

Activité Antioxydante Et Teneur En Flavonoïdes De Cinq Plantes De La Famille Des Fabaceae Utilisées Contre De l'Ostéoporose Au Centre De La Côte d'Ivoire

Kouassi Kouadio Aubin, Docteur
Kouadio N'guessan Jules, Assistant

Laboratoire de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales, Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire

Ahoua Angora Rémi Constant, Docteur

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, Abidjan

Yao Konan, Attaché de Recherche

Centre National de Floristique,

Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire,

Institut Botanique Aké-Assi d'Andokoi, Abidjan, Côte d'Ivoire

Kanga Yao, Assistant

Université Peleforo Gon Coulibaly de Korhogo, UFR Sciences Biologique

Moya Bi George, Doctorant

Laboratoire de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales, Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire

Koné Mamidou Witabouna, Professeur

Laboratoire de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales, Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, Abidjan

Doi:10.19044/esj.2020.v16n3p84

[URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2020.v16n3p84](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2020.v16n3p84)

Résumé

La déficience hormonale due à l'âge entraîne entre autres une augmentation de la fragilité osseuse. Pour lutter efficacement contre cette affection, de nombreux auteurs ont préconisé l'usage des plantes. Dans le but d'apporter une contribution à la freinée de cette pathologie, cette étude a été menée en vue de valoriser des plantes médicinales riches en phytoestrogènes comme une solution alternative contre l'ostéoporose. Pour ce faire, les teneurs en flavonoïdes et isoflavones de cinq plantes issues de la famille des Fabaceae ont été déterminées par les méthodes spectrophométriques. Aussi a été évalué le pouvoir anti-radicalaire de ces plantes en utilisant les méthodes au DPPH et

à l'ABTS. La présente étude indique la présence d'isoflavones et flavonoïdes dans les extraits de plantes à l'exception de celui des racines de *Piliostigma thonningii*. Les feuilles de *Uraria picta* possèdent les plus fortes teneurs de flavonoïdes avec $334,48 \pm 0,49$ mg EQ /100g d'extrait, suivies de celles de *Pericopsis laxiflora* avec $210,27 \pm 0,71$ mg EQ /100g d'extrait. Ces deux plantes présentent également des teneurs élevées en isoflavones avec respectivement $66,61 \pm 1,23$ mg GNT /100g d'extrait et $21,05 \pm 1,15$ mg GNT /100g d'extrait. Les feuilles, les racines et l'écorce de tige de *Pericopsis laxiflora* présentent les plus fortes activités antioxydantes avec respectivement, $95,86 \pm 9,27\%$, $91,02 \pm 0,58\%$ et $99,99 \pm 0,0\%$ d'inhibition pour le radical DPPH et respectivement $100 \pm 0,00 \%$, $92,53 \pm 1,26 \%$ et $99,99 \pm 0,01 \%$ d'inhibition pour le radical ABTS. Les résultats montrent que ces plantes peuvent avoir un intérêt dans la prévention et/ou le traitement de l'ostéoporose.

Mots clés : Plantes Médicinales, Flavonoïdes, Isoflavones, Antioxydants, Fabaceae, Ostéoporose

Antioxidant Activity and Flavonoid Content of Five Plants of the Fabaceae Family Used Against Osteoporosis in Central Côte d'Ivoire

Kouassi Kouadio Aubin, Docteur

Kouadio N'guessan Jules, Assistant

Laboratoire de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales, Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire

Ahoua Angora Rémi Constant, Docteur

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, Abidjan

Yao Konan, Attaché de Recherche

Centre National de Floristique,

Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire,

Institut Botanique Aké-Assi d'Andokoi, Abidjan, Côte d'Ivoire

Kanga Yao, Assistant

Université Peleforo Gon Coulibaly de Korhogo, UFR Sciences Biologique

Moya Bi George, Doctorant

Laboratoire de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales, Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire

Koné Mamidou Witabouna, Professeur

Laboratoire de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales, Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, Abidjan

Abstract

The hormonal deficiency due to age causes among others an increase of the fragility bone. To effectively control this disease, many authors have recommended the use of plants. In order to contribute to the reduction of this disease, this study was carried out with a view to promoting medicinal plants rich in phytoestrogens as an alternative solution against osteoporosis. For this purpose, the flavonoid and isoflavone contents of five plants from the Fabaceae family were determined by spectrophotometric methods. Also the anti-free radical potency power of these plants was evaluated using DPPH and ABTS methods. The anti-free radical potency of these plants was also evaluated using the DPPH and ABTS methods. This study indicates the presence of isoflavones and flavonoids in the plant extracts except for

Piliostigma thonningii roots. *Uraria picta* leaves have the highest flavonoid contents with 334.48 ± 0.49 mg EQ /100g dry matter, followed by *Pericopsis laxiflora* leaves with 210.27 ± 0.71 mg EQ /100g dry matter. These two plants have also high isoflavone contents with 66.61 ± 1.23 mg GNT /100g DM and 21.05 ± 1.15 mg GNT /100g DM, respectively. The leaves, roots and stem bark of *Pericopsis laxiflora* showed the highest antioxidant activities with $95.86 \pm 9.27\%$, $91.02 \pm 0.58\%$ and $99.99 \pm 0.0\%$ of inhibition, respectively for the DPPH radical and $100 \pm 0,00 \%$, $92,53 \pm 1,26 \%$ and $99,99 \pm 0,01 \%$ of inhibition, respectively for the ABTS radical. The results showed that these plants may have an interest in the prevention and/or treatment of osteoporosis.

Keywords: Medicinal Plants, Flavonoids, Isoflavones, Antioxidants, Fabaceae, Osteoporosis

Introduction

De nombreuses études prévoient que d'ici 2050 la population des personnes âgées de plus de 60 ans passera à deux milliards d'individus (Domenach H. 2008 ; OMS, 2018). Du fait du vieillissement de la population, le nombre de personnes âgées en perte d'autonomie augmentera sensiblement, notamment en raison d'une mobilité réduite. La prise en charge des maladies liées à l'âge ainsi que leur impact social et économique devront être reconsidérés par tous les pays, notamment les pays qui se veulent émergents. Dans son rapport de 2012, l'OMS demande aux professionnels de la santé de prendre des mesures appropriées pour prévenir les maladies non transmissibles, en promouvant, notamment, la santé et les comportements sains à tout âge pour éviter ou retarder l'apparition des maladies chroniques. En effet, les maladies qui touchent les personnes âgées sont entre autres les cardiopathies, les accidents vasculaires cérébraux, le cancer, le diabète, les maladies pulmonaires chroniques, la maladie d'Alzheimer, les affectations du système locomoteur telles que la sarcopénie, et l'ostéoporose (OMS, 2018). L'ostéoporose est la maladie la plus fréquente du squelette, caractérisée par une faible masse osseuse et une altération de la microarchitecture du tissu osseux. Elle entraîne une vulnérabilité aux fractures et une détérioration de la qualité de vie avec pour corolaire l'invalidité. L'ostéoporose touche généralement la femme ménopausée. L'accroissement continu de l'espérance de vie, l'urbanisation, l'occidentalisation du mode de vie et les coûts importants qu'elle pourrait engendrer font émerger cette affection comme un réel problème de santé publique. De nombreux médicaments de l'ostéoporose post-ménopausique existent, mais ils présentent néanmoins des limites (Sigrid, 2013). Le développement de nouveaux traitements s'avère donc essentiel. Le vieillissement et la physiopathologie de très nombreux organes dont l'os ont un lien avec le statut redox de l'organisme. Les espèces réactives de l'oxygène

sont largement impliquées dans les complications associées au vieillissement (Krause, 2007) dont l'ostéoporose (Banfi *et al.*, 2008, Salha, 2016). En effet, une augmentation du stress oxydant est associée à la perte osseuse ; ainsi l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène est connue à la fois pour activer la différenciation des ostéoclastes et inhiber celle des ostéoblastes (Wauquier *et al.*, 2009). Le statut redox de l'organisme est donc également un paramètre important pour l'acquisition d'un bon capital osseux. Les effets bénéfiques des phytoestrogènes tels les flavonoïdes (quercétine) et isoflavones dans la prévention et le traitement de l'ostéoporose sont prouvées (Douart, 1994 ; Banfi *et al.*, 2008 ; Marie et Halbout, 2008 ; Al Hamdany *et al.*, 2019). Ainsi, plusieurs travaux ont montré l'incidence et l'évolution de l'ostéoporose avec la consommation d'aliments riches en polyphénols (Chisari *et al.*, 2019).

La recherche de solutions naturelles est au centre des préoccupations scientifiques puisqu'elles pourraient retarder la progression de la maladie et impacter significativement la qualité de vie de la population (Samo, 2012 ; Ahoua, 2017).

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail, centré sur la recherche de plantes médicinales comme une solution alternative contre l'ostéoporose. Plus spécifiquement il s'agit d'évaluer la teneur en flavonoïdes, en isoflavones et la capacité à réduire les espèces chimiques réactives de l'oxygène des plantes utilisées traditionnellement pour traiter des maladies qui seraient apparentées à l'ostéoporose telles que le rhumatisme et les fractures.

Materiel Et Methodes

Sélection des espèces végétales étudiées

Les échantillons sont des plantes de la famille des Fabaceae utilisées par les tradipraticiens pour le traitement des maladies qui pourraient avoir un lien avec l'ostéoporose. Cette famille a été sélectionnée à la suite d'enquêtes ethnobotaniques effectuées auprès de 28 guérisseurs de Brobo et Tié N'diédro, deux localités du centre de la Côte d'Ivoire. Lors de cette enquête plusieurs familles botanique ont été cités, ce sont les familles des Passifloraceae, des Zingiberaceae, des Sapindaceae, des Phyllanthaceae, des Connaraceae, des Chrysobalanaceae, des Sapindaceae, des Apocynaceae, des Pedaliaceae, des Canabaceae, des Lamiaceae, des Moraceae avec une espèce chacune, des Malvaceae , des Olacaceae avec 2 especes chacune et, des Fabaceae avec 5 espèces. Les espèces de la famille des Fabaceae qui ont été beaucoup citées par les praticiens de la médecine traditionnelle sont: *Dalbergia hostilis* Benth, *Pericopsis laxiflora* (Benth.) Meeuwen, *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne-Redh, *Pseudarthria hookeri* Wight et Am. et *Uraria picta* (Jacq.) Desv. (Tableau I)

Tableau I : Indications thérapeutiques des espèces végétales étudiées.

Espèces végétales	Indications thérapeutiques	Organes utilisés
<i>Dalbergia hostilis</i> (Benth)	Rhumatisme	Feuille, Ecorce de tige,
<i>Pericopsis laxiflora</i> (Benth)	Fracture, douleur articulaire et rhumatisme	Feuille et racines
<i>Piliostigma thonningii</i> (Schumach.)	Fracture et migraine	Racine
<i>Pseudarthria hookeri</i> (Wight et Am.)	Fracture et douleur articulaire	Racine,
<i>Uraria picta</i> (Jacq.) Desv.	Fracture et rhumatisme	Feuille

Préparation des extraits bruts

Les organes ont été récoltés dans le mois de Mai à 8 heures 30 minutes puis pré-séchés, à l'ombre, sur le terrain avant leur acheminement à Abidjan. Une fois au laboratoire, les organes végétaux récoltés ont été séchés sous climatisation à 18 °C pendant trois semaines puis pulvériser pour obtenir des poudres.

Pour la préparation des extraits bruts, 5 g de poudre ont été macérés dans 50 ml de méthanol sous agitation mécanique pour permettre une meilleure extraction des composés chimiques. Après 24 h d'agitation, Le mélange est filtré et le filtrat obtenu a permis de réaliser les différents tests de détection, de dosage et d'évaluation de l'activité antioxydante. Un total de sept extraits, sur la base des organes utilisés, a été préparé.

Test de détection des flavonoïdes et isoflavonoïdes (Réaction à la cyanidine)

La détection des flavonoïdes et des isoflavones dans les extraits a été faite à l'aide de la réaction à la cyanidine. A 2 ml de chaque extrait ont été ajoutés deux à trois copeaux de magnésium et 1 ml d'HCl. La présence de flavonoïdes est caractérisée par différentes colorations consignées dans le tableau II (Ordonez *et al.*, 2006).

Tableau II : composés mis en évidence par le test à la cyanidine

Coloration	Rouge	Jaune- rougeâtre	Rouge, rouge- violacé	Rouge- foncé, violet, bleu	Jaune	Rose
Type de flavonoïdes	Anthocyanes	Flavones	Flavonols	Flavonones	Isoflavones	Leucoanthocyanes

Dosage des flavonoïdes et isoflavones

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits, selon le protocole de Djeridane *et al.* (2006). L'absorbance est lue à 430 nm à l'aide du spectrophotomètre (HACH DR 2400) après 10 min d'incubation. La concentration des

flavonoïdes dans l'extrait a été exprimée à partir de l'équation de la droite d'étalonnage : $Y = 0,0318X + 0,0193$

Où Y est la valeur de l'absorbance et X la concentration en μM des flavonoïdes présents dans l'échantillon.

Selon Isabela *et al.* (2008), la quantification des isoflavones peut se faire aux longueurs d'ondes allant de 200 à 500 nm. Dans ce travail, les mesures ont été faites à 400 nm en raison du spectrophotomètre disponible au laboratoire. La concentration des isoflavones dans les différents extraits a été exprimée à partir de l'équation de la droite d'étalonnage :

$$(1) Y = 0,0143X + 0,0004$$

Où Y est la valeur de l'absorbance et X la concentration en μM des isoflavones présentes dans l'échantillon.

Calcul des teneurs en flavonoïdes et isoflavones

Les valeurs de la densité optique (DO) obtenus ont été exportées sous Excel pour être converties en μg d'équivalent de quercétine par mg d'extrait pour les flavonoïdes et en μg d'équivalent de génistéine par mg d'extrait pour les isoflavones. Les concentrations déterminées et le facteur de dilution ont permis de calculer la quantité des différents composés dans les extraits selon la formule suivante :

$$(2) C (\text{mg}/100 \text{ g}) = [V_s (\text{mL}) \times 10^{-3} / m_e (\text{g}) \times F \times X] \times 100$$

Avec :

C : quantité du composé

V_s : volume de la solution prélevé pour l'extraction

m_e : masse de la poudre végétale

F : facteur de dilution

X : concentration de l'échantillon déterminée à partir de la droite d'étalonnage
La quantité finale des flavonoïdes dans les différents extraits a été exprimée en mg d'équivalent de quercétine par 100 g d'extrait (mg EQ/100 g) et celle des isoflavones en mg d'équivalent de génistéine par 100 g d'extrait (mg GNT/100 g).

Détermination des activités antioxydantes

La détermination des activités antioxydantes a été faite au moyen de deux méthodes : au DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) et à l'ABTS (2,2-azinobis (3- ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)).

Test au DPPH

A 100 μL d'extrait sont ajoutés 2500 μL d'une solution méthanolique de DPPH à 0,4 Mm. Le mélange obtenu est ensuite incubé à l'obscurité pendant 30 min à 30 °C puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc (méthanol). La solution de DPPH est utilisée comme contrôle. Les essais

ont été répétés trois fois. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$(3)\% \text{ Inhibition (DPPH)} = [(A_0 - A_i) / A_0] \times 100$$

A₀: absorbance du contrôle, A_i: absorbance de l'extrait.

La capacité à réduire le radical DPPH est exprimée en mg d'équivalent de Trolox g⁻¹ d'extrait (mg TE g⁻¹ d'extrait) selon la formule de Wangcharoen et Morasuk, (2007) :

$$(4) \text{ Valeur (mgET.g}^{-1}\text{MS)} = [((A_0 - A_1) / (\text{Pente})) (V/v)) / (m \times 1000)]$$

Avec A₁ = Valeur de l'absorbance de l'échantillon, A₀ = Valeur de l'absorbance du contrôle, Pente = Pente de la droite de régression exprimant les valeurs des absorbances en fonction des différentes concentrations de Trolox, V= Volume total d'extrait préparé pour obtenir la solution mère, v = Volume de l'extrait prélevé pour le test, m = Masse de l'échantillon prélevé pour préparer la solution mère, 1000 = Facteur de conversion (µg en mg).

Test à l'ABTS

Le cation ABTS⁺ est obtenu par mélange (v/v) d'ABTS (7,0 Mm) et de persulfate de potassium (2,6 mM), puis on laisse reposer à l'obscurité à température ambiante durant la nuit. Un volume de 1 mL de la solution ABTS⁺ est dilué avec 60 mL de méthanol pour obtenir une absorbance comprise entre 1 et 15 à 734 nm. La solution est préparée juste avant les tests et ne peut être conservée. A 100 µL de l'extrait méthanolique de plante sont ajoutés 2500 µL de solution ABTS⁺ puis le tout est incubé à l'obscurité pendant 2 heures.

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ est calculé selon la formule suivante :

$$(5)\% \text{ Inhibition (ABTS}^+) = [(A_a - A_b) / A_a] \times 100$$

A_a: absorbance du contrôle, A_b: absorbance de l'extrait.

La capacité à réduire le radical ABTS est exprimée en mg d'équivalent de Trolox g⁻¹ d'extrait (mg TE g⁻¹ d'extrait) selon la formule (4) décrite par Wangcharoen et Morasuk, (2007).

Analyse statistique

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA. Le test d'ANOVA a servi à comparer les moyennes des teneurs en flavonoïdes, isoflavones et les moyennes de pourcentages d'inhibition de l'ABTS et du DPPH des différents extraits. La plus petite différence significative a été fixée au seuil de 0,05 (Vessereau, 1992).

Resultats

Détection des flavonoïdes et isoflavones

Sur les sept extraits d'organes végétaux étudiés, les flavonoïdes ont été détectés dans six extraits, soit dans quatre des plantes. Les extraits contenant les flavonoïdes ont été utilisés pour la recherche des isoflavones. Après investigation, les isoflavones ont été révélées dans cinq extraits issus des organes de plantes étudiés (Tableau III).

Tableau III : Composition qualitative des flavonoïdes et des isoflavones

Espèces végétales	Organes	Flavonoïdes	Isoflavones
<i>Dalbergia hostilis</i>	Feuille	+	+
<i>Pericopsis laxiflora</i>	Feuille	+	+
	Ecorce de tige	+	+
	Racine	+	+
<i>Piliostigma thonningii</i>	Racine	-	-
	Racine	+	-
<i>Uraria picta</i>	Feuille	+	+

(+) : présence ; (-) : absence

Teneur en flavonoïdes et isoflavones

Les teneurs en flavonoïdes et isoflavones sont présentées dans le tableau IV. Il existe une différence significative entre les différentes teneurs des composés recherchés ($\alpha = 5\%$, $P < 0,001$). Les valeurs des teneurs des plantes en flavonoïdes sont comprises entre 6,81 et 334,48 mg EQ /100 g. L'extrait qui contient la plus forte teneur en flavonoïdes est celui obtenu avec les feuilles de *Uraria picta* avec $334,48 \pm 0,49$ mg EQ /100g. Il est suivi de l'extrait des feuilles de *Pericopsis laxiflora* avec $210,27 \pm 0,71$ mg EQ /100g. Quant aux isoflavones, les valeurs des teneurs sont comprises entre 0,32 et 66,61 mg GNT /100g. L'extrait des feuilles de *Uraria picta* contient la plus forte quantité d'isoflavones et est suivi de celui des feuilles de *Pericopsis laxiflora*, avec respectivement $66,61 \pm 1,23$ mg GNT /100g et $21,05 \pm 1,15$ mg GNT /100g. Les isoflavones n'ont pas pu être déterminés dans l'extrait des racines de *Pseudarthria hookeri*. Les flavonoïdes et isoflavones n'ont pas été déterminés dans les racines de *Piliostigma thonningii*.

Tableau IV: Teneurs en flavonoïdes et isoflavones (mg EQ/100 g d'extrait) des différents extraits de plantes étudiées

Espèce végétales	Organes étudiés	Teneurs moyennes	
		Flavonoïdes (mg EQ /100g)	Isoflavones (mg GNT /100g)
<i>Pericopsis laxiflora</i>	Racine	6,81±0,19 ^a	0,32±0,09 ^a
	Feuille	210,27±0,71 ^e	21,05±1,15 ^b
	Ecorce de tige	38,42±0,45 ^d	0,33±0,09 ^a
<i>Dalbergia hostilis</i>	Feuille	21,62±0,45 ^b	0,54±0,14 ^a
<i>Uraria picta</i>	Feuille	334,48±0,49 ^f	66,61±1,23 ^b
<i>Pseudarthria hookeri</i>	Racine	24,64±0,44 ^c	-
Paramètres statistiques d'Anova			
	Dl	5	4
	F	237792,565	4317,92
	P	< 0,001	

Les moyennes suivies des mêmes lettres sur la même colonne ne sont pas significativement différentes ; dl : degré de liberté ; F : valeur du test statistique ANOVA

Pouvoir des extraits à piéger le radical DPPH•

Les extraits méthanoliques testés ont montré une importante activité antioxydante. Les résultats du potentiel des plantes à piéger le radical DPPH• sont consignés dans le Tableau V. Les activités de ces extraits sont comprises entre 9,17±0,58 % et 99,99±0,0% d'inhibition. Les résultats montrent une différence significative (au seuil $\alpha = 5 \%$, $P < 0,001$) entre les moyennes des valeurs des activités anti-radicalaires des extraits.

Les extraits les plus actifs sont ceux des feuilles, des racines et de l'écorce de tige de *Pericopsis laxiflora* avec respectivement 95,86±9,27%, 91,02±0,58% et 99,99±0,0% d'inhibition (Tableau V). Les feuilles de *Pericopsis laxiflora* présente la forte capacité antioxydante.

Potentiel des extraits à inhiber le radical ABTS⁺

Les résultats des activités des extraits sur le radical ABTS⁺ sont présentés dans le tableau V. Les extraits des feuilles, des écorces de tige et des racines de *Pericopsis laxiflora* sont les plus actifs. Ils inhibent le radical ABTS⁺ respectivement à 100±0,00 %, 99,99±0,01 et 92,53±1,26 %. Les feuilles et des écorces de tige de *P. laxiflora* présentent les plus fortes capacités antioxydantes avec respectivement 371,51±0,01 et 371,53±0,01 mgET.g⁻¹MS ±SD

Tableau V : Activités antioxydantes des extraits des plantes étudiées

Espèces végétales		Potentiel Antioxydant			
		% d'inhibition ABTS	% d'inhibition DPPH	Capacité antioxydante ABTS (mgET.g ⁻¹ MS ±SD)	Capacité antioxydante DPPH (mgET.g ⁻¹ MS ±SD)
<i>Dalbergia hostilis</i> (Benth)	Feuille	39,87±2,51 ^b	18,19±1,46 ^b	140,79±1,35 ^b	57,14±4,76 ^b
	Feuille	100±0,00 ^d	95,86±9,27 ^e	371,51±0,01 ^e	341,45±9,27 ^e
<i>Pericopsis laxiflora</i> (Benth)	Ecorce de tige	99,99±0,01 ^d	99,99±0,01 ^e	371,53±0,01 ^e	301,57±0,01 ^d
	Racine	92,53±1,26 ^d	91,02±0,58 ^c	341,79±4,66 ^d	291,59±1,86 ^{cd}
<i>Piliostigma thonningii</i> (Schumach.)	Racine	16,31±1,35 ^a	9,17±0,58 ^a	53,34±1,57 ^a	31,16±0,30 ^a
<i>Pseudarthria hookeri</i> (Wight et Am.)	Racine	37,50±0,13 ^b	10,19±1,80 ^a	138,49±0,49 ^b	33,38±5,88 ^a
<i>Uraria picta</i> (Jacq.) DC.	Feuille	75,19±7,89 ^c	88,66±0,57 ^c	294,40±3,05 ^c	284,02±1,82 ^c
Paramètre statistique d'Anova	dl	6	6	6	6
	F	343,557	3075,12	10120,44	2845,143
	P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Les moyennes suivies des mêmes lettres sur la même colonne ne sont pas significativement différentes ; dl : degré de liberté ; F : valeur du test statistique ANOVA

Discussion

Cette étude a été menée afin d'identifier les potentialités phytoestrogènes de cinq plantes, issues de la famille des Fabaceae. En effet, selon Wink (2013) les Fabaceae sont riches en polyphénols (flavonoïdes et isoflavones) et elles renfermeraient des plantes ayant des propriétés bénéfiques pouvant améliorer l'état de santé des personnes souffrant de l'ostéoporose et des maladies apparentées. Or la carence en ces éléments entraîne des modifications du métabolisme osseux, à l'origine des processus de décalcification (Riggs *et al.*, 2002; Anses, 2012). Les polyphénols pourraient exercer des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes (Scalbert et Williamson, 2000). Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres (Mpondo *et al.*, 2012 ;Bakchiche and Gherib 2014) générés par les organismes suite aux agressions (cigarettes, polluants, infections...) favorisant le vieillissement cellulaires (Burda et Oleszek, 2001). Quant aux isoflavones, ils ont la capacité de se lier aux récepteurs œstrogéniques pour manifester une activité phytoestrogénique (Barnes *et al.*,

2000; Hwang *et al.*, 2006). Aussi, les cellules impliquées dans le remodelage osseux étant étroitement régulées par de nombreux facteurs hormonaux, les phytoestrogènes pourraient avoir un effet contre l'ostéoporose (Dang et Lowik, 2005 ; Marie et Halbout, 2008). Les phyto-œstrogènes (isoflavones) agissent sur l'activité du tissu osseux en inhibant l'action destructrice de l'os par les cellules ostéoclastes et en stimulant l'activité des ostéoblastes pour la synthèse d'une matrice osseuse abondante. Les phyto-œstrogènes agissent aussi sur l'absorption intestinale du calcium (Omi *et al.*, 1994; Arjmandi *et al.*, 2002) et sur la diminution de son excrétion urinaire (Kopcewicz, 1971), entraînant l'augmentation du taux circulant de calcium dans le sang. Par leurs propriétés phytoestrogéniques, les isoflavones ont suscité beaucoup d'intérêt pour le soulagement de l'ostéoporose et des troubles liés à la ménopause, tels que les bouffées de chaleur (Penotti *et al.*, 2003 ; Howes *et al.*, 2006). La présence de ces éléments dans les Fabaceae pourrait être à l'origine de leur efficacité et donc de leur sollicitation dans le traitement des maladies liées aux os. L'activité antiostéoporose d'autres plantes de cette famille dont *Arachis hypogaea*, *Phaseolus vulgaris* et *Millettia macrophylla* a déjà été rapportée (Kouakou *et al.*, 2008 ; Zingue *et al.*, 2014).

Les flavonoïdes sont retrouvés dans les feuilles de *Dalbergia hostilis*, les feuilles, écorce de tige et racines de *Pericopsis laxiflora*, les racines de *Pseudarthria hookeri* et les feuilles de *Uraria picta*.

Quant aux isoflavones, à l'exception des racines de *Piliostigma thonningii* et *Pseudarthria hookeri*, ils sont retrouvés dans les organes sélectionnés des autres plantes étudiées.

On note des quantités importantes de flavonoïdes et d'isoflavones dans les feuilles de *Uraria picta* avec respectivement $334,48 \pm 0,49$ mg EQ /100g et $66,61 \pm 1,23$ mg GNT /100g et de *Pericopsis laxiflora*, avec respectivement $210,27 \pm 0,70$ mg EQ / 100g et $21,05 \pm 1,15$. mg GNT / 100g. Ces résultats corroborent ceux de plusieurs auteurs. En effet, Koevi *et al.*, 2015 et Koffi *et al.*, 2015 ont indiqué la présence de flavonoïdes dans les feuilles de *Pericopsis laxiflora*. Aussi, Hari *et al.*, (2014) ont montré la présence de flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des feuilles, tige et racine de *Uraria picta*. En 2013, Odubanjo *et al.* ont indiqué également la présence de flavonoïdes dans les feuilles de cette même plante. Par ailleurs, deux isoflavones le 5,7-dihydroxy-2'-methoxy-3',4'-methylenedioxyisoflavanone et 4',5'-dihydroxy-2';3'-dimethoxy-7-(5-hydroxyoxochromen-7yl)-isoflavanone ont déjà été isolés des racines de *Uraria picta* (Rahman *et al.*, 2007). La présence de flavonoïdes constatés dans les feuilles de *Pseudarthria hookeri* dans cette étude confirme les résultats de Dzoyem *et al.* en 2018 qui ont identifié et isolé des flavonoïdes de la plante entière. La présence des flavonoïdes et isoflavones et leurs taux élevés pourraient conférer à ces deux plantes des effets sur le métabolisme

osseux en faveur de la calcification. Elles devraient donc être explorées davantage dans la recherche de solutions alternatives contre l'ostéoporose.

Dans ce travail, la capacité des plantes à piéger les radicaux DPPH et ABTS a été évaluée. Ainsi pour le DPPH, les feuilles, écorces de tige et racines de *Pericopsis laxiflora* ont montré les plus forts pourcentages d'inhibition avec respectivement 95,86% ; 99,99% et 91,02% d'inhibition. Pour l'ABTS, les feuilles et les racines, écorces de tiges et racines de *Pericopsis laxiflora* possèdent les plus fortes activités antioxydantes avec respectivement à $100 \pm 0,00$ %, $99,99 \pm 0,01$ et $92,53 \pm 1,26$ %. Il ressort que les écorces de tige de *Pericopsis laxiflora* présentent le plus fort pouvoir antioxydant. Koffi *et al.* (2015) ont indiqué la présence de polyphénols dans les feuilles de *Pericopsis laxiflora*. La capacité réductrice de ces plantes pourrait donc être due principalement aux composés phénoliques présents dans ces dernières (Odabasoglu *et al.*, 2004). L'activité antioxydante des feuilles de *Pericopsis laxiflora* obtenue dans ce travail confirme les résultats de Koevi *et al.* (2015) qui ont montré l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des feuilles de cette même plante. En outre, Patel *et al.* (2011) ont montré l'activité antioxydante de l'extrait de *Uraria picta* contre les radicaux ABTS et DPPH. Odubanjo *et al.* (2013) ont également montré l'activité antioxydante contre le radical ABTS de l'extrait aqueux de cette plante. Les résultats de ce travail viennent donc confirmer l'activité antioxydante de cette plante.

Le statut redox de l'organisme est un paramètre fondamental pour le capital osseux. En effet, une augmentation du stress oxydant est associée à de nombreuses situations de perte osseuse et l'augmentation de la production d'espèces réactives à l'oxygène est connue à la fois pour activer la différenciation des ostéoclastes et inhiber celle des ostéoblastes (Wauquier *et al.*, 2009). *Uraria picta* et *Pericopsis laxiflora* par leurs activités antioxydantes pourraient jouer un rôle dans l'inhibition des ostéoclastes et l'activation des ostéoblastes. Ces plantes pourraient donc avoir un rôle protecteur contre l'ostéoporose. Elles devraient être explorées davantage dans la recherche de solution contre l'ostéoporose.

Conclusion

Ce travail a tenté d'apporter des réponses quant à la mise au point d'alternatives pour la prise en charge de l'ostéoporose qui affecte le plus souvent les personnes âgées. La présente étude indique la présence d'isoflavones et de flavonoïdes dans les extraits de *Pericopsis laxiflora*, *Dalbergia hostilis*, *Uraria picta* et *Pseudarthria hookeri*. Tous ces extraits possèdent une activité antioxydante. Cependant *Uraria picta* et *Pericopsis laxiflora* méritent d'être explorés davantage pour leurs activités remarquables. Ils pourraient donc jouer un rôle dans la prévention et/ou le traitement de l'ostéoporose.

Remerciements

Nous remercions sincèrement le Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) pour l'assistance technique. Aussi nous sommes reconnaissants à l'Initiative DELTAS Africa [Afrique One-ASPIRE /DEL-15-008], [107753/A/15/Z] qui soutient Dr Ahoua Constant pour ses études postdoctorales.

References:

1. Ahoua A. R. C. (2017). Plantes consommées par les chimpanzés (*Pan troglodytes verus*, Blumenbach 1779) du Parc National de Taï, Côte d'Ivoire : activités biologiques, potentiel nutritif et investigation phytochimique de *Beilschmiedia mannii* (Meisn.) Robyns & R. Wilczek (Lauraceae). Thèse de Doctorat, Université Nangui Abrogoua (Côte d'Ivoire): 255 p.
2. Al Hamdany A. K., Al-Khatib A. R. & Al-Sadi H. I., (2019) an overview of the beneficial effects of quercetin on bone. *International Medical Journal*, 2 (26) : 142-145.
3. Anses (2012). "Composition nutritionnelle des aliments. TABLE Ciqua 2012." <http://www.anses.fr/TableCIQUAL/index.htm>. consulté le 02 octobre 2017.
4. Arjmandi B., Khalil D. & Hollis B. (2002). Soy protein: its effects on intestinal calcium transport, serum vitamin D, and insulin-like growth factor-I in ovariectomized rats. *Calcified tissue international*, 70 (6): 483-487.
5. Bakchiche B. & Gherib A. (2014). Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 9167-9172.
6. Banfi G., Iorio E. L. & Corsi M. M. (2008). Oxidative stress, free radicals and bone remodeling. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 46 (11): 1550-1555.
7. Barnes S., Boersma B., Patel R., Kirk M., Darley-USmar V., Kim H. & Xu J. (2000). Isoflavonoids and chronic disease: mechanisms of action. *Biofactors*, 12 (1-4): 209-215.
8. Burda S. & Oleszek W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49 (6): 2774-2779.
9. Chisari E., Shivappa N. & Vyas S. (2019). Polyphenol- rich foods and osteoporosis. *Current Pharmaceutical Design*, 25 (22): 2459-2466.
10. Dang Z. C. & Lowik C. (2005). Dose-dependent effects of phytoestrogens on bone. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 16 (5): 207-213.

11. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97 (4): 654-660.
12. Domenach H. 2008. « Les grandes tendances démographiques et l'environnement : l'enjeu d'une planète viable », *Mondes en développement*, 2 (142), p. 97-111. DOI : 10.3917/med.142.0097. URL : <https://www.cairn.info/revue-mondes-en-developpement-2008-2-page-97.htm>
13. Douart J.-P. (1994). *L'oligothérapie en pathologie fonctionnelle Données scientifiques et cliniques.*, Edition Maloine, 293p.
14. Dzoyem J. P., Tchamgoue J., Tchouankeu J.C., Kouan S.F., Choudhary M. I. & Bakowsky U. (2018). Antibacterial activity and cytotoxicity of flavonoids compounds isolated from *Pseudarthria hookeri* Wight et Arn. (Fabaceae). *South African Journal of Botanique*, 114: 100-103.
15. Hari O. S., Anjana S., Naseer M. & Santos K. C. (2014). Phytochemical screening and elemental analysis in different plant parts of *Uraria picta* Desv. : A Dashmul species. *Journal of chemical and pharmaceutical Research*, 6 (5):756-760.
16. Howes L. G., Howes J. B. & Knight D. C. (2006). Isoflavone therapy for menopausal flushes: a systematic review and meta-analysis. *Maturitas*, 55 (3): 203-211.
17. Hwang C. S., Kwak H. S., Lim H. J., Lee S. H., Kang Y. S., Choe T. B., Hur H. G. & Han K. O. (2006). Isoflavone metabolites and their in vitro dual functions: they can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 101 (4): 246-253.
18. Isabela D.C.C., Fernão C.B., Cristina D.V-S., Elzíría A.N., Gérson A. & Pianetti E.L.M.M-C. (2008). Quantitation of genistein and genistin in soy dry extracts by UV-Visible. *Química Nova*, 31 (8): 1933-1936.
19. Kopcewicz J. (1971). Estrogens in developing bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Phytochemistry*, 10 (7): 1423-1427.
20. Kouakou K., Kati-Coulibaly S. & Mangue N'T. E. J. (2008). Effets bénéfiques des extraits d'*Arachis hypogaea* (Fabaceae) et de *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) sur la perte osseuse chez un modèle animal d'ostéoporose. *Phytothérapie*, 6 (1): 5-12.
21. Koffi A. J., Bla K. B., Yapi H. F., Bidie A. P. & Djaman A. J. (2015). Phytochemical screening of some plants in Côte d'Ivoire and evaluation of their extraction efficiency. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7 (3): 563-569.

22. Koevi K.-K. A., Millogo V., Hzounda Fokou J. B., Sarr A., Ouedraogo G.A. & Bassene E. (2015). Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Combretum molle* and *Pericopsis laxiflora*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9 (5): 2423-2431.
23. Krause K.-H. (2007). Aging: a revisited theory based on free radicals generated by NOX family NADPH oxidases. *Experimental gerontology*, 42 (4): 256-262.
24. Marie P. & Halbout P. (2008). OPG/RANKL-Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose *Médecine / Sciences*, . 24 (1): 105-110.
25. Mpondo E., Dibong S. D., Ladoh Y. C. F., Priso R. J. & Ngoye A. (2012). Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 15: 2083-2098.
26. Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir A., Suleyman H., Karagoz Y., Halici M. & Bayir Y. (2004). Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *Phytotherapy Research*, 18(11): 938-941.
27. Odubanjo V. O., Oboh G & Ibukun E. O. (2013). Antioxidant and anticholinesterase activities of aqueous extract of *Uraria picta* (Jacq.) DC. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(41), 2768-2773.
28. Omi N., Aoi S., Murata K. & Ezawa I. (1994). Evaluation of the effect of soybean milk and soybean milk peptide on bone metabolism in the rat model with ovariectomized osteoporosis. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 40 (2): 201-211.
29. OMS (2018). Vieillesse et santé. www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health. Consulté le 08/10/2019.
30. Ordonez A., Gomez J. & Vattuone M. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food chemistry*, 97 (3): 452-458.
31. Patel B. D., Kamariya Y. H. & Patel M. B. (2011). Free radical scavenging potential OF ethanolic extract of *Uraria picta* linn. *Pharmacologyonline*, 2: 134-145
32. Penotti M., Fabio E., Modena A. B., Rinaldi M., Omodei U. & Viganó P. (2003). Effect of soy-derived isoflavones on hot flushes, endometrial thickness, and the pulsatility index of the uterine and cerebral arteries. *Fertility and Sterility*, 79 (5): 1112-1117.
33. Rahman M. M., Gibbons S. & Gray A. I. (2007). Isoflavones from *Uraria picta* and their antimicrobial activity. *Phytochemistry*, 68:1692-1697.

34. Riggs B. L., Khosla S. & Melton III L. J. (2002). Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine reviews*, 23 (3): 279-302.
35. Salha B. (2016). Comportement in vitro et in vivo de verres composites poreux : assimilation osseuse, explorations physiologiques et physicochimique. Thèse de Doctorat, Université de Rennes 1 et de l'Université de Sfax: 310 p.
36. Samo R. (2012). Diet and Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012 : 20p.
37. Sigrid A. (2013). Rationnel de développement et stratégie d'enregistrement d'Odanacatib dans le traitement de l'ostéoporose post-ménopausique. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier, faculté de pharmacie de Grenoble: 119 p.
38. Marie P. & Halbout P. (2008). OPG/RANKL-Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose *Médecine / Sciences*, . 24 (1): 105-110.
39. Vessereau A. 1992. Méthodes Statistiques en Biologie et en Agronomie. Tec et doc Lavoisier: Paris, 337p.
40. Wangcharoen, W., & Morasuk, W. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of some Thai culinary plants. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 1(2), 100-106.
41. Wauquier F., Leotoing L., Coxam V., Guicheux J. & Wittrant Y. (2009). Oxidative stress in bone remodelling and disease. *Trends in molecular medicine*, 15 (10): 468-477.
42. Wink M. (2013). Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 89: 164-175.
43. Zingue S., Njamen D., Mvondo M. A. & Nde C. B. M. (2014). Preventive effects of the methanol soluble fraction of *Millettia macrophylla* Benth (Fabaceae) on an osteoporosis-like model of ovariectomized Wistar rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 11 (2): 83-92.