ; Ondele, R. ; Miguel. ; Mokondjimobe, E. ; Ongoka P.R. et Abena A.A. Afrique Science. (2016) 12(5) :34-42.
- [25]. Koudouvo, K. ; Kavengue, A. ; Agbonon, A. ; Kodjo, M. ; Aklikokou. ; Kokou, K. ; Essien, K. et Gbeassor M. Revue Togolaise des sciences. (2006) 1(2) ;145-155.
- [26]. Son, C.G. ; Han, S.H. ; Cho J.H ; Shin, J.W. ; Cho C.H. ; Lee Y.W. et Cho, C.K. Acta Pharmacologica Sinica. (2003) 24(2) ;120-126.

Comprehension of the synthesis of poly(acrylic acid) gel containing *Adansonia digitata* plant extract

Amivi Edéfia AKPALO*, Abdou-Rachidou GAFFO

Département de Biochimie, Université de Lomé, BP 1515 Lomé, TOGO
Lab COSNat, Université de Lomé Faculté Des Sciences, BP1515, TOGO
*edefia@gmail.com

ABSTRACT

Background: Natural molecules and extracts have been loaded into biomaterials hydrogels depending on the characteristics of the natural molecules.

Objective: We propose to explain PAA gel containing *Adansonia digitata* plant extract dissolution and how CaCO₃ and KOH contribute to gelation.

Methods: Dissolved PAA3000 at 2.5% form a gel on which 2.5 g of extract was added. Either 10mL of CaCO₃ (100 mM) or 100 uL of KOH (1M) were added till the gelation. TLC analysis were done on plant extract. Acidity was determined and IR-ATR analysis were performed on gel containing or not plant extract.

Results: Identified phytochemicals belong to flavonoids, terpenes, tannins and coumarins groups. IR-ATR spectra showed that CaCO₃ obtained hydrogel, displayed more intensive alcohol –OH thanks to polyphenols addition and confirmed by aromatic C=C band. Vaterite peak becomes more intensive. For KOH obtained hydrogels, any characteristic peak of alcohol, acidic –OH nor ester C=O was present. Phenolic –OH and C=C groups characteristic peaks appear. Acidity decreased with extract.

Conclusion: The ideal hydrogel (pH=6.3) was obtained with KOH. In perspectives, we will study the K⁺ ions produced potassium salts –COOK and produced water molecules increase swelling.

Keywords: hydrogels, poly(acrylic acid), plant extract, gelation

RESUME

Contexte : Des biomatériaux hydrogels sont chargés de substances naturelles extraites de plantes en fonction de la nature de leurs molécules.

Objectif : Expliquer la dissolution des gels de PAA en présence d'extrait de la plante *Adansonia digitata* et la gélification avec le CaCO₃ et le KOH.

Méthodes : Du PAA3000 2,5% forme un gel. 2,5 g d'extrait y sont ajoutés puis du CaCO₃ ou du KOH jusqu'à l'obtention d'un gel. Des analyses CCM ont été réalisées sur l'extrait. L'acidité a été suivie et des analyses IR-ATR effectués.

Résultats : Les phytochimiques identifiés par CCM appartiennent à la famille des flavonoïdes, terpènes et tanins. Les spectres IR-ATR ont montré que l'hydrogel obtenu par addition de CaCO₃, présente des –OH dus à l'apport des polyphénols, confirmé par l'apparition de C=C aromatiques. Le pic caractéristique de la vaterite devient plus intense. Les spectres IR-ATR avec le KOH, ne présentaient plus les –OH alcool, –OH acide, ni C=O ester. Des fonctions –OH de même que des C=C de groupements phénols apparaissent. L'acidité diminue à l'ajout de l'extrait.

Conclusion : L'hydrogel idéal (pH =6.3) s'obtient avec le KOH. En perspectives nous étudierons le gonflement.

Mots clés : hydrogels, poly(acide acrylique), extrait de plantes, gélification

Introduction

Hydrogels are obtained via chemical crosslinkings or physical crosslinkings of functional groups within the hydrogel network. Hydrogels give rise to three-dimensional networks that can contain an important amount of aqueous solvents and biological fluids as entrapped molecules within their structures ¹ and due to the existence of a hydrophilic component. Depending on the variation of physical and chemical conditions (temperature, pH, ionic strength, molecular species), the polymer gels can discontinuously and reversibly change their volume ². Physical hydrogels result by ionic and physical interactions, such as hydrogen bonds, coordination bonds, electrostatic and hydrophobic interactions in certain conditions and physico-chemical interactions in another ones. By changing the temperature, pH, ionic strength or solvent composition, physical hydrogels form a homogeneous solution and re-gel when they return to their initial conditions, being reversible gels ³.

Carbopol, a poly(acrylic acid) is a high molecular weight polymer of acrylic acid ⁴. In fact, acrylic acid (AA) is deemed to form a super absorbent polymer which can absorb very large amount of water and retain it even under high pressure ⁵. Its uses are widespread in pharmaceutical formulations including gels, emulsions and suspensions ⁴. Among various polymers that are being studied, poly(acrylic acid) has received significant attention due to its tremendous applications in several fields, including biomedical ⁶. Calcium PAA has been used in various controlled drug delivery systems ⁵.

Natural molecules and extracts have been loaded into hydrogels using emulsion /*in situ* gelation, conjugation and soaking methods depending on the characteristics of the natural molecules ¹. Calcium carbonate is widely used

because of its excellent properties at the nanometer scale as a building filler and a drug carrier ⁷. Due to their good stability, biocompatibility and biodegradability, calcium carbonate can be used as drug or gene carrier in biomedical fields and substrate for the manufacturing of mixed materials with different functions ⁸.

Fatty acid potassium is a useful detergent for wound cleaning that does not interfere with wound healing, as noted in the scratch assay using human epidermal keratinocytes. As fatty acid potassium is a major component of natural soap, which is produced by natural oil and caustic potash using a saponification method, this may be clinically important for peri-wound skin cleaning. Potassium oleate (C18:1K), a type of fatty acid potassium and most representative ingredient in natural soap, exerts bactericidal effects against numerous species, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, and *Clostridium difficile* ⁹.

Based on the above literature reports and owing to the growing interest in the development of PAA-based materials, we herein project to explain poly(acrylic acid) gel containing *Adansonia digitata* plant extract dissolution and how carbonate calcium and hydroxyl potassium contribute to sol-gel transition.

Materials and methods

1- Plant extraction

Adansonia digitata trunk bark was collected in district of Lomé (Togo) in December 2022. *A. digitata* trunk barks were then cut into pieces, washed, dried under conditioning air, and reduced to powder before maceration. 400 g of *A. digitata* trunk bark powder was macerated in 4 L of a mixture of ethanol and water (80:20, v/v), at room temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), for 72 h. The obtained macerate was filtered, evaporated to dryness using a rotavapor (Buchi R- 210), and weighed to calculate the yield of the extraction.

2- Thin layer chromatography (TLC) on plant extracts

Thin layer chromatography (TLC) analysis were done on plant extract. The thin layer chromatographic analysis were carried out in normal phase on aluminum plates coated with a Kieselgel 60 F254 type silica gel. (Merck) 0.25 mm thick. The eluent is poured to a height of about 0.5 cm in an elution vessel hermetically sealed to saturation with steam. The samples were deposited on the TLC plate using a glass capillary pipette and the produced stain was dried rapidly between each application. The observation of TLC is first carried out under UV light at 254 nm by fluorescence quenching then at 366 nm and finally revealed by vanillin sulfuric acid, chloride aluminum, iron chloride and hydroxyl potassium spray followed by heating and/or UV light exposition.

3- Synthesis of poly(acrylic acid) materials with or without extract

PAA (molecular weight = 3000) was obtained from Sigma-Aldrich. Calcium carbonate and hydroxyl potassium were of analytical grade and used as received. Dissolved poly(acrylic acid) in distilled water at 2.5% form a homogenous gel on which, 0 or 2.5 g of extract was added. The polymeric dispersion was continuously stirred by a magnetic stirrer for one hour and the synthesis was performed at 50°C placing the glass flask in a water bath. Either calcium carbonate (100 mM) or alcohol potassium (1M) were incorporated in a drop-wise manner till the formation of gel. The pH was determined after each addition by using digital pH meter. pH of all formulations were noted in triplicate and result was the average of all triplicate readings.

4- IR-ATR analysis

IR-ATR analysis were performed on poly(acid acrylic) gel containing or not 2.5% of plant extract. Infrared spectra (IR-ATR) were recorded on a Thermoscientific Nicolet IS50-ATR. Chemical structure analysis of all samples were carried out over the range 500 to 4000cm^{-1} .

Results and discussion

1- Thin layer chromatography (TLC) analysis

Identified plant molecules belong to flavonoids, terpens and tanins groups. We used matching reference molecules which allowed us to confirm the extract molecules really belong to those groups of plant molecules. Then, our extract contains rutin as flavonoid, sitosterol and stigmasterol as terpens, gallic and tannic acid as tanins. We also identified methylated flavones molecules.

Analysing identified plant molecules structures (methyl groups, phenol rings and mainly alcohol and acidic $-\text{OH}$), we supposed that possible similar interactions like poly(acrylic acid) functions (carboxyl acid groups and methyl groups) occurring with water molecules, would be hydrophobic and van der Waals ones, especially hydrogen bonds establishment.

2- pH variations during synthesis process.

For 0.5 to 2.5% PAA3000 mixtures, acidity slowly decrease for pH=3.23 to pH=2.35 at the beginning of synthesis. Calcium carbonate (CaCO_3) addition increased those pH values but only 0.5%PAA3000 mixture reached pH=7 (Figure1). However, 2.5%PAA3000 mixture gave us a hydrogel. We decided then to continue our experimentations at this concentration.

The addition of the first milliliter of CaCO_3 to the reaction medium without extract, leaded us to a drastically drop of protons H^+ ($6.31.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) concentrations and then drastically drop of the acidity (Figure2).

Extract presence in the mixture leaded to a similar behavior or phenomenon. Following the addition of calcium carbonate, protons ions concentrations $[\text{H}^+]$ were ten (10) times divided ($2.69.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ to $3.85.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) and pH at the ends of synthesis were respectively 4.63 and 4.11 for extract free and extract added hydrogel-like materials (Table1 and Table2).

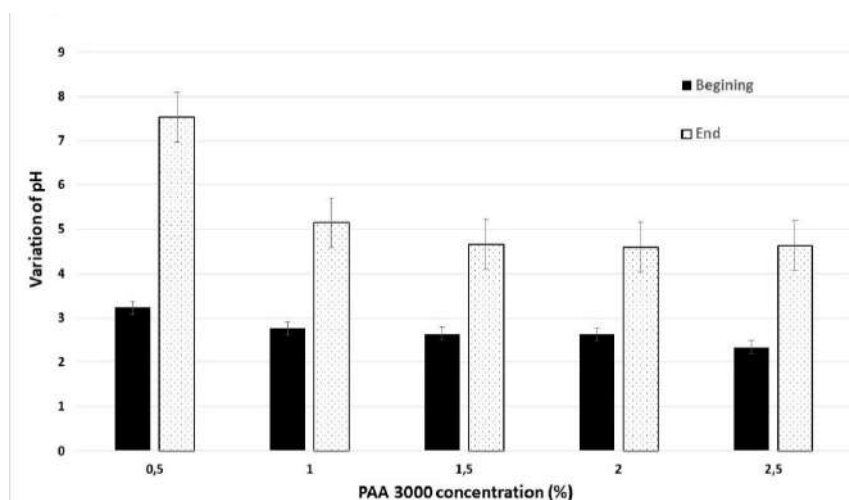


Figure 1: pH at the beginning and the end of synthesis process with calcium carbonate depend on PAA3000 concentration.

Nevertheless, protons H^+ concentrations were three (3) times higher in presence of extract corresponding to $7.76.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ than in its absence corresponding to $2.34.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Extract added materials obtained with CaCO_3 were then more acidic.

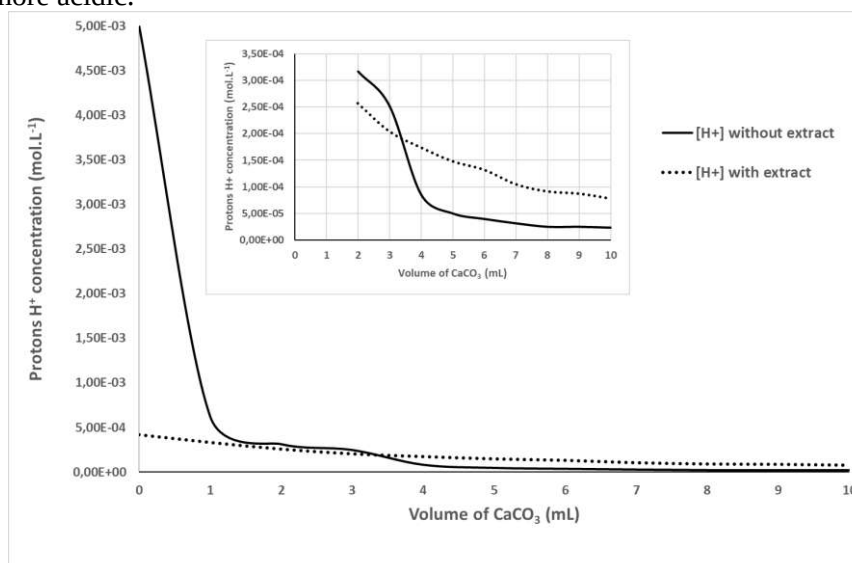


Figure 2: Protons (H^+) variation during PAA 3000 (2.5%) materials synthesis in absence and presence of extract (2.5%).

The fourth columns of **Table1** and **Table2**, let us deep our analysis on 2.5%PAA3000 in absence or presence of extract before carbonate calcium (CaCO_3) addition. The material obtained by dissolved 2.5%PAA3000 in water had hydrogel aspect and presents 0.74% $[\text{H}^+]$ while, 2.5%PAA3000 in water with extract, was a solution with seven (7) times less protons H^+ . In the two cases, that means protons H^+ dissociation is less than 1%.

Table 1: Parameters of obtained materials without plant extract.

Type of material	Experimental pH	$[\text{H}^+]$ mol.L ⁻¹	Free $[\text{H}^+]$ %
2.5%PAA3000	2.57	2.69E-03	7.42E-01 Corresponding to 0.74% of $[\text{H}^+]$, free at the beginning of synthesis.
2.5%PAA3000 + CaCO_3	4.63	2.34E-05	6.47E-03 Corresponding to 0.006% of $[\text{H}^+]$, remaining at the end of synthesis.
2.5%PAA3000 + KOH	3.47	3.39E-04	9.35E-02 Corresponding to 0.09% of $[\text{H}^+]$, remaining at the end of synthesis.

Table 2: Parameters of obtained materials with plant extract.

Type of material	Experimental pH	$[\text{H}^+]$ mol.L ⁻¹	Free $[\text{H}^+]$ %
2.5%PAA3000 + extract	3.41	3.85E-04	1.06E-01 Corresponding to 0.10 % of $[\text{H}^+]$, free in the presence of extract.
2.5%PAA3000 + extract + CaCO_3	4.11	7.76E-05	% = 2.14E-02 Corresponding to 0.02% of $[\text{H}^+]$ remaining at the end of synthesis.
2.5%PAA3000 + extract +KOH	6.36	4.37E-07	% =1.20E-04 Corresponding to 0,0001% of $[\text{H}^+]$ remaining at the end of synthesis. Neutrality is reached.

The optimal hydrogel-like material synthesized was this formed with potassium hydroxide (KOH) including plant extract and which pH is 6.36, near the neutral one (pH=7).

3- IR-ATR spectra analysis

Infrared spectra analysis were done with classic IR tables.

Following PAA3000- CaCO_3 material synthesis, characteristic absorption bands of C=O groups at 1702cm^{-1} , of OH carboxylic groups at 1423cm^{-1} and of CH_2 methyl groups at 1446cm^{-1} originating from PAA3000 have disappeared. In another hand, the spectrum of PAA3000- CaCO_3 obtained material contains new peaks: characteristic absorption bands at 711cm^{-1} highlighting calcite (CaCO_3), characteristic absorption band at 1406cm^{-1} highlighting vaterite ($\mu\text{-CaCO}_3$) and a third absorption band at 876cm^{-1} characteristic of the two structures of calcium carbonate. An intense and broad peak ranging from 3550cm^{-1} to 3200cm^{-1} and corresponding to -OH alcohol groups of polymer intermolecular links remains. Disappearance of characteristic absorption bands originating from PAA3000 followed PAA3000- CaCO_3 material synthesis can be explained by hydrogen bonds establishment when PAA3000 was dissolved in water (H_2O).

The spectrum of PAA3000 material obtained with CaCO_3 and containing plant extract (80/20), shows very characteristics peaks (**Figure 3**). We retrieve the peak ranges from 3550cm^{-1} to 3200cm^{-1} and centered at 3360cm^{-1} , sharp and with high intensity revealing the presence of intermolecular links via hydrogen bonds. These intermolecular links are established thanks to -OH hydroxyl alcohol; the higher intensity can be explained by alcohol functions brought by polyphenols in the extract. The second important and new peak is one ranges from 1600cm^{-1} to 1400cm^{-1} and centered at 1550cm^{-1} , characteristic of aromatic rings C=C, also brought by polyphenols in the extract. The peak at 1412cm^{-1} shifted to 1406cm^{-1} characteristic of vaterite and appeared in the formed

PAA3000-CaCO₃ is more intense. In the contrary, peaks at 876cm⁻¹ and 711cm⁻¹ characteristic of calcite also appeared in the formed PAA3000-CaCO₃, here disappeared. Only the amorphous vaterite structure remained when extract is added. We retrieve PAA same characteristics bands as in the works of Jeong et al. 2019 and Bui et al. 2021.^{10, 11}

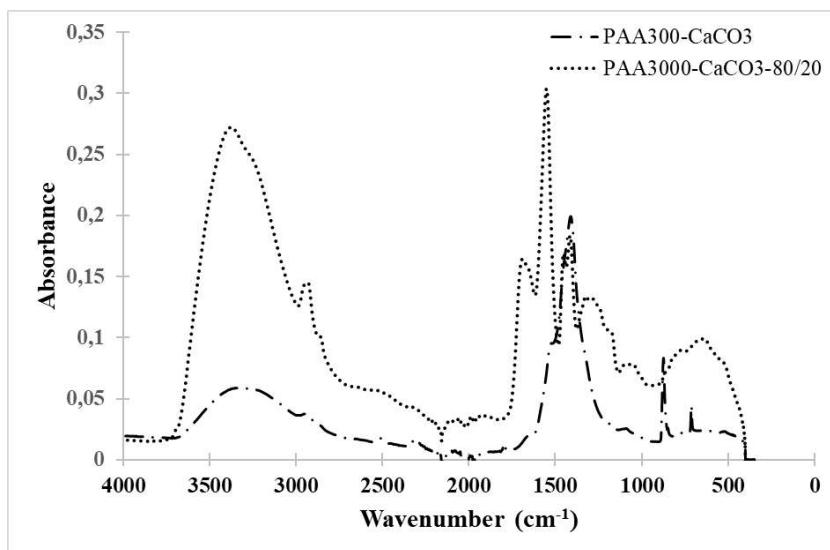


Figure 3 : IR-ATR spectra of poly (acrylic acid) 3000 obtained material with calcium carbonate and the same material in presence of extract.

In fact, calcium carbonate exists in many forms, including hydrates (amorphous calcium carbonate) and anhydrates (calcite, and aragonite)¹² and the spectra of calcium carbonate contained the peaks characteristic of calcite at 1420 cm⁻¹, 874 and 712 cm⁻¹. Peak at 745 cm⁻¹ is characteristic of vaterite.

In the spectrum of PAA3000 material obtained with KOH (**Figure4**) and containing plant extract (80/20), the peak ranges from 3500cm⁻¹ to 3200cm⁻¹ is shouldered at 3292cm⁻¹ assigned to the presence of many insaturations. The characteristic PAA3000 absorption band of C=O groups at 1702cm⁻¹ with strong intensity, is replaced by a weak intensity peak at 1695cm⁻¹ (harmonic of aromatic C=C band) and another one at 1553cm⁻¹. These two new peaks indicate aromatic cycle brought by phenolic compounds and confirmed by the presence of many insaturations (peak at 3292cm⁻¹).

In the ranges 1485cm⁻¹ to 1445cm⁻¹ assigned to deformation mode of alcane, precised by band at 1450cm⁻¹ also in deformation mode and assigned to methyl group, we retrieve the peak at 1451cm⁻¹ characteristic of PAA3000 and yet presents in PAA3000-CaCO₃. The carboxylic acid -OH group presents at 1414cm⁻¹ in PAA3000 is shifted at 1406cm⁻¹.

A new peak appears at 1324cm⁻¹ corresponding to phenol -OH. Peaks at 1237cm⁻¹ and 1167cm⁻¹ in the range of 1300cm⁻¹ to 1050cm⁻¹ and corresponding to C-O ester function present in PAA3000-KOH, disappear when extract was added. However, many shifted dispersed ester bonds appear in the fingerprint place.

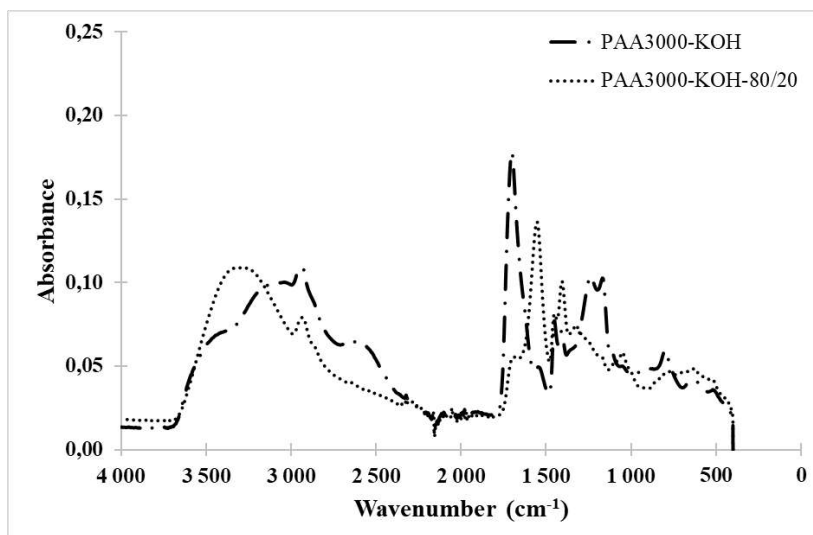


Figure 4 : IR-ATR spectra of poly (acrylic acid) 3000 obtained material with hydroxyl potassium and the same material in presence of extract.

4- Supposed reactions

The first hypothesis is that ionised plant extracted molecules compete with PAA molecules regarding to water molecules; hydrogen bonds establishment were then favored leading to first-formed hydrogel dissolution. It is well noted that four (4) water molecules interacted with phenolic molecule (gallic acid model) versus only one (1) water molecule interacted with AA molecule: this ratio leads to gel dissolution.

The second supposed interaction comes from plant extracted molecules which are polyols; they possibly establish esterification reactions with ionized PAA molecules themselves, also leading to the dissolution of first-formed hydrogel. This phenomenon should be the other reason why PAA solution acidity decreases when extract solution is added; supplementary water molecules could be product.

When calcium carbonate is used, obtained foam structure with the extract indicate a better dissolution of dioxide carbon gas while, agglutination or precipitated forms appear in absence of plant extract molecules. Calcium ions establish two more links with acidic functions (COO^-), making the material rigid and decreasing probably swelling by preventing hydrogen links with water molecules.

Jin et al. demonstrated that sodium carbonate aqueous solution acted as the foaming agent that reacted with formic acid, generating CO_2 and causing the phase separation of PA. The resulting porous polyamid (PA) materials exhibited low thermal conductivity, high crystallinity, and good mechanical properties¹³. Then we supposed CaCO_3 acted in our experimental reaction as a foaming agent.

The third supposed reaction was that PAA solution in presence of calcium carbonate (CaCO_3) products carbon dioxide (CO_2), calcium hydroxide (CaOH_2) and water molecules, while supposed interactions of PAA, phenolic molecules and calcium carbonate product dihydrogenocarbonate (H_2CO_3) molecules. The last one is more susceptible to dissociate into protons H^+ ions, then acidify the reaction medium: we have previously noted that PAA- CaCO_3 materials containing extract, were more acidic. We know that tannins such as hydrolysable tannic acid containing multiple pyrogallol/catechol groups interact with macromolecules by hydrogen bonding, ionic bonding, and coordinate bonding as well as hydrophobic interactions¹.

On the other hand, potassic ions established interactions leading to potassic salts-like molecules via esterification and new water molecules produced increase swelling. Hydrogen bonds establishment are here also or here more favored. The obtained materials were complete gelation, viscose and colored homogenous material: $\text{pH}=6.36$. The swelling behavior of poly(AA) hydrogels is highly dependent on the pH of the surrounding medium due to the presence of carboxylic groups⁵. Polymer hydrogels, which are pH-responsive, are a group of biomaterials that were bonded with polymer chain acidic or basic groups, and which demonstrate suitable physical or/and chemical properties in a certain pH domain. The importance of pH-responsive polymer hydrogels is due to their swelling reaction in response to the pH of various fluids². The wet adhesion strength of hydrogel under neutral and weak acid conditions (pH 5-7) was much higher than that under strong acid (pH3) and alkaline conditions (pH 9-11)¹⁴.

Conclusion

PAA3000-CaCO₃-80/20 exhibited lowering of protons H⁺ and an increasing of intermolecular interactions (H-bonds) due to phenolic –OH adding; aromatic ring –C=C– are present. PAA3000-KOH-80/20 exhibited also lowering of protons H⁺ and mainly many shifted –CO ester bonds; here, aromatic ring and many insaturations peaks were characterized. The ideal hydrogel (pH=6.36) was obtained with KOH.

In perspectives, we will study produced potassic salts –COOK and produced water molecules increasing swelling.

References:

- (1) Chummun, I.; Bekah, D.; Goonoo, N.; Bhaw-Luximon, A. Assessing the Mechanisms of Action of Natural Molecules/Extracts for Phase-Directed Wound Healing in Hydrogel Scaffolds. *RSC Med. Chem.* **2021**, *12* (9), 1476–1490. <https://doi.org/10.1039/D1MD00100K>.
- (2) Chelu, M.; Musuc, A. M. Polymer Gels: Classification and Recent Developments in Biomedical Applications. *Gels* **2023**, *9* (2), 161. <https://doi.org/10.3390/gels9020161>.
- (3) Vasile, C.; Pamfil, D.; Stoleru, E.; Baican, M. New Developments in Medical Applications of Hybrid Hydrogels Containing Natural Polymers. *Molecules* **2020**, *25* (7), 1539. <https://doi.org/10.3390/molecules25071539>.
- (4) Sarfraz, M.; Iqbal, R.; Khan, K. U.; Minhas, M. U. Carbopol Based Hydrogels for ITOPRIDE Hydrochloride Delivery; Synthesis, Characterization and Comparative Assessment with Various Monomers. *JFB* **2022**, *13* (4), 295. <https://doi.org/10.3390/jfb13040295>.
- (5) Hussain, T.; Ansari, M.; Ranjha, N. M.; Khan, I. U.; Shahzad, Y. Chemically Cross-Linked Poly(Acrylic- Co -Vinylsulfonic) Acid Hydrogel for the Delivery of Isosorbide Mononitrate. *The Scientific World Journal* **2013**, *2013*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/340737>.
- (6) Shaik, M.; Kuniyil, M.; Khan, M.; Ahmad, N.; Al-Warthan, A.; Siddiqui, M.; Adil, S. Modified Polyacrylic Acid-Zinc Composites: Synthesis, Characterization and Biological Activity. *Molecules* **2016**, *21* (3), 292. <https://doi.org/10.3390/molecules21030292>.
- (7) Shang, D.; Zhou, N.; Dai, Z.; Song, N.; Wang, Z.; Du, P. Formation of Calcium Carbonate Nanoparticles through the Assembling Effect of Glucose and the Influence on the Properties of PDMS. *RSC Advances* **2022**, *12* (22), 13600–13608. <https://doi.org/10.1039/D2RA02025D>.
- (8) Ma, Y.; Tian, P.; Bounmyxay, M.; Zeng, Y.; Wang, N. Calcium Carbonate@silica Composite with Superhydrophobic Properties. *Molecules* **2021**, *26* (23), 7180. <https://doi.org/10.3390/molecules26237180>.
- (9) Hoffmann, J. P.; Friedman, J. K.; Wang, Y.; McLachlan, J. B.; Sammarco, M. C.; Morici, L. A.; Roy, C. J. In Situ Treatment With Novel Microbiocide Inhibits Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus in a Murine Wound Infection Model. *Front. Microbiol.* **2020**, *10*, 3106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03106>.
- (10) Jeong, J.-O.; Park, J.-S.; Kim, E. J.; Jeong, S.-I.; Lee, J. Y.; Lim, Y.-M. Preparation of Radiation Cross-Linked Poly(Acrylic Acid) Hydrogel Containing Metronidazole with Enhanced Antibacterial Activity. *IJMS* **2019**, *21* (1), 187. <https://doi.org/10.3390/ijms21010187>.
- (11) Bui, T. Q.; Cao, V. D.; Wang, W.; Kjøniksen, A.-L. Recovered Energy from Salinity Gradients Utilizing Various Poly(Acrylic Acid)-Based Hydrogels. *Polymers (Basel)* **2021**, *13* (4), 645. <https://doi.org/10.3390/polym13040645>.
- (12) Polowczyk, I.; Bastrzyk, A.; Fiedot, M. Protein-Mediated Precipitation of Calcium Carbonate. *Materials (Basel)* **2016**, *9* (11), 944. <https://doi.org/10.3390/ma9110944>.
- (13) Jin, F.-L.; Zhao, M.; Park, M.; Park, S.-J. Recent Trends of Foaming in Polymer Processing: A Review. *Polymers* **2019**, *11* (6), 953. <https://doi.org/10.3390/polym11060953>.
- (14) Wang, L.; Duan, L.; Liu, G.; Sun, J.; Shahbazi, M.; Kundu, S. C.; Reis, R. L.; Xiao, B.; Yang, X. Bioinspired Polyacrylic Acid-Based Dressing: Wet Adhesive, Self-Healing, and Multi-Biofunctional Coacervate Hydrogel Accelerates Wound Healing. *Advanced Science* **2023**, *10* (16), 2207352. <https://doi.org/10.1002/advs.202207352>.

Etude de la corrélation entre la teneur en capsaïcine et la fréquence de consommation de cinq variétés de piments consommés dans la ville de Man, Côte d'Ivoire

KONE Mohamed Ba¹, KOUADIO Kouakou K. Armand¹

¹UFR Ingénierie Agronomique, Forestière et Environnementale, Université de Man, Côte d'Ivoire
Bp 20Man, mohamedba84@live.fr

Résumé

Le piment est utilisé dans le domaine culinaire comme exhausteur de goût. Dans la ville de Man, le piment est beaucoup prisé car les sauces locales qui sont pour la plupart gluantes seraient difficilement consommables sans la saveur piquante du piment. Cette saveur piquante du piment provient de la capsaïcine (8-Méthyl-N-vanillyl-6-nonénamide). L'objectif de ce travail était d'étudier la corrélation entre la teneur en capsaïcine et la fréquence de consommation de cinq variétés de piments consommées dans la ville de Man, Côte d'Ivoire. Pour cette étude l'enquête a porté sur 5 quartiers de la ville de Man. Au total 250 ménages ont été enquêtés. Après l'enquête sur la fréquence consommation, la teneur en capsaïcine des 5 variétés de piments a été déterminée. Les variétés de piments les plus consommées appartiennent au genre *Capsicum annum*. Il s'agit des variétés *Capsicum annum jaune* et *Capsicum annum antillais* avec des teneurs respectives de capsaïcine de $812,26 \pm 0,28 \mu\text{g/ml}$ et $703,32 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$. Cette étude a permis d'établir que dans la ville de Man, les fréquences de consommation évoluent proportionnellement à la teneur en capsaïcine des piments.

Mots clés : Piment, Capsaïcine, Fréquence de consommation, Man

Study of the correlation between the capsaicin content and the frequency of consumption of five varieties of peppers consumed in the city of Man, Ivory Coast

Abstract

Chili pepper is used in the culinary field as a flavor enhancer. In the city of Man, chili is very popular because the local sauces which are mostly sticky would be difficult to consume without the spicy flavor of chili. This hot pepper flavor comes from capsaicin (8-Methyl-N-vanillyl-6-nonenamide). The aim of this study is to assess the correlation between the capsaicin content and the frequency of consumption of five varieties of peppers consumed in the city of Man, Ivory Coast. For this study, the investigation focused on 5 neighborhoods in the city of Man. A total of 250 households were surveyed. After the consumption frequency survey, the capsaicin content of the 5 varieties of peppers was determined. The most consumed varieties of peppers belong to the genus *Capsicum annum*. These are the varieties *Capsicum annum yellow* and *Capsicum annum Antillean* with respective capsaicin contents of $812.26 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$ and $703.32 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$. This study established that in the city of Man, consumption frequencies evolve proportionally to the capsaicin content of chili peppers.

Keywords: Chili pepper, Capsaicin, Frequency of consumption, Man

1. Introduction

Le piment fait partie de la famille des solanacées, comme la tomate, l'aubergine et la pomme de terre. Le piment ne fut introduit en Europe qu'à la fin du XVe siècle. En Afrique occidentale, le piment occupe une place de choix dans les habitudes culinaires. Il est l'un des exhausteurs de goût les plus prisés. Les consommateurs ivoiriens l'utilisent pour relever le goût des sauces et autres mets typiques de la Côte d'Ivoire [1]. Dans la région du Tonkpi et dans la ville de Man en particulier, les sauces qui sont pour la plupart gluantes seraient difficilement consommables sans la saveur piquante du piment [2]. Cette saveur piquante du piment provient d'une molécule que l'on appelle la capsaïcine [3]. La capsaïcine (8-Méthyl-N-vanillyl-6-nonénamide) est un composé chimique de la famille des alcaloïdes. Cet alcaloïde a été découvert en 1816 par le pharmacochimiste allemand Christian Friedrich Bucholz [4]. Dans le domaine médical, la capsaïcine contribue à bloquer le cancer de certaines cellules du poumon ou de la prostate par apoptose [2]. La consommation de la capsaïcine stimule également la production de deux hormones, l'adrénaline et la noradrénaline [5]. Au regard de l'importance organoleptique et thérapeutique du piment et de la capsaïcine, il nous est apparu nécessaire de mener une série d'études sur cet ingrédient et son principal alcaloïde. La présente étude avait pour principal objectif d'étudier la corrélation entre la teneur en capsaïcine et la fréquence de consommation de cinq variétés de piments consommées dans la ville de Man, Côte d'Ivoire.

De façon spécifique, il s'agissait notamment de :

- Mener une étude sur la fréquence de consommation des cinq (5) différentes variétés de piments présentes sur le marché de Man.
- Déterminer le taux de capsaïcine des cinq (5) différentes variétés de piments présentes sur le marché de Man.
- Etablir une corrélation entre le taux de capsaïcine et la fréquence de consommation de ces cinq variétés de piments.

2. Matériel et Méthodes

Afin de déterminer la fréquence de consommation des différentes variétés de piment, le responsable de chacun des 250 ménages est soumis à un questionnaire. Chaque responsable devait préciser le nombre de consommation hebdomadaire des 5 variétés de piments présentes sur le marché de Man. Pour cette étude les investigations ont portés sur 5 quartiers : Djoulabougou ; Grand-Gbapleu ; Gbêpleu ; Domauroud ; Air-France. Au total 250 ménages ont été enquêtés à raison de 50 ménages par quartier. Les cinq variétés de piments utilisées dans cette étude sont : *Capsicum annum jaune* ; *Capsicum annum antillais* ; *Capsicum annum soudanais* ; *Capsicum annum attié* ; *Capsicum annum doux*. Après l'enquête sur la fréquence consommation, la teneur en capsaïcine des cinq (5) variétés de piments a été déterminée. Ainsi, Cinq cent (500) gramme de chaque échantillon de piments ont été broyés en vue d'extraire la capsaïcine pure. Ensuite, les 500 g de broyat de piments sont mélangés à 500 ml d'eau distillée. Le mélange ainsi obtenu est laissé au repos pendant 72 heures. Le mélange se scinde en deux phases, une phase liposoluble en haut et une phase aqueuse en dessous. Le surnageant est recueilli et filtré. Après évaporation puis séchage à l'étuve, l'on obtient une croute qui sera réduite en poudre. Le rapport entre la masse de la poudre obtenue et la masse initiale de chaque échantillon permet de déterminer le teneur en capsaïcine de chacune des 5 variétés en µg/100ml.

Les données ont été saisies dans des tables d'une base de données ACCES spécialement conçue en fonction des données avant d'être transformées en fichiers EXCEL. L'ensemble des données a ensuite été repris et analysé à l'aide du logiciel Statview 3.1. Les niveaux de signification des corrélations entre les taux de capsaïcine et la fréquence de consommation dans les ménages ont été ainsi déterminés.

3. Résultats et discussion

3.1. Teneur en Capsaïcine des 5 variétés de piments consommés sur le marché de Man

En ce qui concerne, la teneur en capsaïcine des 5 variétés de piments, il ressort que la variété la moins riche en capsaïcine est *Capsicum frutescens doux* $216,92 \pm 0,54$ µg/ml. Tandis que la variété la plus concentrée en capsaïcine est *Capsicum annum jaune* $812,26 \pm 0,28$ µg/ml (voir tableau I). Ces résultats corroborent ceux d'Othman *et al* [2] qui ont montré que *Capsicum annum jaune* faisait partie des variétés de piment les plus riche en capsaïcine. En outre, ces auteurs ont établi qu'il y avait un lien entre la concentration en capsaïcine et la corrélation des piments. Ainsi les piments de coloration rouge et jaune sont en général plus concentrés en capsaïcine [2].

Tableau I : Teneur en Capsaïcine des 5 variétés de piments consommés sur le marché de Man

Variétés de Piments	Capsaïcine en µg/ml
<i>Capsicum annum jaune</i>	$812,26 \pm 0,28$
<i>Capsicum annum antillais</i>	$703,32 \pm 0,12$
<i>Capsicum frutescens soudannais</i>	$598,68 \pm 0,75$
<i>Capsicum frutescens attié</i>	$535,57 \pm 0,39$
<i>Capsicum frutescens doux</i>	$216,92 \pm 0,54$

3.2 Fréquence de consommation des différentes 5 variétés de piments consommés sur le marché de Man

Les différentes fréquences de consommation alimentaire des 5 variétés de piments sont présentées dans le tableau II. Les résultats montrent que la variété de piment la plus consommée chez les personnes enquêtées est *Capsicum annum jaune* avec une fréquence hebdomadaire de consommation de 6.87 ± 0.37 . Ces résultats sont similaires à ceux de plusieurs études [2] [3] [5], qui ont montré que les populations d'Asie du Sud-Est et ceux de l'Afrique Subsaharienne consomment en général des variétés de piment très concentrés en capsaïcine.

Tableau II : Fréquence de consommation des différentes 5 variétés de piments

Variétés de Piments	Fréquences de consommation hebdomadaire
1 <i>Capsicum annum jaune</i>	6.87 ± 0.37
2 <i>Capsicum annum antillais</i>	6.32 ± 0.54
3 <i>Capsicum frutescens soudannais</i>	4.57 ± 0.12
4 <i>Capsicum frutescens attié</i>	3.88 ± 0.46
5 <i>Capsicum frutescens doux</i>	3.12 ± 0.25

3.2. Corrélation entre la teneur en capsaïcine et la fréquence de consommation des 5 variétés de piments

La courbe de corrélation (Figure 2) montre que les fréquences de consommation évoluent proportionnellement à la teneur en capsaïcine des piments ($R^2 = 0,8408$). Ces résultats démontrent que la fréquence de consommation du piment est étroitement liée à sa teneur en capsaïcine. Ainsi, comme l'ont montré Oulaï et collaborateur, dans la région du Tonkpi et dans la ville de Man en particulier, les sauces qui sont pour la plupart gluantes seraient difficilement consommables sans la saveur piquante du piment [2].

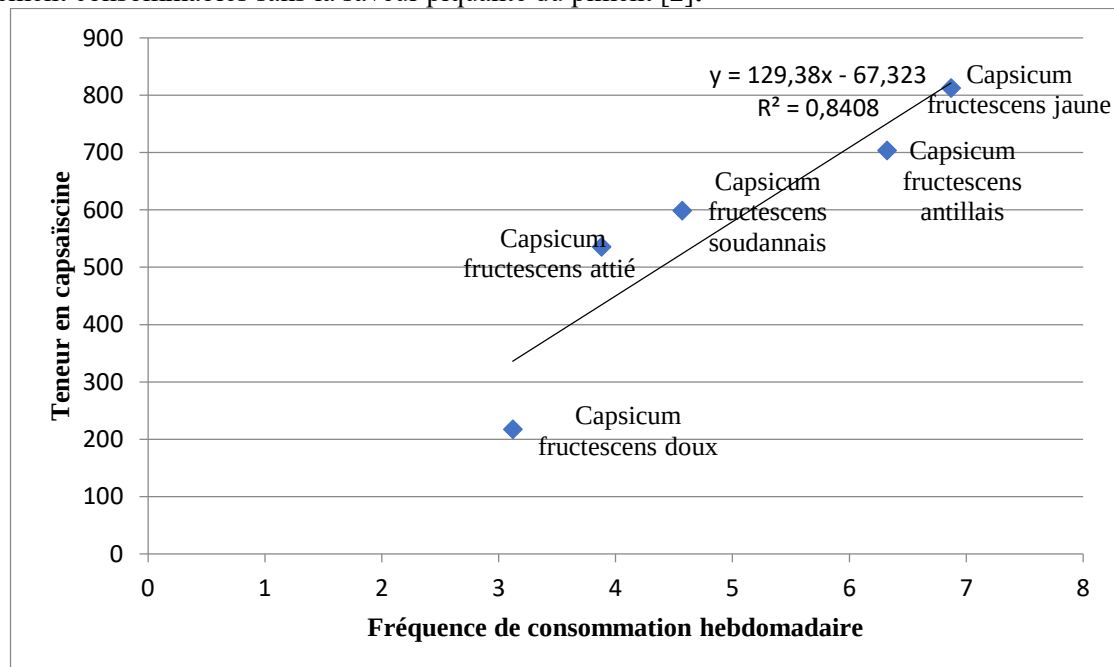


Figure 2 : Courbe de corrélation entre la teneur en capsaïcine et la fréquence de consommation des 5 variétés de piments

4. Conclusion

Au terme de cette étude, il ressort que parmi les (5) cinq variétés de piments présentes sur le marché de Man, les plus consommées appartiennent au genre *Capsicum annum*. Il s'agit des variétés *Capsicum annum jaune* et de *Capsicum annum antillais*. En outre, l'étude des corrélations a permis d'établir que les fréquences de consommation évoluent proportionnellement à la teneur en capsaïcine des piments. Ce qui traduit que les préférences des consommateurs sont portées dans la ville Man, sur les piments avec une forte teneur en capsaïcine.

5. Bibliographie :

- 1- Pruthi, J. S. 2003. Chemistry and quality control of Capsicums and Capsicum products. Capsicum, pages 45–90.
- 2- Oulaï, Z. A., Al, A., Habila, Y. B. H., Ghafar, M. A. 2011. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Capsicum Fruit Samples using HighPerformance Liquid Chromatography. *Molecules*, 16(10):8919–8929.
- 3- Tsuchiya, H. 2001. Biphasic membrane effects of capsaicin, an active component in Capsicum species. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2- 3):200–208. © International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences 3773
- 4- Samuel, K. L., Kaur, G. 1979. Colorimetric determination of capsaicin in capsicum fruits with the Folin-Ciocalteu reagent. *Mikrochimica Acta*, 71(1- 2):81–86.
- 5- Dunkan, J., Koné, MB. 2019. Determination of capsaicin in capsicum fruits of the Tonkpi district, western part of Ivory Coast. *Mikrochimica Acta*, 55(3- 5):62–71.

Exploration de l'activité antifongique sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans* et triphytochimique de l'extrait hydroéthanolique de deux taxons ivoiriens

YAPO Yomah Cynthia Viviane ^{1*}, BOLOU Gbouhoury Eric-Kévin², ADOU Demel Axel¹, ZIHIRI Guédé Noël³

¹Département des Sciences et Techniques, Université Alassane Ouattara, BP V 18 Bouaké 01, Côte d'Ivoire.

²Centre National de Floristique, Université Felix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Botanique, Université Felix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

Résumé :

Mareya micrantha et *Mallotus oppositifolius* sont deux plantes citées dans des prescriptions thérapeutiques en médecine traditionnelle contre les infections microbiennes. Dans le but de les valoriser, nous avons exploré l'activité antifongique de l'extrait hydroéthanolique de feuilles de ces plantes sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans* puis déterminer les composés chimiques présents. La méthode de la double dilution a servi à évaluer l'activité des extraits et celle du criblage phytochimique a été réalisée par la caractérisation en tube. Les résultats obtenus montrent que l'extrait des plantes ont des activités antimycosiques sur *C. albicans*. Parmi les extraits testés des deux plantes, la fraction de *Mareya micrantha*, avec une Concentration Minimale Fongicide (CMF)= 0,39mg/ml et une Concentration inhibitrice 50 % (CI₅₀)= 0,195mg/ml est la plus active. Le criblage phytochimique a montré que ces extraits végétaux de *M. oppositifolius* et *M. micrantha* contiennent des polyphénols, alcaloïdes et des coumarines. Les extraits de feuilles de *M. micrantha* possèdent une activité antifongique sur *C. albicans* et présente des composés chimiques. Un fractionnement bioguidé de l'extrait de ces plantes, nous permettra d'isoler les différentes molécules. Ce qui suggérerait une sécurité d'emploi de ces substances végétales dans le traitement traditionnel africain.

Mots clés : *Mallotus oppositifolius*; *Mareya micrantha*, Extraits végétaux; *Candida albicans*

Investigation of the antifungal activity on the *in vitro* growth of *Candida albicans* and phytochemical sorting of hydroethanolic extracts of two Ivorian taxa

Abstract: *Mareya micrantha* and *Mallotus oppositifolius* are two plants cited in therapeutic prescriptions in traditional medicine against microbial infections. With the aim of developing their value, we investigated the antifungal activity of the hydroethanol extract of the leaves of these plants on the *in vitro* growth of *Candida albicans* and then determined the chemical compounds present. The double dilution method was used to assess the activity of the extracts and phytochemical screening was carried out by tube characterisation. The results show that the plant extracts have antimycotic activity against *C. albicans*. Of the extracts tested from the two plants, the *Mareya micrantha* fraction, with a Minimum Fungicidal Concentration (MFC)= 0.39mg/ml and a 50% Inhibitory Concentration (IC₅₀)= 0.195mg/ml, was the most active. Phytochemical screening showed that these plant extracts of *M. oppositifolius* and *M. micrantha* contain polyphenols, alkaloids and coumarins. Extracts of *M. micrantha* leaves have antifungal activity on *C. albicans* and contain chemical compounds. Bioguided fractionation of the extract from these plants will enable us to isolate the different molecules. This suggests the safe use of these plant substances in traditional African treatments.

Key words: *Mallotus oppositifolius*; *Mareya micrantha*, Plant extracts; *Candida albicans*

1. Introduction

Candida albicans est une levure saprophyte faisant partie de la flore commensale d'individus et d'animaux sains. De couleur blanc-cassé à crème, elle est le plus souvent globuleuse, arrondie ou ovale et se multiplie par bourgeonnement de cellules isolées [1]. C'est un champignon opportuniste qui est à l'origine de diverses mycoses cutanées ou viscérales. Il existe des maladies graves et mortelles provoquées par les microorganismes pouvant être des bactéries, des virus, des champignons et des parasites [2].

Les médecines « douces », particulièrement la phytothérapie, connaissent un succès considérable dans nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe. L'utilisation des plantes par des soins de santé primaire [3] s'explique par leur accessibilité et la disponibilité de la médecine traditionnelle dans les pays en développement d'une part, ainsi que le coût élevé et la nocivité des effets secondaires causés par les médicaments de synthèse d'autre part. Des traitements sont disponibles mais on constate que les microorganismes pathogènes sont devenus résistants à la plupart des agents anti-infectieux conventionnels existants. Les phénomènes de résistance sont en croissance et constituent un véritable problème de santé publique dans les pays en développement [4]. Une étude réalisée en Côte d'Ivoire a montré que parmi les plantes médicinales prescrites dans le traitement des maladies microbiennes. Les plantes modèles soumises à cette étude que sont : *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. et

Mallotus oppositifolius (Geisel.) Müll.-Arg, sont toujours citées lors des enquêtes ethnobotaniques [5]. Ainsi, des études antimicrobiennes ont mis en évidence une activité fongicide des extraits aqueux et hydroalcoolique d'écorce de tige de *M. oppositifolius* sur des souches de *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Microsporium audouinii*, *Penicillium* sp, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichoderma* sp et *Trichosporon cutaneum* [6]. L'objectif de ce travail est de faire une étude ethnopharmacologique comparée de ces deux plantes utilisées en Côte d'Ivoire. Plus spécifiquement, nous évaluerons l'activité antifongique sur *Candida albicans* et en déterminerons les grands groupes de composés chimiques.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel

- Le Matériel végétal est constitué des feuilles de *Mareya micrantha* et de *Mallotus oppositifolius* et de leurs extraits hydroéthanoliques ;
- Le Matériel fongique est une souche clinique de *Candida albicans* sous le numéro 13- 304 fournie par le laboratoire de Mycologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Il a été isolée d'un patient atteint de Leucorrhée du Service des Maladies Infectieuses du CHU de Treichville.

2.2 Méthodes

Préparation des extraits végétaux : Les feuilles des plantes ont été débarrassées des impuretés, séchées à l'ombre et dans un laboratoire climatisé pendant une semaine puis pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique. Les poudres fines obtenues ont été conservées dans des bocaux en verre pour éviter les moisissures. Les Extraits Ethanolique 70 % (E.E70 %) proviennent de l'extrait total aqueux, selon la méthode suivante [7] : cinq grammes d'extrait total aqueux sont dissous dans cent millilitres d'une solution éthanol absolu-eau (70 : 30 ; V/V), puis homogénéisés dans un Blender. Dans une ampoule à décanter, le surnageant est recueilli. La phase supérieure contenant les éléments alcool hydro-solubles constitue l'extrait EE 70 % et sont ensuite séchées à l'étuve (50°C) pour obtenir des poudres.

Préparation des milieux de culture : Les cultures de *Candida albicans* ont été faites sur le milieu Agar Sabouraud Chloramphenicol (Ref : M1067-500G, lot : 0000215703) fourni par HIMEDIA. L'incorporation des différents extraits végétaux à la gélose Sabouraud a été faite selon la méthode de la double dilution, en tubes penchés. Tous les extraits ont été testés séparément. Chaque série comporte pour chaque extrait végétal 10 tubes tests contenant les extraits végétaux et 2 tubes témoins dont un est sans extrait végétal, servant de contrôle de croissance des germes, l'autre sans germes et sans extrait servant de contrôle de la stérilité du milieu de culture. Pour les 10 tubes tests, les concentrations varient de 50 à 0,098 mg/ml selon une liaison géométrique de raison ½. Après l'incorporation des extraits, tous les 12 tubes de chaque série sont stérilisés à l'autoclave PBI STEOMATIC III à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés avec petit culot à la température de la salle pour les refroidir et solidifier la gélose.

Essai antimicrobien : L'inoculum est préparé à partir des cultures jeunes de *Candida albicans* (âgés de 48 heures d'incubation). La suspension mère (dite 100) concentrée à 10⁶ cellules/mL est d'abord préparée, par homogénéisation d'une colonie de *Candida albicans* dans 10 mL d'eau distillée stérilisée. A partir de la suspension 100, une seconde suspension (10⁻¹) est préparée par dilution au 1/10^{ème} de la première. Cette dernière est concentrée à 10⁵ cellules/mL. Pour chacun des tubes à essai de chaque série des trois extraits de plante, la culture des germes a été faite sur des milieux précédemment préparés par ensemencement en stries transversales (jusqu'à épuisement) de 10 YL de la suspension 10⁻¹. Cela correspond à 1000 cellulesensemencées. Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à 30°C. Après 48 heures et 72 heures d'incubation à 30°C, les colonies de *Candida albicans* ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies. La croissance dans les 10 tubes expérimentaux de chaque série a été évaluée en pourcentage de survivance, par rapport à 100 % de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance[8]. Le traitement des données expérimentales a permis de déterminer les paramètres antifongiques suivants :

- Concentration Minimale Fongicide (CMF) : C'est la concentration d'extrait dans le tube qui donne 99,99 % d'inhibition comparativement au tube témoin de contrôle de croissance. Inversement, c'est la concentration d'extrait du tube qui laisse une survivance de 0,01 % par rapport au témoin de contrôle de croissance.
- Concentration pour cinquante pour cent d'inhibition (CI₅₀) : C'est la concentration qui donne 50 % d'inhibition, estimée par rapport au nombre de colonies dénombrées dans le tube témoin de contrôle de croissance. C'est un paramètre déterminé graphiquement.

• La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : c'est la concentration d'extrait dans le tube pour lequel il n'y a aucune croissance visible à l'œil nu. Pour vérifier la fongicidie des extraits, tous les tubes à partir de la CMI ont été repiqués dans de nouveaux tubes à essai contenant du milieu Sabouraud Chloramphénicol Agar et porté à incubation dans les mêmes conditions que précédemment pendant 72 à 120 heures. A la fin du temps d'incubation, chaque extrait est évalué comme étant fongicide si aucune colonie ne germe, dans le cas contraire l'extrait végétal est fongistatique [9].

Détermination de quelques groupes chimiques

Recherche des Polyphénols : réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) [10].

A 2ml de chaque solution, on a ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. La présence d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, plus ou moins foncée indique la présence des polyphénols.

Recherche des flavonoïdes (réaction à la cyanidine) : 2 ml de chaque extrait végétal ont été évaporés dans une capsule sur bain de sable à sec sans carboniser. Le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué deux fois. Le mélange a été recueilli dans un tube à essai, dans lequel on a ajouté deux à trois copeaux de magnésium. Il y a eu un dégagement de chaleur suivi d'une coloration rose-orangée ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique a intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes [11].

Recherche des saponosides (test de mousse) : on introduit, un volume de 10 ml de l'extrait dans un tube à essai. Le tube a été agité avec énergie en position verticale pendant 1 minute. Après agitation vigoureuse à la main, la formation d'une mousse d'une hauteur supérieure à un centimètre, stable et persistante pendant 15 min a indiqué la présence de saponosides.

Recherche des tanins (réaction de Stiasny) galliques : La solution a été filtrée et le filtrat recueilli a été saturé d'acétate de sodium avant d'y ajouter 3 gouttes de chlorure ferrique 2 %. L'apparition d'une coloration bleue noire intense a dénoté la présence de tanins galliques.

3 Résultats et discussion

3.1 Tests antimicrobien et Composés mis en évidence

Après 72h d'incubation à 30°C, on observe comparativement aux témoins, une diminution progressive du nombre de colonies de *Candida albicans* au fur et à mesure que la concentration des extraits augmente dans les tubes expérimentaux. Cela a été observé dans toutes les séries des tubes. Des inhibitions nettes et effectives ont été obtenues à différentes concentrations selon les extraits. Les valeurs des paramètres antifongiques des deux extraits, CMF (Concentration minimale fongicide) et CI_{50} (Concentration pour 50% d'inhibition) sont consignées dans le Tableau 1. De façon générale, les deux extraits ont des courbes présentant une allure décroissante, avec des pentes plus ou moins fortes. L'extrait éthanolique de *Mareya micrantha* a une courbe ayant une pente relativement plus forte ; alors que l'extrait éthanolique de *M. oppositifolius* a une courbe à pente moyenne. Les deux courbes coupent l'axe des abscisses, à différents niveaux selon les extraits. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes de sensibilité sont résumées à la Figure 2.

Tableau 1 : Valeurs des paramètres antifongiques comparées des extraits de feuilles de *Mallotus oppositifolius* et de *Mareya micrantha* après 72h d'incubation.

Extractions végétales Paramètres antifongiques	EE <i>Mallotus</i> <i>oppositifolius</i>	EE <i>Mareya micrantha</i>
CI_{50}	0,585	0,195
CMF	-	0,39
CMFs	0,78	-
Fongicidie	Fongistatique	Fongicide

3.2 Activité des extraits éthanoliques 70 % de *Mallotus oppositifolius* (ZG04) et de *Mareya micrantha* (ZG08)

Les résultats présentés par la Figure 2 montrent que les extraits éthanoliques 70 % de ZG04 et ZG08 ont inhibé la croissance de *Candida albicans* à différentes concentrations. On a observé comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies de *Candida albicans* dans les tubes expérimentaux.

A partir des données du dénombrement des colonies dans les tubes expérimentaux de chaque extrait de plantes, les courbes d'activité ont été tracées. Toutes les courbes présentent une allure décroissante et touche l'axe des abscisses à différents niveaux.

Les courbes d'activité antifongique des extraits éthanoliques de ZG04 et ZG08 sur *Candida albicans* possèdent des pentes fortes. Elles sont proches de l'axe des ordonnées ; la courbe la plus proche de l'axe des ordonnées est celle de ZG08.

Les valeurs des paramètres antifongiques des extraits éthanoliques 70 % de ZG04 et ZG08, CMI, CMF ainsi que celles des CI_{50} , déterminées sont résumées dans le **Tableau 1**. Les plus faibles valeurs de CMI (0,39 mg/mL), CMF (0,39 mg/mL) et CI_{50} (0,195 mg/mL) ont été obtenues avec l'extrait éthanolique 70 % de ZG08. L'extrait éthanolique de ZG04 avec des valeurs de CMI (0,78 mg/mL), CMF (0,78 mg/mL) et CI_{50} (0,585 mg/mL) a montré la deuxième meilleure activité sur *Candida albicans*. L'extrait éthanolique 70 % de ZG08 est 2 fois plus actif que ZG04 sur *Candida albicans*.

L'extrait éthanolique 70% de *Mareya micrantha* est l'extrait le plus actif sur *Candida albicans*.

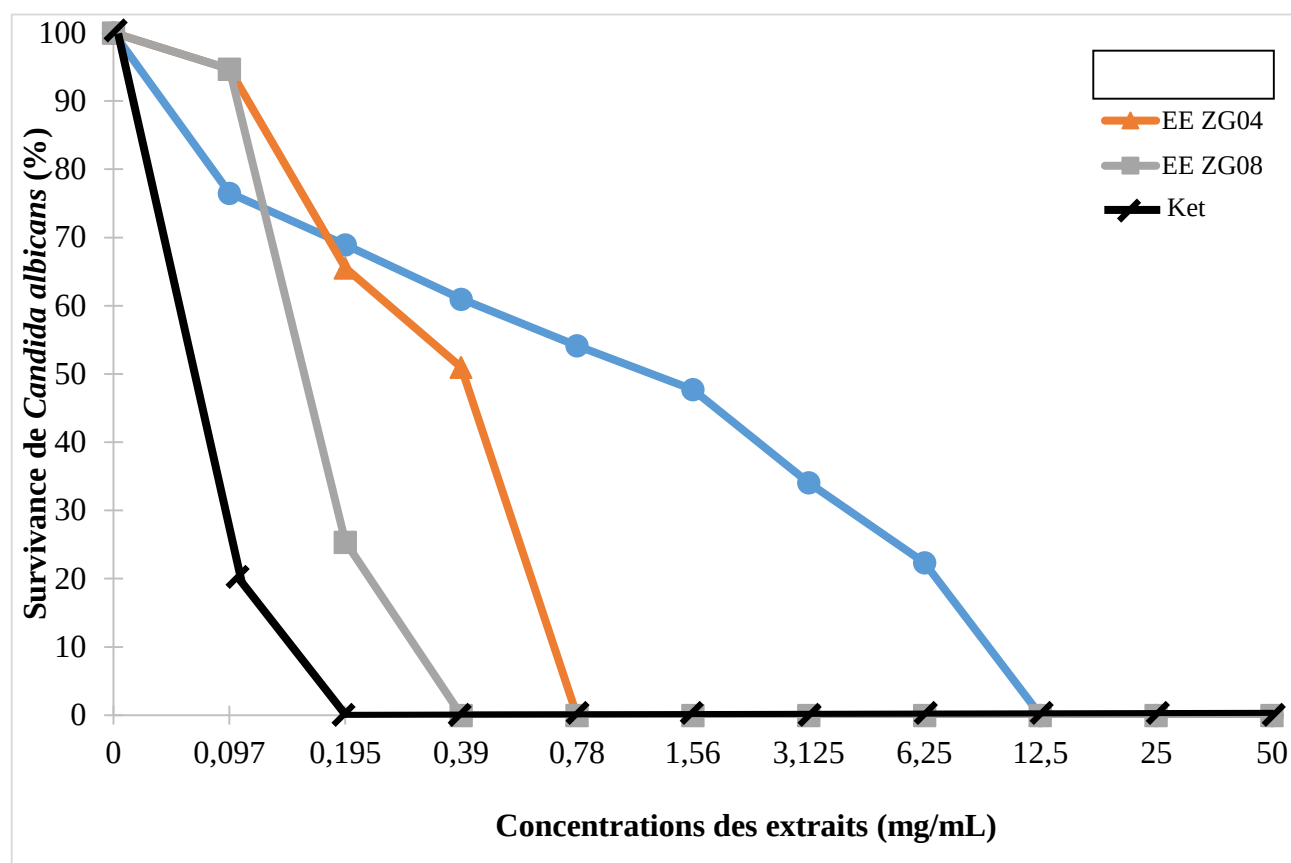


Figure 2: Courbe de sensibilité de *Candida albicans* aux extraits éthanoliques 70% de ZG04, ZG08

Tableau 2: Valeurs des paramètres antifongiques des extraits éthanoliques de ZG04 et ZG08 à 72 h d'incubation sur *Candida albicans*

Extraits de plantes	Paramètres antifongiques (mg/mL)				
	CMI	CMF	CMF _s	CI_{50}	Fongicidie
EE ZG04	0,78	-	0,78	0,585	Fongistatique
EE ZG08	0,39	-	0,39	0,195	Fongicide
Ket	0,195	0,195		0,048	Fongicide

L'analyse phytochimique réalisée à partir des extraits de feuilles de *Mallotus oppositifolius* (**Tableau 2**) a révélé la présence de plusieurs composés phytochimiques. Les polyphénols, les alcaloïdes et les coumarines sont présents en forte quantité dans les feuilles des deux plantes. Les flavonoïdes et tanins existent dans les feuilles de *Mallotus oppositifolius*. Par contre, les saponosides, les stérols et terpénoïdes sont absents (**Tableau 2**).

Nos résultats ont démontré qu'il y a une diminution progressive du nombre de colonies au fur et à mesure que la concentration des extraits augmente dans les tubes. Nous en déduisons que *Candida albicans* est sensible aux différents extraits selon une relation dose- réponse. Nos résultats ont révélé que la valeur de la CI₅₀ de l'EE70% de *M. micrantha* est de 0,195 mg/ml et celle de *M. oppositifolius* est de 0,585 mg/ml, ce qui pourrait expliquer l'inhibition nette et effective de *Candida albicans*, justifiant ainsi l'utilisation de *M. micrantha* en médecine traditionnelle. La comparaison des activités des extraits éthanoliques sur la base des CI₅₀ a montré que l'EE de *M. oppositifolius* a été plus actif que l'EE70% de *M. micrantha*. Le rapport des CI₅₀ donne : CI₅₀ EE Mo70%/CI₅₀ EE Mm = 0,585/0,097 = 6. Cela signifie que l'EE 70% de Mm est 6 fois plus actif que l'EE70% Mo. Cela s'expliquerait par le fait que les principes actifs contenu dans l'extrait résiduel ont un plus grand potentiel antifongique. En effet, les solvants de cet extrait ont la capacité à extraire les composés de nature lipidiques de grandes et moyennes tailles et concentrer le principe actif, justifiant ainsi la forte activité antifongique des extraits résiduels [6]. Nous en déduisons que la méthode d'extraction éthanol/eau utilisée améliore l'efficacité de l'ETA qui a servi de base à sa préparation [7].

Tableau 3: les composés caractérisés dans les feuilles *Mallotus oppositifolius*

Extrait éthanolique de plantes	ZG04	ZG08
Composés chimiques		
Polyphénols	+	+
Flavonoïdes	+	-
Alcaloïdes	+	+
Tanins galliques	+	-
Tanins catéchiques	+	-
Saponosides	-	-
Stérols et terpénoïdes	-	-
Coumarines	+	+

- : absence ; + : Présence ; **ZG04:** *Mallotus oppositifolius* ; **ZG08 :** *Mareya micrantha*

4. Conclusion

De cette étude, les extraits de *Mareya micrantha* possèdent une activité antifongique plus ou moins accentuée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. A 72h d'incubation à 30°C, ces extraits possèdent une activité inhibitrice effective avec des valeurs variables de CMF et de CI₅₀ en fonction de l'extrait. L'extrait éthanolique de *M. micrantha* est le plus actif dans cette étude. Le criblage phytochimique a révélé la présence de polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes réputés pour leur activité antifongique. Ce qui donne un fondement scientifique à l'utilisation traditionnelle des feuilles de cette plante dans le traitement des pathologies à *Candida albicans*. Une analyse plus poussée des extraits par fractionnement bio guidée, nous permettra d'isoler les différentes molécules de l'extrait éthanolique le plus actif afin de préciser la nature des molécules actives.

Références bibliographiques

- [1]. Bouchet P.H., Regli P., Guignard J.L. & Madullo-Leblond G., 1989.- Mycologie générale et médicale. Masson- Paris: 107-378.
- [2]. Adjanohoun *et al.*, 2000.- La biodiversité face au développement des industries pharmaceutiques africaines. In Réseau des « espèces ligneuses médicinales », Eyog Matig O, Adjanohoun E, de Souza S. et Sinsin B. (éd). Compte rendu de la première réunion du réseau tenue 15-17 décembre 1999 à la station IITA Cotonou (Bénin) ; 88-103p.
- [3] OMS, 2003.- Médicaments essentiels et politiques pharmaceutiques : donner un soutien au pays pour produire le manque d'accès aux médicaments. Genève : OMS (rapport annuel 2002) 20 p.
- [4]. Y.C.V. Yapo; N.G Konkon; K. Coulibaly; D. Camara; G.N. Zirihi, 2016.- Étude botanique, évaluation de l'activité antifongique sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans* et de la toxicité sur des cellules HFF de feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geiseler) Müller.Arg (Euphorbiaceae) ; JAPS. Vol.28, 1: 4330-4339
- [5]. Goossens H., Guillemot D., Ferech M., Schlemmer B., Costers M., van Breda M., Baker L. J., Cars O., and Davey P. G., 2006.- National campaigns to improve antibiotic use. European Journal of Clinical Pharmacology, 62 pp. 373-379.

- [6]. Aké-Assi L. 1984.- Flore de la Côte d'Ivoire : étude descriptive et biogéographique, avec quelques notes ethnobotaniques. Thèse Doctorat, Université Nationale d'Abidjan, FAST, (Côte d'Ivoire), 1206p
- [7]. Chhabra S. C., Mahunnah R.L.A., & Mshiu E.N., 1990.- Plants used in traditional medicine in eastern Tanzania. 3 Angiosperms (Euphorbiaceae to Menispermaceae). *J. Ethnopharmacol.* 28: 255-283.
- [8]. Bagré I, Bahi C, Méité S, Djaman A J, Guédé GF, 2006.- Évaluation et Amélioration in vitro de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae) sur *Cryptococcus neoformans*, un champignon responsable de mycose humaine. *J Sci Pharm Biol* ; 7 : 37-46.
- [9]. Coulibaly K., Zirihi G. N., Amari A. S. G., 2010.- Evaluation de l'activité anticandidosique des extraits hydro-alcooliques d'écorces de huit espèces ligneuses commerciales, de la forêt de Mopri, Tiassalé (Côte d'Ivoire). *Ethnopharmacologia*, n°46 : 81-86.
- [10]. Bonga G.M., Vangah-Manda M., De Souza C. & Guedé-Guina F., 1995.- Mise en évidence des phytostéroïdes antifongiques contre *cryptococcus neoformans*. *Revue Médecine et Pharmacopée Africaine*, 9: 21-30.
- [11]. Muanda N.F., 2010.- Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat de l'Université Paul Verlaine, Metz, France, 294 p.

Criblage phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits d'écorces de *Lannea velutina* A. Rich, plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Burkina Faso

KABORE Boukaré^{1,2*}, KOALA Moumouni^{1,2}, COMPAORE Souleymane², BATIONO K. Remy^{1,3}, BELEMNABA Lazare², DABIRÉ M. Constantin^{1,4}, OUEDRAOGO Sylvain², PALE Eloi¹

¹Laboratoire de Chimie organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Laboratoire de Recherche-Développement de phytomédicaments et médicaments, Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

³Laboratoire des Technologies des Produits Naturels et de l'Environnement, Institut Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

⁴Laboratoire de chimie et Energies Renouvelables, Université Nazi BONI, 01 BP 1091, Bobo 01, Burkina Faso

*Auteur correspondant : bkrkabore@gmail.com

Résumé

Lannea velutina est une plante médicinale utilisée traditionnellement pour la prise en charge de diverses pathologies notamment l'hypertension artérielle [1].

Objectif : Déterminer le profil phytochimique, les teneurs en flavonoïdes totaux et les propriétés antiradicalaires des extraits des écorces de tronc de *Lannea velutina*.

Méthodologie : Le criblage phytochimique est effectué par CCMHP [2]. Les teneurs en flavonoïdes totaux (TFT) et les activités antiradicalaires (AAR) sont respectivement déterminées par la méthode au trichlorure d'aluminium et au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [3].

Résultats : Le criblage phytochimique a montré la présence de stérols, de triterpènes, de saponosides, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits. Les TFT vont de $3,64 \pm 0,03$ à $20,97 \pm 0,23$ mg EQ/g. Les concentrations inhibitrices 50 % (CI₅₀) et les indices de l'activité antiradicalaire (IAA), varient de $8,59 \pm 0,01$ µg/ml (IAA = 4,66) à $1879,40 \pm 9,27$ µg/ml (IAA = 0,02). L'extrait au méthanol renferme plus de FT (20,97 mg/g) et d'antiradicalaires (CI₅₀ = $8,59 \pm 0,01$ µg/ml) comparé aux autres extraits.

Conclusion : Les écorces de *Lannea velutina* contiennent des composés ayant des propriétés antiradicalaires, qui peuvent avoir des effets antihypertenseurs.

Mots clés : *Lannea velutina* ; Criblage phytochimique ; Flavonoïdes ; Antiradicalaires.

Phytochemical screening and evaluation of the antiradical activity of *Lannea velutina* A. Rich bark extracts, a plant used in the traditional treatment of hypertension in Burkina Faso

Abstract

Lannea velutina is a medicinal plant traditionally used for the treatment of various pathologies, in particular arterial hypertension ¹.

Purpose: To determine the phytochemical profile, total flavonoid contents, and free radical scavenging properties of extracts from the trunk bark of *Lannea velutina*.

Methodology: Phytochemical screening was performed using HPTLC ². Total flavonoid contents (TFC) and free radical scavenging activities (RSA) were determined using the aluminum trichloride and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ³ methods, respectively.

Results: Phytochemical screening showed the presence of sterols, triterpenes, saponosides, flavonoids, and tannins in the extracts. TFC ranged from 3.64 ± 0.03 to 20.97 ± 0.23 mg EQ/g. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) and free radical scavenging index (FSI) ranged from 8.59 ± 0.01 µg/ml (FSI = 4.66) to 1879.40 ± 9.27 µg/ml (FSI = 0.02). The methanol extract contained more TFC (20.97 mg/g) and free radical scavengers (IC₅₀ = 8.59 ± 0.01 µg/ml) than the other extracts.

Conclusion: *Lannea velutina* barks contain compounds with anti-free radical properties, which may have antihypertensive effects.

Keywords: *Lannea velutina*; Phytochemical screening; Flavonoids; Antiradicals.

1. Introduction

De nos jours, les maladies cardiovasculaires (MCV) sont responsables d'environ 17,9 millions de décès par an, soit un tiers de l'ensemble des décès dans le monde [4]. Les complications de l'hypertension sont responsables en moyenne de 9,4 millions de décès par an [5]. Cette maladie touche environ 17,6 % de la population du Burkina Faso [6]. L'hypertension est un risque cardiovasculaire qui augmente le risque d'accidents cérébrovasculaires, coronariens, cardiaques et rénaux [7]. Même si les causes exactes ne sont pas connues, certains auteurs l'attribuent au stress oxydatif [8].

Par conséquent, l'utilisation de substances anti-stress connues sous le nom d'antioxydants serait une technique efficace pour réduire l'hypertension. Les antioxydants synthétiques actuellement utilisés en médecine moderne ne sont pas très solubles dans les fluides physiologiques, et ils ont plusieurs effets indésirables et peuvent être dangereux [9]. Les thérapies de la médecine moderne contre l'hypertension sont parfois d'un coût prohibitif et ne sont pas accessibles aux populations africaines, d'où leur intérêt pour la médecine traditionnelle.

C'est pourquoi le marché mondial des médicaments à base de plantes, tels que les produits pharmaceutiques à base de plantes et les compléments alimentaires, est en pleine expansion. Bien que l'utilisation à long terme des médicaments à base de plantes soit considérée comme sûre et bénéfique, les autorités sanitaires nationales et le grand public s'inquiètent de leur sécurité en raison d'un manque de preuves scientifiques [10]. Plusieurs études médicales anciennes indiquent que *Lannea velutina* est utilisée pour traiter la fièvre, les abcès, les plaies enflées et l'hypertension [1], [11]. Des recherches antérieures ont montré que les feuilles, le tronc et l'écorce des racines de *L. velutina* ont des propriétés antibactériennes, larvicides, antiradicalaires et inhibitrices de la 15-lipoxygénase [11]. Bien que l'écorce du tronc de *L. velutina* soit largement utilisée depuis longtemps et qu'elle ait démontré des vertus thérapeutiques [11], leur phytochimie est mal connue. D'où la nécessité d'établir le profil chimique des extraits d'écorce de tronc de *L. velutina*. Cette étude vise à mettre à jour les données scientifiques sur le profil phytochimique et les propriétés antiradicalaire de l'écorce de cet arbre.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Les écorces de troncs de *L. velutina* ont constitué le matériel végétal. La récolte de l'écorce de cette plante a eu lieu en juillet 2021 près de Komkaga, à 30 kilomètres à l'est de Ouagadougou dans la région centrale. Un botaniste du Centre National de Semences Forestières du Burkina Faso (CNSF) a identifié et déposé un spécimen de plante sous la référence N° CNSF-1426. Le séchage du matériel végétal est effectué à l'air à température ambiante, et la quantité sèche obtenue est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

2.2. Extraction

Deux cents millilitres de n-hexane sont macérés à 4 °C pendant vingt-quatre heures avec 20 grammes de poudre d'écorce de tronc à basse température. L'expérience est répétée jusqu'à ce que la poudre perde sa couleur. Après filtration sur papier filtre, les extraits hexaniques (EH) sont recueillis et concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI) à $t < 40$ °C. Le marc est extrait successivement avec du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle et du méthanol dans les mêmes conditions. Les extraits au dichlorométhane (ED), à l'acétate d'éthyle (EA) et au méthanol (EM) sont séchés et conservés au dessiccateur en vue d'une utilisation ultérieure. L'extrait aqueux est obtenu en faisant macérer 100 grammes de poudre d'écorce de tronc avec 1000 millilitres d'eau à 4 °C pendant 24 heures. L'expérience est répétée jusqu'à ce que la substance perde sa couleur. Les filtrats individuels sont recueillis, congelés et lyophiliser à l'aide d'un lyophilisateur.

2.3. Criblage chimique par chromatographie sur couche mince haute performance (CCMHP)

2.3.1. Chromatographie

Le criblage phytochimique des extraits d'écorce du tronc de *L. velutina* est réalisé à l'aide de la méthode de chromatographie en couche mince à haute performance (CCMHP) [12]. Ce travail a utilisé des plaques CCMHP de gel de silice 60 F₂₅₄ de 200 mm x 100 mm (Merck, Darmstadt, Allemagne). Les solutions d'échantillons sont appliquées sur les plaques HPTLC à l'aide d'un applicateur Linomat 5 (CAMAG, Muttens, Suisse) et d'une seringue de 100 µL. En bref, des volumes de 5 µL d'échantillons sont utilisés comme bandes de 8 mm. 3,4 millimètres séparent chaque point. L'espace entre le premier dépôt et le bord gauche de la plaque est de 20 mm, et la distance entre le dernier dépôt et le bord droit de la plaque est également de 20 mm. Un débit constant de 100 nL/s est utilisé pour l'application. Une phase mobile de 10 ml est utilisée pour un développement linéaire ascendant dans une chambre en verre à double auge CAMAG recouverte de papier filtre et saturée de vapeur de phase mobile pendant 30 minutes. La distance de développement était de 70 mm. La phase mobile dans les auges jumelles de la cuve de migration était composée de : n-hexane/acétate d'éthyle (20 : 4, v/v), pour les stérols et les triterpènes, d'Acétate d'éthyle/éther de pétrole (2 : 1, v/v), pour les saponosides, d'Acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique/eau, (100 : 11 : 11 : 26, v/v/v/v), pour les flavonoïdes et d'Acétate d'éthyle-méthanol-eau-chloroforme (18 : 2,4 : 2,1 : 6, v/v/v/v), pour les tanins. La révélation est effectuée à l'aide de l'équipement de pulvérisation et de réactif choisi en fonction du groupe de métabolite secondaire à mettre en évidence. Ainsi, les stérols et triterpènes sont mis en évidence par réactif Liebermann Burchard. La plaque est chauffée à 110 °C

pendant 5 min. L'observation a ensuite été effectuée à l'UV/366 nm [12]. Les saponosides sont révélés par l'anisaldéhyde-acide sulfurique. La plaque est vaporisée avec le réactif et chauffée 5 min à 100 °C. Les spots des saponosides apparaissent dans le visible [12]. Pour les flavonoïdes, la plaque est vaporisée avec le réactif de Neu et chauffée pendant 5 à 110 °C avant d'être observée à l'UV/366 nm [12]. Pour les tanins, la plaque est pulvérisée avec de l'éthanol contenant 2 % du FeCl₃ et observée dans le visible [12].

2.4. Teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés

Les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) des extraits sont déterminées par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu [12]. En bref, 1 ml d'extrait végétal et la solution d'acide gallique sont mélangés avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué dix fois avec de l'eau distillée. Le mélange est incubé pendant 8 min à température ambiante, puis 2 mL de la solution de carbonate de sodium 7,5 % est ajouté. Après incubation dans un bain-marie à 37°C pendant 30 min, les absorbances sont lues à 760 nm avec un spectrophotomètre UV-Vis SHIMADZU. Les teneurs en composés phénoliques des extraits sont déterminés en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 19,532x + 0,0236$, $R^2 = 0,9993$ (1)). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme de poids sec. Les teneurs en flavonoïdes totaux (FT) dans les extraits sont déterminées en utilisant la méthode colorimétrique au AlCl₃ [12]. La quercétine est utilisée comme standard, et la quantification est exprimée en rapportant l'absorbance dans la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y = 20,022x + 0,0087$, $R^2 = 0,9992$ (2)). Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg d'EQ/g d'extraits sec. Les teneurs en tanins condensés (TTC) sont déterminées selon la méthode décrite par Broadhurst et Jones avec de légères modifications [12]. A 0,5 ml de chaque échantillon ou standard convenablement dilué, on ajoute 3 ml de solution de vanilline (4 %, p/v, dans du méthanol) et 1,5 ml de HCl concentré. Le mélange est incubé pendant 20 min à 20 °C et les absorbances sont lues à 500 nm avec un spectrophotomètre. Les teneurs en tanins condensés sont déduites de la courbe d'étalonnage de la catéchine (0-1 mg/mL) ($y = 2,7512x + 0,0095$, $R^2 = 0,9996$ (3)). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent catéchine par gramme de poids sec (mg EC/g). Toutes les déterminations sont effectuées en triplicata (n = 3).

2.5. Évaluation de l'activité antiradicalaires par la méthode au DPPH

Les activités antiradicalaires des échantillons et des standards sont évaluées par la méthode de piégeage des radicaux avec le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH-) [3]. En bref, 1 mL de solutions méthanoliques des échantillons ou des standards à différentes concentrations ont été ajoutés chacun à 4 mL d'une solution méthanolique de DPPH• (C = 40 µg/mL = 0,10 mM). L'échantillon témoin est composé de 1 ml de méthanol ajouté à 4 ml de DPPH•. Les tests ont été réalisés en triplicata. Après une période d'incubation de 15 min à température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 517 nm. La CI₅₀ (concentration provoquant une inhibition de 50 %) a été estimée graphiquement à l'aide d'une courbe d'étalonnage des concentrations de l'extrait en fonction de l'action piégeuse correspondante. L'indice d'activité antiradicalaire (IAA) a été calculé comme suit :

$$IAA = \frac{\text{concentration finale de DPPH} (\mu\text{g/mL})}{CI_{50} (\mu\text{g/mL})} \quad (5)$$

les extraits sont considérés comme présentant une activité antiradicalaire faible lorsque l'IAA < 0,5, une activité antiradicalaire modérée lorsque 0,5 < IAA < 1,0, forte lorsque l'IAA est compris entre 1,0 et 2,0, et très forte lorsque l'IAA > 2,0 [3]. Tous les tests ont été réalisés en triplicata.

1.2. Analyse statistique

Les données ont été traitées et analysées avec le logiciel Graph Pad Prism version 8.0. Les données ont été exprimées en tant que moyenne ± erreur standard de la moyenne (SEM). Les valeurs d'utilisation moyennes ont été comparées à l'aide de l'ANOVA (analyse de la variance) à sens unique, suivie du test de Bonferroni. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives pour une "valeur p inférieure à 0,05".

3. Résultats et discussion

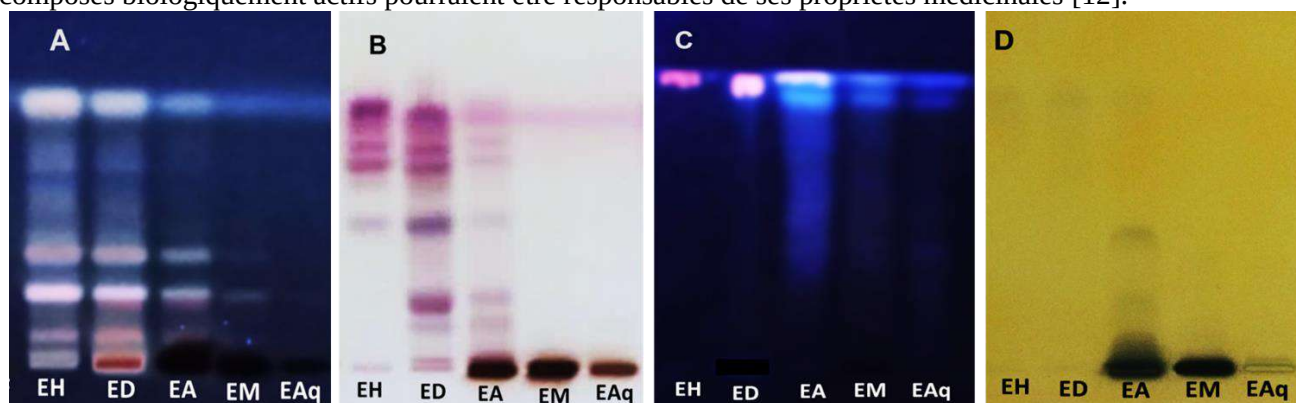
3.1. Criblage chimique par chromatographie sur couche mince haute performance (CCMHP)

Les informations issues de la littérature [12] ont permis de commenter les chromatogrammes obtenus (Figures 1A et 1B). Le réactif de Liebermann-Bürchard a révélé que seuls les extraits d'hexane, de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle contenaient des triterpènes oléane et ursane (spots R_f = 0, 27) ainsi que des triterpènes de lupane (spots R_f = 0,01, 0,05, 0,38, 0,58 et 0,95) et des stérols (spots R_f = 0,19, 0,40, 0,67, 0,79 et 0,86). Les taches bleues (spots R_f = 0,40, 0,58 et 0,95) observées dans les extraits méthanolique et aqueux pourraient indiquer la présence de stérols dans ces extraits. Avec le réactif à l'anisaldéhyde (Figure 1B), seuls les extraits d'hexane, de

dichlorométhane et d'acétate d'éthyle présentent des triterpènes et des stérols sous forme de taches violettes ($R_f = 0,18, 0,37, 0,53, 0,67, 0,81$ et $0,87$).

La figure 1C présente le chromatogramme des flavonoïdes extraits de l'écorce du tronc. Le chromatogramme montre différentes régions bleues (spots $R_f = 0,40, 0,48, 0,81, 0,88$ et $0,91$) apparue grâce au réactif de Neu qui correspondraient à la présence de flavanols, flavones éthylées, isoflavones et flavanones dans les extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol [12]. Les tanins, un autre type de métabolites secondaires, présentent des couleurs caractéristiques à l'aide de $FeCl_3$ (figure 1D). Les tanins hydrolysables et les tanins condensés montrent respectivement une coloration bleu-noir et brun-vert [12]. Les tanins hydrolysables ont été détectés dans les extraits d'acétate d'éthyle, de méthanol et d'eau (taches $R_f = 0,02$ et $0,05$), tandis que les tanins condensés ont été identifiés dans les extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol de l'écorce du tronc de *L. velutina* (taches $R_f = 0,19, 0,39$ et $0,79$).

Des études ont montré que les composés phénoliques peuvent inhiber certaines enzymes, protéger contre la peroxydation des lipides, traiter le diabète de type 2 et réguler la pression artérielle [3]. Des stérols, des triterpènes, des flavonoïdes et des tanins sont mis en évidence dans l'écorce du tronc de *L. velutina* grâce à la CCMHP. Ces composés biologiquement actifs pourraient être responsables de ses propriétés médicinales [12].



EH : extrait à l'hexane ; **ED** : extrait au DCM ; **EA** : extrait à l'AcOEt ; **EM** : extrait au MeOH ; **EAq** : extrait à l'eau

Figure 6 : Chromatogramme pour la détection des stérols et des triterpènes (A), des saponosides, des stérols et des triterpènes (B), des flavonoïdes (C) et des tanins (D).

3.2. Teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés

Les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT), en flavonoïdes totaux (FT) et en tanins condensés (TTC) des extraits à l'AcOEt, au MeOH et à l'eau sont présentées dans le tableau 1. Les teneurs en CPT sont comprises entre $195,36 \pm 0,95$ mg d'EAG/g pour l'extrait aqueux et $607,06 \pm 0,6$ mg d'EAG/g pour l'extrait de méthanol. Les teneurs en flavonoïdes totaux (FT) varient de $3,64 \pm 0,02$ d'EQ/g d'extrait sec pour l'extrait aqueux à $20,97 \pm 0,23$ d'EQ/g d'extrait sec pour l'extrait méthanol. L'extrait méthanol de l'écorce du tronc de *L. velutina* contient la plus forte teneur en flavonoïdes. Outre les flavonoïdes et les acides phénoliques, les proanthocyanidines (tanins condensés) sont essentielles à la prévention des maladies humaines et dans la lutte contre les accidents cardiovasculaires [14]. Les valeurs de TTC sont comprises entre $77,72 \pm 0,19$ et $194,50 \pm 0,75$ mg EC/g d'extrait sec pour les extraits aqueux et méthanol (tableau 1). L'extrait méthanol de l'écorce du tronc de *L. velutina* contenait la plus forte teneur de proanthocyanidines. D'après le tableau 1, les teneurs en CPT, en FT et en TTC des trois extraits augmentent dans l'ordre suivant : extrait à l'eau < à l'AcOEt < au MeOH. Des différences significatives dans les résultats ont été associées à la polarité variable des solvants utilisés et à l'affinité des métabolites secondaires en fonction du solvant d'extraction [13].

Tableau 1 : Teneurs en composés phénoliques totaux (CPT), en flavonoïdes totaux (TFC) et en tannins condensés (TTC)

Extraits	CPT (mg EAG/g)	FT (mg EQ/g)	TTC (mg EC/g)
MeOH	$607,06 \pm 0,6^a$	$20,97 \pm 0,23^a$	$194,50 \pm 0,75^a$
AcOEt	$425,85 \pm 12,5^b$	$16,17 \pm 0,92^b$	$141,01 \pm 0,61^b$
Eau	$195,36 \pm 0,95^c$	$3,64 \pm 0,02^c$	$77,72 \pm 0,19^c$

Des lettres différentes correspondent à une différence significative ($P < 0,05$).

3.3. Évaluation de l'activité antiradicalaires par la méthode au DPPH

Le tableau 2 montre les résultats de l'évaluation des activités antiradicalaires pour les extraits et les standards. Les résultats révèlent que le niveau d'activité antiradicalaire diffère selon le type d'extrait. Ces résultats indiquent également que l'extrait au méthanol possède la plus forte activité antiradicalaire par rapport aux autres extraits d'écorce de tronc étudiés. L'activité antiradicalaire présente des corrélations significatives avec les teneurs en composés phénoliques ($r = 0,97$), en flavonoïdes ($r = 0,99$) et en proanthocyanidines ($r = 0,96$) (tableau 3). A l'exception de l'acide gallique (IAA = 8,6), l'extrait de méthanol (IAA = 4,66) a montré une activité antiradicalaire beaucoup plus importante que les standards. Cet extrait contenait également des quantités significatives de phénols, de flavonoïdes et de proanthocyanidines (tableau 1), les trois principaux antioxydants hydrophiles naturels [20]. L'incapacité des extraits d'écorce de troncs d'hexane à inhiber la DPPH pourrait être due à l'absence de composés phénoliques. Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la consommation d'antiradicalaires peut avoir un impact significatif sur la santé [20].

Tableau 2 : Valeurs de l'indice d'activité antiradicalaire (IAA)

Extraits	Jour I			II			III			CI ₅₀	IAA	SD
	R ²	^A CI ₅₀	IAA	R ²	CI ₅₀	IAA	R ²	CI ₅₀	IAA			
Ac. gallique	0,9955	4,65	8,61	0,9967	4,63	8,64	0,9968	4,63	8,65	4,63	8,63 ^a	0,01
Catéchine	0,9922	11,64	3,44	0,9936	11,60	3,45	0,9944	11,61	3,44	11,60	3,44 ^c	0,02
Trolox	0,9987	15,16	2,64	0,9992	15,21	2,63	0,9994	15,25	2,62	15,21	2,63 ^d	0,05
MeOH	0,9948	8,58	4,65	0,9949	8,58	4,65	0,9949	8,60	4,65	8,59	4,66 ^b	0,01
AcOEt	0,9982	27,50	1,45	0,9982	27,12	1,48	0,9983	27,12	1,48	27,25	1,47 ^e	0,22
Eau	0,9945	98,67	0,41	0,9966	98,55	0,41	0,9967	98,00	0,41	98,41	0,41 ^g	0,36
DEB	0,9922	1880,6	0,02	0,9939	1887,9	0,02	0,9945	1869,5	0,02	1879,4	0,02 ^h	9,27
HEB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

R² : coefficient de linéarité ; SD : écart-type. Des lettres différentes correspondent à une différence significative ($P < 0,05$). ^A µg/mL

Tableau 3 : Corrélation (r) entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antiradicalaires

	DPPH	CPT	FT
CPT	0,97	-	-
FT	0,997	0,98	-
TTC	0,96	0,9998	0,98

4. Conclusion

En définitive, les extraits d'écorce du tronc de *L. velutina* contiennent des microconstituants réputés antiradicalaires. Les profils de chromatographie sur couche mince à haute performance ont détecté des stérols, des terpènes, des tanins et des flavonoïdes. La teneur en composés phénoliques dépend fortement du solvant utilisé pour l'extraction. L'analyse quantitative démontre que l'extrait au méthanol présente la plus forte teneur en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés. Selon la méthode DPPH, les propriétés antioxydantes des extraits d'écorce de tronc varient en fonction du solvant utilisé pour l'extraction. L'extrait au méthanol de l'écorce du tronc de *L. velutina* présente également l'activité antioxydante la plus élevée avec un CI₅₀ de 8,59 µg/mL. Il existe une corrélation significative entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante. Les flavonoïdes totaux sont responsables de plus de 99 % de l'effet de neutralisation des radicaux.

References

- [1] Belemnaba L *et al.*, "Search for plants with antihypertensive potential in the biodiversity of Burkina Faso," *Rev. CAMES-Série Pharm. Méd. Trad. Afr.*, vol. 17, no. 1, pp. 33–40, 2014.
- [2] B. Kaboré *et al.*, "Phytochemical Screening by High-Performance Thin-Layer Chromatography, Antioxidant Activities and Acute Toxicity of Trunk Barks Extracts of *Lannea velutina* A. Rich," *Am. J. Anal. Chem.*, vol. 13, no. 10, pp. 365–381, 2022, doi: 10.4236/ajac.2022.1310025.
- [3] R. Scherer and H. T. Godoy, "Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

- method,” *Food Chem.*, vol. 112, no. 3, pp. 654–658, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026.
- [4] G. A. Roth *et al.*, “Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 70, no. 1, pp. 1–25, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.jacc.2017.04.052.
- [5] G. A. Roth *et al.*, “Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 76, no. 25, pp. 2982–3021, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.JACC.2020.11.010.
- [6] OMS au Burkina Faso, “Profil sanitaire complet du Burkina Faso,” *Profil Sanit. Complet du Burkina Faso Modul.*, 2017.
- [7] S. E. Kjeldsen, “Hypertension and cardiovascular risk: General aspects,” *Pharmacological Research*, vol. 129, Academic Press, pp. 95–99, Mar. 01, 2018, doi: 10.1016/j.phrs.2017.11.003.
- [8] A. C. Montezano and R. M. Touyz, “Reactive oxygen species, vascular disease, and hypertension,” in *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014, pp. 1123–1154, doi: 10.1007/978-3-642-30018-9_56.
- [9] T. O. Ayoka, B. O. Ezema, C. N. Eze, and C. O. Nnadi, “Antioxidants for the Prevention and Treatment of Non-communicable Diseases,” *J. Explor. Res. Pharmacol.*, vol. 000, no. 000, pp. 000–000, Jul. 2022, doi: 10.14218/jerp.2022.00028.
- [10] L. I. Ramirez, O. N. Kanwugu, and M. N. Ivantsova, “Impact of herbal supplements nowadays: an overview,” *Chim. Techno Acta*, vol. 9, no. 2, 2022, doi: 10.15826/CHIMTECH.2022.9.2.S4.
- [11] K. E. Malterud, “Ethnopharmacology, chemistry and biological properties of four Malian medicinal plants,” *Plants*, vol. 6, no. 1, pp. 1–5, 2017, doi: 10.3390/plants6010011.
- [12] B. Kaboré *et al.*, “High-Performance Thin-Layer Chromatography Phytochemical Profiling, Antioxidant Activities, and Acute Toxicity of Leaves Extracts of *Lannea velutina* A. Rich,” *J. Med. Chem. Sci.*, vol. 6, no. 2, pp. 410–423, 2023, doi: 10.26655/JMCHEMSCI.2023.2.21.
- [13] H. Nawaz, M. A. Shad, N. Rehman, H. Andaleeb, and N. Ullah, “Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds,” *Brazilian J. Pharm. Sci.*, vol. 56, 2020, doi: 10.1590/s2175-97902019000417129.
- [14] D. Liu, “Effects of procyanidin on cardiomyocyte apoptosis after myocardial ischemia reperfusion in rats,” *BMC Cardiovasc. Disord.*, vol. 18, no. 1, 2018, doi: 10.1186/s12872-018-0772-x.

Nouveaux alcaloïdes indolomonoterpéniques des feuilles de *Pavetta corymbosa* (Rubiaceae) de Côte d'Ivoire et leur activité antiplasmodiale

KOUADIO Affoué Yvette ^{1,3,*}, OKPEKON Aboua Timothée ¹, KOFFI Akissi Jeanne ², SERI Séri Chardin ¹, KOFFI Yao Hermann ¹, AGNES Akpa Salemon ^{1,3}, SEON-MENIEL Blandine ³, LE POGAM Pierre ³, CHAMPY Pierre ³

1. Laboratoire de Chimie et Réaction de la Matière, UFR de Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.
2. Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme (CRLP), Institut National de Santé Publique de Côte d'Ivoire (INSP-CI), Côte d'Ivoire, BP V 47 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.
3. Laboratoire de Pharmacognosie, UMR 8076 CNRS BioCIS, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Saclay, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.

* kouaffyvette@gmail.com

Résumé : Face à la grande résistance des souches du *Plasmodium falciparum* aux molécules existantes, comme la quinine et l'artémisinine, il est urgent de trouver de nouvelles alternatives thérapeutiques. C'est dans ce contexte que nous avons initié l'étude phytochimique de *Pavetta corymbosa*, une plante de la famille des Rubiaceae de la flore ivoirienne utilisée en médecine traditionnelle contre les gastrites, les maux de tête, les troubles respiratoires, les fièvres et le paludisme. Les quelques études réalisées sur cette plante a permis d'identifier principalement des triterpénoïdes et des flavonoïdes. Grâce à une stratégie de déréplication fondée sur des réseaux moléculaires générés à partir de données CLHP-SM/SM, nous avons isolé deux nouveaux alcaloïdes indolomonoterpéniques suite à un fractionnement chromatographique sous guidage SM. L'étude structurale de ces composés a été réalisée par l'analyse de leurs données spectrales (SM, RMN 1D et 2D). Dans cette publication, nous présentons la structure de ces alcaloïdes nouveaux ainsi que leur activité antiplasmodiale. Plus loin, ces composés seront évalués pour leur cytotoxicité mais aussi par combinaison afin de déterminer leur potentielle synergie.

Mots clés : *Pavetta corymbosa*, Alcaloïdes indolomonoterpéniques, Activité antiplasmodiale, Rubiaceae

New indolomonoterpene alkaloids from the leaves of *Pavetta corymbosa* (Rubiaceae) from Côte d'Ivoire and their antiplasmodial activity

Abstracts: Faced with the high resistance of *Plasmodium falciparum* strains to existing molecules, such as quinine and artemisinin, it is urgent to find new therapeutic alternatives. In this context, we initiated the phytochemical study of *Pavetta corymbosa*, a plant of the Rubiaceae family of the Ivorian flora used in traditional medicine against gastritis, headaches, respiratory disorders, fevers and malaria. The few studies carried out on this plant have mainly identified triterpenoids and flavonoids. Using a dereplication strategy based on molecular networks generated from HPLC-MS/MS data, we isolated four new indolomonoterpene alkaloids following MS-guided chromatographic fractionation. The structural study of these compounds was carried out by the analysis of their spectral data (MS, 1D and 2D NMR). In this publication, we present the structure of these new alkaloids as well as their antiplasmodial activity. Further, these compounds will be evaluated for their cytotoxicity but also by combination in order to determine their potential synergy.

Keywords: *Pavetta corymbosa*, Indolomonoterpene alkaloids, Antiplasmodial activity, Rubiaceae

5. Introduction

Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique dans le monde, à cause de son incidence croissante (247 millions en 2021, contre 245 millions en 2020), sa mortalité élevée de 619 000 cas en 2021, et de son impact socioéconomique considérable [1]. Cette situation est liée à plusieurs causes. L'une des plus importantes est la résistance de *Plasmodium falciparum* aux médicaments antipaludiques actuellement utilisés tels que les dérivés de l'artémisinine, de l'amodiaquine, de l'halofantrine, la méfloquine, la chloroquine et parfois la quinine. En effet, il existe cinq espèces de parasites responsables du paludisme chez l'homme mais seules deux d'entre elles, *P. falciparum* et *P. vivax*, constituent la plus grande menace [2]. La thérapie actuellement recommandée repose essentiellement sur une combinaison thérapeutique à base de dérivés de l'artémisinine et de la luméfántrine (thérapie ACT). Malheureusement, des cas de résistance des parasites à l'ACT ont été signalés [3]. La recherche de nouvelles molécules à visée antipaludique est donc une nécessité et la phytothérapie traditionnelle en demeure une des sources importantes à explorer [4,5]. *Pavetta corymbosa* (Rubiaceae), également connue sous le nom de "bois puant", est un arbuste de 1 à 3 m de hauteur à écorces lisses et blanchâtres. Elle est utilisée comme traitement pour certaines maladies telles que le rhume, les troubles gastro-intestinaux, les fièvres, et bien d'autres par les herboristes et les tradipraticiens [6-8]. Elle est également décrite comme possédant des propriétés antimicrobienne [9], antioxydante [10] et antiplasmodiale [11]. Les quelques études phytochimiques réalisées sur cette espèce ont permis d'identifier des terpénoïdes et des flavonoïdes [12]. Dans la présente publication, nous

présentons l'isolement et l'élucidation de la structure de deux alcaloïdes nouveaux isolés des feuilles de *Pavetta corymbosa* ainsi que leur activité antiparasitaire.

6. Matériel et méthodes

6.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de feuilles de *Pavetta corymbosa* récoltées en Octobre 2020 dans le Département d'Agboville (GPS : Lat. Nord : 5.7298900 ; Long. Sud : 4.0882100) au Sud-est de la Côte d'Ivoire. La plante a été authentifiée au Centre National Floristique (CNF) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ces feuilles ont été séchées au laboratoire (25°C environ) pendant deux semaines.

6.2. Méthodes générales

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur des spectromètres Bruker AM-400 (400 MHz) et Avance III 600 MHz (Bruker, Bremen, Allemagne). Les spectromètres de RMN ont été calibrés en utilisant des signaux résiduels de solvant comme références. Des analyses HPLC analytiques ont été réalisées à l'aide d'un système LC-MS comprenant un Agilent 1260 Infinity HPLC couplé avec un Agilent 6530 ESI-Q-TOF-MS fonctionnant en polarité positive. Des colonnes C₁₈ préparatives Sunfire (150 × 30 mm, d.i. 5 µm, Waters) ont été utilisées pour les séparations HPLC à l'aide d'un Waters Delta Prep (Waters Co., Milford, MA, USA) composé d'une pompe binaire (Waters 2525) et d'un détecteur UV-visible à barrette de diodes (190-600 nm, Waters 2996). Des analyses CCM ont été effectuées sur du gel de silice 60F₂₅₄ (Merck) et les taches ont été visualisées par pulvérisation avec de la vanilline sulfurique et du réactif de Dragendorff.

6.3. Extraction, isolement et caractérisation des composés

La poudre de feuilles de *Pavetta corymbosa* a été soumise à une extraction alcaloïdique par macération dans de l'eau acidifiée (H₂SO₄, 1M) pendant 24 h. La phase aqueuse obtenue après filtration a été alcalinisée avec l'ammoniaque jusqu'à pH 12. Il s'ensuit une extraction liquide-liquide au dichlorométhane (trois fois) puis évaporation à sec du solvant organique pour obtenir l'extrait d'alcaloïdes totaux (PCOFA) (**Figure 1**).

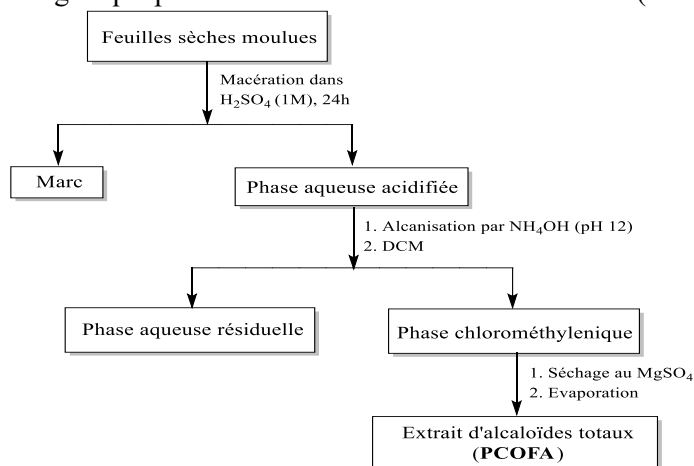


Figure 1 : Schéma d'extraction des alcaloïdes totaux

Suite à son analyse en LC-MS, l'extrait alcaloïdique (PCOFA) de masse 3,4 g a subi un fractionnement sur une colonne chromatographique flash en utilisant une cartouche contenant 330 g de gel de silice 60. Le système d'élution utilisé a été un mélange binaire dichlorométhane/méthanol (DCM/MeOH) suivant un gradient (100:0 à 0:100) sous un débit de 30 mL/min. Après rassemblement des éluats collectés selon leur profil chromatographique sur CCM (révélées avec le réactif de Dragendorff), dix fractions (F1 à F10) ont été obtenues. Suite à une étude dérégulatrice contre la base de données Monoterpene Indole Alkaloids DataBase (MIADB) hébergée chez GNPS [13], les fractions F4 et F8 ont été choisies pour être purifiées. La fraction F8 (331,5 mg) a été fractionnée deux fois de suite sur colonnes chromatographiques flash dans les mêmes conditions décrites précédemment avec des cartouches de 120 g et 24 g. À l'issue de ce procédé deux sous-fractions, F833 (23,8 mg) et F836 (74,6 mg), ont été purifiées par CLHP sémi-préparative, pour ainsi fournir les composés **1** (2,9 mg) et **2** (1,5 g). L'étude structurale de ces composés a été réalisée par l'analyse de leurs données spectrales (SM, RMN 1D et 2D).

6.3.1. Carbolinopavettine A (**1**)

Solide amorphe jaune ; $[\alpha]_D^{20} + 40.0$ (c 0,1, MeOH) ; UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 232 (4,0), 290 (3,6) nm ; RMN ^1H et ^{13}C , voir **Tableau I** ; HRSMIES m/z 338,1872 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$, 338,1869).

6.3.2. Carbolinopavettine B (2)

Solide amorphe jaune ; $[\alpha]_D^{20} - 22.7$ (c 0,1, MeOH) ; UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 228 (4,3), 262 (3,7), 310 (3,5) nm ; RMN ^1H et ^{13}C , voir **Tableau I** ; HRSMIES m/z 370,1769 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4$, 370,1767).

2.5. Analyse par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse

Les échantillons ont été analysés à l'aide d'un Agilent 6530 Accurate Mass Q-TOF couplé à un système LC Agilent Infinity 1260 équipé d'une colonne Sunfire C_{18} (150 × 2,1 mm ; diamètre intérieur 3,5 μm , Waters, Milford, MA, USA) avec un débit de 0,25 mL/min. Les spectres de masse à balayage complet ont été acquis en polarité positive dans une plage de masse m/z de 100 à 1200. La température capillaire, la tension de la source et le débit de gaz vecteur ont été fixés à 320 °C, 3,5 kV et 10 L/min, respectivement. Les tensions du capillaire, du fragmenteur et du skimmer ont été fixées à 3500 V, 175 V et 65 V, respectivement. Quatre événements de balayage ont été utilisés : MS positif, plage de masse englobant m/z 100-1200 et trois balayages MS/MS dépendants des données des cinq ions les plus intenses du premier événement de balayage. Trois énergies de collision (c'est-à-dire 30, 50 et 70 eV) ont été utilisées pour la génération des données MS/MS. La purine [$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4$, m/z 121,050873] et le HP-0921 [Hexakis (1H, 1H, 3H-tétrafluoropropoxy)-Phosphazène $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_{24}\text{N}_3\text{O}_6\text{P}_3$, m/z 922,009798] ont été utilisés comme masses de verrouillage interne. Les scans complets ont été acquis à une résolution de 10 000 (m/z 922) et 4 000 (m/z 121). Un critère permanent de liste d'exclusion MS/MS a été établi pour empêcher le suréchantillonnage du calibrant interne.

2.6. Evaluation de l'activité antiplasmodiale

Les essais d'activité antiplasmodiale ont été réalisés *ex vivo* selon le protocole de Trager et Jensen adaptée par Tano et al. (2021) [2]. Cette méthode repose sur la culture d'isolats de *Plasmodium falciparum* en présence d'une série de concentrations de l'antipaludique étudié pendant la durée du cycle évolutif du parasite ou une partie de ce cycle. Les isolats utilisés dans la présente étude ont été obtenus à partir de prélèvements sanguins sur des individus présentant un accès palustre simple à *Plasmodium falciparum* avéré suite à un TDR positif validé par des tests de goutte épaisse et de frottis mince positifs confirmant une mono-infection à *P. falciparum* aux stades schizontes et gamétocytes. Ces parasites présents dans les globules rouges parasités ont servi à réaliser les tests de chimio-sensibilité avec une densité parasitaire comprise entre 0,1 et 0,3 %. Des solutions mères des médicaments à tester ont été préparées dans du DMSO. Les substances ont été diluées en série deux fois avec 100 μL de milieu de culture RPMI 1640 dans des plaques à 96 puits. Ensuite, les globules rouges parasités ont été exposés aux différents médicaments, puis incubés 72 heures à 37°C sous cloche de bougie. La technique Rieckmann microtest adoptée par l'OMS [14] a été utilisée et la fluorescence a été mesurée après exposition au vert SYBR dans l'obscurité pendant une heure à température ambiante. L'activité antipaludique ou l'inhibition de la schizogonie érythrocytaire a été déterminée en mesurant la fluorescence du vert Sybr intercalé dans l'ADN du parasite, à l'aide d'un spectrofluorimètre. Ensuite, les valeurs de CI_{50} (concentration de l'extrait inhibant 50 % de la croissance du parasite) ont été déterminées par le logiciel en ligne ICEstimator antimalarial version 1.2 [2,15]. La luméfantrine et la quinine ont été utilisés comme témoins positifs.

3. Résultats et discussion

3.1. Analyses phytochimiques

L'analyse systématique par LC-DAD-MS de l'extrait alcaloïdique PCOFA des feuilles séchées de *Pavetta corymbosa* qui a montré une très intéressante activité antiplasmodiale sur les isolats de *Plasmodium* obtenus auprès de patients (voir **Tableau II**), indiquait sur son chromatogramme ionique total (TIC) la présence de pics d'ion moléculaire à m/z 316,1451, 330,1244, 338,1872 et 370,1769, non détectés auparavant suite à l'analyse par déréplication contre la base de données Monoterpene Indole Alkaloids DataBase (MIADB) hébergée chez GNPS [13]. Ces données nous ont amenées à orienter nos efforts d'isolement vers ces composés spécifiques prioritaires en raison de leur structure présumée nouvelle. L'isolement de ces composés, réalisé par fractionnement chromatographique flash sur colonnes de gel de silice suivi de purification par HPLC à barrette de diode (DAD), fourni les quatre composés respectifs dont l'élucidation structurale réalisée grâce à leurs données spectroscopiques n'a pu permettre d'établir que la structure plane de d'entre eux, les composés **1** et **2** (**Figure 2**).

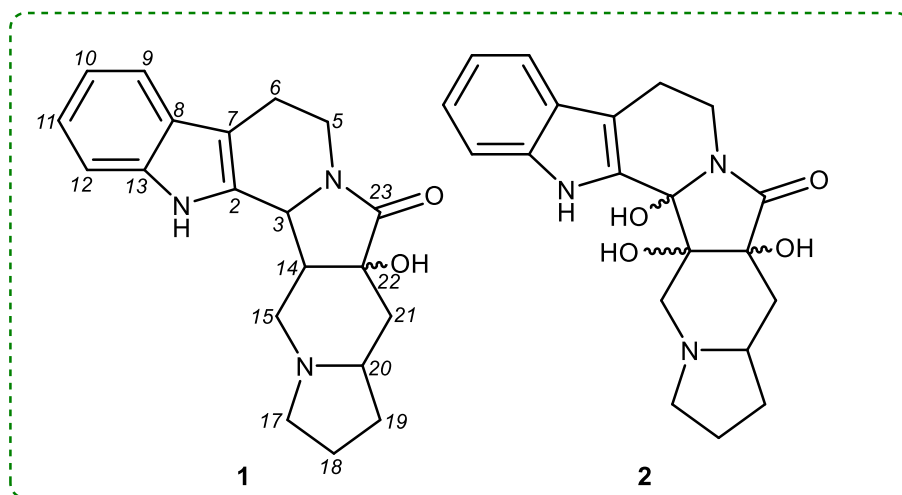


Figure 2 : Structures des composés **1** et **2** isolés

L'analyse HRESIMS de **1**, isolé sous forme d'un solide amorphe jaune, a révélé un ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 338,1872, déterminant une composition élémentaire de $C_{20}H_{23}N_3O_2$. Ce qui correspond à 11 indices de déficience en hydrogène. En conjonction avec le spectre HSQC, le spectre de RMN ^{13}C a révélé 20 résonances de carbone attribuables à un carbonyle (δ_C 172,9), quatre méthines aromatiques (δ_C 123,0, 120,3, 119,0 et 112,2), quatre carbones quaternaires aromatiques (δ_C 138,4, 129,0, 127,9, 110,5), un carbone oxygéné tertiaire (δ_C 77,5), trois méthines aliphatiques non fonctionnalisés (δ_C 64,0, 54,9, 44,3) et sept méthylènes (δ_C 53,7, 50,2, 38,9, 35,2, 29,9, 21,9 et 21,6). Le spectre de RMN ^1H réalisé dans le méthanol deutéré montre des signaux pour un système ABCD de spins d'un noyau aromatique ortho-bisubstitué à δ_H 7,44 ppm (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 7,03 ppm (1H, t, $J = 7,5$ Hz), 7,12 ppm (1H, t, $J = 7,5$ Hz) et 7,34 ppm (1H, d, $J = 7,8$ Hz). On peut aussi observer des signaux de protons méthines liés à un hétéroatome à δ_H 5,38 (1H, s) et 2,52 ppm (1H, m). Ce spectre présente également des signaux de sept groupes de méthylènes parmi lesquels six sont sous forme de protons diastérotopiques dont trois liés à un hétéroatome à δ_H 4,45 ppm (1H, dd, $J = 13,2, 5,6$ Hz) / 3,11 (1H, td, $J = 12,4, 4,3$ Hz) ppm, 3,26 (1H, t, $J = 7,4$ Hz) / 2,47 ppm (1H, m) ppm et 3,16 (1H, m) / 2,02 (1H, m) ppm, et trois non fonctionnalisés à δ_H 2,97 (1H, m) / 2,83 (1H, m) ppm, 2,72 (1H, dd, $J = 14,2, 2,2$ Hz) / 1,81 (1H, t, $J = 12,9$ Hz) ppm, et 2,15 ppm (1H, m) / 1,67 (1H, m) ppm. Les protons du dernier méthylène sont observés à δ_H 1,92 ppm (2H, m). Ces données spectroscopiques rappellent fortement celles d'un fragment d'alcaloïde de type tryptamine [16,17], comme cela a été confirmé par les corrélations COSY et HMBC décrites dans la Figure 3. Le déblindage de C-5 (δ_C 38,9) nous a amenés à supposer que l'atome N en position 4 pourrait être impliqué dans une fonction de lactame [18,19], comme dans le cas des dérivés de l'angustine, des alcaloïdes indoliques monoterpéniques trinitrogénés isolés chez des espèces de Rubiaceae. La corrélation HMBC entre les protons méthyléniques H-5 (δ_H 4,45/ 3,11) et le carbone résonnant à δ_C 172,9 (C-23) a permis de valider l'hypothèse d'une fonction lactame. Cependant, les signaux restants de **1** n'ont révélé aucune similitude avec les résonances liées au fragment monoterpénique de l'alcaloïde indolomonoterpénique de type angustine [20] Liew et al., 2014]. La corrélation hétéronucléaire en ^4J entre les protons H-5 et le carbone du méthine lié à l'azote qui résonne à δ_C 54,9 (C-3) a permis d'attribuer l'unité tétrahydro- β -carboline de **1**. Sur le spectre COSY les corrélations observées entre les protons H-3 (5,38 ppm), H-14 (3,04 ppm) et H-15 (3,17 ppm) ont permis d'établir ce fragment-CH-3-CH-14-CH₂-15. Les déplacements chimiques à champs faibles des protons et carbone (δ_H 3,17/2,02; δ_C 50,3) du méthylène diastéréoscopique CH₂-15 ont permis de suggérer qu'il est dans une liaison avec N. L'examen des corrélations sur le spectre COSY a révélé une dernière séquence étendue -CH₂-17-CH₂-18-CH₂-19-CH-20-CH₂-21 dont les déplacements chimiques à champs faibles de CH₂-17 (δ_H 3,26/2,47 ; δ_C 53,7) et de CH-20 (δ_H 2,53 ; δ_C 64,0) semblent indiquer qu'ils sont reliés par des N. Les corrélations HMBC de H₂-15 à C-17 et C-20 ont confirmé que ces carbones étaient liés au même atome de N. Enfin, sur le spectre HMBC les corrélations entre H-21 et les carbones C-14, C-23 et C-22 (δ_C 77,5), carbone tertiaire oxygéné, ont établi les connectivités C-14-C-22 et C-22-C-23, assemblant ainsi le noyau hexacyclique inédite de **1**. Cette structure est nouvelle et nous lui avons attribué le nom trivial de Carbolinopavettine A.

Le composé **2** a été isolé sous la forme d'un solide amorphe jaune. Sa formule moléculaire a été déterminée à partir de son ion HRESIMS à m/z 370,1769 comme étant $C_{20}H_{23}N_3O_4$. Cette formule brute qui correspond à 11 indices de déficience en hydrogène indique que le composé diffère de **1** par deux atomes d'oxygène supplémentaires. Tout comme le composé **1**, le spectre de RMN ^1H (Tableau I) de **2** montre des signaux pour un

système ABCD de spins des aromatiques ortho-bisubstitués à δ_H 7,41 ppm (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 6,97 ppm (1H, td, $J = 8,0, 0,8$ Hz), 7,09 (1H, td, $J = 7,9, 1,1$ Hz) ppm et 7,35 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ppm, un proton méthine lié à un hétéroatome à δ_H 2,38 (1H, m) ppm, des protons diastérotopiques pour sept méthylène à δ_H 4,16 (1H, dd, $J = 12,7, 5,3$ Hz)/ 3,00 (1H, td, $J = 12,6, 6,4$ Hz) ppm, 2,72 (1H, dd, $J = 15,3, 4,37$ Hz)/ 2,55 (1H, m) ppm, 3,21 (1H, m)/ 2,22 (1H, d, $J = 14,4, 2,6$ Hz) ppm, 1,80 (1H, m) ppm, 1,93 (1H, m)/ 1,34 (1H, m) ppm et 2,23 (1H, m)/ 1,73 (1H, m) ppm. En se basant sur les spectres de RMN ^{13}C et de HSQC (**Tableau I**), nous notons la présence dans la structure de **2** d'un carbonyle (δ_C 173,9), de quatre méthines aromatiques (δ_C 118,0, 118,2, 121,3 et 111,2), de quatre carbones quaternaires aromatiques (δ_C 133,1, 109,2, 125,6, 138,9 ppm), de trois carbones oxygénés tertiaires (δ_C 87,9, 74,5 et 74,2), d'un méthine aliphatique non fonctionnalisé (δ_C 58,4) et de sept méthylènes (δ_C 54,6, 52,4, 21,3, 29,2, 39,3, 34,4 et 20,7). Ces données de RMN ^1H et ^{13}C de **2** rappelaient fortement celles de **1**, différant principalement par le déplacement à champ faible de C-3 à une valeur de δ_C 87,9 ppm, suggérant qu'il est doublement lié à la fois à des atomes de N et de O comme chez l'épicatéchocorynanthéidine isolée récemment d'une Rubiaceae, *Corynanthe pachyceras* [21]. La deuxième différence marquante entre les données spectroscopiques de **1** et **2** réside également dans la détection de deux carbones tertiaires oxygénés dans **2** au lieu d'un seul dans **1**, tandis que le premier révèle un méthine de moins que le second. Ces données spectroscopiques sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle **2** est un dérivé 3,14-dihydroxylé de **1**. Ce qui a pu être confirmé par la résonance de H₂-15 sous forme de protons de méthylène diastérotopiques isolés (**Tableau I**). Les corrélations COSY, HMBC et NOE décrites dans la **Figure 3** ont permis de déterminer un squelette hexacyclique similaire à celui de **1**. Cette structure est nouvellement décrite et nous l'avons nommé Carbolinopavettine B.

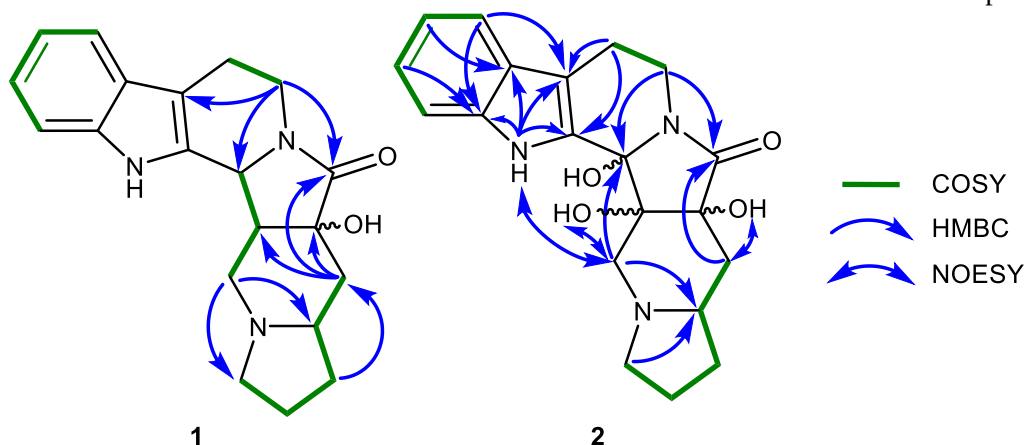


Figure 3 : Importantes Corrélations COSY, HMBC, et NOESY pour **1** et **2**

3.2. Activité antiplasmodiale

L'activité antiplasmodiale, *ex vivo* sur les isolats de *P. falciparum*, de l'extrait alcaloïdique (PCOFA) des feuilles de *Pavetta corymbosa* ainsi que des composés isolés **1** et **2**, exprimée en CI_{50} (concentration inhibitrice de 50 %), est répertoriée dans le **Tableau II**. L'extrait PCOFA a donné une valeur de CI_{50} qui suggère une activité antiplasmodiale très prometteuse de cet extrait [22]. Cette activité est comparable à celle obtenue *in vitro* à partir de cet organe [11]. Les alcaloïdes des Rubiaceae sont très bien documentés pour leurs propriétés antipaludiques [21,22]. Ceci a donc motivé le fractionnement de cet extrait par chromatographie liquide semi-préparative qui a conduit à la caractérisation des alcaloïdes **1** et **2** de structures originales. Parmi ces composés, la Carbolinopavettine B (**2**) a exercé l'activité la plus significative comparativement à son homologue **1** qui a donné une activité d'environ deux fois moins importante (**Tableau II**). Au plan structural, ces deux homologues ne diffèrent que par la présence de deux groupements OH supplémentaires sur le squelette carbolinopavettine de **2**, localisés particulièrement en C-3 et C-14. L'accroissement du nombre de OH sur ce squelette semble donc contribuer à renforcer l'activité antiplasmodiale. Avec la Carbolinopavettine B (**2**), cette activité reste très comparable à celles de la luméfantrine et de la quinine (**Tableau II**) qui sont actuellement utilisées dans la thérapie antipaludique. Toutefois, tant bien que l'extrait alcaloïdique initial soit plus actif contre *P. falciparum*, cette différence d'activité entre l'extrait brut et les composés isolés pourrait s'expliquer par la présence éventuelle d'autres molécules antiplasmodiales non encore élucidées, ou par l'activité complémentaire ou synergique de ces molécules qui seraient peu actives séparément.

Tableau I : Données spectroscopiques de RMN ¹H et ¹³C des composés 1 et 2

Atome N°	1^a		2^b	
	δ_H (J, Hz)	δ_C	δ_H (J, Hz)	δ_C
2	-	129.0	-	133.1
3	5,38, s	54.9	-	87.9
5	4.45, dd (13.2, 5.6) 3.11, td (12.4, 4,3)	38.9	4.16, dd (12,7, 5,3) 3.00, td (12.6, 3,7)	34.4
6	2.92, m 2.82, m	21.9	2.72, dd (15.4, 3,7) 2.55, m	20.7
7	-	110.5	-	109.2
8	-	127.9	-	125.6
9	7.44, d (7.7)	119.0	7.41, d (8.0)	118.0
10	7.03, t (7.5)	120.3	6.97, td (8.0, 0.8)	118.2
11	7.12, t (7.5)	123.0	7.09, td (7.9, 1.1)	121.3
12	7.34, d (7.8)	112.2	7.35, d (8.0)	111.2
13	-	138.4	-	133.1
14	3.04, s	44.3	-	74.5
15	3.16, m 2.02, m	50.3	3.99, d (11.9) 2.34, d (11.9)	54.6
17	3.26, t (7.4) 2.47, m	53.7	3.21, m 2.22, dd (14.4, 2,6)	52.4
18	1.92, m	21.6	1.80, m	21.3
19	2.15, m 1.67, m	29.9	1.93, m 1.34, m	29.2
20	2.53, m	64.0	2.38, m	58.4
21	2.72, dd (14.2, 2,2) 1.81, t (12.9)	35.2	2.23, m 1.73, m	39.3
22	-	77.5	-	74.2
23	-	172.9	-	173.9
1-NH	-	-	10.92, s	
14-OH			4.76, s	
22-OH			5.44, br s	

^a RMN dans le CD₃OD (600/150 MHz), ^b RMN dans le DMSO-d₆ (500/125 MHz)

Tableau III : Activité antiplasmodiale sur les isolats de *P. plasmodium* de l'extrait et composés

Substances testées	CI ₅₀	
	$\mu\text{g/mL}$	μM
PCOFA	5,02 ± 0,20	-
Carbolinopavettine A (1)	5,78 ± 0,09	17,15 ± 0,19
Carbolinopavettine B (2)	2,89 ± 0,20	9,17± 0,21
Luméfantrine	-	9,33± 0,23
Quinine	-	11,95± 0,25

4. Conclusion

Cette étude sur *Pavetta corymbosa* a permis d'établir la structure de deux alcaloïdes de type indolomonoterpène. Les structures ont été identifiées à partir de l'analyse LC-MS et leur isolement simplifié sur la base d'une stratégie de déréplication contre la base de données MIADB hébergée chez GNPS. Ces composés de structure atypique correspondent à un nouveau squelette d'alcaloïdes de monoterpènes indoles que nous avons nommé carbolinopavettine. En outre, les centres stéréogéniques de ces deux composés restent à préciser. Malgré tout, ces molécules ont révélé des activités antiplasmodiales très prometteuses, comparables aux molécules utilisées actuellement dans la thérapie antipaludique. Plus loin, l'ensemble des molécules isolées seront évaluées sous forme de combinaison afin d'établir les synergies éventuelles pouvant justifier l'activité prometteuse de l'extrait alcaloïdique des feuilles de la plante. L'étude de leur toxicité est également à envisager.

6. Références bibliographiques

[1] OMS. World malaria report 2021. Who, Geneva (2021), 322p.

- [2] Tano K.D., Koffi A.J., Dablé M.T., Silué K.D., Tuo K., Nkoua B.C., Bénéié E.M.A., Yéo I., Menan E.I.H., Yavo W. Improved protocol for continuous culture of *Plasmodium falciparum* reference strains. *J. Pure Appl. Microbiol.* (2021) 15(1),123–129.
- [3] Mugittu K., Genton B., Mshinda H., Beck H.P. Molecular monitoring of *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin in Tanzania. *Malar. J.* (2006) 5(126), 1–3.
- [4] Edwards G. Antimalarial chemotherapy: mechanisms of action, resistance and new directions in drug discovery. *Br. J. Clin. Pharmacol.* (2001) 52(4), 461–464.
- [5] Packard R.M. The origins of antimalarial-drug resistance. *N. Engl. J. Med.* (2014), 371(5), 397–399.
- [6] Kouassi J.A., Kouadio E.D., Kouadio A.Y., N'Guessan K.A., Kouassi P.A., Kouassi K.A. Etude ethnopharmacologique de *Pavetta corymbosa* (Spreng.) Bremek. (Rubiaceae) en Côte d'Ivoire. *J. Ethnopharmacol.* (2014) 151(2), 635–640.
- [7] N'Guessan K.A., Kouassi P.A., Kouassi J.A., Kouadio E.D., Kouadio A.Y., Kouassi K.A. Phytochimie et activité antibactérienne de *Pavetta corymbosa* (Spreng.) Bremek. (Rubiaceae), *J. Ethnopharmacol.* (2015) 167, 209–213.
- [8] Odeyemi O., Afolayan A.J. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the treatment of various skin disorders among the Xhosa communities in the Amathole district, Eastern Cape, South Africa, *J. Ethnopharmacol.* (2018) 194, 645–655.
- [9] Aliyu, A.B., Ibrahim, M.A., Ibrahim, H., Dambatta, M.B., Oyewale, A.O. Gc-ms analysis of *Pavetta corymbosa* lipophilic extract and its antimicrobial activity. *Ife J. Sci.* (2017) 19, 363–368.
- [10] Afiavi M.S., Koffi K., Christian J.R., Sabine H.A., Dolorès S., Emmanuel S.G., Messanvi G., Aléodjrodo E.P. Contamination of anti malarial plants by lead and cadmium in Cotonou, Republic of Benin. *J. Bio. Env. Sci.* (2014) 4(5), 285–295.
- [11] Koudouvo K., Karou S.D., Ilboudo D.P., Kokou K., Essien K., Aklikokou K., De Souza C., Simpure J., Gbéassor M. *In vitro* antiplasmodial activity of crude extracts from Togolese medicinal plants. *Asian Pac. J. Trop. Med.* (2011) 4, 129–132.
- [12] Amoo A.A., Ogunsanya O., Oyelami A.O., Oladipupo A.A., Ogunleye O. A., Akinola O. Phytochemical and pharmacological evaluation of *Pavetta corymbosa* (DC.) F.N. Williams. *J. Med. Plants Res.* (2020) 14(12), 526–532.
- [13] Fox Ramos A.E., Le Pogam P., Fox Alcover C., N'Nang E.O., Cauchie G., Hazni H., Awang K., Bréard D., Echavarren A.M., Frédéric M., Gaslonde T., Girardot M., Grougnet R., Kirillova M.S., Kritsanida M., Lémus C., Le Ray A.-M., Lewin G., Litaudon M., Mambu L., Michel S., Miloserdov F.M., Muratore M.E., Richomme-Peniguel P., Roussi F., Evanno L., Poupon E., Champy P., Beniddir M.A. Collected mass spectrometry data on monoterpene indole alkaloids from natural product chemistry research. *Sci. Data* (2019) 6(15), 1–6.
- [14] Rieckmann K.H., Sax L.J., Campbell G.H. and Mrema J.E. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* microtechnique. *Lancet* (1978) i, 22–23.
- [15] Offoumou1 M.R., Kipre G.R., Kigbafori D.S., Camara D., Djaman A.J., Zirihi G.N. *In vitro/ ex vivo* antiplasmodial activity and phytochemical screening of crude extracts *Entandrophragma angolense* (Welw.) C. DC., *Griffonia simplicifolia* (Vahl ex DC.) Baill .et *Uapaca guineensis* Müll. Arg., three plants of Ivorian Pharmacopeia in the treatment of malaria. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* (2018) 7(3), 2088–2095.
- [16] Chávez D., Acevedo L. A., Mata R. Tryptamine derived amides and acetogenins from the seeds of *Rollinia mucosa*. *J. Nat. Prod.* (1999) 62, 1119–1122.
- [17] Berger A., Tanuhadi E., Brecker L., Schinnerl J., Valant-Vetschera K. Chemodiversity of tryptamine-derived alkaloids in six Costa Rican *Palicourea* species (Rubiaceae–Palicoureae). *Phytochemistry* (2017) 143, 124–131.
- [18] Liew S.Y, Mak W. Q., Thew H.Y., Khaw K.Y., Hazni H., Litaudon M., Awang K. Neuroprotective activities of new monoterpene indole alkaloid from *Nauclea officinalis*. *Processes* (2023) 11, Article ID 646.
- [19] Lee M.-Y., Lin H.-Y., Cheng F., Chiang W. Kuo Y.-H. Isolation and characterization of new lactam compounds that inhibit lung and colon cancer cells from adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. ma-yuen Stapf) bran. *Food Chem. Toxicol.* (2008) 46, 1933–1939.
- [20] Liew S.Y., Looi C.Y., Paydar M., Cheah F.K., Leong3 K.H., Wong W.F., Mustafa2 M.R., Litaudon M., Awang K. Subditine, a new monoterpene indole alkaloid from bark of *Nauclea subdita* (Korth.) Steud. induces apoptosis in human prostate cancer cells. *PLoS ONE* (2014) 9(2), Article ID e87286.
- [21] Kouamé, T., Okpekon, A.T., Bony, N., N'tamon, A.D., Gallard, J.F., Rharrabti, S., Leblanc, K., Mouray, E., Grellier, P., (6), Champy, P., Beniddir, M.A., Le Pogam, P. Corynanthean-Epicatchin Flavalkaloids from *Corynanthe pachyceras*. *Molecules* (2020) 25(11), Article ID 2654.
- [22] Bero J., Frédéric M., Quetin-Leclercq J. Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine. *J. Pharm. Pharmacol.* (2009) 61, 1401–1433.

Evaluation des activités antioxydante et antimycobactérienne des extraits de feuilles et tiges de *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. et de *Saba senegalensis* (A.DC.) Pichon : deux plantes médicinales du nord de la Côte d'Ivoire

Ouattara Logopho Hyacinthe^{1*}, N'guessan Patrick Audrey², Bamba Souleymane³, Ambeu-Loko N'ta Christelle Mélissa⁴, Timotou Adéyolé¹, Zon Doumadé¹, Sima Obiang Cédric⁵, Kablan Ahmont Landry Claude¹

¹UPR de chimie organique, Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Substances Naturelles, UFR SFA, Université Nangui ABROGOUA, Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire des Sciences et Technologies de l'Environnement, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon GUEDE, Daloa, Côte d'Ivoire.

⁴Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire

⁵Laboratoire de Recherche en Biochimie (LAREBIO), Faculté des Sciences, Université des Sciences et Techniques de Masuku, Franceville, Gabon

(*) : Auteur de correspondance : Ouattara Logopho Hyacinthe, olhy@gmail.fr

Résumé

Les plantes sont couramment utilisées pour traiter diverses pathologies. Cette étude a consisté à valoriser les plantes médicinales du nord de la Côte d'Ivoire.

Elle est basée sur évaluation des activités antioxydante et antimycobactérienne des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et tiges de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis*.

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que les extraits étudiés présentent une activité vis-à-vis du radical DPPH. Cependant les meilleures activités ont été observées chez les organes de *A. leiocarpus* avec des CI₅₀ variant de 0,088 à 0,190 mg/ml comparativement à celles des organes de *S. senegalensis* dont les CI₅₀ varient entre 0,123 et 0,269 mg/ml.

L'évaluation de l'activité antimycobactérienne a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* présente une activité sur les souches tuberculeuses 22EEQS1 et 22EEQS2.

Ainsi, les organes de ces deux plantes pourraient être utilisés pour prévenir ou traiter les maladies liées au stress oxydatif. De plus les feuilles de *A. leiocarpus* pourraient aussi constituer une matrice pour le traitement de la tuberculose.

En perspective une étude de la toxicité s'avère nécessaire en vue de conforter ou d'avertir les populations sur l'utilisation de ces deux plantes pour le traitement des pathologies.

Mots clés : *Anogeissus leiocarpus*, *Saba senegalensis*, antioxydante et antimycobactérienne.

Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of extracts of leaves and stems of *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. and *Saba senegalensis* (A.DC.) Pichon: two medicinal plants from the north of the Ivory Coast

Abstract

Plants are commonly used to treat a variety of pathologies. This study involved developing medicinal plants from the north of Côte d'Ivoire.

It is based on evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of aqueous and ethanolic extracts of the leaves and stems of *Anogeissus leiocarpus* and *Saba senegalensis*.

Evaluation of antioxidant activity showed that the extracts studied were active against the DPPH radical. However, the best activities were observed in *A. leiocarpus* organs with IC₅₀s ranging from 0.088 to 0.190 mg/ml compared to *S. senegalensis* organs with IC₅₀s ranging from 0.123 to 0.269 mg/ml.

Evaluation of the antimicrobial activity showed that the aqueous extract of *A. leiocarpus* leaves exhibited activity against tuberculosis strains 22EEQS1 and 22EEQS2.

The organs of these two plants could therefore be used to prevent or treat diseases linked to oxidative stress. The leaves of *A. leiocarpus* could also be used as a matrix for treating tuberculosis. A toxicity study is needed to confirm or warn people about the use of these two plants in the treatment of pathologies.

Key words : *Anogeissus leiocarpus*, *Saba senegalensis*, antioxidant and antimicrobial.

1. Introduction

De nos jours les humains sont confrontés à de nombreuses maladies constituant des problèmes de santé publique et dont les traitements s'avèrent de plus en plus compliqués [1]. Parmi ces maladies, on peut citer entre autres les maladies liées au stress oxydant d'une part et d'autre part la tuberculose ([2] ; [1]). Bien vrai qu'il existe des traitements modernes, ceux-ci ne donnent toujours pas les résultats escomptés. C'est dans ce sens que nous nous intéressons aux plantes en vue d'explorer d'autres types de traitement qui seraient plus efficaces. En effet, les

plantes ont toujours occupé une place importante dans la vie de l'Homme pour leurs besoins nutritionnels et médicaux [3]. Ainsi, un accent a été mis sur *Anogeissus leiocarpus* et *Saba senegalensis*.

A. leiocarpus est une espèce végétale de la famille des Combretaceae utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de la bilharziose urinaire, de la dysenterie amibienne, du paludisme, la trypanosomiase, des ulcères, de la diarrhée infantile, et des hémorroïdes ([4] ; [5] ; [6] ; [7] ; [8]). Quant à *S. senegalensis* (Apocynaceae), elle est traditionnellement utilisée pour traiter le prolapsus rectal, l'otite, l'anorexie, la dysenterie, les plaies diurétiques ([9] ; [10] ; [11]), les maladies infectieuses (maladies pulmonaires, furoncles, diarrhées), parasitaires (schistosomiase urinaire), l'inflammation et les maux de têtes ([6] ; [12]).

Ainsi, cette étude consiste à évaluer les activités antioxydante et antimycobactérienne des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et tiges de *A. leiocarpus* et de *S. senegalensis* en vue de prouver ou infirmer leurs utilisations contre les maladies oxydatives en général et la tuberculose en particulier.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles et d'écorces de tiges de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis*. Les différents organes des deux plantes ont été récoltés en octobre 2022 dans la ville de Korhogo (9° 27' 28'' Nord, 5° 37' 46'' Ouest), puis authentifiés par des botanistes de l'Université Peleforo GON COULIBALY. Les différents organes ont été séchés pendant 10 jours à l'abri du soleil dans une salle à la température ambiante. Enfin, ces organes secs ont été pilés dans un mortier puis tamisés afin d'obtenir des fines poudres qui ont servi à préparer les différents extraits à tester.

2.1.2. Appareillage de laboratoire et produits chimiques

Le matériel de laboratoire est constitué de la verrerie de laboratoire, d'une étuve, d'une balance électronique, d'un réfrigérateur, d'un spectrophotomètre de marque JENWAY, de tubes MGIT, de membranes milipore Nalgene® et d'un incubateur automatisé MGIT 960.

Le matériel chimique est constitué d'éthanol, de DPPH et d'acide ascorbique (vitamine C).

2.1.3. Souches mycobactériennes

Les souches *Mycobacterium tuberculosis* de qualité sensible utilisées sont issues du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les autres maladies infectieuses (CeDReS). Elles ont été codifiées 20EEQS1 et 20EEQS2.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extractions

2.2.1.1. Extraits aqueux

Une masse de 7 g de poudre de chaque organe de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis* est mélangée dans 70 mL d'eau distillée. Le mélange est mis en ébullition à 100°C pendant 20 min. Après filtration, les différents décoctés obtenus ont été placés à l'étuve à 50°C pendant 3 jours afin d'obtenir les différents extraits aqueux. Ces extraits ont servi à faire les analyses UPLC et à évaluer l'activité antimycobactérienne.

2.2.1.2. Extraits éthanoliques

Une masse de 7 g de chaque poudre végétale des différents organes de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis* est macérée dans 70 mL d'éthanol pendant 24 h. Après filtration, les différents filtrats obtenus ont été placés à l'étuve à 50°C pendant 2 jours afin d'obtenir les différents extraits éthanoliques. Ces extraits ont aussi servi à faire les analyses UPLC et à évaluer l'activité antimycobactérienne.

2.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante par spectrophotométrie

L'évaluation du potentiel anti-oxydant des extraits s'est fait suivant la méthode de Blois [13].

Le DPPH est solubilisé dans l'EtOH absolu pour obtenir une solution de concentration 0,3 mg/mL. Différentes gammes de concentrations (2 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL et 0,0625 mg/mL) de l'extrait sont préparées dans l'EtOH absolu. Dans des tubes secs et stériles sont introduits 2,5 mL d'extrait végétal et 1 mL de solution éthanolique de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance du mélange est ensuite mesurée à 517 nm contre un blanc formé de 2,5 mL d'EtOH pur et 1

mL de solution de DPPH. Le témoin positif de référence est l'acide ascorbique (vitamine C). Les pourcentages d'inhibition du DPPH sont calculés suivant la formule :

$$I(\%) = (A_b - A_e) / A_b \times 100$$

I : Pourcentage d'inhibition

A_b : Absorbance du blanc

A_e : Absorbance de l'échantillon

Les concentrations nécessaires pour piéger 50 % (CI_{50}) du DPPH sont déterminées sur les graphiques représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits ou de la vitamine C.

2.2.3. Etude de l'activité antimycobactérienne

L'étude de l'activité antimycobactérienne a été réalisée selon les méthodes décrites dans la littérature ([14] ; [15]).

2.2.3.1. Filtration, stérilisation et test de stérilité des extraits

100 mg de chaque extrait ont été mis en suspension dans 1 mL d'eau de préparation injectable. La solution obtenue est ensuite filtrée et stérilisée sur membrane milipore Nalgene® (Nalgene® vacuum filtration system filter capacity 500 mL, pore size 0,2 µm). Ces extraits ont par la suite été utilisés pour effectuer un test de stérilité et ceux déclarés stériles ont par la suite été utilisés pour évaluer l'activité anti-bacillaire (antimycobactérienne).

2.2.3.2. Subculture des souches

Les souches codifiées 20EEQS1 et 20EEQS2 ont fait l'objet de subculture dans un milieu de culture liquide (tube MGIT 7 mL) pendant 5 jours de croissance en moyenne.

Un aliquote de la souche de référence conservée à -20°C est retirée de la souchothèque. Décongelé progressivement, 500µl de l'isolat sont inoculés au milieu du tube MGIT 7 mL préalablement enrichi avec de l'OADC conformément aux instructions du fabricant BACTEC DICKINSON. Le tube inoculé est incubé dans l'incubateur automatisé MGIT 960 en suivant les instructions du fabricant. Après la détection automatique de la croissance *in vitro*, la recherche de l'antigène MPT67 est faite à l'aide du test immuno-chromatographique (Bioline MPT67) dans les 24 heures qui suivent la détection de la croissance microbienne *in vitro*.

2.2.3.3. Mesure de l'activité anti-bacillaire des extraits stériles

Dans chaque tube MGIT de 7 mL, ont été ajoutés successivement 0,8 mL de supplément de croissance MGIT 960, 0,1 mL de solution mère de chaque extrait de plante préparé et enfin 0,5 mL d'inoculum d'essai. Pour chacun des isolats, un tube de contrôle de la croissance (Témoin) a été réalisé contenant 0,8 mL de supplément de croissance (OADC) sans substance antibactérienne (antibiotique). Pour le témoin, il a été réalisé une préparation par pipetage de 0,1 mL de l'inoculum d'essai (souche de référence) dans 10 mL d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une dilution de 1/100. Ensuite 0,5 mL de cet inoculum d'essai a été ajouté au tube témoin.

Tous les tubes inoculés ont été placés immédiatement dans l'instrument BACTEC MGIT 960.

Le rapport de croissance relatif entre le tube contenant les extraits de plante et le tube témoin a été déterminé par l'algorithme logiciel du système BACTEC MGIT 960.

- Si la croissance relative dans le tube contenant l'extrait est égale ou supérieure à celle du tube témoin, l'isolat est considéré comme résistant à l'extrait de plante ;
- si la croissance relative est inférieure à celle du tube témoin, l'isolat était considéré comme sensible à l'extrait de plante.

2.2.3. Analyses statistiques

Les analyses des mesures obtenues lors des différentes manipulations ont été faites à partir du logiciel EXCEL 2021 (version 16.0) et l'algorithme logiciel du système BACTEC MGIT 960. Le logiciel EXCEL 2021 (version 16.0) a servi à tracer les différents diagrammes et aussi de déterminer le paramètre CI_{50} de chaque extrait ; et l'algorithme logiciel du système BACTEC MGIT 960 a été utilisé pour traiter les résultats de l'activité antimycobactérienne.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante par spectrophotométrie

3.1.1.1. Pourcentages d'inhibition de la vitamine C et des extraits aqueux et éthanoliques

Les différents pourcentages d'inhibition du DPPH par les extraits aqueux, éthanoliques et la vitamine C sont représentés par les figures 1, 2, 3 et 4.

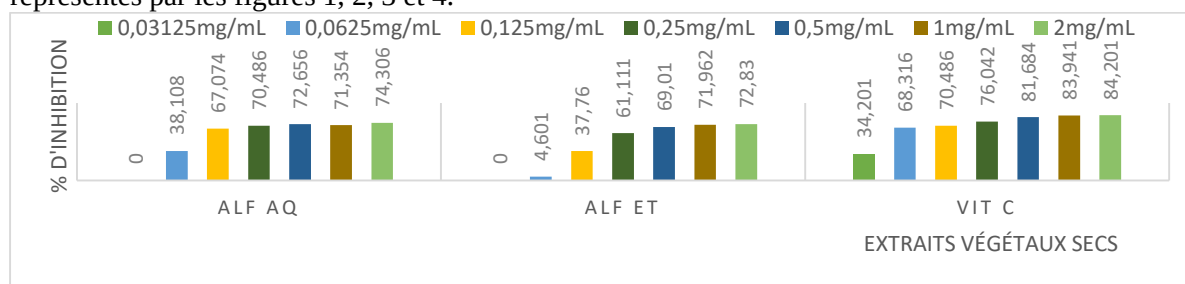


Figure 1 : Inhibition du DPPH par les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *A. leiocarpus*

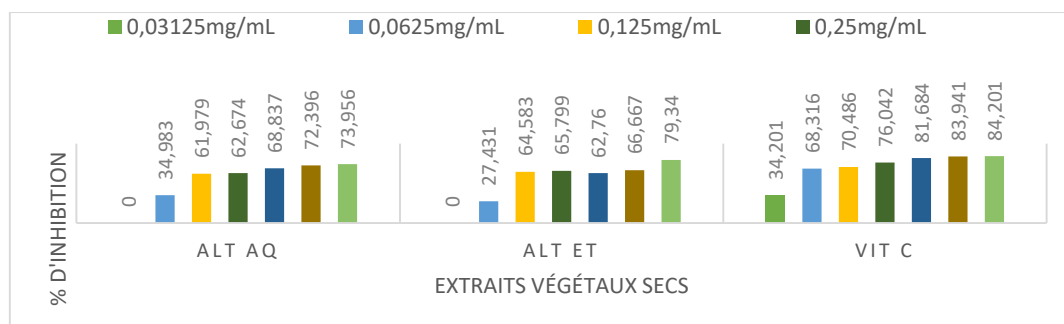


Figure 2 : Inhibition du DPPH par les extraits aqueux et éthanoliques des tiges de *A. leiocarpus*

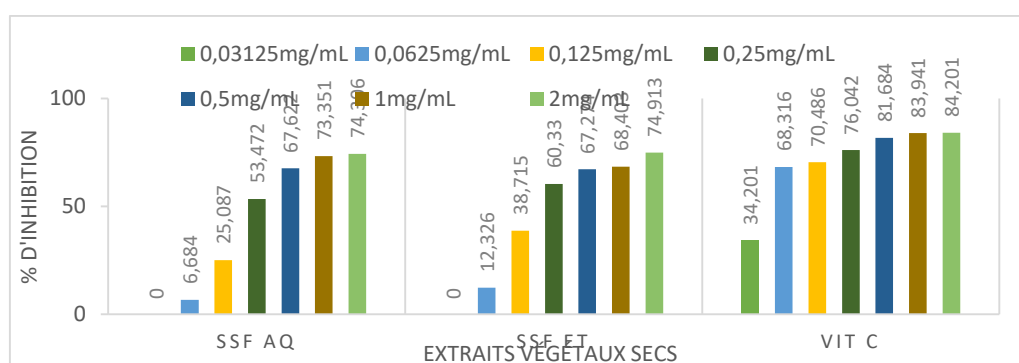


Figure 3 : Inhibition du DPPH par les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *S. senegalensis*

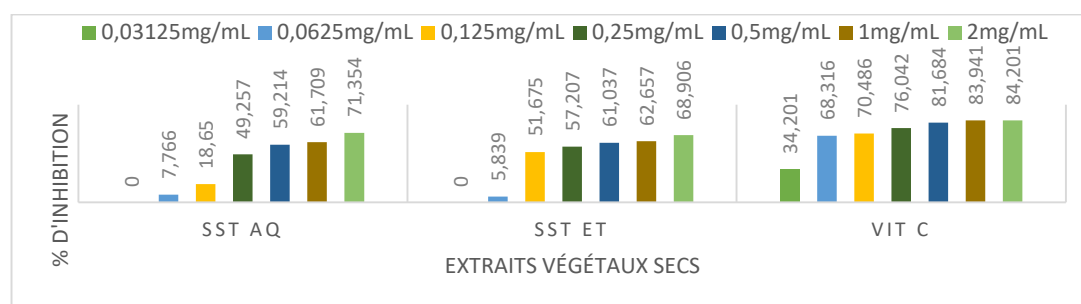


Figure 4 : Inhibition du DPPH par les extraits aqueux et éthanoliques des tiges de *S. senegalensis*

3.1.1.2. Détermination des CI_{50} de la vitamine C et des extraits aqueux et éthanoliques

Les concentrations inhibitrices à 50 % ont permis de calculer les concentrations des échantillons étudiés nécessaires pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Les CI_{50} des différents extraits étudiés ont été déterminés graphiquement à partir du logiciel EXCELL et ce, en référence à la vitamine C prise comme standard. Chaque CI_{50} est calculée en résolvant l'équation $y = ax + b$ de chaque courbe de tendance avec : $y = 50$. Les valeurs moyennes des CI_{50} obtenues sont consignées dans le tableau I.

Tableau I : Tableau récapitulatif des valeurs de CI_{50} (mg/mL) des différents extraits

Extraits	Équations de droite	CI_{50} (mg/mL)
Vit C	$Y = 1091 X + 0.086$	0,045
ALF Aq	$Y = 462.5 X + 9.202$	0,088
ALF Et	$Y = 186.81 X + 14.409$	0,190
ALT Aq	$Y = 431.94 X + 7.987$	0,097
ALT Et	$Y = 594.43 X - 9.721$	0,100
SSF Aq	$Y = 227.08 X - 3.298$	0,235
SSF Et	$Y = 172.92 X + 17.1$	0,190
SST Aq	$Y = 39.828 X + 39.3$	0,269
SST Et	$Y = 733.38 X - 39.997$	0,123

3.1.2. Activité antimycobactérienne des différents extraits aqueux et éthanoliques

3.1.2.1. Test de stérilité des extraits

Les résultats du test de stérilité des extraits sont consignés dans le tableau II. Ainsi tous les extraits étudiés sont déclarés stériles sauf les extraits éthanoliques de *Saba senegalensis* qui ont présentés dans contaminations.

Tableau II : Résultats du contrôle de stérilité des extraits de plantes

Extraits	Masse prise	Eau injectable	Contrôle de la stérilité sur GSC
ALF H ₂ O	200 µg	2 mL	Négatif
ALF EtOH	200 µg	2 mL	Négatif
ALT H ₂ O	200 µg	2 mL	Négatif
ALT EtOH	200 µg	2 mL	Négatif
SSF H ₂ O	200 µg	2 mL	Négatif
SSF EtOH	200 µg	2 mL	Contaminé
SST H ₂ O	200 µg	2 mL	Négatif
SST EtOH	200 µg	2 mL	Contaminé

3.1.2.2. Evaluation de l'activité anti-bacillaire

Seuls les extraits déclarés stériles ont été utilisés pour évaluer l'activité antimycobactérienne. L'effet antituberculeux des stériles est illustré par la figure 5 et les résultats sont consignés dans le tableau III. Il ressort que seul l'extrait aqueux des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* exerce une activité antimycobactérienne sur les deux souches tuberculeuses 22EEQS1 et 22EEQS2 utilisées.

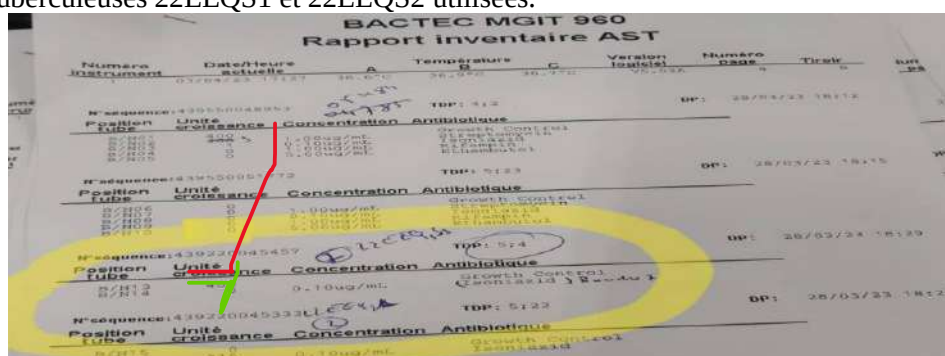


Figure 5 : Résultats déterminant l'activité inhibitrice de l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* et l'inactivité de *S. senegalensis* sur *M. tuberculosis* après 5,4 jours de culture.

Tableau III : Résultats interprétant l'activité biologique des extraits sur la croissance des *M. tuberculosis* 22EEQS1 et 22EEQS2

Extraits (100 mg /mL)	Souche testée 22EEQS1 R/S (UI)	Souche testée 22EEQS2 R/S (UI)	Interprétations
ALF H ₂ O	S (0)	S (0)	Sensible
ALF EtOH	R (400)	R (400)	Résistant
ALT H ₂ O	R (400)	R (400)	Résistant
ALT EtOH	R (400)	R (400)	Résistant

SSF H ₂ O	R (400)	R (400)	Résistant
SST H ₂ O	R (400)	R (400)	Résistant

R : résistance S : Sensible UI : Unité Internationale de croissance

3.2. Discussion

Ce travail a consisté à évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie vis-à-vis du DPPH et l'activité antimycobactérienne contre deux souches tuberculeuses les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et tiges de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis*.

L'évaluation de l'activité antioxydante par spectrophotométrie a consisté d'abord à déterminer les pourcentages d'inhibition des extraits vis-vis du DPPH et ensuite déterminer concentrations inhibitrices CI_{50} . Le pourcentage d'inhibition est la capacité d'un extrait à piéger les radicaux libres. Cependant, il est important de calculer la CI_{50} . Elle est la concentration d'un extrait qui engendre la perte de l'activité du DPPH de 50 % [16]. Plus la CI_{50} est faible et plus l'extrait manifeste une activité antioxydante importante.

Les valeurs des CI_{50} varient selon les organes et les extraits.

Au niveau de *Anogeissus leiocarpus*, on remarque pour les feuilles que CI_{50} (ALF Aq) < CI_{50} (ALF Et), donc le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles est supérieur à celui de l'extrait éthanolique. Pour les tiges le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux est aussi supérieur à celui de l'extrait éthanolique car CI_{50} (ALT Aq) < CI_{50} (ALT Et).

Au niveau de *Saba senegalensis*, CI_{50} (SSF Et) < CI_{50} (SSF Aq) engendrant que le pouvoir antioxydant de l'extrait éthanolique des feuilles est supérieur à celui de l'extrait aqueux. De même pour les tiges l'extrait éthanolique signe le meilleur pouvoir antioxydant (CI_{50} (SST Et) < CI_{50} (SST Aq)).

Ainsi, les organes de ces deux plantes peuvent être considérés comme des antioxydants qui pourraient être recommandés pour prévenir ou juguler les dommages causés par le stress oxydant comme le cancer, le vieillissement accéléré, l'hypertension artérielle, les maladies d'Alzheimer, de Parkinson et le diabète ([17] ; [18]).

En comparant organe par organe, on note que les pouvoirs antioxydants des organes de *Anogeissus leiocarpus* sont supérieurs à ceux des organes de *Saba senegalensis*. Cependant, bien vrai que tous ces extraits étudiés présentent des pouvoirs antioxydants notables, ils demeurent inférieurs à celui de la vitamine C prise comme molécule de référence qui signe une CI_{50} de 0,045 mg/mL.

Par la suite l'étude de l'activité antimycobactérienne a été réalisée. Cette étude a débuté par le test de stérilité des extraits et il ressort que tous les extraits étudiés sont stériles sauf les extraits éthanoliques des feuilles et tiges de *Saba senegalensis* qui ont présenté une contamination. Cette contamination pourrait être due au matériel utilisé lors de l'extraction et de la concentration à l'étuve. Les six autres extraits qui ont été déclarés stériles ont été utilisés pour évaluer l'activité anti-bacillaire. Au terme de ce test, seul l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* a présenté une activité après 5,4 jours sur les deux souches tuberculeuses 22EEQS1 et 22EEQS2. En effet, l'activité inhibitrice de croissance de ces souches a donné pour le témoin 400 Unité internationale (UI) et 0 UI pour les souches dans les tubes contenant l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus*. Ce résultat montre que l'on pourrait utiliser les extraits de plantes pour traiter la tuberculose et ce de manière. En effet des études ont montré que plusieurs antibiotiques de synthèse en général et ceux dédiés au traitement de la tuberculose étaient responsables d'atteintes hépatiques [19]. De plus les travaux menés par Sahli sur des antibiotiques antituberculeux de synthèse ont montré que ceux-ci avaient des actions néfastes sur le foie des sujets traités. L'analyse de ces foies avait révélé un parenchyme d'aspect moins organisé et la présence dans les hépatocytes de nombreuses petites vésicules de graisses [20].

Ces activités antioxydantes et antituberculeuse observée seraient due en partie à l'action synergique des métabolites secondaires présents dans ces plantes ([21] ; [22] ; [23] ; [24] ; [25])

Ces résultats semblent justifier de facto, l'usage des feuilles et tiges de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis* en médecine traditionnelle.

4. Conclusion

L'objectif de ce travail était d'évaluer les activités oxydante et antimycobactérienne des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et tiges de *Anogeissus leiocarpus* et de *Saba senegalensis*.

L'évaluation de l'activité antioxydante par spectrophotométrie a montré que les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et tiges de *A. leiocarpus* et de *S. senegalensis* présentent une bonne activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH. Ces différents organes pourraient donc être utilisés pour prévenir ou traiter les maladies liées au stress oxydant.

L'évaluation de l'activité antimycobactérienne a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* présente une activité après 5,4 jours sur les deux souches tuberculeuses 22EEQS1 et 22EEQS2 utilisées. Ainsi, certaines plantes à l'image de *A. leiocarpus* pourraient être utilisées pour le traitement de la tuberculose et ce de manière douce comparativement aux antibiotiques antituberculeux de synthèse.

Cependant, en perspective une étude de la toxicité des feuilles et tiges de *A. leiocarpus* et de *S. senegalensis* sera réalisée en vue de fabriquer un médicament susceptible de traiter les maladies liées au stress oxydatif en général et en particulier la tuberculose sans graves effets secondaires sur la santé de l'Homme.

5. Bibliographie

- [1] Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2017). Tuberculose, Aide-mémoire. Accessible à <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/fr/> [consulté le 27/06/17]
- [2] Favier A. (2003). Le stress oxydant. Actualité chimique :108-115.
- [3] Messai Laid, (2011). Etude phytochimique d'une plante médicinale l'est algérien (*artemisia herba alba*), (thèse doctorat, université Mentouri Constantine).
- [4] Malgras, D., (1992). Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. *Edition Karthala et ACCT, Paris, 474 P.*
- [5] Inngjerdingen, K., Nergard, C.S., Diallo, D., Mounkoro, P.P., Paulsen, B.S., (2004). An Ethnopharmacological survey of plants used for wounds healing in dogoland, Mali, West Africa. *Journal of Ethnopharmacology* 92, 233 – 244.
- [6] Bah, S., Diallo, D., Dembele, S., Paulsen, B.S., (2006). Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis
- [7] Kambou, S. (1997). Etude de la biologie de la reproduction de *Anogeissus leiocarpus* (CD.) Guill. et Perr. (Combretaceae) au Burkina Faso. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Ouagadougou. Burkina Faso. 172p.
- [8] Maydell, H.J. von. (1983). Arbres et arbustes du Sahel: leurs caractéristiques et leurs utilisations. *Edition. GTZ, Eschbom.* 532p.
- [9] Berhaut, J. (1971). Flore illustrée du Senegal Dakar Tome I. Ministère du developpement rural.
- [10] Eklu-Natey, R. D. & Balet, A. (2012). Pharmacopée Africaine. Dictionnaire et Monographies multilingues du potentiel médicinal des plantes Africaines.
- [11] Boullard, B. (2001). Plante médicinale du monde-croyance et réalité. 636 p.
- [12] Kerharo, J. & Adam, J. G. (1964). Plantes médicinales et toxiques des Peuls et des toucouleurs du Sénégal. *Journal trop Bot Appl*, vol.11. pp. 384-444, 399-543.
- [13] Blois M. (1958). Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, pp. 1199-1200.
- [14] Hamimed S (2009). Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines de *Anacyclus pyrethrum* L. Université Mantouri Constantine: P3.
- [15] Newton S.M., Lau C., Wright C. (2000). A review of antimycobacterial natural products. - *Phytother. Revised.*, 14(5), pp. 303-322.
- [16] Falleh H., Ksouri R., Abdely C. (2006). Activité antioxydante et contenu en polyphénols dans les différents organes de l'artichaut sauvage *Cynara cardunculus*. *Revue des Région Arides* : 341 – 344.
- [17] Atawodi S. E. (2005). Antioxidant potential of African plants. *African J. of Biotec.* 4 (2): 128- 133.
- [18] Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescencemedhod. *AAPS Pharm Sci.* 5 (2):5p.
- [19] Benhamou JP. (1998). Hepatologie clinique. Flammarion, Paris : 566-597.
- [20] Sahli C. (2015). Effet préventif de la quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par la rifampicine et l'isoniazide. Mémoire de Master en toxicologie et santé à l'Université de des Frères Mentouri Constantine (Algérie) : 65p.
- [21] Hyacinthe, O. L., et al. (2023a). Valorization of medicinal plants from Korhogo (Côte d'Ivoire): phytochemical screening and evaluation of antioxidant activity of leaves and stem bark of *Saba senegalensis* (A.DC.) Pichon (Apocynaceae). *ISJ Theoretical & Applied Science*, 09 (125), 308-318.
- [22] Hyacinthe et al. (2023b). Phytochemical Screening, Evaluation and Comparative Study of the Antioxidant Activities of Leaves and Stem Bark Extracts from *Anogeissus leiocarpus*: A Plant Used in Traditional Medicine in Northern Ivory Coast. *Chem. Sci. Int. J.*, vol. 32, no. 6, pp. 1-11, 2023; Article no.CSIJ.107500
- [23] Tripoli E., Guardia M., Giammanco S., Di Majo D. et Giammanco M. (2007). Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food chemistry* 104 : 466 – 479 p.
- [24] Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M. et Hongo D. (2009). Identification and physiological evaluation of the components from *Citrus* fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17 : 25- 28 p.
- [25] Choi H., Kim J., Lee C., Ahn Y. Song J., Baek S. et Kwon D. (2009). Antiviral activity of quercetin 7- rhamnoside against porcine epidemic diarrhea virus. *Antiviral Research* 81: 77 – 81 p.

Analyse UPLC-MS et potentiel antioxydant de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* Zucc. (Rubiaceae) : une plante médicinale du nord de la Côte d'Ivoire

N'guessan Patrick Audrey^{1*}, Ouattara Logopho Hyacinthe², Konan Dibi Jacques¹, Kablan Ahmont Landry Claude², Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna¹, Békro Yves-Alain¹

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Substances Naturelles, UFR SFA, Université Nangui ABROGOUA, Abidjan, Côte d'Ivoire.

²UPR de chimie organique, Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire

(*) : Auteur de correspondance : N'guessan Patrick Audrey, patrickaudrey2014@gmail.com

Résumé : Le stress oxydant désigne le déséquilibre entre les systèmes antioxydants de défense et la production d'espèces réactives de l'oxygène. Pour s'en protéger, l'organisme a développé des systèmes de défense permettant de réguler la production de radicaux libres. Cependant, la pollution, l'absorption d'alcool ou de médicaments, l'exposition au soleil ou le tabagisme provoquent une surproduction d'espèces oxydantes. D'où l'apport en antioxydants naturels endogènes est de plus en plus faible. Cette étude vise à formuler un phytomédicament à portée antiradicalaire. Pour y parvenir, il s'est agi d'abord d'identifier des métabolites secondaires par une analyse UPLC-MS, ensuite d'évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie vis-à-vis du DPPH d'extraits issus de *Mitracarpus scaber*. L'analyse UPLC-MS de l'extrait hydroéthanolique de *Mitracarpus scaber* a permis d'identifier deux flavonoïdes. L'évaluation spectrophotométrique des activités antioxydantes des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique vis-à-vis du radical DPPH a été démontrée. L'extrait hydroéthanolique a manifesté une activité antioxydante plus importante avec une CR₅₀ de 0,11954 mg/mL. Il ressort que *Mitracarpus scaber* présente une bonne activité antioxydante qui serait liée à la présence de métabolites secondaires notamment de flavonoïdes. En perspective, des études sur l'efficacité thérapeutique et l'innocuité seront réalisées en vue du choix de *Mitracarpus scaber*, comme source potentielle d'antioxydants naturels.

Mots Clés : *Mitracarpus scaber* ; antioxydants ; UPLC-MS ; flavonoïdes.

UPLC-MS analysis and antioxidant potential of the aerial part of *Mitracarpus scaber* Zucc. (Rubiaceae) : a medicinal plant from northern Ivory Coast

Abstract : Oxidative stress refers to the imbalance between antioxidant defense systems and the production of reactive oxygen species. To protect itself, the body has developed defense systems to regulate the production of free radicals. However, pollution, the absorption of alcohol or medications, exposure to the sun or smoking cause an overproduction of oxidizing species. Hence, the intake of endogenous natural antioxidants is increasingly low. This study aims to formulate a phytomedicine with anti-radical impact. To achieve this, it will first be necessary to identify secondary metabolites by UPLC-MS analysis, then to evaluate the antioxidant activity by spectrophotometry with respect to DPPH of extracts from *Mitracarpus scaber*. UPLC-MS analysis of the hydroethanolic extract of *Mitracarpus scaber* made it possible to identify two flavonoids. The spectrophotometric evaluation of the antioxidant activities of the aqueous, ethanolic and hydroethanolic extracts with respect to the DPPH radical was demonstrated. The hydroethanolic extract showed greater antioxidant activity with an RC₅₀ of 0.11954 mg/mL. It appears that *Mitracarpus scaber* presents good antioxidant activity which would be linked to the presence of secondary metabolites, notably flavonoids. In perspective, studies on therapeutic effectiveness and safety will be carried out with a view to choosing *Mitracarpus scaber* as a potential source of natural antioxidants.

Keywords : *Mitracarpus scaber*, antioxidants, UPLC-MS, flavonoids.

1. Introduction

Le stress oxydant ou stress oxydatif est un phénomène biologique, résultant d'une agression chimique des cellules par des radicaux libres. Il se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes antioxydants de défense et la production d'espèces réactives de l'oxygène [1]. En raison de leur capacité à endommager les cellules et les organes, les radicaux libres sont impliqués dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques [2]. Ceux-ci sont responsables de l'altération de l'ADN, du vieillissement cellulaire qui est à la base de certaines maladies comme l'athérosclérose, le cancer, la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson, le diabète, les maladies cardiovasculaires etc. [3]. Pour se protéger du stress oxydant, l'organisme a en parallèle développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production de radicaux libres. Ces mécanismes font intervenir un système endogène (enzymatique ou non enzymatique), mais également des molécules provenant de l'alimentation incluant des vitamines et des oligoéléments. Il est important de noter que le stress oxydant serait également la conséquence de l'effet de facteurs environnementaux. En effet, la vie moderne confronte notre organisme à des facteurs tels que la pollution, l'absorption d'alcool ou de médicaments, l'exposition au soleil ou encore le tabagisme provoquant une surproduction d'espèces oxydantes. Ceci conduit soit à un affaiblissement de nos défenses antioxydantes, soit à la synthèse directe de radicaux libres pouvant engendrer des dégâts cellulaires.

En parallèle de ces agressions, la situation s'aggrave du fait d'une alimentation moins saine et moins équilibrée qu'auparavant. De ce fait, l'apport en antioxydants naturels endogènes est de plus en plus faible malgré leur rôle dans le contrôle des effets nocifs de l'oxygène [4]. Face à cette situation, nous nous sommes lancés à la recherche d'antioxydants naturels issus de végétaux de la floristique ivoirienne. C'est dans ce contexte que notre choix s'est porté sur *Mitracarpus scaber* Zucc., une plante médicinale utilisée dans le nord de la Côte d'Ivoire pour soigner certaines pathologies. La présente étude vise à contribuer à la valorisation de *M. scaber*, à travers l'identification des phytocomposés qu'elle renferme et à l'évaluation de son activité antioxydante. À cet effet, il s'est agi spécifiquement de faire un criblage phytochimique puis une analyse UPLC-MS, suivi d'un dépistage de l'activité antioxydante des échantillons d'étude issus de la partie aérienne de *M. scaber*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne (feuilles + fleurs) de *Mitracarpus scaber*. La plante a été sélectionnée à partir d'une enquête ethnobotanique menée auprès de plusieurs tradithérapeutes qui exercent dans le nord de la Côte d'Ivoire. La plante préalablement identifiée et authentifiée par des botanistes de l'Université Peleforo GON COULIBALY, a été récoltée en Août 2023 dans la commune de Boniérédougou (Département de Dabakala, Région du Hambol). Le matériel végétal a été séché à l'abri du soleil dans une salle à la température ambiante. Après 10 jours de séchage, il a été pilé dans un mortier puis tamisés afin d'obtenir des fines poudres qui ont servi à préparer les différents extraits à tester.

2.1.2. Matériel et appareillage de laboratoire

Le matériel de laboratoire est constitué de la verrerie usuelle de laboratoire, d'une étuve, d'une balance électronique, d'un bain-marie, d'une plaque chauffante, de papier filtre, d'un réfrigérateur, de potences, de pulvérisateurs, d'un séchoir, d'un spectrophotomètre de marque JENWAY, d'une hotte, etc.

2.1.3. Réactifs et produits chimiques

Les réactifs employés pour la chromatographie sur couche mince (CCM) et les réactions en tube sont : le FeCl_3 , le AlCl_3 , le KOH, la vanilline sulfurique, le DPPH et le réactif de Dragendorff. Les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique et ont été achetés chez Polychimie (Côte d'Ivoire). Il s'agit de l'éthanol, de l'hexane, du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle, l'acide acétique, l'acétone et le méthanol. Pour les tests de CCM, des chromatoplaques en gel de silice 60 F₂₅₄, sur support aluminium (Merck) ont été utilisés.

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des extraits bruts

2.2.1.1. Acquisition de l'extrait aqueux

Une masse de 7 g de poudre du matériel végétal est mélangée dans 70 mL d'eau distillée et l'ensemble est mis à ébullition. La décoction a été obtenue au bout de 20 min à des températures variant progressivement jusqu'à 100°C. L'opération a été effectuée simultanément 3 fois. Après filtration, les différents filtrats ont été réunis et le décocté a été placé dans une étuve à 50°C pendant 3 jours. L'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* obtenu a été conservé dans des bocaux hermétiquement fermés dans un bocal et conservés au réfrigérateur à 4°C. Cet extrait a par la suite servi à évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie.

2.2.1.2. Acquisition de l'extrait éthanolique

Une masse de 7 g de poudre du matériel végétal de *Mitracarpus scaber* a été macérée dans 70 mL d'éthanol pendant 24 h. L'opération a été effectuée simultanément 3 fois. Après filtration, les différents filtrats ont été réunis. Le macéré a été placé dans une étuve à 50°C pendant 2 jours, pour fournir l'extrait brut éthanolique de *M. scaber*. Il a été ensuite conservé dans un bocal hermétiquement fermé et conservé au réfrigérateur à 4°C. Cet extrait a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie.

2.2.1.3. Acquisition de l'extrait hydroéthanolique

Une masse de 7 g de la poudre végétale a été macérée dans 70 mL du mélange binaire éthanol/eau (80 mL/20 mL) pendant 24 h. L'opération a été effectuée simultanément 3 fois. Après filtration, les macérés obtenus sont réunis, puis mis à l'étuve à 50°C pendant 2h pour éliminer l'éthanol. L'extrait obtenu est conservé pendant 24 h au

réfrigérateur à 4°C pour la précipitation des composés lipophiles. Après décantation et filtration, l'extrait hydroéthanolique est obtenu. Une quantité de cet extrait a été totalement séchée à l'étuve à 50°C pendant 2 jours et l'extrait brut hydroéthanolique a servi à évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie et déterminer la composition chimique par analyse UPLC-MS. L'autre quantité a été utilisée d'une part, pour effectuer des tests préliminaires en tube et d'autre part, à préparer les extraits sélectifs [5].

2.2.2. Préparation des extraits sélectifs

Un volume de 15 mL de l'extrait hydroéthanolique a été épuisé par fractionnements successifs avec (3 × 10 mL) d'hexane (C₆H₁₄), (3 × 10 mL) de dichlorométhane (CH₂Cl₂) et (3 × 10 mL) d'acétate éthylique (AcOEt). Les différents filtrats organiques sélectifs sont concentrés à l'étuve puis conservés au réfrigérateur à 4°C. Ils ont été utilisés pour le criblage phytochimique par CCM et l'évaluation de l'activité antioxydante sur plaque CCM [6].

2.2.3. Tests qualitatives en tube et sur plaque CCM

Pour la réalisation des tests colorés en tube sur les extraits bruts, les techniques analytiques utilisées sont celles décrites dans la littérature [7-9].

Le criblage par CCM des extraits sélectifs a été réalisé suivant les méthodes décrites dans la littérature [10].

2.2.4. Analyse UPLC-MS

Les spectres de masse ont été réalisés sur un appareil Waters ACQUITY UPLC-MS composé d'un détecteur quadripôle, d'un spectromètre de masse équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (Electrospray Ionisation Interface = ESI) et d'un détecteur à barrettes de diodes. Pour ce faire, une masse de 5 mg de chaque extrait brut éthanolique a été dissoute dans 1 à 1,5 mL de méthanol de qualité analytique. La solution obtenue a été ensuite filtrée et une quantité suffisante du filtrat est introduite dans une petite cuve (vial) spécialement conçue pour l'analyse afin de déterminer le spectre de masse.

Les solvants d'analyse utilisés sont constitués d'un système binaire de solvants (A ; B) avec A : H₂O/acétonitrile 98/2 + 0,1% acide formique et B : acétonitrile 100% + 0,1% acide formique. Pour l'identification des composés majoritaires par la technique d'analyse UPLC-MS, il a été renseigné les formules brutes de plusieurs métabolites secondaires selon les informations tirées de la littérature des plantes. Ainsi, l'apparition en vert d'un ou plusieurs pics confirme la présence du métabolite secondaire enregistré dans l'appareil et l'apparition des pics en rouge infirme sa présence.

2.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante

2.2.5.1. Estimation du pouvoir antioxydant par CCM vis-à-vis du DPPH des extraits sélectifs

Le dépistage du pouvoir antioxydant par CCM utilisé est celui mis au point par la méthode décrite [11].

2.2.5.2. Evaluation du pouvoir antioxydant par spectrophotométrie vis-à-vis du DPPH des extraits bruts aqueux, éthanoliques et hydroéthanoliques

La méthode utilisée est celle de Brand-Williams et collaborateurs [12] avec de légères modifications. Le DPPH est solubilisé dans de l'éthanol absolu pour obtenir une solution de concentration de 0,03 mg/mL. Différentes gammes de concentrations de chaque extrait sont préparées avec le même solvant (1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,03125 mg/mL, 0,015625 mg/mL, 0,007812 mg/mL, 0,003906 mg/mL et 0,001953 mg/mL). Dans des tubes secs et stériles, sont introduits 1 mL de solution d'extrait à analyser et 2 mL de solution de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm contre un blanc formé de 2 mL de solution de DPPH + 1 mL d'éthanol absolu. Le témoin positif de référence utilisé est l'acide ascorbique (vitamine C) préparé dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage de réduction (PR) du DPPH est calculé suivant la formule :

$$PR(\%) = \left(1 - \frac{A_e}{A_b}\right) \times 100$$

Avec A_e : absorbance de l'extrait et A_b : absorbance du DPPH

Enfin, la concentration qui réduit de 50% le radical DPPH (CR₅₀) a été déterminée graphiquement par le biais du logiciel Excel 2016.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement des extraits bruts

Les rendements des extractions (**Tab. I**) sont compris entre $42,37 \pm 0,99$ % pour le décocté (extrait aqueux) et $18,37 \pm 0,91$ % pour le macéré éthanolique. Un rendement intermédiaire de $25,31 \pm 1,41$ % a été signé par le macéré hydroéthanolique. Il ressort que l'extraction par décoction a fourni le rendement le plus élevé. Cela pourrait s'expliquer par la technique d'extraction et du type de solvant utilisé. En effet, concernant la macération et la décoction, les travaux menés par Konan [13] affirment que la décoction recueille le plus de principes actifs. Vraisemblablement, le facteur thermique en est la cause. En outre, certains auteurs rapportent-ils que la décoction atténue ou annule l'effet toxique de certaines préparations [14]. S'agissant des solvants employés pour les différentes extractions, l'eau constitue le solvant ayant extrait le plus de phytoconstitués du fait de sa polarité plus élevée.

Tableau I : Résultats des rendements des extraits bruts de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber*

Rendements	MS (Eau)	MS (Ethanolic)	MS (Eau/ Ethanol)
R1 (%)	42,25	18,45	27,4
R2 (%)	43,85	19,65	23,2
R3 (%)	41	17	25,34
Rmoyen (%)	$42,37 \pm 0,99$	$18,37 \pm 0,91$	$25,31 \pm 1,41$

3.2. Analyse qualitative

Les résultats groupés du criblage phytochimique en tube et par CCM de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* indiquent qu'elle renferme des polyphénols, saponines, stérols, terpènes, coumarines, flavonoïdes, tanins et acides phénoliques. Aussi, le screening phytochimique réalisé par certains auteurs a permis de caractériser des flavonoïdes, des anthocyanes, des coumarines, des stérols, des triterpènes, et des tanins catéchiques et galliques chez *Mitracarpus scaber* [15-16]. Ces résultats sont en accord avec la présente étude réalisée. Par ailleurs, la composition de l'huile volatile des parties aériennes de *Mitracarpus scaber* étudiée par CPG-SM a permis d'identifier des acides gras libres comme constituants majeurs [17]. D'autres études approfondies ont permis d'isoler à partir de l'extrait méthanolique de *Mitracarpus scaber* des composés polyphénoliques [18].

3.3. Analyse UPLC-MS

L'analyse UPLC-MS a été réalisée avec l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* en raison de son rendement plus élevé que celui des extraits aqueux et éthanolique. Elle a permis de mettre en évidence cinq (5) composés majoritaires. Les pourcentages de présence des composés varient de 8,57 % à 29,77 % et leurs temps d'apparition varient entre 0,77 min et 3,15 min. Parmi les composés mis en évidence, deux (2) flavonoïdes correspondant aux pics 1 et 5 ont pu être identifiés (**Fig. 1**). Le pic 1 (29,77%) et le pic 5 (10,25%) ont des temps de rétention respectifs de 0,77 min et de 3,15 min. Leur formule brute est $C_{15}H_{14}O_5$ pour une masse moléculaire de 274,08. Les deux (2) composés identifiés seraient donc des isomères. Aussi, la formule moléculaire $C_{15}H_{14}O_5$ pourrait faire référence à certains types de flavonoïdes tels que l'afzéléchine (un flavan-3-ol), l'apiforol (un flavan-4-ol), le fisétinidol (un flavan-3-ol), l'oritin (un flavan-3-ol) et la phlorétine (une dihydrochalcone). En effet, les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres grâce à leur pouvoir réducteur et permettent de lutter contre le stress oxydant [19]. Ils ont de multiples effets bénéfiques chez l'humain incluant des effets vasculoprotecteurs ainsi que des propriétés antitumorale, anti-inflammatoire, antibactérienne et antivirale [20]. Toutes ces propriétés pharmacologiques pourraient en partie justifier l'usage traditionnel du décocté des feuilles fraîches de *Mitracarpus scaber* dans le traitement par voie orale des hépatites virales [21], des plaies de la gorge, contre la toux et les morsures de serpents [22].

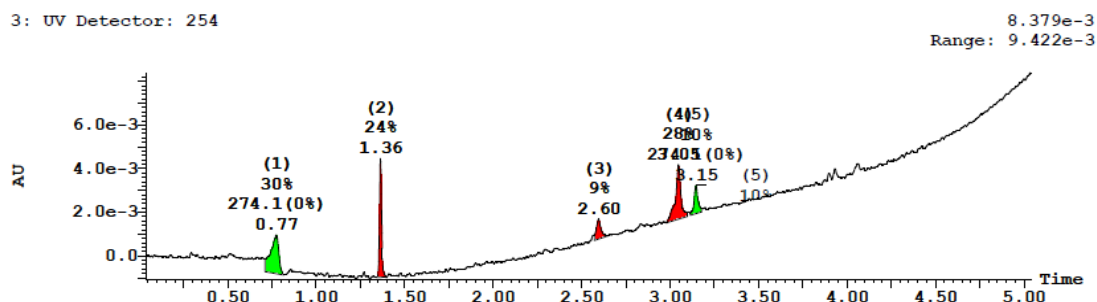


Figure 1 : Profil UPLC-MS de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *M. scaber*

3.4. Activité antioxydante vis-à-vis du DPPH

L'activité antioxydante des extraits végétaux évaluée par spectrophotométrie en comparaison de l'acide L-ascorbique (vitamine C), pris comme une référence, a permis de déterminer les pourcentages de réduction du DPPH par les extraits végétaux. Les pourcentages varient de $11,504 \pm 0,115$ à $83,125 \pm 0,393$ pour l'extrait aqueux, de $30,007 \pm 0,370$ à $83,645 \pm 0,231$ pour l'extrait éthanolique et de $18,122 \pm 0,462$ à $83,818 \pm 0,046$ pour l'extrait hydroéthanolique tandis que ceux de la vitamine C varient de $47,748 \pm 0,092$ à $92,134 \pm 0,092$ (**Fig.2**). Par ailleurs, les CR_{50} des extraits d'étude sont également variables, l'extrait hydroéthanolique a signé une CR_{50} de 0,11954 mg/mL, celle de l'extrait éthanolique est de 0,22184 mg/mL et la CR_{50} la plus élevée a été observée dans l'extrait aqueux avec 0,48914 mg/mL pendant que celle de la vitamine C est de 0,08157 mg/mL (**Tab. 2**). Nous rappelons que la CR_{50} est le paramètre quantitatif de l'efficacité antioxydante d'un analyte. C'est la concentration nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du radical DPPH. Plus la valeur de la CR_{50} est faible, plus l'activité antioxydante est prononcée [23]. De ce fait, nous pouvons affirmer que l'extrait hydroéthanolique présente une activité antioxydante plus importante que celle des extraits aqueux et éthanolique du fait de son pourcentage de réduction vis-à-vis du DPPH plus élevé et de sa CR_{50} la plus faible. L'activité antioxydante manifestement révélée des différents extraits de *Mitracarpus scaber*, serait liée à leur richesse en phytoconstitués phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants d'origine naturelle possèdent dans leurs structures moléculaires, des groupes hydroxyphénoliques responsables du caractère antioxydant [24]. Entre outre, le mélange hydroéthanolique (éthanol-eau) pourrait être considéré comme l'un des meilleurs solvants utilisés pour l'extraction de certains métabolites secondaires notamment les composés phénoliques [25]. Cela expliquerait le fait que l'activité antioxydante la plus élevée ait été observée dans l'extrait hydroéthanolique et ce, par les polyphénols qu'il renfermerait. De manière générale, il ressort que la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* possède une activité antioxydante manifeste au vu des polyphénols, saponines, stérols, terpènes, coumarines, flavonoïdes, tanins et acides phénoliques identifiés lors du criblage phytochimique réalisé dans cette étude.

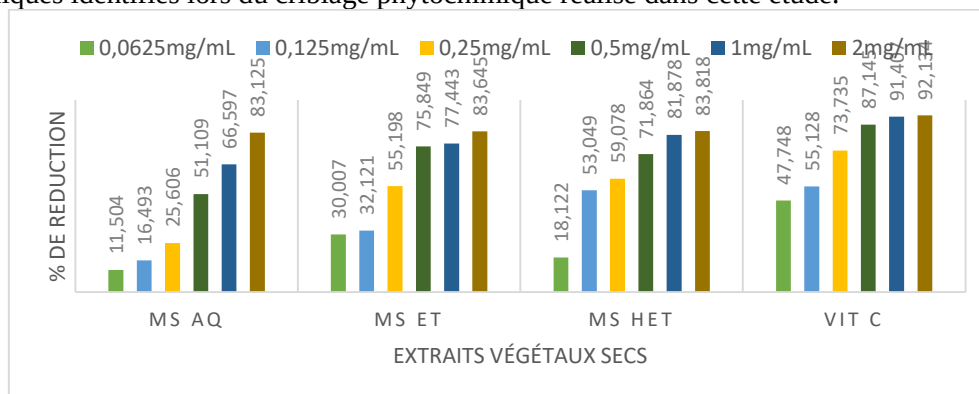


Figure 2 : Réduction du DPPH par les extraits aqueux, éthanoliques et hydroéthanoliques de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber*

Tableau II : Valeurs des CR_{50} (mg/mL) des extraits bruts de *Mitracarpus scaber*

Extraits	Equations de droite	CR_{50} (mg/mL)
Vitamine C	$y = 118,08 x + 40,368$	0,08157
MS Aqueux	$y = 102,01 x + 0,103$	0,48914
MS Ethanolique	$y = 184,62 x + 9,044$	0,22184
MS Hydroéthanolique	$y = 558,83 x - 16,805$	0,11954

4. Conclusion

L'objectif de ce travail visait à évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie vis-à-vis du DPPH de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* et ce, dans le cadre de la recherche d'antioxydants naturels issus de la floristique de Côte d'Ivoire.

Le criblage phytochimique en tube réalisé sur les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique provenant de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* a permis de détecter la présence de polyphénols, saponines, stérols,

terpènes, coumarines, flavonoïdes, tanins et acides phénoliques. Ce résultat a été confirmé par la chromatographie sur couche mince (CCM).

L'évaluation spectrophotométrique des activités antioxydantes des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique vis-à-vis du radical DPPH a été également démontrée. L'extrait hydroéthanolique a manifesté une activité antioxydante plus importante que celle des extraits aqueux et éthanolique. L'activité antioxydante significativement révélée des différents extraits de *Mitracarpus scaber* comparativement à celle de la vitamine C, serait liée à leur teneur en métabolites secondaires susmentionnés (polyphénols, saponines, stérols, terpènes, coumarines, flavonoïdes, tanins et acides phénoliques).

L'analyse UPLC-MS réalisée avec l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de *Mitracarpus scaber* a permis d'identifier deux flavonoïdes isomères (de types flavan-3-ol, flavan-4-ol ou dihydrochalcone) qui manifestent des propriétés pharmacologiques reconnues.

Au terme de cette étude, nous avons noté que *Mitracarpus scaber* présente une bonne activité antioxydante ce qui expliquerait, à notre avis, son utilisation récurrente dans le traitement de diverses pathologies.

En perspective, d'autres études sur la qualité, l'efficacité et la sécurité devront être réalisées en vue du choix de *Mitracarpus scaber*, comme source éventuelle d'antioxydants naturels exogènes.

5. Bibliographie

- [1]. Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 (6): 390-396.
- [2]. Meziti, A. (2007). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L étude *in vitro* et *in vivo*. *Mémoire de Magister Université de Batna* 30-35-49-67 p.
- [3]. Marfak, A. (2011). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. *Thèse de doctorat Université de Limoges* 6-7-27-45 p.
- [4]. Desmier, T. (2016). Les antioxydants de nos jours : Définition et applications. Thèse d'exercice. Université de Limoges, 87 p.
- [5]. Ouattara, L. H. ; Kabran, M. G. R. ; Kadja, A. B. ; Tano, B. M. ; Mamyrbekova-Bekro, J. A. et Bekro, Y-A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes de Côte d'Ivoire utilisées dans le traitement traditionnel des hémorroïdes. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 15(4): 881-893.
- [6]. Ouattara, L. H. (2017). Etude phytochimique et biologique de sept plantes médicinales utilisées en tradithérapie des hémorroïdes en Côte d'Ivoire. Thèse unique de doctorat, Université Nangui ABROGOUA: 154 p.
- [7]. Békro, Y. A. ; Mamyrbekova-Békro, J. A. ; Boua, B. B. ; Tra Bi, F. H. et Ehilé, E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Cesalpinaceae). *Sciences et Nature*, 4 (2): 217-225.
- [8]. Dohou, N. ; Yamni, K. ; Tahrouch, S. ; Idrissi, H. L. M. ; Badoc, A. et Gmira, N. (2003). Screening Phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaea lithoïdes*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 142: 61-78.
- [9]. Popovici, C. ; Saykova, I. et Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4: 25-39.
- [10]. Mamyrbekova-Békro, J. A. ; Konan, M. K. ; Békro, Y. A. ; Djié Bi, M. G. ; Zomi Bi, T. J. ; Mambo, V. et Boua, B. B. (2008). Phytochemicals of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *European Journal of Scientific Research*, 24 (2): 219-228.
- [11]. Takao, T. ; Kitatami, F. ; Watanabe, N. ; Yagi, A. ; Sakata, K. (1994). A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58 (1): 1780-1783.
- [12]. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E. et Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT -Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28 (1): 25-30.
- [13]. Konan, K. P. A. (2021). Influence du type et du temps d'extraction sur la traçabilité des phytophénols et les potentiels antioxydant et analgésique de *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) et de *Palisota hirsuta* (Thunb.) K. Schum. (Commelinaceae). Thèse unique de doctorat, Université Nangui ABROGOUA: 168 p.
- [14]. Salhi, S. ; Fadli, M. ; Zidane, L. et Douira, A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazarroa*, 31: 133-146.
- [15]. Sanogo, R. ; Diallo, D. ; Diarra, S. ; Ekoumou, C. ; Bougoudougou, F. (2006). Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Médical*, XXI (1):18-24.
- [16]. Benjamin, T. V. et Hugo, P. C. (1986). An approach to study of medicinal plants antimicrobial activities with reference de *Mitracarpus scaber*. In the state of medicinal plant research in Nigeria. Nigeria, Ife, *University press*, 243-251.
- [17]. Ekpendu, T. O. ; Adesomaju, A. A. ; Ekundayo, O. ; Okogium, J. I. et Laakso, I. (1993). Constituents of the volatile oil of *Mitracarpus scaber* Zucc. *Favour and Fragrance journal*, 8 (5): 269-271.
- [18]. Bisignano, G. ; Sanogo, R. ; Marino, A. ; Aquino, R. ; D'angelo, V. ; Germanò, M. P. et coll. (2000). Antimicrobial activity of *Mitracarpus scaber* extract and isolated constituents. *Letters in Applied Microbiology*, 30: 105- 108.

- [19]. Amic, D. ; Davidovic-Amic, D. ; Beslo, D. ; Rastija, V. ; Lucic, B. et Trinajstic, N. (2007). SAR and QSAR of the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Curr Med Chem.*, 14(7): 827-45.
- [20]. Emeraux, E. (2019). Propriétés biologiques des flavonoïdes: étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Lorraine, 74 p.
- [21]. Adjanohoun, E.J. ; Alyi, A.M. ; Aké-Assi, L. ; Baniakina, J. ; Chibon, P. ; Cusset, G. *et al.* (1980). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. Paris, ACCT éd. 105 p.
- [22]. Burkill, H. M. (1997). The useful plants of west tropical Africa. Richmond, éd Royal Botanic Gardens Kew. Vol 4. Families M-R. 969 p.
- [23]. Tanoh, S. K. ; N'gaman-Kouassi, C. C. ; Boa, D. ; Mamyrbekova-Békro, A. J. et Békro, Y. A. (2019). Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Cote d'Ivoire médicinales. *Nature et technologie*, 22: 1-7.
- [24]. Huang, D. ; Ou, B. et Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 1841-1856.
- [25]. N'guessan, P. A. (2021). Composition phytochimique d'extraits polaires végétaux par CPG-SM après dérivation: Cas de quatre (4) plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse unique de Doctorat, Université Nangui ABROGOUA, 150 p.

Dosage quantitatif de composés phénoliques et activité antioxydante des extraits d'écorces de tige de *Kaya senegalensis* (desv) A.Juss., (Meliaceae).

GBOKO Abiba Ouattara ^{1,*}, KAMAGATE Tidiane ¹, KASSIM Dosso², TOURE Abdoulaye ¹,

¹Laboratoire de Biotechnologie et de Valorisation des Agroressources et Substances Naturelles, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY de Korhogo, BP1328 Korhogo

² Laboratoire de Physiologie et Pharmacologie, Faculté d'Environnement, Université Jean Lorougnon Guede de Daloa, 02 P.O. Box 150 Daloa 02, Côte d'Ivoire.

(*): Auteur correspondant: abibaouattara2013@gmail.com

Résumé : La recherche de molécules antioxydantes par les scientifiques, demeure de nos jours une alternative nouvelle pour vaincre plusieurs pathologies liées au stress oxydatif. Ces molécules sont pour la plupart à l'origine de nombreuses propriétés biologiques, pharmacologiques et thérapeutiques. L'objectif de la présente étude est de doser les composés phénoliques et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux (KsA) et hydroéthanolique 70 % (KsE) des écorces de tige de *Khaya senegalensis*. Les constituants phénoliques ont été dosés colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV en utilisant plusieurs réactifs. Le pouvoir antioxydant des extraits a été évalué par la méthode du piégeage des cations du radical ABTS⁺ [4]. Les dosages ont donné des quantités variables de composés (polyphénoliques, flavonoïdes, tanniques) en fonction des différents solvants d'extraction avec KsE ayant les meilleures teneurs comparativement à KsA. Les extraits ont exprimé un fort pouvoir antioxydant pour le test ABTS⁺ avec des valeurs de $54,83 \pm 0,02 \mu\text{mol TE/L}$ d'extrait et $47,58 \pm 0,1 \mu\text{mol TE/L}$ d'extrait respectivement pour KsE et KsA. En définitive, la richesse de *K. senegalensis* en molécules phénoliques antioxydantes pourrait justifier son usage traditionnel et constituer une alternative de recherche de principes actifs pour lutter contre divers germes pathogènes multirésistants.

Mots clés : *Khaya senegalensis*; composés phénoliques; pouvoir antioxydant

Quantitative dosage of phenolic compounds and antioxidant activity of stem bark extracts of *Kaya senegalensis* (desv) A.Juss. (Meliaceae).

Abstract: The search for antioxidant molecules by scientists remains today a new alternative to overcome several pathologies linked to oxidative stress. These molecules are for the most part at the origin of numerous biological, pharmacological and therapeutic properties. The objective of the present study is to determine the phenolic compounds and evaluate the antioxidant activity of the aqueous (KsA) and 70% hydroethanolic (KsE) extracts of the stem bark of *Khaya senegalensis*. The phenolic constituents were determined colorimetrically with the UV spectrophotometer using several reagents. The antioxidant power of the extracts was evaluated by the ABTS⁺ radical cation trapping method. The dosages gave variable quantities of compounds (polyphenolics, flavonoids, tannins) depending on the different extraction solvents with KsE having the best contents compared to KsA. The extracts expressed a strong antioxidant power for the ABTS⁺ test with values of $54.83 \pm 0.02 \mu\text{mol TE/L}$ of extract and $47.58 \pm 0.1 \mu\text{mol TE/L}$ of extract respectively for KsE and KsA. Ultimately, the richness of *K. senegalensis* in antioxidant phenolic molecules could justify its traditional use and constitute an alternative drug research to fight against multi-resistant pathogenic germs.

Key words: *Khaya senegalensis*; phenolic compounds; antioxidant power

1. INTRODUCTION

La recrudescence des maladies infectieuses et métaboliques sont deux problématiques qui minent le secteur de la santé mondiale. Les raisons de ce constat sont entre autres la résistance des microbes aux antibiotiques ; le changement des habitudes alimentaires et comportementales (consommation de sel, sucre et gras en excès ; la sédentarité et manque d'exercices physiques) et le stress oxydant. Ce dernier a été largement défini comme une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques [1]. Par ailleurs, la médecine conventionnelle se trouve aujourd'hui dans l'impasse face à l'épineuse question de l'antibiorésistance des microorganismes infectieux. Il est donc impérieux de trouver de nouveaux principes actifs dans la lutte contre les maladies infectieuses et métaboliques. De ce fait, ces molécules recherchées doivent posséder diverses autres propriétés chimiques et de nouveaux mécanismes d'action pouvant vaincre la résistance des microbes pathogènes [2]. L'utilisation de plantes médicinales issues de la pharmacopée traditionnelle se présente alors comme une alternative thérapeutique [3, 4]. En effet, selon une étude menée par [5], les plantes médicinales constituent la source la plus importante et inépuisable de composés bioactifs tels que les antioxydants, les antimicrobiens, les antiparasitaires et les anti-inflammatoires qui peuvent aider à prévenir et traiter les maladies. D'ailleurs, l'Afrique regorge d'une flore diversifiée et de précieuses plantes médicinales avec près de 50000 espèces de plantes vascularisées, recensées dans le traitement de diverses affections [6]. La Côte d'Ivoire

n'est pas en reste d'autant plus qu'une étude ethnobotanique réalisées par [7] sur le marché d'Abidjan a permis d'inventorier 58 espèces commercialisées pour soigner diverses maladies courantes [8].

C'est donc à juste titre que nous nous sommes intéressés à la plante médicinale nommée *Khaya senegalensis*. Cette plante est utilisée par les populations pour traiter diverses affections dont les diarrhées les douleurs abdominales et autres [9, 10, 11]. La présente étude vise donc à mettre évidence les constituants phytochimiques et à évaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux et hydroéthanolique 70 % des écorces de *K. senegalensis* afin de contribuer à la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques à large spectre d'activités pharmacologiques (antimicrobiennes et physiologiques).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal choisit est constitué des écorces de tige de *Khaya senegalensis*. Elles ont été récoltées à Korhogo (Côte d'Ivoire) en septembre 2022. Par la suite, l'authentification de la plante a été effectuée sous l'identifiant UCJ012302, au Centre National de Floristique de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). Après récolte, les échantillons ont été nettoyés minutieusement à l'eau de robinet afin de les débarrasser de toutes impuretés. Ces échantillons ont été découpés en petits morceaux puis séchés à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant deux semaines. A la fin du séchage, les écorces ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique (RETSCH, Type AS 200) pour obtenir une fine poudre. Cette poudre végétale a été conservée dans des bocaux stériles et a servi à la préparation des extraits.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction du matériel végétal

La méthode décrite par [12] avec quelques modifications a été utilisée pour la préparation des extraits à savoir :

- **L'extrait aqueux** qui a été préparé en utilisant 100 g de poudre d'écorce de *K. senegalensis* dissoutes dans un litre (1 L) d'eau distillée à l'aide d'un blender à la température ambiante pendant 24 heures. Après macération, le mélange obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu blanc, ensuite doublement filtré sur du coton hydrophile et une fois sur du papier Whatman (3 mm). Puis, le filtrat obtenu a été concentré à l'étuve jusqu'à l'évaporation totale de l'eau. L'extrait obtenu a été pesé et conservé dans un flacon stérile. Le rendement d'extraction (RE) a été déterminé selon la formule suivante : $RE (\%) = (m/M) \times 100$ Avec M : masse de la poudre végétale (g) ; m : masse de l'extrait brut (g).

- **L'extrait hydroéthanolique 70 %**

Pour préparer l'extrait hydroéthanolique, 100 g de poudre d'écorce de *K. senegalensis* a été macérée dans un litre (1 L) d'éthanol dilué à 70 % (70/30 ; V / V) avec un blender à la température ambiante pendant 24 heures. L'homogénat obtenu a été filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile puis une fois sur du papier Whatman (3 mm). Ensuite, le solvant a été évaporé à l'étuve pour concentrer le filtrat. L'extrait obtenu a été pesé et conservé dans un flacon stérile. Le rendement de l'extraction a été déterminé comme précédemment.

2.2.2. Dosage des composés phénoliques : polyphénol totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés

La teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés ont été déterminés respectivement selon la méthode décrite par [13, 14, 15] avec une légère modification. L'acide gallique, la quercétine et la catéchine sont utilisées comme standard et leur courbe d'étalonnage est construite à partir des concentrations comprises entre 0 et 1000 µg. mL⁻¹. La teneur des différents composés phénoliques dans l'extrait est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (µg EAG/g d'extrait sec) pour les polyphénols totaux; en microgrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (µg EQ/g d'extrait sec) pour les flavonoïdes totaux et en miligramme équivalent de catéchine (EC) par gramme d'extrait sec (mg EC/g d'extrait sec).

2.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante a été réalisée selon la méthode décrite par [16]. Il est basé sur la capacité des composés à réduire le radical cationique de l'acide 2,2-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) ou ABTS⁺. L'étalonnage du spectrophotomètre est effectué par lecture de l'absorbance de différentes concentrations de Trolox (3,75 ; 5 ; 6,25 ; 10 ; 11,25, 13,75 et 15.10⁻⁴ mM). Le pourcentage d'inhibition (PI) de l'ABTS⁺ est

déterminé par la relation : $PI = \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100$ Avec PI : Pourcentage d'inhibition (%) ; A : Absorbance de l'ABTS dilué contenant les échantillons à tester ; A₀ : Absorbance de l'ABTS dilué (absorbance de contrôle). L'activité des extraits est exprimée par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la concentration de Trolox (antioxydant de référence) induisant la même capacité antioxydante qu'une concentration de 1 mM de l'extrait testé. Elle est déterminée par la formule suivante : $C = \frac{PI \times D}{4,9901}$ Avec C : capacité antioxydante (μmol TE/L d'extrait) ; D : facteur de dilution ; PI : Pourcentage d'inhibition.

2.2.5. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été analysés en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 8.0 (Microsoft U.S.A) pour les variances (ANOVA) multiples. Les différences entre les moyennes ont été déterminées selon le test de Duncan au seuil de 5 % (P < 0,05 est considéré significatif). La représentation graphique des données a été réalisée grâce au logiciel Excel. Les résultats ont été exprimés en moyennes accompagnés de l'erreur standard sur la moyenne.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Rendement des extractions

Les rendements obtenus après extractions figurent dans le **tableau I**. L'extrait hydroéthanolique a donné le meilleur rendement (23,30 %) comparativement à l'extrait aqueux (12,70 %).

Tableau I : Rendement des extractions de *K. senegalensis*

Extraits de <i>K. senegalensis</i>	Extrait aqueux	Extrait hydroéthanolique 70 %
Rendement (%)	12.70	23.30

3.2 Dosage des polyphénols totaux

La droite d'étalonnage d'équation : $Y = 0,6484 - 0,0025$ avec un coefficient de régression $R^2 = 0,995$, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard a permis de faire les analyses quantitatives des polyphénols totaux. Les teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroalcooliques (**KsE**) et aqueux (**KsA**) ont été traduites sous forme d'histogramme dans la **Figure 1**.

Les extraits **KsE** et **KsA** ont respectivement des teneurs en polyphénols totaux de $493,33 \pm 22,22$ μg EAG/g et $353,33 \pm 15,55$ μg EAG/g d'extrait sec. La teneur la plus élevée a été mesurée dans l'extrait hydroalcoolique. Cette concentration élevée des polyphénols dans cet extrait serait liée à la forte solubilité des composés phénoliques dans les solvants polaires [17]. Ainsi les composés phénoliques des extraits hydroalcooliques et aqueux pourraient correspondre aux flavonoïdes, aux tanins sous forme condensée et à certains acides phénoliques. La présence d'un taux important de polyphénols dans les extraits de KsE pourrait justifier son utilisation dans la médecine traditionnelle. Les travaux menés par [18, 19] corroborent nos résultats en indiquant que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux.

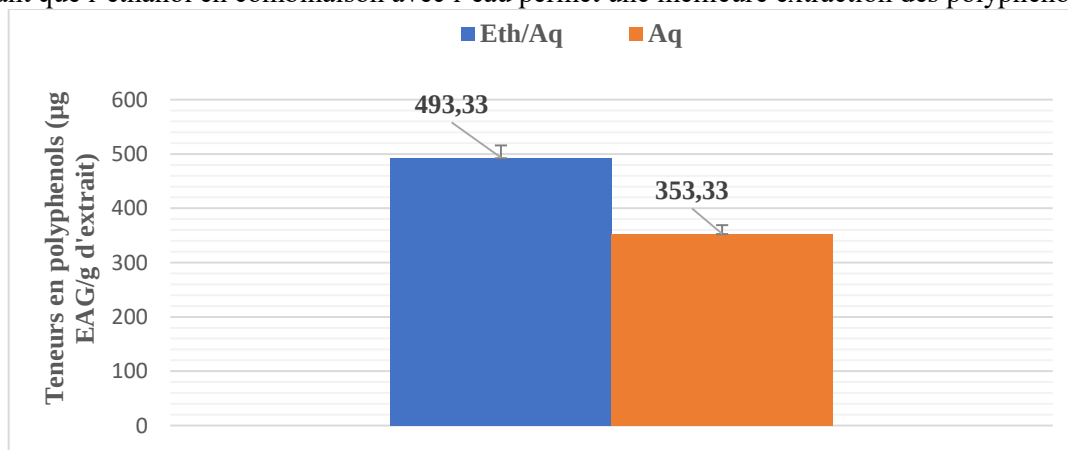


Figure 2 : Teneur en polyphénols totaux des extraits KsE (Eth/Aq) et KsA (Aq)

3.3-Dosage des flavonoïdes totaux

Les analyses quantitatives des flavonoïdes totaux ont été effectuées à partir de la droite d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,9983$. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 2**.

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits **KsE** et **KsA** sont respectivement de $926,67 \pm 35,55$ et $520 \pm 6,67$ mg EQ/g d'extrait sec. On constate que les deux extraits de *K. senegalensis* présentent de fortes teneurs en flavonoïdes. Toutefois, la teneur en flavonoïde varie en fonction de solvant utilisé. Ainsi, la proportion en flavonoïdes de l'extrait KsE représente pratiquement le double de celle de l'extrait KsA. Ce qui pourrait s'expliquer par le fait que le mélange éthanol-eau (70%) est le meilleur solvant d'extraction des flavonoïdes [20].

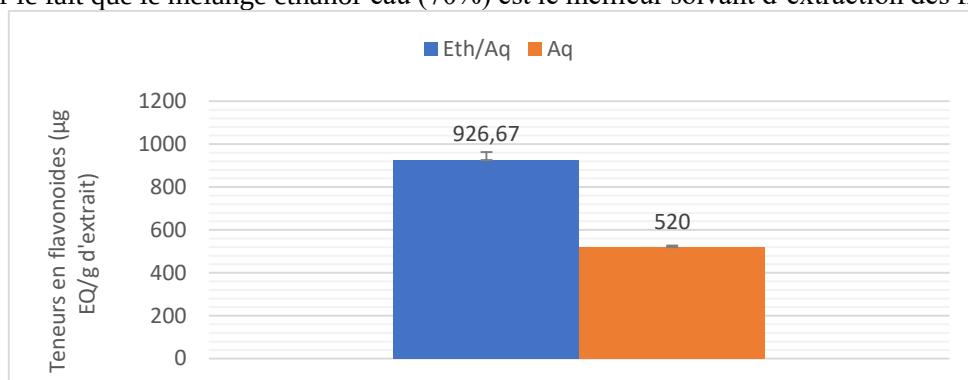


Figure 4 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits KsE (Eth/Aq) et KsA (Aq)

3.2. Dosage des tanins condensés

Les analyses quantitatives des tanins condensés ont été effectuées à partir de la droite d'étalonnage d'équation : $Y = 0,0004x + 0,0062$, tracée en utilisant la catéchine comme standard avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,9933$.

Le dosage des tanins condensés a révélé des quantités variables en fonction des différents solvants d'extraction (**Figure 3**). En effet, l'extrait hydroalcoolique a donné la meilleure teneur en composés tanniques ($148,74 \pm 9,76$ mgEC/g d'extrait sec) comparativement à l'extrait aqueux ($68,85 \pm 4,62$ mgEC/g d'extrait sec). La présence des tanins condensés dans les extraits a bien été prédite par le criblage phytochimique. La forte teneur des deux extraits en tanins condensés pourrait justifier l'utilisation de cette plante pour soigner certaines pathologies telles que les varices et les hémorroïdes grâce à leurs effets astringents, anti-inflammatoires, hémostatiques et vasoconstricteurs [21]. Au vu de cette analyse, les teneurs en tanins condensés de la plante que nous avons analysées justifient son usage dans le traitement traditionnel de certaines maladies.

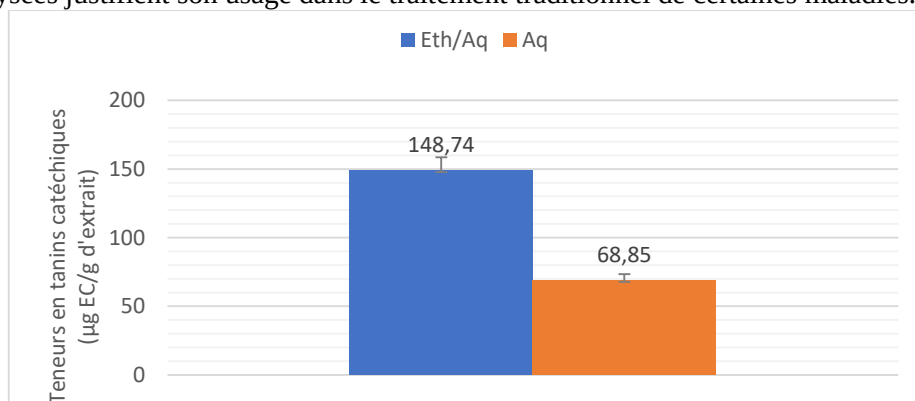


Figure 6 : Teneur en tanins condensés des extraits KsE (Eth/Aq) et KsA (Aq)

3.3. Activités antioxydantes des extraits

La détermination de l'activité antioxydante des extraits hydroalcoolique et aqueux par le test de piégeage des cations du radical $ABTS^{+•}$ a été réalisée à partir de la droite d'étalonnage du Trolox. Les résultats obtenus sont présentés par la **figure 4**. L'analyse de ces résultats révèle un fort pouvoir antioxydant des deux extraits. En effet, la capacité antioxydante équivalente Trolox (TEAC) de l'extrait hydroalcoolique qui est de $54,83 \pm 0,02$ µmol TE/L d'extrait, est légèrement supérieure à celle de l'extrait aqueux de $47,58 \pm 0,1$ µmol TE/L d'extrait. Cependant, il n'y a pas de différence significative entre ces valeurs. Ces résultats sont en accord avec ceux du test de piégeage du radical DPPH déjà effectué par [22] sur les mêmes extraits. En effet, ces auteurs ont montré par cette technique que les deux extraits avaient un fort pouvoir antiradicalaire comparativement à l'acide gallique avec respectivement des CI_{50} de $6,4 \pm 0,02$ µg/mL et $7,5 \pm 0,01$ µg/mL. L'activité antioxydante des extraits

pourrait être liée aux constituants chimiques présents dans les écorces de cette plante. Une étude phytochimique qualitative et quantitative menée sur les extraits de cette plante a révélé la présence en forte quantité de polyphénols totaux avec une prédominance pour les flavonoïdes et les tanins [23]. Ces métabolites secondaires sont connus dans la littérature comme étant des molécules antioxydantes [24, 25].

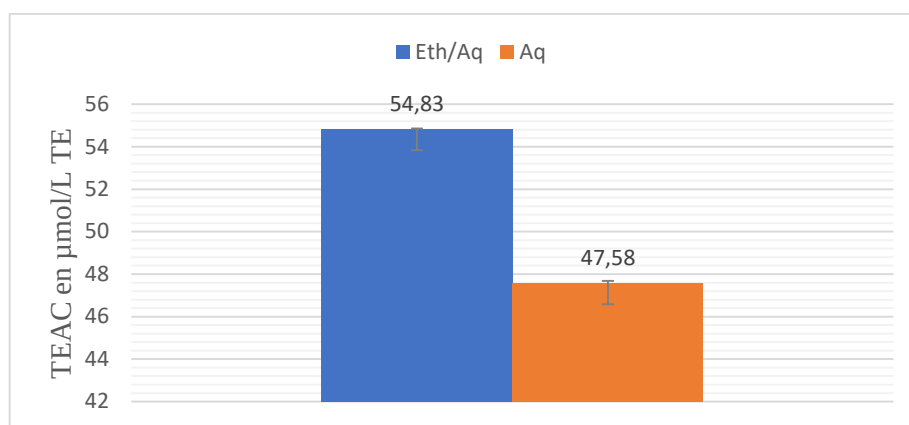


Figure 8 : Capacité antioxydante ABTS^{•+} des extraits KsE (Eth/Aq) et KsA (Aq)

CONCLUSION

La présente étude a permis de réaliser le dosage quantitatif des composés phénoliques (les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins condensés) des extraits aqueux et hydroéthanolique 70 % de *K. senegalensis* et d'évaluer son pouvoir antioxydant. A l'issue des différents tests, nous retenons que les extraits de la plante sont riches en métabolites secondaires phénoliques possédant des propriétés antioxydantes en corrélation avec ses nombreuses utilisations traditionnelles. Ce résultat pourrait être valorisé par la mise au point de Médicaments Traditionnellement Améliorés (MTA) pour relever les nombreux défis de santé publique d'origine infectieuse ou métabolique profitable pour l'Homme et les animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]-Favier A., (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115p.
- [2]-Mada S. B., Garba A., Mohammed H. A., Muhammad A., Olagunju A. and Muhammad A. B., (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. leaves. *Journal. Medical. Plants Research*. 7(10), 579-586.
- [3]-Olasunkanmi OO., Akinpelu DA., Adeniyi PO., Femi Ajayi O., Omololu-Aso J. & Olorunmola FO. (2017). Investigations into Antibacterial, Phytochemical and Antioxidant Properties of *Vitellaria paradoxa* (Gaertn.) Stem Bark Extracts. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 20(5): 1-17.
- [4]-Soumahoro, B., Soro, Y., Kassi, A. B. B., & Siaka, S. (2020). Etude comparative des caractéristiques phytochimiques des feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 049, 1-8.
- [5]. Kambizi L., Mahachi J., Okem A., Lall N., Nuno de Canha M., Twilley D. Therapeutic potential of *Gnidia capitata* L.F. : investigation on its antityrosinase, antibacterizl, antioxydant and anticancer activities ; *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2017 ; 14(5) : 1-7
- [6]-Pousset J.L. (2004). Plantes médicinales africaines : utilisation pratique, Ed. Ellipses ; *Agence de coopération culturelle et technique* ; 167p.
- [7]-Tra Bi F.H., Irie G.M., N'gaman K.C.C. & Mohou C.H.B. (2008). Etude de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte D'Ivoire. *Science. Nature*. 5 (1) :39-48.
- [8]-Azam S., Bashir S. & Ahmed B. (2011). Antispasmodic action of crude methanolic extract and a new compound isolated from the aerial parts of *Myrsine Africana*. *BMC Complementary and Alternative Medicines*, 11: 55.
- [9]-Mshana, N.R., Abbiw, D.K., Addae-Mensah, I., Ahiyi, M.R.A. et al (2000). Traditional medicine and pharmacopoeia. Contribution to the revision of Ethnobotanical and Floristics Studies of Ghana. *Organisation of African Unity/Scientific, technical and research committee*.

- [10]-Zhang, H., Tan, J., Vanderveer, D., Wang, X., Wargovich, M.J., .(2009). Khayanolides from African mahogany *Khaya senegalensis* (Meliaceae): A revision. Chen, F *Phytochemistry*. 70(2):294-9.
- [11]-Abubakar, M.G., Lawal, A., Usman, M.R. (2010). Hepatotoxicity studies of sub-chronic administration of aqueous stem bark of *Khaya senegalensis* in albino rats. Bayero. *Journal of Pure and Applied Sciences* 3(1):26–28.
- [12]-Zirih GN., Kra AM. & Guédé-Guina F. (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglosa pyrifolia* (Lamarck) O. Kunze (Asteraceae) « « PYMI » » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Revue de Médecine et pharmacologie Africaine*, 17 : 11-18.
- [13]-Wood, J. E., Senthilmohan, S. T., Peskin, A. V., & a. (2002). Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*, 77(2), 155-161. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00329-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00329-6)
- [14]-Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M., & Marinovaa. (2005). Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), 255-260.
- [15]-Hagerman, A. E. (1987). Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *Journal of Chemical Ecology*, 13(3), 437-449. <https://doi.org/10.1007/BF01880091>
- [16]-Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A., (1993). A novel methode for measuring antioxydant capacity and its application to monitoring the antioxydant status in premature neonates. *Clinical. Science*; 84 (4), 407-412.
- [17]- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. 12.
- [18]-Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y., & Soro, S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences (JAPS)*, 5(3), 550-558.
- [19]-Mulinacci, N., Prucher, D., Peruzzi, M., Romani, A., Pinelli, P., Giaccherini, C., & Vincieri, F. F. (2004). Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves : Estimation of caffeoylesters and flavonoidic compounds content. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34(2), 349-357. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00552-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00552-1)
- [20]-Stankovic, M. S. (2011). TOTAL PHENOLIC CONTENT, FLAVONOID CONCENTRATION AND. *Kragujevac Journal. Sciences.*, 33, 63-72.
- [21]-Ouattara, L. H., Kabran, G. R. M., Kadja, A. B., Tano, M. B., Akhanovna, J., & Bekro, Y.-A. (2016). Etude phytochimique et activité anti-oxydante d'extraits de plantes de côte d'ivoire utilisées dans le traitement traditionnel des hémorroïdes. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 15(4), 881-893.
- [22]. Gboko A.O., Kamagate T., Kassim D., Boni A.P., Toure A., Kablan A.L.C. Phytochemical Screening and in vitro Antioxidant Activity of the Stem Bark of *Khaya senegalensis* (Desv.) A.Juss., a Medicinal Plant from Northern Ivory Coast. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 2023 ; 35(33) : 28-39.
- [23]. Kubmarawa D., Khan M.O.I., Punah A.M., Hassan M. Phytochimique screening et efficacité antimicrobienne des extraits de *Kaya senegalensis* contre des bactéries pathogènes pour l'Homme. *African. Journal. Biotechnology*, 2008 ; 7(24) : 4563-4566.
- [24]-Albano, S. M., & Miguel, M. G. (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 338-343. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.11.012>.
- [25] Alkadi, H. (2021). Determination of Chemical Composition, Antioxidant activity, and Antimicrobial activity of essential oils of Damask *Ocimum Basilicum* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 12(7), 919-928.

Cytotoxicité des extraits et des diterpénoïdes de type cassanes isolés des écorces de racines et de tiges de *Erythrophleum suaveolens*

Konan Dibi Jacques^{1,2*}, N'Tamon Amon Diane Marina^{2,3}, Kablan Ahmont Landry Claude^{2,4,5}, Kabran Aka Faustin^{2,5}, Attioua Barthélemy⁵, Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna¹, Békro Yves-Alain¹

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN), UFR-SFA, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Pharmacognosie, BioCIS, Univ. Paris-Sud, CNRS, Université Paris-Saclay, Faculté de Pharmacie, 5 rue J.-B. Clément, 92290 Châtenay-Malabry, France

³Département de Chimie Analytique, Minérale et Générale, Technologie Alimentaire, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix HOUPOUËT-BOIGNY, 06 B. P. 2256 Abidjan 06, Côte d'Ivoire

⁴Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UPR de Chimie organique, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

⁵Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix HOUPOUËT-BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

Résumé

Les plantes médicinales demeurent le principal réservoir de molécules bioactives pour l'humanité. *Erythrophleum suaveolens*, une espèce végétale employée traditionnellement dans la prise en charge de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire [1], possède des activités antimicrobiennes attribuées aux diterpénoïdes de type cassane [2]. L'objectif de l'étude est d'évaluer la cytotoxicité des extraits et molécules issus de cette espèce. Ainsi, les extraits méthanoliques des écorces de racines et de tiges sont analysés par le couplage HPLC-ESI-QTOF-MS/MS, les données sont organisées en réseaux moléculaires grâce au « Molecular Networking », enfin les méthodes spectrales RMN, SM et IR ont permis d'identifier des diterpénoïdes de type cassane à fonction amide et amine [3,4]. Les cytotoxicités des extraits et des composés isolés ont été évaluées sur la lignée cancer hépatique, humain (HEP-G2), la lignée cancer du poumon (épithélium alvéolaire), humain (A549), et la lignée endothéliale ombilicale saine, humain (HUVec). Les résultats indiquent que les extraits et les molécules sont cytotoxiques. En perspective, nous envisageons de déterminer les CMI des extraits et des molécules.

Mots-clés : Erythrophleum, diterpénoïdes, cytotoxicité, Molecular Networking

Abstract

Medicinal plants remain humanity's main reservoir of bioactive molecules. *Erythrophleum suaveolens*, a plant species traditionally used in the treatment of Buruli ulcer in Côte d'Ivoire [1], possesses antimicrobial activities attributed to cassane-type diterpenoids [2]. The aim of this study was to assess the cytotoxicity of extracts and molecules derived from this species. Methanolic extracts of root and stem barks were analyzed using HPLC-ESI-QTOF-MS/MS, the data were organized into molecular networks using Molecular Networking, and NMR, MS and IR spectral methods were used to identify amide- and amine-functional cassane-type diterpenoids [3,4]. The cytotoxicities of the extracts and isolated compounds were assessed on the human liver cancer line (HEP-G2), the human lung cancer line (alveolar epithelium) (A549), and the human healthy umbilical endothelial line (HUVec). The results indicate that the extracts and molecules are cytotoxic. Looking ahead, we plan to carry out MIC tests on the extracts and molecules.

Key words: Erythrophleum, diterpenoids, cytotoxicity, Molecular Networking

1-INTRODUCTION

La phytothérapie représente une option intéressante dans le traitement du cancer, car les produits végétaux sont généralement plus abordables, moins coûteux, moins susceptibles d'entraîner une dépendance et présentent peu de risques d'effets secondaires graves [5]. Cependant, la majorité des gens ne connaissent pas les effets secondaires potentiels des plantes ni les bonnes pratiques pour les utiliser en toute sécurité [7]. De plus, la question du dosage est primordiale, car certaines plantes peuvent s'avérer dangereuses pour la santé humaine à fortes doses [9]. Par ailleurs, le genre *Erythrophleum* est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter divers troubles, tels que le cancer, la dermatite, les convulsions, les problèmes cardiaques, les maux de tête et les migraines, les rhumatismes, les œdèmes, les troubles respiratoires (asthme) et l'ulcère de Buruli. [2,4]. C'est dans ce contexte que *Erythrophleum suaveolens* [Guill. & Perr.] Brenan a été étudiée afin d'identifier, grâce à la technique du Molecular Networking, les diterpénoïdes de type cassane à propriétés anticancéreuses qu'elle renferme [3].

2-MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL

Les écorces des racines et des tiges de *E. suaveolens* ont été récoltées en décembre 2014 à Kpacobo, dans le Département de Toumodi, en Côte d'Ivoire. L'identification de ces échantillons a été réalisée au Centre National Floristique de l'Université Félix HOUPOUËT-BOIGNY.

2.2. METHODES

2.2.1. Extraction et purification

Les écorces de racines et de tiges séchées et pulvérisées de *E. suaveolens* (700 g) ont été extraites trois fois avec du MeOH (7 L). Après évaporation du solvant jusqu'à siccité, 32,3 g d'extrait méthanolique ont été obtenus. Ce dernier extrait a été fractionné et purifié en utilisant successivement la chromatographie flash, le Sephadex® LH-20, la chromatographie sur colonne de gel de silice et la HPLC semi-prep. La purification par HPLC semi-prep a été réalisée comme suit : débit 250 µl/min, gradient linéaire de 5 % B (A : H₂O + 0,1 % d'acide formique, B : ACN) à 100 % B sur 30 min. Ces purifications ont permis d'obtenir dix composés.

2.2.2. Procédures générales expérimentales

Les différents extraits obtenus ont été dissous dans du méthanol de qualité HPLC-MS à 0,5 mg/ml et placés dans des flacons de 1500 µl puis analysés avec un système comprenant une CLHP Agilent 1260 infinity couplée à un Q-TOF Agilent 6530, équipé d'une source ESI en mode positif ; et une colonne Sunfire C18 (150 × 2,1 mm ; 3,5 µm, Waters), avec un débit de 250 µl/min et un gradient linéaire de 5% de B (A : eau + 0,1% acide formique, B : ACN) à 100% de B en 30 min.

L'analyse de tous les échantillons a permis d'obtenir des fichiers au format standard Agilent.d. La liste des caractéristiques détectées dans chaque échantillon a été générée en suivant le processus d'exploration automatique des données MS/MS mis en œuvre dans le logiciel MassHunter sur chaque fichier. Les données ont été chargées sur le serveur GNPS (<https://gnps.ucsd.edu>) afin de générer le réseau moléculaire.

2.2.3. Evaluation de la cytotoxicité

La mesure de la cytotoxicité a été effectuée sur des cellules de cancer humain : lignées endothéliale (ombilicale saine) humaine (HUVec), cancer du poumon (épithélium alvéolaire) humain (A549) et cancer hépatique humain (HEP-G2), après 48 h d'incubation avec les produits à tester (dilués dans le DMSO, 0,1 % final), en comparaison avec la doxorubicine (chlorhydrate, 5 µM). Les composés purs ont été testés à la concentration finale de 10 µM, et les extraits, à 10 µg/mL. Dans chaque série d'expérience, 3 puits reçoivent l'échantillon à la concentration présentée ci-dessus. Les tests sont effectués en triplicats. Les cellules ont été cultivées en plaques 96 puits (TPP, Zurich, Suisse) dans 200 µL de milieu de culture par puits.

Après l'incubation, 20 µL de MTT à 5 mg/ml dans le PBS ont été ajoutés. Après 2 h, le milieu a été remplacé par du DMSO (200 µl afin de dissoudre les cristaux de formazan formés, de couleur mauve. La lecture a été réalisée à 570 nm avec un lecteur de plaques UV/visible. La survie est exprimée en pourcentage de la densité optique par rapport à des puits témoins non traités sur les mêmes plaques. Les tests ont été réalisés à l'UMR8612 (Institut Galien Paris-Sud, UFR pharmacie, Châtenay-Malabry).

3-RESULTATS ET DISCUSSION

Les profils chromatographiques des extraits méthanoliques de l'écorce de racines (Figure I.A) et de tiges (Figure I.B) indiquent que les métabolites secondaires contenus dans ces deux extraits sont élués de la colonne dans un intervalle de temps similaire, entre 9,5 et 29 minutes. De plus, les composés majeurs sont élués entre 11 et 15 minutes dans les deux cas. Ces résultats permettent d'affirmer que les écorces de racines et de tiges n'ont pas la même composition chimique, bien que certaines molécules soient présentes dans les deux organes.

L'analyse des données de HPLC-ESI-QTOF-MS/MS des diterpénoïdes de type cassane par la méthode des réseaux moléculaires a donné le réseau présenté dans la Figure 1. Dans ce réseau, les nœuds sont colorés en fonction des différents extraits des organes des deux espèces étudiées.

On distingue ainsi :

- nœud jaune : extrait méthanolique des écorces de racines et de tiges de *Erythrophleum suaveolens* (ESER et ESET)
- nœud rouge : Molécules nouvelles des écorces de racines et de tiges *Erythrophleum suaveolens*
- nœud rose clair : Molécules connues des écorces de racines et de tiges *Erythrophleum suaveolens*

Les spectres MS/MS, correspondant aux pics chromatographiques, apparaissent sous forme de nœuds (« nodes »), qui sont organisés dans une représentation bidimensionnelle sous forme d'une carte ou d'un réseau. Ces nœuds sont reliés entre eux par des liens indiquant un degré de similitude. Ils s'organisent ainsi en groupes (« clusters »), plus ou moins grands. Les nœuds non appariés apparaissent de manière isolée (sous forme de connexions à eux même, « selfloops »).

La forme du réseau et les liens s'établissant entre les nœuds sont variables. Ils sont fonction des paramètres choisis par l'utilisateur (nombre de fragments communs et degré de similitude « cosine score » ou score de similitude, de 0 à 1). Le réseau est constitué de 282 nœuds dont 133 sont des selfloops et 117 organisés en trente-neuf clusters (Figure 2).

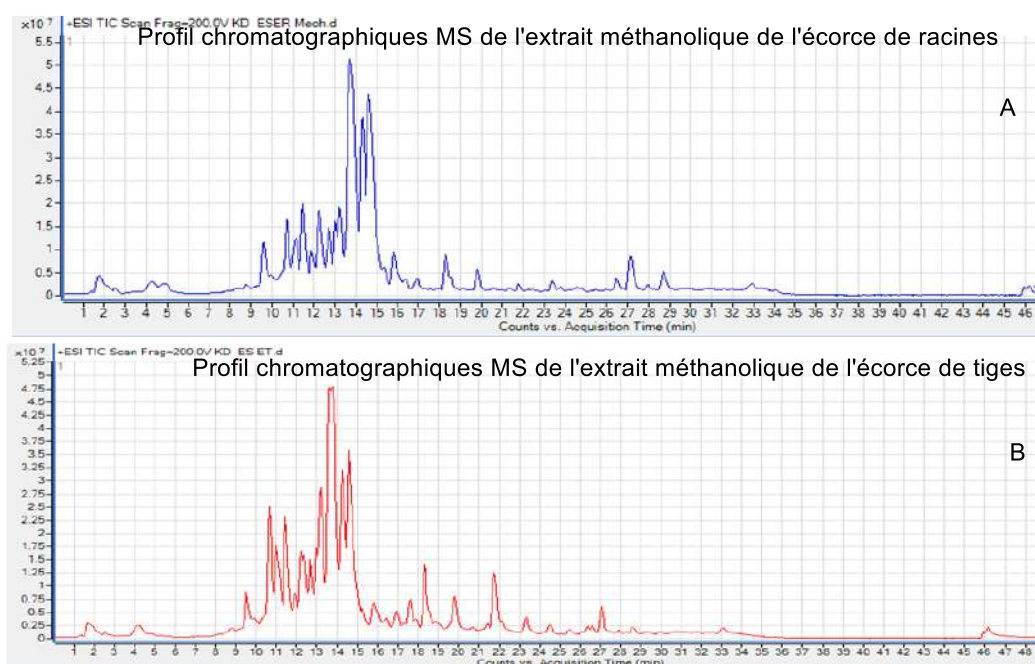


Figure 1. : Analyse par CLHP- ESI-Q-TOF des extraits méthanoliques de l'écorce de tronc (A), de l'écorce de racines (B), Sunfire® C₁₈ (150×2,1 mm ; 3,5 µm, H₂O+0,1% HCOOH/ACN (95 : 5 à 5 : 95, v/v), débit : 0,25 ml/min. Injection volume : 5 µL, concentration : 1 mg/ml.

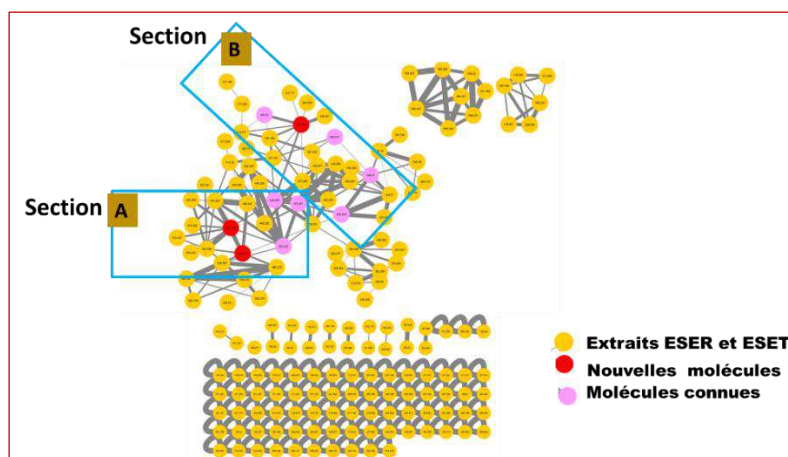


Figure 2 : Réseau moléculaire global de l'extrait méthanolique de *E. suaveolens*

Parmi les nœuds dérepliés dans la section A (Figure 3), on note la présence de 3 composés diterpénoïdes de type cassane à fonction amine notamment la 6 α -hydroxy-nor-cassamine (m/z 436,2755) déjà isolé des écorces de *E. fordii* et *E. suaveolens* [1,2]. La 3 β -acétoxynorérythrosuamine m/z 494,2713, isolée des écorces de *E. chlorostachys* et la 3 β -hydroxy-3-méthylbutanoyloxy-6 α -hydroxy-nor-cassamine (m/z 552,3177) est décrit par la première fois dans le genre *Erythrophleum*. [4,5]. Deux composé de type cassane à fonction amide la nor-cassamidide (m/z 422,2924) et la 3 β -hydroxynor-erythrosuamide (m/z 452,2824) ont été identifiée. Elles ont précédemment été isolée des écorces de tronc de *E. chlorostachys* et *E. suaveolens* [4,3]. Ces composés ont donné des degrés de similitude allant de 0,99 à 0,80. Cette observation pourrait justifier la présence de diterpénoïdes de type cassane dans le cluster.

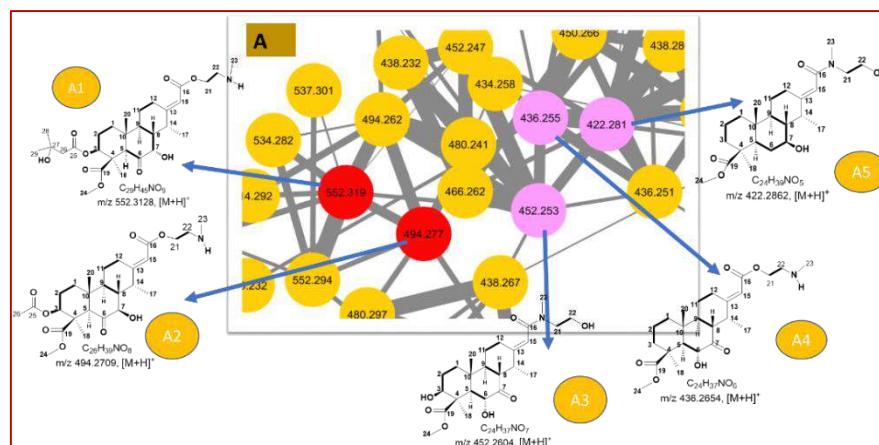


Figure 3 : Annotation et agrandissement de la section A

Dans la section B (Figure 4), cinq nœuds ont été identifiés issus des extraits au méthanol. Deux composés diterpénoïdes de type cassane à fonction amide ont été identifiés. Il s'agit du 6 α -hydroxy-nor-cassamide (m/z 436,2654) et la nor-cassamide (m/z 420,2655). Ces deux molécules ont déjà été signalées dans les feuilles de *E. fordii*, et dans les écorces de racines et de tronc de *E. suaveolens* [2,3].

Les nœuds correspondant à l'acide 6 α -hydroxy-cassamique (m/z 379,2156) et l'acide cassamique (m/z 363,2171) sont des diterpénoïdes de type cassane non azoté. Ces molécules ont déjà été isolées des écorces de racine de *E. suaveolens* [4]. L'ester méthylique de l'acide 6 α -hydroxy-cassamique ou suaveocassane B (m/z 363,2171) a été signalé dans les écorces de tronc de *E. suaveolens* [6]. Ces composés ont donné des degrés de similitude allant de 0,99 à 0,80. Le résultat obtenu pourrait justifier la présence de diterpénoïdes de type cassane dans le cluster. Toutes les molécules identifiées possèdent des activités antibactérienne, anti inflammatoire et anticancéreuse [2].

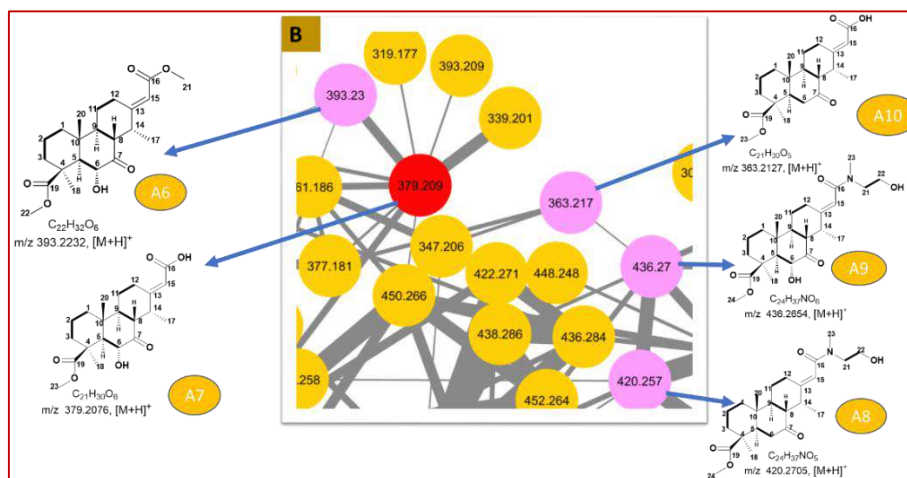


Figure 4 : Annotation et agrandissement de la section B

Des analyses cytotoxiques ont été réalisées sur les extraits méthanoliques des écorces de racines et de tiges (ESER et ESET), ainsi que sur dix molécules isolées et codées (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, B1, B2 et B3) issues de ces extraits. Chacun des codes a été attribué à une molécule spécifique : la 3 β -hydroxy-3 méthylbutanoyloxy-6 α -hydroxy-nor-cassamine (A1), la 3 β -acétoxynorérythrosuamine (A2), la 3 β -hydroxynor-erythrosuamide (A3), la 6 α -hydroxy-nor-cassamine (A4), la nor-cassamidide (A5), l'ester méthylique de l'acide 6 α -hydroxy-cassamique (A6), l'acide 6-hydroxy-cassamique (A7), l'acide cassamique (A8), la 6 α -hydroxy-nor-cassamide (A9) et la nor-cassamide (A10).

Les extraits bruts et les molécules isolées ont été évaluées sur 3 lignées (une saine et deux cancéreuses) :

- lignée cancer hépatique, humain : HEP-G2
- lignée cancer du poumon (épithélium alvéolaire), humain : A549
- lignée endothéliale ombilicale saine, humain : HUVec

La mort des cellules est évaluée avec le MTT, après 48 h d'incubation. La densité optique (DO) est mesurée en comparaison avec des témoins non traités. Le résultat final est exprimé en pourcentage de survie. La molécule de référence est la Doxorubicine (DOXO, 5 μ M) reconnue comme anticancéreux. Le DMSO est utilisé comme blanc (témoin) pour effectuer les tests de cytotoxicité à 0,1 %, car il est non cytotoxique. Les résultats sont consignés dans les tableaux 1 et 2.

Sur la lignée cancéreuse A549 (tableaux I), les extraits ESER et ESET, à 1mg/ml ont des activités cytotoxiques comparables à celle de la référence. Cette activité est moins prononcée sur la lignée HEP-G2 pour les deux extraits par rapport à la référence utilisée. On constate aussi que ces deux extraits sont relativement toxiques pour les cellules saines HUVEC avec une toxicité plus élevée pour l'extrait ESER issue des écorces de racine.

Tableau 1 : Activités cytotoxiques des extraits méthanolique de *E. suaveolens*

Souches traitées avec une dose de 1 mg/ml			
Extraits et témoins	HEP-G2 % survie	A549 % survie	HUVEC % survie
Non traité	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	91 $\pm$ 8
DMSO	76 $\pm$ 16	64 $\pm$ 4	62 $\pm$ 6
DOXO 5 μ M	40 $\pm$ 3	25 $\pm$ 2	41 $\pm$ 1
ESET	64 $\pm$ 5	27 $\pm$ 0	51 $\pm$ 2
ESER	64 $\pm$ 4	24 $\pm$ 0	44 $\pm$ 0

HEP-G2 et A549 : lignée cancéreuse ; HUVEC : lignée saine

Tableau 2 : Activités cytotoxiques des composés isolés de *E. suaveolens*

Souches traitées avec une dose de 10 μ M			
Composés	HEP-G2 % survie	A549 % survie	HUVEC % survie
Non traité	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
DMSO	96 $\pm$ 2	81 $\pm$ 1	94 $\pm$ 4
DOXO 5 μ M	42 $\pm$ 3	28 $\pm$ 1	46 $\pm$ 3
A1	25 $\pm$ 0	13 $\pm$ 0	11 $\pm$ 0
A2	21 $\pm$ 0	12 $\pm$ 0	9 $\pm$ 0
A3	20 $\pm$ 4	11 $\pm$ 0	9 $\pm$ 0
A4	24 $\pm$ 0	11 $\pm$ 0	10 $\pm$ 0
A5	21 $\pm$ 4	11 $\pm$ 0	9 $\pm$ 0
A6	22 $\pm$ 0	12 $\pm$ 0	11 $\pm$ 0
A7	22 $\pm$ 4	10 $\pm$ 0	10 $\pm$ 0
B1	93 $\pm$ 5	70 $\pm$ 8	86 $\pm$ 8
B2	97 $\pm$ 3	81 $\pm$ 8	94 $\pm$ 6
B3	93 $\pm$ 5	70 $\pm$ 8	86 $\pm$ 8

HEP-G2 et A549 : lignée cancéreuse ; HUVEC : lignée saine

Les composés (A1, A2, A3, A4, A5, A6 et A7), qui sont des diterpénoïdes de type cassane à fonction azotée, présentent une activité intéressante sur toutes les cellules évaluées. Cependant, les composés (B1, B2 et B3), qui sont des diterpénoïdes de type cassane à fonction non azotée, ne montrent aucune activité cytotoxique. Normalement, une molécule est considérée intéressante (bonne activité) si elle est non-toxique sur les cellules saines et toxique sur les cellules cancéreuses [6]. Les diterpénoïdes de type cassane à fonction azotée (A1, A2, A3, A4, A5, A6 et A7) que nous avons testés ont présenté une forte toxicité sur toutes les cellules, tandis que les diterpénoïdes de type cassane à fonction non azotée (B1, B2 et B3) ne présentent aucune toxicité sur ces cellules. Ces résultats montrent que l'utilisation des extraits bruts des écorces des racines et de tiges de *E. suaveolens* doit être employée avec précaution dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli.

4-CONCLUSION

Cette étude nous permis d'identifier les diterpénoïdes de type cassane à fonction amine, amide et non azoté dans les deux organes de l'espèce. Les tests réalisés sur la cytotoxicité montrent que les extraits ESET et ESER ont une forte toxicité sur la cellule cancéreuse A549, alors que sur la cellule saine (HUVEC), seul l'extrait ESER donne une toxicité élevée. Les composés purs testés donnent tous une forte toxicité sur les cellules cancéreuses A549 et HEP-G2 et sur la cellule saine HUVEC.

L'appréhension de nouvelles molécules, des diterpénoïdes de type cassane ont été identifiés dans les différents clusters.

References bibliographies

- [1]. Dade, J.M.; Kablan, L.A.; Say, M.; Okpekon, T.A.; Yapo, Kicho D.; Komlaga, G.; Boti, J.B.; Koffi, A.P.; Guei, L.E.; Djakouré, L.A.; Champy, P. (2015). Cassane diterpenoids stem bark of *Erythrophleum suaveolens* [(Guill. et Perr.) Brenan]. *Phytochem. Lett.*, 12, 224-231.
- [2]. Kablan, L.A. ; Dade, J.M.E. ; Say, M. ; Okpekon, T.A. ; Yapo, K.D. ; Ouffoue, S.K. ; Koffi, A.P. ; Retailleau, P. ; Champy, P. (2014). Four new cassane diterpenoid amides from *Erythrophleum suaveolens* [(Guill. et Perr.), Brenan]. *Phytochem. Lett.* 10, 60-64.
- [3]. Ngounou, F.N.; Manfouo, R.N.; Tapondjou, L.A.; Lontsi, D.; Kuete, V.; Pénal, V.; Etoa , F.X.; Dubois, M.A.L.; Sondengam, B.L. (2005). Antimicrobial diterpenoid alkaloids from *Erythrophleum suaveolens* (Guill & Perr.) Brenan. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2, 221-226.
- [4]. Fang, Y.; Nan, L.; Shi-Shan, Y. (2003). A new diterpenoid glucopyranoside from *Erythrophleum fordii*, *Journal of Asian Nat. Prod. Res.* 7(1), 19-24.
- [5]. Miller M, Cook HA, Furuya EY, Bhat M, Lee MH, Vavagiakis P, Visintainer P, Vasquez G, Larson E, Lowy FD. (2009). *Staphylococcus aureus* in the community: colonization versus infection. *PLoS One*, 4(8) : 6708.
- [6]. Zakaria I., Ahmat N., Jaafar FM., Widyawaruyanti A., (2012). Flavonoids with antiplasmodial and cytotoxic activities of *Macaranga triloba*. *Fitot.* 83 : 968-972.
- [7]. Fourasté I., (2000). Rappel de la toxicité de quelques plantes. *Revue Française des Laboratoires* ; Vol 2000, Issue 323. pp 51-55.

Variation diurne de la composition chimique et activité insecticide de l'huile essentielle d' *Ageratum conyzoides* Linn

Mouinatou Yeroukiriki ^{1,*}, Kafui Kpegba ¹, Koffi M. Ahadji-Dabla², Catherine Malhiac³, Ata Martin Lawson³, Kodjo Selom Evenamede¹, Yawo G. Apetogbo², Yovo Kondo², Oudjaniyobi Simalou¹

¹ Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

² Laboratoire d'Ecologie et d'Ecotoxicologie (LaEE), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo

³ Le Havre University, URCOM, EA 3221, FR CNRS 3038, 25 rue Philippe Lebon, BP 540, 76058 Le Havre cedex, France.

*Auteur correspondant ; E-mail : mouinatouyeroukiriki@gmail.com

Résumé

La dengue est une importante maladie infectieuse à transmission vectorielle transmise par *Aedes aegypti* dans les régions tropicales et subtropicales. Dans le but de rechercher un bioinsecticide non toxique à l'environnement et trouver une solution au problème de résistance des moustiques, l'activité insecticide de l'huile essentielle (HE) des feuilles sèches d'*Ageratum conyzoides* Linn récoltées à différents moments de la journée a été évaluée sur les femelles d'*Aedes aegypti*.

Le rendement en HE obtenue par entraînement à la vapeur d'eau varie de 1,1 à 0,71%. Les composés de l'HE ont été identifiés par l'analyse GC/MS et GC-FID. L'activité insecticide des HEs a été évaluée par la méthode de test en bouteille CDC sur les femelles. Dix-sept composés ont été identifiés dans l'huile extraite des feuilles de 7 h représentant 100% de l'huile essentielle et 16 composés dans celle des feuilles récoltées à 13 h et 19 h représentant respectivement 99,7% et 99,6% de l'huile essentielle. Les composés majoritaires sont le Precocene I et le β - Caryophyllène. L'huile extraite des feuilles de 13 h et 19 h était la plus efficace. Ces résultats obtenus pour la première fois au Togo pourraient être une alternative potentielle pour la lutte antivectorielle.

Mots clés : Huiles essentielles, *Ageratum conyzoides*, composition chimique, activités insecticides

Diurnal variation in the chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* Linn

Abstract

Dengue fever is a major vector-borne infectious disease transmitted by *Aedes aegypti* in tropical and subtropical regions. To find an environmentally non-toxic bio-insecticide and a solution to the problem of mosquito resistance, the insecticidal activity of the essential oil (EO) of dry leaves of *Ageratum conyzoides* Linn harvested at different times of the day was evaluated on female *Aedes aegypti*.

The yield of EO obtained by steam distillation varied from 1.1 to 0.71%. GC/MS and GC-FID analysis identified EO compounds. The insecticidal activity of the HEs was assessed using CDC bottle test method on females. Seventeen compounds were identified in the oil extracted from leaves harvested at 7 h, representing 100% of the essential oil, and 16 compounds in the oil extracted from leaves harvested at 13 h and 19 h, representing 99.7% and 99.6% of the essential oil respectively. The main compounds were Precocene I and β - Caryophyllene. The oil extracted from the leaves of 1 pm and 7 pm was the most effective. These results, obtained for the first time in Togo, could be a potential alternative for vector control.

Keywords: Essential oil, *Ageratum conyzoides*, chemical composition, insecticidal activities

1. Introduction

Les maladies à transmission vectorielle restent les principales causes de décès dans de nombreux pays tropicaux [1]. Les insectes vecteurs, notamment les moustiques sont des hématophages, responsables de la transmission du paludisme, de la dengue, de la fièvre jaune, de la filariose qui sont des maladies graves causant des millions de décès chaque année. Différents insecticides chimiques de synthèse sont utilisés pour lutter, et limiter les effets de la prolifération des moustiques sur la santé humaine. Cependant, l'utilisation de ces insecticides de synthèses, provoquent de nombreux effets secondaires, tels que des problèmes respiratoires, une irritation des yeux, des maux de tête, de l'asthme chez les utilisateurs [2]. En plus on note la résistance des moustiques vis-à-vis de ceux-ci, un effet négatif sur l'environnement voire vis-à-vis de la santé humaine avec des conséquences souvent dramatiques [3]. Face à ces problèmes de santé publique, il est nécessaire de trouver de nouvelles stratégies de lutter contre ces vecteurs tels que *Aedes aegypti*. L'une des alternatives est l'utilisation des produits d'origine végétale biodégradables qui ne seront pas nocifs ni toxiques à l'Homme.

Généralement, les plantes regorgent de diverses molécules chimiques naturelles, biodégradables dont certaines possèdent des propriétés médicinales et insecticides. Les huiles essentielles (HE) extraites à partir des plantes aromatiques sont des composés volatils et complexes caractérisés par une forte odeur.

Aedes aegypti connu comme vecteur d'un arbovirus responsable de la dengue, également le vecteur de la fièvre jaune en Amérique centrale et du sud et en Afrique de l'Ouest [1].

Dans le but d'apporter une contribution à l'amélioration de la santé publique, la présente étude vise à déterminer la composition chimique et à évaluer l'efficacité insecticide de l'huile extraite des feuilles d'*Ageratum conyzoides* récoltées à différents moments de la journée contre *A. aegypti*.

La plante sélectionnée *A. conyzoides* L. connue sous le nom de Roi des herbes. C'est une plante commune en Afrique de l'Ouest ainsi que dans certaines parties de l'Asie et de l'Amérique du Sud. Toute la plante dégage une odeur aromatique quand on la froisse, sa pollinisation se fait par les abeilles, la reproduction uniquement par graines [4].

2. Matériel et méthodes

2.1. Récolte de la plante et extraction des huiles essentielles

Les feuilles d'*A. conyzoides* ont été récoltées très tôt le matin à 7 h, 13 h et à 19 h en pleine floraison. Le spécimen a été déposé après identification et authentification par l'herbier national de la Faculté Des Sciences de l'Université de Lomé sous le numéro N° TG 15903. Les feuilles ont été séchées pendant quatre jours à l'abri des rayons solaires.

L'extraction des HE a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un dispositif de type Clevenger [5]. Trois distillations ont été effectuées sur 200 g des feuilles sèches à chaque fois pendant une durée de 2 heures. Le rendement d'extraction a été calculé par rapport au poids sec du matériel végétal avant l'extraction.

2.2. Analyse de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de Masse (CPG/SM)

En ce qui concerne les conditions opératoires de la CPG/SM, le couplage a été effectué sur un appareil Shimadzu QP2010 SE (France), équipé d'une colonne capillaire de type HP-5MS (30 m×0,25 mm). L'épaisseur du film est de 0,25 µm. La température de la colonne est programmée de 50 °C, maintenue pendant 5 min, à 275 °C à raison d'une progression de 3 °C/min. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit fixe et constant de 1 mL.min⁻¹. La température d'injection est réglée à 260 °C, un microlitre de chaque échantillon d'HE est automatiquement injecté en mode split (1/50). La spectrométrie de masse en mode d'ionisation électronique (EI) est réglée à 70 eV et la température de la source d'ions est de 200 °C. L'analyse chimique est enregistrée en utilisant un mode de balayage (35-350 uma).

L'HE diluée dans l'éthanol (0.5%) a été analysée en trois exemplaires et la moyenne déterminée. L'analyse chromatographique a duré 90 minutes et l'identification des composés a été réalisée en comparant leurs spectres de masse et leurs indices de rétention avec ceux des bases de données (NIST) ainsi que ceux de la littérature [6]. Les indices de rétention ont été déterminés à partir d'une série homologue de n-alcanes (C₉-C₂₄) dans les mêmes conditions opératoires.

2.3. Analyse de la chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme (CPG/DIF)

Les HE ont été diluées dans une solution éthanolique à 1% de dihydromyrcerol pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme. L'analyse est effectuée sur un chromatogramme en phase gazeuse Agilent Modèle 8860 équipé d'une colonne de type HP-5MS (30 m×0,32 mm, épaisseur de film 0,25 µm). L'hydrogène est utilisé comme gaz vecteur (1,5 mL.min⁻¹ d'écoulement). La programmation de la température du four est de 50 °C (maintenus pendant 5 min) à 250 °C à raison de 5 °C/min. 1 µl de chaque échantillon a été injecté en mode split (1/25), la température de l'injecteur est fixée à 250 °C.

La solution éthanolique du dihydromyrcerol joue le rôle de standard interne. Chaque échantillon est injecté trois fois et la moyenne des trois est déterminée. Le temps d'analyse est fixé à 90 min.

2.4. Effet insecticide des huiles essentielles

❖ Elevage des moustiques

L'effet insecticide des huiles essentielles a été évalué sur le moustique femelle *Aedes aegypti* de la souche Bora Bora.

L'élevage des moustiques a été effectué dans l'insectarium du laboratoire d'Ecologie et d'Ecotoxicologie (LaEE) de l'Université de Lomé. Une mise en eau des œufs d'*Aedes aegypti* de la souche Bora Bora a été effectuée et suivie jusqu'à l'éclosion des œufs dans des bacs d'élevage (30 × 15 × 10 cm). Les larves obtenues ont été nourries aux croquettes pour chat moulu. Les nymphes ont été régulièrement triées dans des gobelets jetables contenant de l'eau et déposés dans des cages d'élevage (30 × 30 × 30 cm). Les adultes émergents sont nourris avec une solution de glucose à 10%. L'élevage est fait dans des conditions contrôlées (température (T) = 25±2°C, humidité relative (HR) 75±2%) avec une photo-périodicité de 12 h de lumière et 12 h d'obscurité.

❖ Bio-essais de l'effet insecticide des HE

Les essais biologiques avec les HE ont été réalisés dans des bouteilles Wheaton de 250 ml conformément au protocole d'essai biologique du CDC [7]. Un lot de 15 à 20 femelles d'*Aedes aegypti* souche Bora Bora âgées de 3 à 5 jours a été exposé à l'HE d'*A.conyzoides* dans des bouteilles Wheaton de 250 ml. Différentes concentrations (0,0025; 0,005; 0,006; 0,007; 0,01%) ont été utilisées pour imprégner les bouteilles .

Les dilutions ont été faites dans de l'acétone. Une autre bouteille imprégnée d'acétone qui a servi de témoin. Tous les tests biologiques ont été réalisés dans les conditions du laboratoire à (T=26±2°C et HR = 80±5%). Les moustiques ont été exposés pendant 1 h aux différentes doses, et la lecture de la mortalité a été faite à un intervalle de 2 minutes jusqu'à ce qu'on observe 100% de mortalité. Après 1 h d'exposition, les moustiques ont été transférés dans des gobelets recouverts d'un filet moustiquaire, nourris au glucose 10% et mise en observation pendant 24 h au bout desquelles la mortalité définitive a été lue. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque dose. Les moustiques morts et vivants ont été conservés dans des tubes Eppendorf contenant du gel de silice, étiqueté et conservé à -20°C pour des analyses ultérieures.

La formule (1) nous a servi à calculer la mortalité des moustiques. Un ajustement des mortalités a été fait à l'aide de la formule d'Abbott si la mortalité dans les bouteilles témoins est comprise entre 5 et 20% [8] (2).

Les doses létales médianes (DL₅₀ et DL₉₅) qui tuent respectivement 50 et 95% des moustiques exposés à l'HE ont été calculées.

$$\text{Taux de Mortalité} = \frac{\text{Nombre de femelles mortes}}{\text{Nombre de femelles traitées}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{Mortalité test (\%)} - \text{Mortalité témoin (\%)}}{(100\%) - \text{Mortalité témoin (\%)}} \times 100 \quad (2)$$

Analyse des données

Le logiciel SPSS nous a permis de déterminer les moyennes des mortalités et les valeurs de la DL₅₀ et DL₉₅.

3. Resultats et discussions

3.1.Variation du rendement d'extraction

Tableau 1 : Rendement d'extraction de l'huile essentielle d'*A. conyzoides* extraite des feuilles récoltées au cours de la journée

Huile essentielles	Rendement (%)		
	7 h	13 h	19 h
<i>Ageratum conyzoides</i>	0,97±0,01 ^b	1,1±0,01 ^a	0,71±0,035 ^c

Les valeurs sur la même ligne avec des lettres différentes (a, b, c) sont statistiquement différentes par R² (p< 0.05).

le rendement en HE d'*A. conyzoides* varie de 0,71% à 1,1%. La quantité d'huile essentielle d'*A. conyzoides* abondante à 7 heures croît progressivement avec l'augmentation des rayons solaires jusqu'à atteindre son maximum à 13 heures lorsque le soleil est au zénith. Après 13 heures, la quantité d'huile essentielle diminue pour atteindre son minimum à 19 heures avec la diminution des rayons solaires. Le plus petit rendement en HES extraites des feuilles de cette plante au cours de la journée est supérieur au rendement rapporté par Nogueira *et al.*, qui ont trouvé 0,19 % [9]. En revanche le rendement (0,75%) décrit par Nébié *et al.*, pour cette plante est supérieur à la valeur minimale (0,71%) obtenue dans notre étude [10] mais reste inférieur à la valeur maximale (1,1%). Des études rapportées par wandji *et al.*, ont montré que la teneur en HE d'*Ageratum conyzoides* varie de 0,11 à 0,58% [11] ce qui est inférieur à nos rendement d'extraction obtenus.

3.2. Variation de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ageratum conyzoides*

Les analyses par CPG/DIF et le CPG/SM nous ont permis de déterminer la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Ageratum conyzoides* récoltées à différents moments de la journée. Les différentes molécules détectées dans l'huile essentielle et leurs pourcentages sont répertoriés dans le Tableau 2

Les résultats d'analyse de la composition chimique de l'HE extraite des feuilles d'*A. conyzoides* récoltées à différents moments de la journée ont montré une prédominance en précocène I (> 50%). L'étude s'est limitée aux composés majeurs (teneur≥1%) qui représentent 100% ;99,7% et 99,6% respectivement pour les feuilles récoltées à 7 h, 13 h et 19 h. Les molécules dominantes sont le Précocène I dont le taux varie entre 66,9 et 70,6% et le β-Caryophyllène de 12,1 à 17,4%.

D'après le Tableau 2, on note l'absence du β -Pinène dans les huiles extraites des feuilles récoltées à 13 h et 19 h et la présence de cette dernière dans l'HE extraite des feuilles de 7 h. L'effet inverse a été observé pour le β -Cadinène qui est présent dans les HES extraites des feuilles de 13 h et 19 h par contre absent dans les huiles de feuilles de 7 h.

Tableau 2: Variation de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ageratum conyzoides*

Composés	Indice de retention (DB5)	de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (%)		
		7 h	13 h	19 h
β -Pinène ^{Mh}	976	0,3	-	-
β -Élémène ^{Sh}	1391	1	0,7	0,7
β- Caryophyllène ^{Sh}	1423	17,4	12,1	16,5
(E)- α -Bergamotène ^{Sh}	1435	0,4	0,5	0,4
(E)- β -Farnesène ^{Sh}	1455	0,7	0,9	0,7
α -Humulène ^{Sh}	1458	1,2	1,1	1
Precocène I ^{No}	1468	67,7	70,6	66,9
Germacrène D ^{Sh}	1484	1,2	1,6	1,1
Z-Muurolo-4(15),5-diène ^{Sh}	1495	1,6	1	2,3
α -Muuroloène ^{Sh}	1502	3,2	5,2	3,3
β -Bisabolène ^{Sh}	1510	0,3	0,5	0,5
β -Cadinène ^{Sh}	1521	-	0,3	0,4
β -Sesquiphellandrene ^{Sh}	1527	0,5	0,6	0,4
Z-Nerolidol ^{So}	1561	0,5	0,9	0,8
Spathulenol ^{So}	1579	1,5	1,3	2,7
Caryophyllène oxide ^{So}	1585	0,4	1	0,7
Precocène II ^{No}	1658	2,1	1,4	1,2
Total		100	99,7	99,6

- = absence; ^{Mh}= Monoterpène hydrocarbonés; ^{Sh} = Sesquiterpene hydrocarbonés ; ^N = non terpène ; ^{So}= Sesquiterpene oxygénés; ^{No}= Monoterpène oxygéné

La figure 1 nous montre l'évolution des différents grands groupes chimiques de l'huile d'*A.conyzoides*

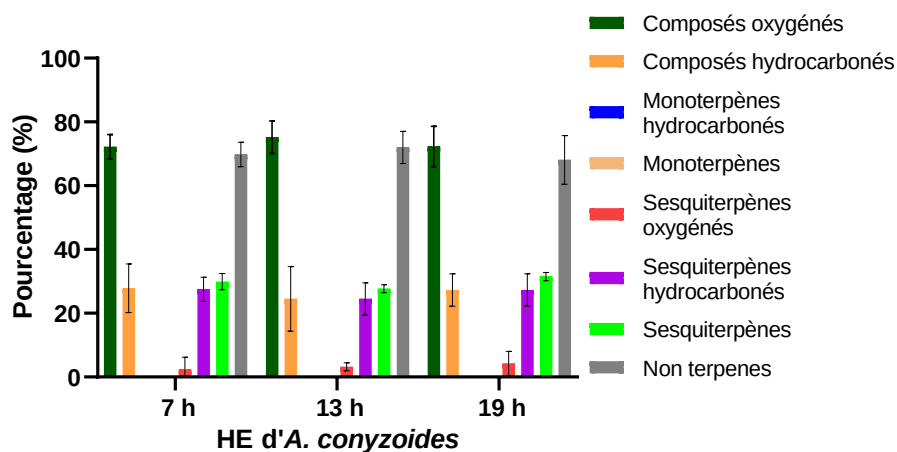


Figure 1 : Évolution des différents grands groupes chimiques de l'huile d'*A.conyzoides*

D'après la Figure 1 tous les échantillons d'huile de *A. conyzoides* renferment dans l'ordre croissant de quantité : les monoterpènes (0-0,3%), les sesquiterpènes (27,7%-31,5%) et les non-terpènes (68,1% -72%) (**Figure 1**). Il ressort de ces résultats, que l'HE d'*A. conyzoides* extraite des feuilles récoltées à différents moments de la journée est constituée majoritairement d'un composé non terpénique oxygéné (Précocène I) représentant 67,7%, 70,6% et 66,9% des molécules identifiées respectivement 7 h, 13 h et 19 h de la journée. Les composés majoritaires de ces trois huiles sont le Précocène et le β -Caryophyllène. Il est à noter qu'il existe une influence de l'heure de récolte sur la composition chimique : la teneur en β -Caryophyllène dans l'HE extraite des feuilles récoltées à 7 h et 13 h décroît, soit respectivement 17,4% et 12,1% tandis qu'elle est élevée à 19 h à 16,7%. Par contre, la teneur en Précocène I est élevée à 7 h et 13 h respectivement 67,7% et 70,6% et moins élevée à 19 h (66,9%). Nos résultats

sont similaires aux résultats de Kouame *et al.*, et Menut *et al.*, [12,13]; malgré la différence de méthode d'extraction. En revanche ces résultats diffèrent des résultats obtenus par les travaux de Nébié *et al.*, [10] et Kanko *et al.*, [14] où seul le **Précocène** I était le composé majoritaire. Les travaux de Nogueira *et al.*, ont montré que le précocène I et II étaient les composés majoritaires de l'huile d'*A. conyzoides* [9].

3.3. Activité insecticide des huiles essentielles sur *Aedes aegypti*

L'activité insecticide a été mise en évidence à travers les taux de mortalités induits par les trois HEs et leurs concentrations létales.

Des tests préliminaires nous ont permis de sélectionner une gamme de concentrations. Les résultats ont montré que le pourcentage de mortalité des moustiques adultes augmente en fonction de la dose ainsi que le temps d'exposition.

Pour l'huile extraite des feuilles de 13 h et 19 h On observe une mortalité de totale (100%) après une minute d'exposition des moustiques par contre pour l'HE des feuilles récoltées à 7h on observe une mortalité variante (Figure 2).

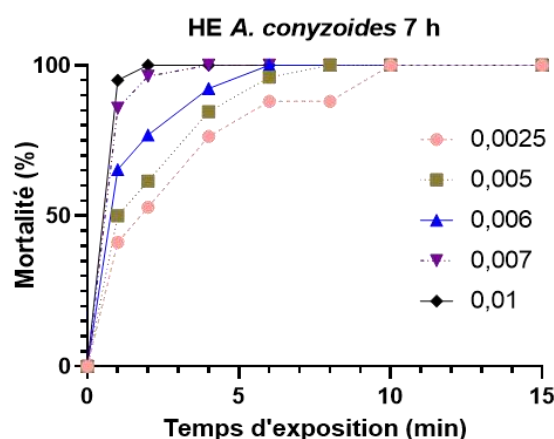


Figure 2 : Taux de mortalité d'HE *A. conyzoides* extraites des feuilles collectées à 7 h sur *Aedes aegypti*
D'après la **Figure 2** pour l'HE extraite des feuilles récoltées à 7 h les deux concentrations élevées (0,007 et 0,01%) affichent une mortalité de 100% pour un temps d'exposition des moustiques de 2 et 4 minutes. Pour les autres concentrations (0,0025 ; 0,005 ; 0,006%) la mortalité de 100% a été atteinte respectivement après 10, 8 , 6 minutes.

Tableau 3: Détermination des valeurs de DL₅₀ et DL₉₅ (%) d' huile essentielles des feuilles d'*A. conyzoides* récoltées à différents moments de la journée sur *Aedes aegypti* après 8 minutes d'exposition

Huile essentielle		DL ₅₀ (95%IC) ^a	DL ₉₅ (95%IC) ^a	Chi ² (χ ²)	Ddl
<i>Ageratum</i>	7h	0,001(0-0,002)	0,004(0,001-0,008)	1,15	3
<i>conyzoides</i>	13h	ND	ND	-	3
	19h	ND	ND	-	3

DL₅₀= la dose létale qui tue 50% de la population des moustiques exposés à l'huile essentielle

DL₉₅= la dose létale qui tue 95% de la population des moustiques exposés à l'huile essentielle (95% IC)^a = Intervalle de confiance

ND= Non déterminée

Dans la présente étude les huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* L. extraite des feuilles récoltées à différents moments de la journée (7 h,13 h,19 h) ont présenté une toxicité importante vis-à-vis des moustiques adultes du genre *Aedes aegypti*. Les valeurs de DL₅₀ et DL₉₅ de l'huile extraites des feuilles d'*Ageratum conyzoides* récoltées à 13 h et 19 h n'ont pas pu être déterminées à cause de la toxicité de l'huile. La DL₁₀₀ a été déterminée après une minute d'exposition des moustiques à la plus faible concentration (0,0025%) contrairement au témoin positif qui a induit une mortalité quasiment nulle. Par contre la DL₅₀ de l'huile d'*Ageratum conyzoides* L. des feuilles récoltées à 7 h était de 0,001% et sa DL₉₅ était de 0,004%.

L'effet toxique de HE d'*A. conyzoides* L. 13 h et 19 h pourraient être attribué à la présence du précocène I qui est le composé majoritaire. D'après les travaux de Bouda *et al.*, (2001) le précocène I présente une toxicité importante

contre les insectes ravageurs des cultures et de denrées alimentaire [15], les insectes adultes de *C. malculatus* [16], l'activité insecticide de l'HE sur les moustiques adultes *Aedes aegypti* reste relativement peu étudiée.

Conclusion

La présente étude nous a permis de caractériser les huiles essentielles d'*A. conyzoides*. Dans cette étude, il est important de noter que le rendement d'extraction et la composition chimique de l'huile essentielle varient en fonction du moment de récolte. Les composés majoritaires de l'huile essentielle sont le précocène I et le β -caryophyllène. Les échantillons d'HE testées à de différentes concentrations ont présenté une toxicité importante vis-à-vis des moustiques adultes *Aedes aegypti*. Des études complémentaires par les tests des composés majoritaires purs en vue de déterminer les composés responsables de cette activité sont en cours actuellement.

Remerciements

Tous nos remerciements à remercier Mr Yawo G. Apetogbo, Yovo Kondo et Edoh Koffi pour leur soutien technique. Nous remercions également le laboratoire URCOM

4. Références

- [1] M. Govindarajan et R. Sivakumar, « Ovicidal, larvicidal and adulticidal properties of *Asparagus racemosus* (Willd.) (Family: Asparagaceae) root extracts against filariasis (*Culex quinquefasciatus*), dengue (*Aedes aegypti*) and malaria (*Anopheles stephensi*) vector mosquitoes (Diptera: Culicidae) », *Parasitol. Res.*, vol. 113, n° 4, p. 1435-1449, avr. 2014, doi: 10.1007/s00436-014-3784-1.
- [2] M. Govindarajan, T. Mathivanan, K. Elumalai, K. Krishnappa, et A. Anandan, « Mosquito larvicidal, ovicidal, and repellent properties of botanical extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) », *Parasitol. Res.*, vol. 109, n° 2, p. 353-367, août 2011, doi: 10.1007/s00436-011-2263-1.
- [3] N. Ales et D. C. Chougourou, « Tests d'efficacité du baume d'*Anarcadium occidentale* L. sur les larves d'*Anopheles gambiae* Giles (1902) au laboratoire. », EPAC/UAC, 2016.
- [4] J. Kerharo, J.-G. Adam, et L. S. Senghor, « La pharmacopée sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques », *No Title*, 1974.
- [5] J. F. Clevenger, « Apparatus for the determination of volatile oil », *J. Am. Pharm. Assoc.* 1912, vol. 17, n° 4, p. 345-349, 1928.
- [6] V. I. Babushok, P. J. Linstrom, et I. G. Zenkevich, « Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils », *J. Phys. Chem. Ref. Data*, vol. 40, n° 4, p. 043101, déc. 2011, doi: 10.1063/1.3653552.
- [7] W. Brogdon et A. Chan, « Guideline for evaluating insecticide resistance in vectors using the CDC bottle bioassay », *USA CDC Atlanta*, 2010.
- [8] W. S. Abbott, « A method of computing the effectiveness of an insecticide », *J Econ Entomol*, vol. 18, n° 2, p. 265-267, 1925.
- [9] J. H. C. Nogueira, E. Gonçalves, S. R. Galleti, R. Facanali, M. O. M. Marques, et J. D. Felício, « *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus* », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 137, n° 1, p. 55-60, janv. 2010, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.017.
- [10] R. H. C. Nèbié, R. T. Yaméogo, A. Bélanger, et F. S. Sib, « Composition chimique des huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* du Burkina Faso », *Comptes Rendus Chim.*, vol. 7, n° 10-11, p. 1019-1022, oct. 2004, doi: 10.1016/j.crci.2003.12.027.
- [11] L. Barbosa, U. Pereira, A. Martinazzo, C. Maltha, R. Teixeira, et E. Melo, « Evaluation of the Chemical Composition of Brazilian Commercial *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf Samples », *Molecules*, vol. 13, n° 8, p. 1864-1874, août 2008, doi: 10.3390/molecules13081864.
- [12] B. K. F. P. Kouame *et al.*, « Chemical Constituents and Antibacterial Activity of Essential Oils from Flowers and Stems of *Ageratum conyzoides* from Ivory Coast », *Rec. Nat. Prod.*, vol. 12, n° 2, p. 160-168, janv. 2018, doi: 10.25135/rnp.22.17.06.040.
- [13] O. Chouitah, B. Meddah, A. Aoues, et P. Sonnet, « Chemical Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from *Glycyrrhiza glabra* Leaves », *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 14, n° 3, p. 284-288, janv. 2011, doi: 10.1080/0972060X.2011.10643935.
- [14] C. Kanko, R. K. Oussou, J. Akcah, J. B. Boti, B. P. Seri-Kouassi, et E. J. Casanova, « Structure Des Composés Majoritaires Et Activité Insecticide Des Huiles Essentielles Extraites De Sept Plantes Aromatiques De Côte D'ivoire », *Int. J. Eng. Appl. Sci. IJEAS*, vol. 4, n° 10, p. 8, 2017.
- [15] H. Bouda, L. A. Tapondjou, D. A. Fontem, et M. Y. D. Gumedzoe, « Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae) », *J. Stored Prod. Res.*, vol. 37, n° 2, p. 103-109, avr. 2001, doi: 10.1016/S0022-474X(00)00011-4.
- [16] C. Kanko, R. K. Oussou, J. Akcah, J. B. Boti, B. P. Seri-Kouassi, et E. J. Casanova, « Structure Des Composés Majoritaires Et Activité Insecticide Des Huiles Essentielles Extraites De Sept Plantes Aromatiques De Côte D'ivoire », vol. 4, n° 10, p. 8, 2017.

L'Association des huiles essentielles : une opportunité dans la lutte contre les moisissures toxigènes

Ignace Sawadogo¹, Bationo Remy¹, Delphine M. Hema, Anass Coulibaly, Roger Honorat Charles Nebié¹ & Henri Nestor Bassolé²

¹ Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Ouagadougou 03 BP 7047, Burkina Faso

² UFR-SVT, Université Joseph Ki-Zerbo, Ouagadougou 03 BP 7021, Burkina Faso

* Correspondence: sawaigna@yahoo.fr

Malgré les approches multisectorielles mises en œuvre pour lutter contre les moisissures toxigènes, plusieurs études certifient qu'un grand nombre de denrées alimentaires destinées à l'alimentation humaine et animale reste contaminé par les aflatoxines. Cette persistance des contaminations met en évidence la faible efficacité ou l'insuffisance des stratégies actuelles utilisées dans cette lutte. La présente recherche est une contribution à la lutte contre les moisissures toxigènes à travers l'évaluation du potentiel antifongique de combinaison d'huiles essentielles sur *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation et la méthode de l'échiquier a servi pour l'évaluation de l'activité des différentes combinaisons.

L'activité antifongique de différentes combinaisons de 05 huiles essentielles a permis une réduction de la CMI individuelle de chaque huile essentielle de 50 à 98% en fonction des huiles en combinaison. Les interactions des huiles sur les deux souches sont de type synergique et additive.

Les combinaisons *C. citratus/L. multiflora*, *C. nardus/O. gratissimum*, *L. multiflora/O. gratissimum* et *L. multiflora/ C. schoenanthus* ont permis d'améliorer l'activité antifongique et pourraient être préconisées comme une nouvelle approche dans la lutte contre les moisissures toxigènes.

Mots clés : **Huiles essentielles, *Aspergillus parasiticus* *Aspergillus flavus***

The association of essential oils : An opportunity in the fight against toxigenic moulds

Despite the multi-sectoral approaches implemented to combat toxin-producing moulds, several studies confirm that a large number of foodstuffs intended for human and animal consumption remain contaminated by aflatoxins. This persistent contamination highlights the low effectiveness or inadequacy of the current strategies used to combat aflatoxins. The present research is a contribution to the control of toxigenic moulds by evaluating the antifungal potential of essential oil combinations on *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. The essential oils were extracted by hydrodistillation and the checkerboard method was used to assess the activity of the different combinations. The antifungal activity of different combinations of 05 essential oils resulted in a reduction in MIC of between 50 and 98%, depending on the oils used in combination. The interactions of the oils on both strains were synergistic and additive. The combinations *C. citratus/L. multiflora*, *C. nardus/O. gratissimum*, *L. multiflora/O. gratissimum* and *L. multiflora/ C. schoenanthus* improved the antifungal activity and could be recommended as a new approach in the fight against toxigenic moulds.

Key words: Essential oils, *Aspergillus parasiticus* *Aspergillus flavus*

Introduction

La contamination des aliments par les mycotoxines est devenue une des préoccupations majeures dans divers pays du monde [1]. Carcinogènes, immunosuppressives, hépatotoxiques ou neurotoxiques, elles peuvent contaminer les aliments avec une prédilection pour les produits végétaux tels que les céréales et les oléagineux [2]. Les produits contaminés varient d'un pays à un autre. Cependant, il ressort que le maïs, l'arachide et leurs produits dérivés sont les plus importants en terme de niveaux d'exposition en Afrique [3]. En effet, dans la plupart des pays africains, près de la moitié de la production céréalière a une teneur en aflatoxine supérieure aux standards internationaux. L'estimation de la quantité d'aflatoxine par kilogramme dans le maïs en 2016 a donné des intervalles de [1,06-852,2ppm] au Sénégal, [8,0-1081ppm] en Tanzanie, [86-3300ppb] en Ouganda [4] et au Malawi des valeurs atteignant 140µg/kg ont été détectées [5]. Au Burkina Faso, des analyses sur le maïs ont révélé des valeurs atteignant 636 µg/Kg sur 50% des échantillons analysés mais également de forte quantité d'aflatoxines dans les produits dérivés du maïs et de l'arachide et notamment dans les farines infantiles [6],[7]. Sur le plan sanitaire, 500 millions de personnes parmi les plus pauvres d'Afrique sub-saharienne, d'Amérique latine et d'Asie sont exposées à ces mycotoxines à des niveaux susceptibles d'entraîner une augmentation substantielle de la mortalité et de la morbidité [8]. Des études d'évaluation des risques mondiaux associent entre 25 200 et 155 000 cas de cancer de foie par an dus à une exposition à l'aflatoxine [9]. L'Afrique est l'un des continents où les conditions environnementales, agricoles et de stockage des denrées alimentaires favorisent le développement des moisissures du genre *aspergillus* et la production d'aflatoxine considérée comme la plus importante mycotoxine au regard de sa prévalence, sa toxicité et de son impact sur la santé humaine et animale [10].

Face donc à ces situations préoccupantes, des approches multisectorielles sont mises en œuvre pour lutter contre les moisissures et la production des mycotoxines. Malgré tous ces efforts, plusieurs études certifient qu'un grand

nombre de denrées alimentaires destinées à l'alimentation humaine et animale reste contaminé par les aflatoxines mettant en évidence la faible efficacité ou l'insuffisance des stratégies actuelles utilisées pour la maîtrise de cette contamination. D'où la nécessité de la recherche d'autres stratégies pour limiter la contamination fongique, réduire voire empêcher la production des mycotoxines. Des études menées ces dernières années ont montré que les huiles essentielles possèdent des propriétés antifongiques. Exploiter les interactions synergiques entre plusieurs huiles essentielles devrait permettre de réduire l'impact organoleptique et faciliter ainsi leur utilisation dans une gamme plus large de produits.

La présente recherche est une contribution à la lutte contre les moisissures productrices d'aflatoxine à travers l'évaluation du potentiel antifongique de cinq (05) huiles essentielles ainsi que de leur combinaison sur *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*

I. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Cymbopogon schoenanthus*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* et *Ocimum gratissimum* ainsi que les sommités fructifères de *Lippia multiflora* ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles. Les feuilles fraîches de *Cymbopogon schoenanthus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon citratus* et *Ocimum gratissimum* ont été collectées dans le jardin botanique de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), Ouagadougou (Latitude Nord 12 ° 25 '470'', Longitude Ouest 1 ° 29' 251''). Les sommités fructifères de *Lippia multiflora* l'ont été dans les périphéries de la ville de Ouagadougou. Les échantillons collectés ont été séchés à l'ombre pendant une semaine. Tous les échantillons de plantes ont été identifiés par le Laboratoire d'Ecologie et de Biologie Végétales de l'Université Joseph Ki-Zerbo du Burkina Faso

1.2. Micro-organismes étudiés

Deux moisissures (*Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*) ont été choisies pour leur fréquence élevée à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité. Les souches utilisées font partie de la collection de l'université de Bretagne occidentale (UBOCC, Plouzané France) référencée UBOCC-A-106031-*Aspergillus flavus* et UBOCC-A-111042-*Aspergillus parasiticus*. Les souches fongiques ont été revivifiées par repiquage sur milieu nutritif Difco™ Potato Dextrose Agar (France) pendant 7 jours à 25 °C dans l'obscurité.

1.3. Extraction des huiles essentielles et calcul des rendements

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation en introduisant 500 g de feuilles dans un appareil de type Clevenger (Schott DURAN Germany) avec 3 litres d'eau dans un ballon de 5 litres pendant 3 heures. Elles ont été ensuite collectées par décantation, puis séchées sur du sulfate de sodium Anhydre. Le rendement d'extraction (R) est exprimé par rapport au matériel végétal frais selon la formule suivante : $R\% = (Mh / Ms) \times 100$.

Mh : Masse d'huile essentielle obtenue

Ms : Masse de matière végétale utilisée.

1.4. Préparation des suspensions de spores

La préparation de la suspension de spores est réalisée en s'inspirant de la méthode décrite par [11], utilisant la technique de numération cellulaire avec une cellule de Malassez. Cette technique consiste à déterminer le nombre de spores contenu dans un volume précis de milieu liquide. Pour chacune des souches, à l'aide d'une anse, les conidies seront récoltées par grattage dans 500 µL d'une solution de NaCl (9 g/L) dans laquelle on y ajoute 0.15% d'une solution d'agar pour disperser les spores. Après homogénéisation du mélange, la chambre de comptage est remplie par capillarité et laissée sédimentée 2 à 3 min, puis les conidies seront comptées au microscope à l'objectif 40. Chaque suspension est calibrée à 1.10^6 conidies /mL par dilution des suspensions initiales

La quantité de conidies /mL est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Concentration (conidies /mL)} = \frac{\text{Nombre de conidies comptées}}{\text{nombre de carrés comptés} \times \text{volume du carré}(\mu\text{L}) \times 10^{-3}}$$

1.5. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice et de la nature de l'activité antifongique des huiles essentielles

Pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des huiles essentielles, la méthode décrite par [12] a été utilisée. Ainsi, cinq (5) microlitres d'une suspension fongiques calibrées à 1.10^6 conidies/mL sont déposés au centre de chaque boîte de pétri de 9 cm de diamètre remplie de 20 ml de milieu de culture PDA et contenant

des concentrations croissantes d'huiles essentielles (0.5, 0.75 et 1 ...3µL/mL). Des témoins sans huiles essentielles sont effectués et chaque essai est répété trois fois. Ces boîtes sont incubées à 25°C Pendant 7 jours. La CMI correspond à la première concentration à partir de laquelle aucune croissance fongique n'est observée. Pour connaître la nature de l'activité antifongique, un prélèvement est effectué dans les premières boîtes dont l'inhibition est totale pour réensemencer des boîtes qui contiennent 20 mL de milieu de culture PDA neuf. Le suivi de croissance est de nouveau effectué pendant 7 jours à la température de 25°C. Si à l'issue de ces 7 jours d'incubation aucune croissance n'est observée, les huiles essentielles seront dites fongicides. Dans le cas contraire, elles seront dites fongistatiques.

1.6. Evaluation de l'activité antifongique des combinaisons d'huiles essentielles

L'évaluation de l'activité inhibitrice des combinaisons d'huile est effectuée par microdilution dans les plaques de microtitration de 96 puits, en utilisant la méthode de l'échiquier basée sur le protocole M7-A6 du NCCLS (NCCLS, 2003) avec quelques modifications.

En effet, 150 µL de bouillon stérile Mueller Hinton sont introduits dans les onze cupules des deux premières lignes (A2-A12 et B2-B12) et les sept cupules de la première colonne (B1-H1), 100 µL de milieu dans le reste des puits de la plaque.

Cinquante (50) µL d'une huile essentielle 1, concentrée à 4×CMI sont ensuite ajoutés aux 150 µL des cupules des premières lignes et 50 µL d'une huile essentielle 2, préparée à la même concentration, aux 150 µL des puits de la première colonne. Le contenu des cupules A2 à A12 est homogénéisé puis 100 µL du mélange sont retranchés pour ramener les volumes à 100 µL dans ces cupules.

Une série de 5 dilutions de raison géométrique 2 permet de diluer l'huile essentielle 1 de la ligne B à la ligne G ; une autre série de 10 dilutions de même raison répartie l'huile essentielle 2 dans les cupules, de la colonne 1 à la colonne 11. Les puits de la ligne H (H1-H11) contiennent différentes concentrations de l'huile essentielle 2 et servent à la vérification de sa CMI alors que celles de la colonne 12 (A12-G12) comportent les dilutions de l'huile essentielle 1 et servent à la vérification de sa CMI. Les cupules A1 et H12 contiennent uniquement 100 µL de milieu stérile.

Cinquante (50) µL d'un inoculum de moisissures, préparé au titre $1 \pm 0.3.10^6$ cellules/mL sont ensemencés dans les puits d'une plaque, exceptée la cupule A1 qui ne contient que le milieu de culture et sert de contrôle de stérilité du milieu ; la cupule H12 sert de contrôle de croissance de la souche fongique inoculée. Les microplaques sont incubées à 25°C pendant 5 jours. A l'issue du temps d'incubation, la turbidité des puits contenant les diverses combinaisons d'huiles essentielles est observée en comparaison au contrôle négatif (H12) et au contrôle de stérilité du milieu (A1) ; les plus petites combinaisons de concentrations ne permettant aucune croissance visible de la moisissure sont considérées comme les couples de CMI et utilisées pour la détermination des index de concentrations inhibitrices fractionnelles (FICI). Les différents couples de CMI des huiles essentielles permettent de calculer les index de concentrations inhibitrices fractionnelles (FICI) des combinaisons à partir des concentrations inhibitrices fractionnelles (FIC) individuelles par les formules ci-dessous :

$$FIC(1) = \frac{\text{Conc.de 1 dans la combinaison}}{\text{Conc.de 1 testée seule}} \quad FIC(2) = \frac{\text{Conc.de 2 dans la combinaison}}{\text{conc.de 2 testée seule}}$$

$$\Sigma FIC = FICI = FIC(1) + FIC(2)$$

La détermination du type d'interaction est faite sur la base des valeurs de ΣFIC ; ainsi, pour :

- ❖ $\Sigma FIC \leq 0,5$, l'interaction est dite synergique,
- ❖ $0,5 < \Sigma FIC \leq 1,0$, elle est dite additive,
- ❖ $1,0 < \Sigma FIC \leq 4,0$ on parle d'indifférence,
- ❖ $\Sigma FIC > 4,0$ l'interaction est qualifiée d'antagoniste [13].

II. Résultats

1.1. Rendement des huiles essentielles

Plantes	Famille	Partie de la plante utilisée	Lieu de récolte	Rendement % (m/m)
<i>Cymbopogon shoenanthus</i>	Poaceae	Feuilles	Ouagadougou	0.95
<i>Lippia multiflora</i>	Verbenaceae,	Sommités fructifères	Ouagadougou	0.68

<i>Cymbopogon citratus</i>	Poaceae	feuilles	Ouagadougou	0.82
<i>Cymbopogon nardus</i>	Poaceae	Feuilles	Ouagadougou	1.37
<i>Ocimum gratissimum</i>	Lamiaceae	Feuille	Bobo Dioulasso	0.96

1.2. Effet des huiles essentielles sur la croissance et la morphologie des colonies



Aspergillus flavus à l'issu de 7 jours de croissance sans huile essentielle sur milieu PDA

Aspergillus flavus à l'issu de 7 jours de croissance en présence de 0,5µL/mL de l'Huile Essentielle de *Cymbopogon citratus* sur milieu PDA

1.3. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des huiles essentielles

HEs	CMI (µL/mL)		CMF (µL/mL)	
	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>
<i>Lippia multiflora</i>	2.75 ± 0.09 ^b	2.5 ± 0.18 ^b	3.93 ± 0.21 ^b	3.73 ± 0.15 ^b
<i>Ocimum gratissimum</i>	1.25 ± 0.05 ^a	1.25 ± 0.13 ^a	1.25 ± 0.11 ^a	1.77 ± 0.15 ^a
<i>Cymbopogon citratus</i>	1.50 ± 0.12 ^a	1.25 ± 0.08 ^a	2.0 ± 0.22 ^a	2.33 ± 0.11 ^{ab}
<i>Cymbopogon nardus</i>	1.25 ± 0.09 ^a	1.25 ± 0.03 ^a	1.50 ± 0.16 ^a	1.75 ± 0.22 ^a
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	2.50 ± 0.12 ^b	2.25 ± 0.08 ^b	3.25 ± 0.33 ^b	2.75 ± 0.33 ^b

1.4. Activité antifongique de combinaisons d'huiles essentielles

Aspergillus flavus

Association des huiles essentielles	CMI individuelle (µL/mL)	CMI en combinaison (µL/mL)	CIF Individuelle	Index of FIC (FICI)	Reduction CMI (%)	Interprétation
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Cymbopogon nardus</i>	1.5/1.25	0.19/0.02	0.13/0.02	0.14	87.5/98.4	Synergy
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	1.5/2.5	0.02/1.25	0.02/0.50	0.52	98.4/50	Additive
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Lippia multiflora</i>	1.5/2.75	0.09/0.34	0.06/0.13	0.19	93.8/87.5	Synergy
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Ocimum gratissimum</i>	1.5/1.25	0.19/0.16	0.13/0.13	0.25	87.5/87.5	Synergy
<i>Cymbopogon nardus</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	1.25/2.5	0.63/0.04	0.50/0.02	0.52	50.0/98.4	Additive
<i>Cymbopogon nardus</i> / <i>Lippia multiflora</i>	1.25/2.75	0.16/1.38	0.13/0.50	0.63	87.5/50	Additive
<i>Cymbopogon nardus</i> / <i>Ocimum gratissimum</i>	1.25/1.25	0.08/0.16	0.06/0.13	0.19	93.8/87.5	Synergy
<i>Lippia multiflora</i> / <i>Ocimum gratissimum</i>	2.75/1.25	0.34/0.31	0.13/0.25	0.38	87.5/75	Synergy
<i>Lippia multiflora</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	2.75/2.5	0.69/0.16	0.25/0.06	0.31	75.0/93.8	Synergy
<i>Ocimum gratissimum</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	1.25/2.5	0.31/0.020	0.25/0.01	0.26	75.0/99.2	Synergy

Aspergillus parasiticus

Association des huiles essentielles	CMI individuelle (µL/mL)	CMI en combinaison (µL/mL)	CIF Individuelle	Indice CIF (ICIF)	Reduction CMI (%)	Interprétation
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Cymbopogon nardus</i>	1.25/1.25	0.31/0.63	0.25/0.50	0.75	75.00/50	Additive
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	1.25/2.25	0.63/1.13	0.50/0.50	1.00	50/50	Additive
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Lippia multiflora</i>	1.25/2.50	0.04/0.16	0.03/0.06	0.09	96.88/93.75	Synergie
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>Ocimum gratissimum</i>	1.25/1.25	0.63/0.08	0.50/0.06	0.56	50/93.75	Additive
<i>Cymbopogon nardus</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	1.25/2.25	0.04/0.07	0.03/0.03	0.06	96.88/96.88	Synergie
<i>Cymbopogon nardus</i> / <i>Lippia multiflora</i>	1.25/2.50	0.16/0.08	0.13/0.03	0.16	87.50/96.88	Synergie
<i>Cymbopogon nardus</i> / <i>Ocimum gratissimum</i>	1.25/1.25	0.04/0.04	0.03/0.03	0.06	96.88/96.88	Synergie
<i>Lippia multiflora</i> / <i>Ocimum gratissimum</i>	2.50/1.25	0.04/0.31	0.02/0.25	0.27	98.44/75	Synergie
<i>Lippia multiflora</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	2.50/2.25	0.16/0.14	0.06/0.06	0.13	93.75/93.75	Synergie
<i>Ocimum gratissimum</i> / <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	1.25/2.25	0.63/0.04	0.5/0.02	0.52	50/98.44	Additive

III. Discussion

Les résultats de l'effet des huiles essentielles sur la croissance de *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* ont montré que ces huiles ont un effet inhibiteur sur la croissance des moisissures qu'elles soient utilisées seules ou en combinaison avec d'autres huiles. L'activité sur les moisissures est fonction de l'huile essentielle. L'effet de ces huiles se traduit par une diminution du diamètre de la croissance en comparaison avec celui du témoin mais également par un changement de la morphologie et de l'aspect des colonies.

Ainsi sur *Aspergillus flavus* les valeurs des Concentrations Minimales Inhibitrices des huiles essentielles varient de 1,25µL/mL pour *Cymbopogon nardus* et *Ocimum gratissimum* à 2,75µL/mL pour *Lippia multiflora*.

Sur la souche *Aspergillus parasiticus*, elles vont de 1,25µL/mL pour *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon citratus* et *Ocimum gratissimum* à 2,50 µL/mL pour *Lippia multiflora*

La nature de l'inhibition induite par ces huiles essentielles est variable d'une souche à une autre. Ainsi, elles sont toutes fongistatiques sur *Aspergillus parasiticus* tandis que sur *Aspergillus flavus* on note que *Cymbopogon nardus* et *Ocimum gratissimum* sont fongicides.

Les huiles essentielles en combinaison double ont donné des résultats variables qui ont entraîné une diminution de leur CMI individuelle de l'ordre de 50% à 98% en fonction des huiles en présence. On note que les combinaisons ont produit deux types d'interaction. Elles sont soit synergique ou additive. Les combinaisons *Cymbopogon citratus* / *Lippia multiflora*, *Cymbopogon nardus* / *Ocimum gratissimum* et *Lippia multiflora* / *Cymbopogon schoenanthus* agissent à la fois sur les deux souches étudiées avec un taux de réduction de leur concentration minimale inhibitrice dans la combinaison compris entre 75 et 98,44%.

Le mode d'action de l'effet des huiles essentielles sur l'espèce *Aspergillus flavus* a été étudié et montre des perturbations au niveau de la membrane plasmique des hyphes. Ces derniers paraissent avec des conidiophores et conidies déformées et des dépressions visibles en comparaison avec les hyphes du témoin. Les degrés d'anomalie augmentent en fonction de la concentration de l'huile essentielle. Ces distorsions peuvent être dues à la fuite du contenu des cellules. Par conséquent, la membrane plasmique des champignons est la principale cible des huiles essentielles [14]. Ces travaux viennent confirmer les résultats trouvés dans cette étude qui montrent que l'activité antifongique se traduit par un changement morphologique mais également par une modification de l'aspect des colonies (**Figure1**).

Certaines études ont montré que les huiles essentielles pouvaient provoquer une réduction considérable de la quantité d'ergostérol dans les cellules fongiques [15]. L'ergostérol est spécifique à la membrane cellulaire fongique et est sa principale composante de stérol responsable du maintien de la fonction cellulaire et de l'intégrité. Une diminution dose-dépendante de la teneur en ergostérol a été observée avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle. Celle-ci inhibe la synthèse de l'ergostérol dans la cellule du champignon d'où l'effet antifongique résultant de cette inhibition ; stoppant ainsi la croissance des champignons [14].

D'autres mécanismes pourraient expliquer l'action antifongique de l'huile essentielle. En effet, [15] ont suggéré que l'inhibition du transport d'électrons mitochondrial entraînerait une réduction du potentiel de la membrane mitochondriale et pourrait se produire via l'inhibition des pompes à protons dans la chaîne respiratoire, entraînant une réduction de la production d'ATP et la mort cellulaire ultérieure.

Conclusion

L'étude a permis de révéler que les huiles essentielles ont un effet inhibiteur sur *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Ce pouvoir inhibiteur est dépendant de chaque huile essentielle et de la souche en présence. Les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Ocimum gratissimum* semblent être les plus efficaces à faible dose pour inhiber la croissance des moisissures. En outre, l'activité antifongique des différentes combinaisons montre que certaines huiles peuvent agir en synergie lorsqu'elles sont impliquées dans une combinaison. L'exploitation des associations d'huiles essentielles de type synergique pourrait permettre de réduire l'impact négatif de leur utilisation à forte dose dans les systèmes alimentaires qui impact la qualité des produits. Il serait indiqué de mener des études approfondies afin de pouvoir transposer ces résultats dans le milieu paysan pour la protection post-récolte des denrées alimentaires.

Références bibliographiques

- [1] K. De Ruyck, M. De Boevre, I. Huybrechts, and S. De Saeger, "Dietary mycotoxins, co-exposure, and carcinogenesis in humans: Short review," *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.*, vol. 766, pp. 32–41, 2015, doi: 10.1016/j.mrrev.2015.07.003.
- [2] P. P. Engel E., Meurillon M., Planche C., "Devenir des contaminants toxiques des aliments dans l'environnement digestif," *Innov. Agron.*, vol. 36, pp. 83–96, 2014.
- [3] G. J. B. Gnonlonfin *et al.*, "A Review on Aflatoxin Contamination and Its Implications in the Developing World: A Sub-Saharan African Perspective," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 53, no. 4, pp. 349–365, 2013, doi: 10.1080/10408398.2010.535718.
- [4] E. Dieme *et al.*, "Contamination des céréales par l' aflatoxine en Afrique : revue des méthodes de lutte existantes African crops contamination by aflatoxin : review of existing methods of control," *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 10, no. October, pp. 2285–2299, 2016.
- [5] D. S. Mwalwayo and B. Thole, "Prevalence of aflatoxin and fumonisins (B1+B2) in maize consumed in rural Malawi," *Toxicol. Reports*, vol. 3, pp. 173–179, 2016, doi: 10.1016/j.toxrep.2016.01.010.
- [6] B. Warth *et al.*, "Quantitation of mycotoxins in food and feed from burkina faso and mozambique using a modern LC-MS/MS multitoxin method," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, no. 36, pp. 9352–9363, 2012, doi: 10.1021/jf302003n.
- [7] P. A. Larissa Yacine Ware , Noël Durand , Phillipe Augustin Nikiema and N. B. Angelique Fontana , Didier Montet, "Occurrence of mycotoxins in commercial infant formulas locally produced in Ouagadougou (Burkina Faso)," *Food Control*, vol. 73, no. 2017, pp. 518–523, 2017, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.08.047.
- [8] J. I. Pitt, M. H. Taniwaki, and M. B. Cole, "Mycotoxin production in major crops as influenced by growing , harvesting , storage and processing , with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives," *Food Control*, vol. 32, no. 1, pp. 205–215, 2013, doi: 10.1016/j.foodcont.2012.11.023.
- [9] Dushani L. Palliyaguru and Felicia WU, "The global geographical overlap of aflatoxin and hepatic C: Controlling risk factors for liver cancer worldwide," *chem Anal*, vol. 30, no. 3, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1080/19440049.2012.751630.
- [10] E. Khoury, A. Atoui, T. Rizk, R. Lteif, M. Kallassy, and A. Lebrhi, "Des Using PCR-RFLP Analysis of aflR - aflJ Intergenic Spacer differentiation between *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* from Pure Culture and Aflatoxin-Contaminated Grap," *J. Food Sci.*, vol. 76, no. 4, p. M247, 2011, doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02153.x.
- [11] C. Dachoupakan, R. Ratamahenina, V. Martinez, J. P. Guiraud, J. C. Baccou, and S. Schorr-Galindo, "Study of the phenotypic and genotypic biodiversity of potentially ochratoxigenic black aspergilli isolated from grapes," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 132, no. 1, pp. 14–23, 2009, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.011.
- [12] R. D. Virginia G de Billerbeck, Christine G Roques, Jean-Marie Bessière, Jean-Louis Fonvieuille, "Effet of *Cymbopogon nardus*(L.) W.Watson Essential Oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus Niger*," *Can.J.Microbiol*, vol. 47, pp. 9–17, 2001, doi: DOI:10.1139-cjm-47-1-9.
- [13] F. Iten, R. Saller, G. Abel, and J. Reichling, "Additive antimicrobial effects of the active components of the essential oil of *Thymus vulgaris* – chemotype carvacrol," *Planta Med.*, vol. 75, no. 09, 2009, doi: 10.1055/s-0029-1234905.
- [14] A. Kedia, A. K. Dwivedy, D. K. Jha, and N. K. Dubey, "Efficacy of *Mentha spicata* essential oil in suppression of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in chickpea with particular emphasis to mode of antifungal action," *Protoplasma*, vol. 253, no. 3, pp. 647–653, 2016, doi: 10.1007/s00709-015-0871-9.
- [15] Y. Hu, J. Zhang, W. Kong, G. Zhao, and M. Yang, "Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L .) on *Aspergillus flavus*," *Food Chem.*, vol. 220, pp. 1–8, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.179.



Les huiles essentielles des plantes du genre *Cymbopogon* : une alternative à la lutte contre les tiques de bétail au Burkina Faso

Hema M. D.^{1*}, Coulibaly A.¹, Sawadogo I.¹, Biguezoton A.², Bationo K. R.¹, Compaoré M.³, Kiendrebéogo M.³, Nebié C.H.R.¹

¹Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Centre International de Recherche Développement sur l'élevage en zone Subhumide, Service Acarologie, 01 BP 451 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

³Université Joseph Ki-Zerbo (UJKZ), Ouagadougou 03 BP 7021, Burkina Faso

□ Introduction

Depuis des décennies, le moyen le plus efficace de lutte contre les tiques est l'utilisation d'acaricides de synthèse. Les pyréthroïdes et d'autres acaricides classiques (organophosphates, organochlorés,...) sont couramment utilisés. Des études de plus en plus nombreuses ont prouvé que l'utilisation excessive d'acaricides de synthèse au mépris des doses recommandées ont conduit à des risques pour les consommateurs par la bioaccumulation des résidus dans le lait et la viande du bétail traité, l'émergence de résistances mais aussi des conséquences sur l'environnement. Les impacts négatifs de ces acaricides ont conduit à la recherche d'une alternative plus efficace et respectueuse de l'environnement. Une nouvelle approche prometteuse pour le contrôle des tiques est l'utilisation de produits botaniques.

□ Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet acaricide, par les méthodes AIT et LIT des huiles essentielles contre *Amblyomma variegatum* afin de trouver un potentiel bio-acaricide au profit des éleveurs de bétail.

□ Matériel

Le matériel végétal est constitué de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf et de *Cymbopogon giganteus* Chiov. Le matériel animal est constitué des tiques adultes et des larves de *A. variegatum*.

➤ Matériel végétal



C. citratus (D.C.) Stapf



C. giganteus Chiov.

➤ Matériel animal : la tique *A. variegatum*



Larves



Adultes non gorgées



Femelles gorgées

□ Méthodologie

➤ LIT: protocole décrit par Politi *et al.*, (2012) avec des modifications mineures



Larves de *A. variegatum*



Immersion pendant 10 mn

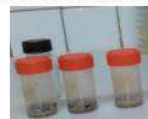


Incubation pendant 24h

➤ AIT: protocole décrit par Drummond *et al.*, (1973) avec des modifications mineures.



Tiques adultes non gorgées



Immersion pendant 10 mn



Incubation pendant 48h

➤ L'analyse statistique : Logiciel R 4.2.2 pour la représentation graphique des données et le calcul de la concentration létale (CL). Une ANOVA suivie de tests de comparaison multiple Tukey HSD, ($p < 0,05$) également effectuée.

□ Résultats et discussion

Les taux de mortalité en fonction des différentes concentrations en huile essentielle ont été représentés ci-dessous.

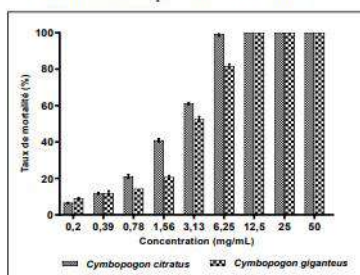


Figure 1: Taux de mortalité larvaires en fonction des concentrations en huile essentielle

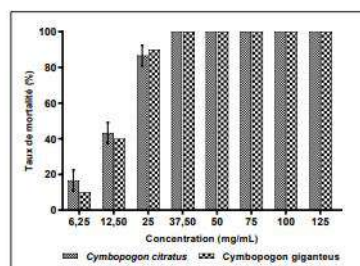


Figure 2: Taux de mortalité des tiques adultes

- 100% de mortalité sont obtenues pour les deux huiles essentielles à 12,5 mg/mL pour les larves et à 37,5 mg/mL pour les tiques adultes.
- Les concentrations létales à 50% et 90% de mortalité larvaire sont de 2,18 mg/mL et 5,88 mg/mL pour *C. citratus*; de 3,31 mg/mL et 7,81 mg/mL pour *C. giganteus*.
- Pour les tiques adultes, les concentrations létales à 50% et 90% de mortalité sont de 13,67 mg/mL et 30,14 mg/mL pour *C. citratus*; de 14,12 mg/mL et 26,10 mg/mL pour *C. giganteus*.
- *C. citratus* serait plus active sur les larves et *C. giganteus* sur les tiques adultes.
- L'activité observée pourrait s'expliquer par la présence majoritaire de certains monoterpènes dans l'huile essentielle (Djebir *et al.*, 2019).
- Celle de *C. citratus* serait probablement liée au citral ou myrcène (Cardoso *et al.*, 2020; Tabari *et al.*, 2020) et celle de *C. giganteus* au limonène (Alimi *et al.*, 2023).

□ Conclusion

Ces huiles essentielles ont montré un potentiel acaricide important sur la tique *Amblyomma variegatum*. Cette propriété acaricide est un point de départ vers le développement de formulations d'acaricides naturels à base d'huile essentielle pour lutter efficacement contre les tiques de bétail.

□ Références

- 1) Alimi, D., Hajri, A., Jallouli, S., & Sebai, H. (2023). Toxicity, repellency, and anti-cholinesterase activities of bioactive molecules from clove buds *Syzygium aromaticum* L. as an ecological alternative in the search for control *Hyalomma scupense* (Acari: Ixodidae). Heliyon, 9 (8), e18899.
- 2) Cardoso, A. dos S., Santos, E. G. G., Lima, A. da S., Temeyer, K. B., Pérez de León, A. A., Costa, L. M., & Soares, A. M. dos S. (2020). Terpenes on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Acaricidal activity and acetylcholinesterase inhibition. Veterinary Parasitology, 280.
- 3) Djebir, S., Ksouri, S., Trigui, M., Tounsi, S., Boumaaza, A., Hadeif, Y., & Benakhla, A. (2019). Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils of some plant species of Lamiaceae and Myrtaceae against the vector of tropical bovine theileriosis: *Hyalomma scupense* (syn. *Hyalomma detritum*). BioMed Research International, 1–10.

Remerciement: International Foundation for Science (IFS)