

Sur la Composition Phytochimique Qualitative des Extraits bruts Hydrométhanoliques des Feuilles de 6 Cultivars de *Manihot Esculenta* Crantz de Côte d'Ivoire

On the Qualitative Phytochemical Composition of Crude Hydromethanolic extracts of the Leaves of 6 Varieties of *Manihot Esculenta* Crantz of Côte d'Ivoire

Brou Kouassi Guy

*Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR des Sciences Fondamentales et Appliquées, Université d'Abobo-Adjamé
Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales
UFR des Sciences de la Nature, Université d'Abobo-Adjamé
02 BP 801 Abidjan 02, République de Côte d'Ivoire*

Mamyrbekova-Bekro Janat Akhanovna

*Correspondant Auteur Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR des Sciences Fondamentales et Appliquées, Université d'Abobo-Adjamé
02 BP 801 Abidjan 02, République de Côte d'Ivoire
E-mail: bekro2001@yahoo.fr*

Dogbo Dénézon Odette

*Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales
UFR des Sciences de la Nature, Université d'Abobo-Adjamé
02 BP 801 Abidjan 02, République de Côte d'Ivoire*

Gogbeu Seu Jonathan

*Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales
UFR des Sciences de la Nature, Université d'Abobo-Adjamé
02 BP 801 Abidjan 02, République de Côte d'Ivoire*

Bekro Yves-Alain

*Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR des Sciences Fondamentales et Appliquées, Université d'Abobo-Adjamé
02 BP 801 Abidjan 02, République de Côte d'Ivoire*

Résumé

L'objectif de cette étude est une contribution à la valorisation des cultivars de *Manihot esculenta* de Côte d'Ivoire, une plante largement utilisée d'une part, à des fins alimentaires et d'autre part, pour soigner certaines pathologies. Le criblage phytochimique au moyen de la CCM et des tests de caractérisation par des réactions colorées des extraits

bruts des feuilles de six de ses cultivars a été réalisé. Les principales classes de métabolites secondaires (flavonoïdes, coumarines, anthocyanes, stérols, terpènes, alcaloïdes, tanins) ont été identifiées dans tous les extraits hydrométhanoliques étudiés. Les feuilles de *M. esculenta* sont très riches en composés phénoliques notamment en flavonoïdes.

Motsclés: *Manihot esculenta*, cultivars, phytochimie, CCM, métabolites secondaires, Côte d'Ivoire

Abstract

The objective of this survey is a contribution to valorization of varieties of *Manihot esculenta* of Côte d'Ivoire, an used on the one hand extensively plant, to food ends and on the other hand, to take care of some pathologies. The phytochemical screening by means of TLC and tests of characterization by colorful reactions of the crude extracts of leaves of six of its varieties has been achieved. The main classes of secondary metabolites (flavonoids, coumarins, anthocyanes, sterols, terpens, alkaloids, tannins) have been identified in all studied hydromethanolic extracts. The leaves of *M. esculenta* are very rich in phenolic compounds notably in flavonoids.

Keywords: *Manihot esculenta*, variety, phytochemistry, TLC, secondary metabolites, Côte d'Ivoire.

1. Introduction

Le manioc (*Manihot esculenta*) est originaire du Brésil où il est cultivé depuis plusieurs milliers d'années (Pynaert, 1951; Girodet *et al.*, 1976). Vers le 16^{ème} siècle, il a été importé sur la côte occidentale de l'Afrique par les marchands d'esclaves. A cette époque, il était cultivé dans les colonies portugaises du Golf du Bénin, de Sao-Tomé et à l'embouchure du fleuve Congo. En Côte d'Ivoire, sa culture est récente car c'est seulement au 19^{ème} siècle que les populations immigrantes Akan (Abouré et Aladjan) l'y ont introduite à partir du sud du Ghana (N'Dabalishye, 1995).

Manihot esculenta est une plante alimentaire vivace de la famille des Euphorbiaceae et est cultivée essentiellement pour ses racines tubérisées et ses légumes feuilles (Busson et Bergeret, 1958) qui sont utilisées dans l'alimentation par les populations d'Afrique, d'Amérique et d'Asie (Noachovitch, 1979). Aussi, les espèces de cette famille tout comme les feuilles de manioc sont-elles utilisées en médecine traditionnelle pour soigner de nombreuses affections telles que le rhumatisme, la syphilis (Chhabra *et al.*, 1990), les maladies cardiovasculaires (Frankel et Boyd, 1993), gastro-intestinales (Hernández *et al.*, 2003), le diabète (De Almeida *et al.*, 2003), le paludisme (Lagnika, 2005) et le cancer (Lopes *et al.*, 2004).

Les informations obtenues de la bibliographie nous indiquent que les feuilles des cultivars de Côte d'Ivoire de *M. esculenta* n'ont pas été l'objet d'investigations sur le plan chimique. En revanche, les travaux de Byamukama *et al.*, (2009) ont porté sur les anthocyanidines que contiennent certains cultivars d'Ouganda.

2. Matériel et Méthodes

Les légumes feuilles des cultivars déjà identifiés de *Manihot esculenta* sous les appellations (Yacé (Y), Bonoua 2 (B2), TMS30.572 (TMS30), TMS4(2)14.25 (TMS4), I88/00158 (I88) et 9620A (96) ont été récoltées en juin 2008 sur l'une des parcelles expérimentales du Centre National de Recherche

Agronomique (CNRA) située à Adiopodoumé (Abidjan/Côte d'Ivoire). Ces organes ont été nettoyés à l'eau courante, séchés pendant 7 jours dans une salle bien aérée puis pulvérisés avec un broyeur électrique (RETSCH, type SM 100) pour donner de fines poudres.

2.1. Extraction

La poudre d'organe (15 g) est macérée dans 3× 65 mL de méthanol (70 %, v/v) pendant 24 h. Après filtration, les extraits conservés pendant 24 h au réfrigérateur, ont servi pour les tests phytochimiques. Ainsi, 6 extraits hydrométhanoliques obtenus à partir des cultivars Y, B2, TMS4, TMS30, I88 et 96 sont désignés respectivement par S1, S2, S3, S4, S5 et S6.

2.2. Criblage Phytochimique

Le criblage phytochimique au moyen des réactions colorées et par chromatographie en couche mince (CCM) a été réalisé selon les techniques analytiques décrites dans les travaux de Godin, (1954); Ladiguina *et al.*, (1983); Georgievskii, (1990); Dawson *et al.*, (1991); Wagner et Bladt, (1996); Dekker, (2002); Chaaib, (2004); Lagnika, (2005); Békro *et al.*, (2007) et Mamyrbékova-Békro *et al.*, (2008).

3. Résultats et Discussion

3.1. Criblage Phytochimique par Réactions Colorées

Les résultats du criblage phytochimique par réactions colorées sont consignés dans le Tableau 1.

Tableau 1: Criblage phytochimique par réactions colorées de S1-S6

Groupe de Composés	Tests	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Tanins	Stiasny	-	++	-	++	-	++
	Eau de Br ₂	+	++	+	++	+	++
	NaNO ₃	-	-	-	-	+	-
Protéines	(CuSO ₄)	++	+++	+++	+++	+++	+++
Quinones	(Borntraëger)	-	-	-	-	-	+
Saponines	Test de mousse	+++	++	++	++	+	++
Composés Réducteurs	Fehling	++	++	+++	+++	+++	+++
	Tollens	++	++	+++	+++	+++	+++
Composés Anthracéniques	Avec alcali	-	++	-	++	++	++
Glycosides Cardiotoniques	Liebermann Burchard	+	+++	++	+++	+++	+++

(+) : présence ; (++) : présence considérable ; (+++) : abondance ; (-) : absence

Au regard des résultats du Tableau 1, il ressort que tous les cultivars étudiés Y, B2, TMS30, TMS4, I88 et 96 contiennent des protéines, saponines, composés réducteurs, glycosides cardiotoniques et des tanins. En outre, les protéines sont abondantes dans 5 cultivars B2, TMS30, TMS4, I88 et 96. Les composés réducteurs sont présents dans 4 cultivars TMS30, TMS4, I88 et 96. Les glycosides cardiotoniques sont abondamment contenus dans B2, TMS30, I88 et 96. Ces derniers ont une activité positive sur le cœur par une augmentation du débit cardiaque (Bruneton, 1999). C'est pourquoi, la consommation régulière des feuilles de manioc pourrait être recommandée aux insuffisants cardiaques.

Les tanins catéchiques ont été mis en évidence dans S1-S6 par le réactif de Stiasny et leur présence a été confirmée par le test à l'eau de Br₂. En revanche, les tanins galliques ont été identifiés seulement dans S5 par le réactif de Stiasny. La présence de cette famille de métabolites secondaires justifie selon nous, la consommation des feuilles de manioc. En effet, les tanins manifestent les propriétés de la vitamine P. Ils renforcent les vaisseaux sanguins et contribuent à l'accumulation de la vitamine C dans l'organisme (Lazurevskii *et al.*, 1966).

Les composés anthracéniques sont présents dans 4 cultivars. Ceux identifiés dans TMS4 et I88 appartiennent aux 1,2-dihydroxyanthraquinones (coloration violette) alors que B2 et 96 renferment des 1,4-dihydroxyanthraquinones (coloration pourpre) (Ladiguina *et al.*, 1983). Selon Bruneton (1999), les composés dihydroxyanthracéniques sont doués de propriétés laxative et purgative. Ainsi, la présence des 1,2- et 1,4- dihydroxyanthraquinones respectivement dans B2, 96 et TMS4, I88 ferait de ces variétés de manioc un moyen de soulagement contre la constipation et expliquerait par ailleurs, l'emploi des feuilles de manioc dans le traitement des affections gastro-intestinales (Hernández *et al.*, 2003).

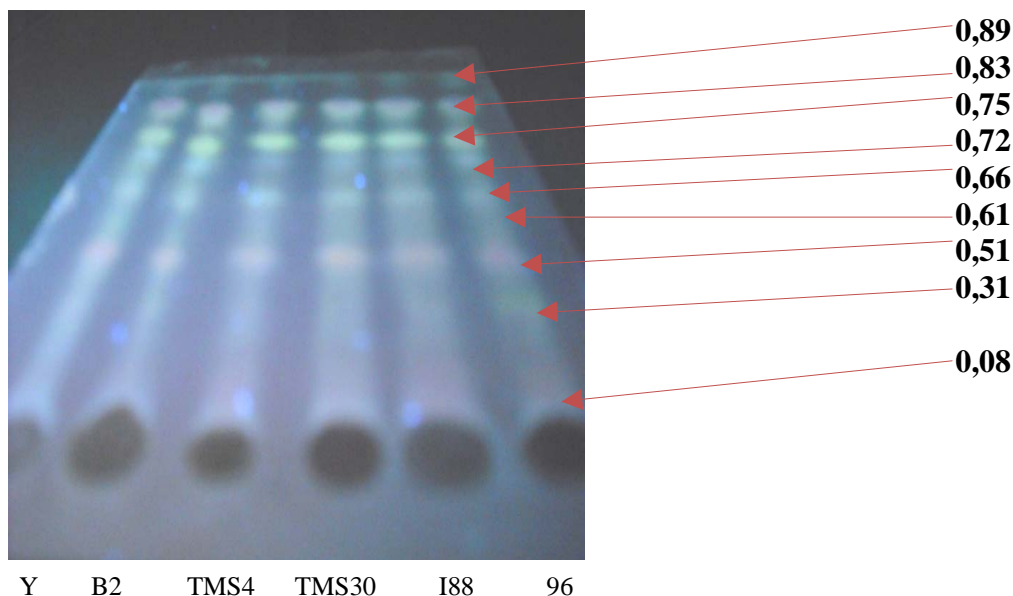
3.2. Criblage Phytochimique Par CCM

Les résultats du criblage phytochimique par CCM de S1, S2, S3, S4, S5 et S6 sont indiqués dans les Tableaux 2, 3 et présentés dans les Figures 1-4. Les taches orange, jaune, bleu, verte, rose, pourpre observées sur le chromatogramme sous UV/366 nm (Tableau 1) peuvent correspondre à plusieurs classes de métabolites secondaires. A l'effet de préciser la nature des composés révélés à l'UV/366 nm, les réactifs spécifiques aux coumarines (KOH, (CH₃CO₂)₂Pb, NH₃); flavonoïdes (réactif de Neu, AlCl₃, NH₃); stérols et polyterpènes (réactifs de Liebermann-Bürchard et de Godin); alcaloïdes (réactif de Dragendor'ff) et aux tanins (FeCl₃) ont été utilisés.

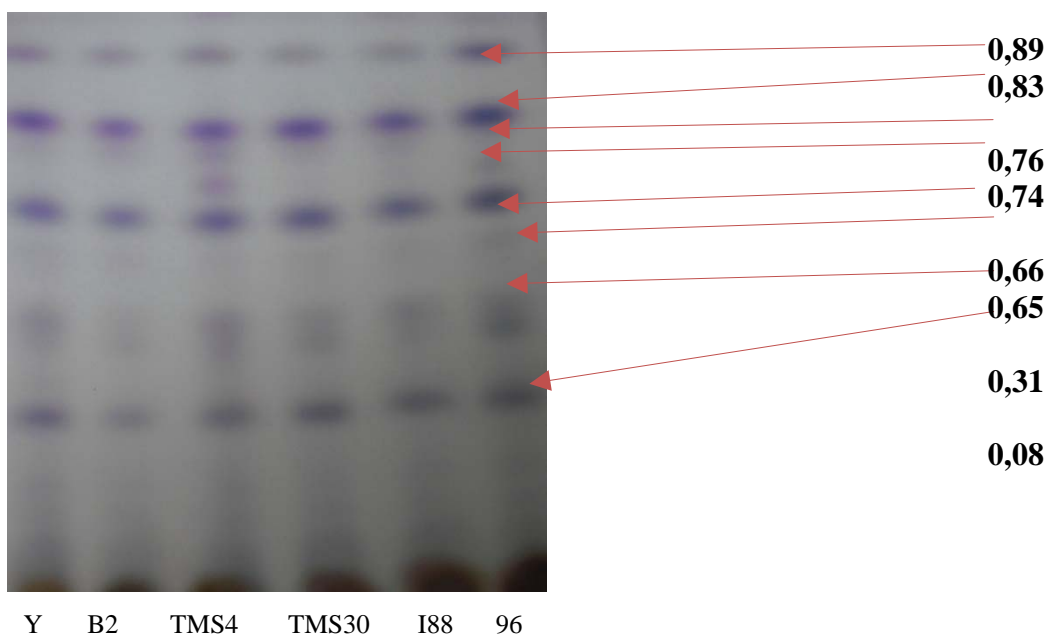
3.2.1. Détection des Stérols et Polyterpènes

En général, les stérols fluorescent sous UV/366 nm en bleu, jaune et vert; et les terpènes en bleu, jaune, vert et violet (Lagnika, 2005). Les stérols se révèlent à l'UV/366 nm avec le réactif de Liebermann-Bürchard en jaune et jaune-vert. Quant aux polyterpènes, ce réactif les classifie d'une part en génines triterpéniques si au visible les taches sont bleues, violettes et d'autre part, en triterpènes de type oléanane et ursane si les taches sont rouges et en triterpènes de type lupane si les taches ont une fluorescence jaune-orangée (Lagnika., 2005). Certains stérols et terpènes se révèlent en bleu et violet respectivement par le réactif de Godin. Ces informations tirées de la bibliographie nous ont permis de faire des attributions au regard des chromatogrammes obtenus (Figures 1 et 2). Les réactifs de Liebermann-Bürchard et de Gogin ont révélé dans tous les 6 cultivars Y, B2, TMS4, TMS30, I88 et 96, la présence de triterpènes de type oléanane et ursane (spots de Rf= 0,83 ; 0,61), de triterpènes de type lupane (spots de Rf= 0,75 ; 0,72 ; 0,31) et de stérols (spots de Rf= 0,89 ; 0,51). Par ailleurs, le chromatogramme (Figure 2) met en évidence dans chacun des cultivars TMS4 et 96 une tache en plus (spot de Rf= 0,76) qui serait un terpène.

Figure 1: Chromatogramme de détection des stérols et polyterpènes révélé par le réactif de Liebermann-Bürchard sous UV/366 nm. Développant : n-C₆H₁₄/AcOEt, 5:1 (v/v)



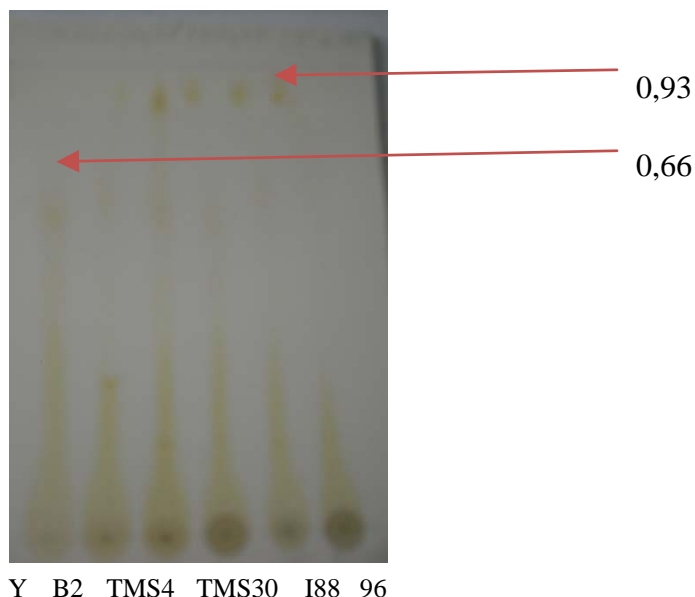
Figures 2: Chromatogramme de détection des stérols et polyterpènes révélé par le réactif de Godin sous UV/366 nm. Développant : n-C₆H₁₄/AcOEt, 5:1 (v/v)



3.2.2. Détection des Alcaloïdes

La détection des alcaloïdes par CCM révélée avec le réactif de Dragendorff a fait ressortir une tache bien visible ($R_f = 0,93$) chez TMS4, TMS30, I88, 96 et une tache de coloration moins intense chez les extraits Y et TMS4 ($R_f = 0,66$). Dans tous les cas, un constat général met en relief la présence d'alcaloïdes dans tous les extraits et ce, par l'apparition de traînées orange à partir de la ligne de base du chromatogramme (Figure 3).

Figure 3: Chromatogramme de détection des alcaloïdes. Développant: $\text{CHCl}_3/(\text{CH}_3)_2\text{CO}/(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NH}$ /Ether de pétrole, 5:4:1:5 (v/v/v/v).



La présence des alcaloïdes dans les extraits d'étude peut probablement justifier l'emploi des feuilles de *Manihot esculenta* dans le traitement de certaines pathologies. En effet, les alcaloïdes sont des molécules biologiquement actives. Certaines d'entre elles présentent diverses activités pharmacologiques entre autres le renforcement de l'activité cardiaque, l'excitation du système nerveux central et des nerfs sympathiques, la stimulation de la circulation sanguine (Lazurevskii *et al.*, (1966).

3.2.3. Détection des Coumarines

Les résultats de la détection et de la caractérisation des coumarines sont rapportés dans le Tableau 2. La majorité des coumarines fluorescent sous UV/366 nm en bleu, violet, rose, vert, jaune, pourpre (Ladiguina *et al.*, 1983 ; Georgievskii, 1990 ; Dawson *et al.*, 1991 ; Dekker, 2002). Certaines coumarines contenues dans les extraits sont colorées dans le visible en jaune. Elles sont de base structurale de daphnétine (Dohou, *et al.*, 2003). Leur couleur s'intensifie après traitement par une solution méthanolique de KOH (5%, m/v). Ce sont les composés de Rf= 0,91 et 0,65 (Ladiguina *et al.*, 1983 ; Georgievskii *et al.*, 1990). L'acétate de plomb basique révèle les coumarines dans le visible en jaune et sous UV/366 nm en vert (Rf= 0,88) (Wagner *et al.*, 1996). Les coumarines sont fluorescentes sous UV/366 nm après traitement par NH_3 en bleu, vert, jaune, pourpre, rose. Aussi importe-t-il de rappeler que l'utilisation des vapeurs NH_3 identifie les coumarines et permet en outre, de déterminer le type de coumarines: le fait que la coloration bleue des taches observées sous UV/366 nm persiste après traitement par NH_3 , indique qu'elles correspondent aux 7-hydroxycoumarines ou 7-hydroxy-6-alkoxycoumarines (Rf= 0,57; 0,55; 0,34). Les taches pourpres sous UV/366 nm qui deviennent vertes après contact avec NH_3 , sont soit l'angélicine soit le coumestrol (Rf= 0,71) (Dekker, 2002). La composition en coumarines est la même dans tous les cultivars. Toutefois, le spot de Rf= 0,93 est jaune chez Y, B2, TMS4 et TMS30 mais violet chez les cultivars I88 et 96. Celui de Rf= 0,32 est bleu chez Y et B2 mais orange chez TMS4, TMS30 I88 et 96. Par conséquent, le composé jaune (Rf= 0,93) semble être de structure de daphnétine et celui de teinte bleue (Rf= 0,32) serait soit une hydroxy- soit une alkoxy coumarine. Les composés de couleur violette (Rf= 0,93) et orange (Rf= 0,32) n'ont pu être identifiés. Au total, nous avons identifié au moins 8 coumarines dans Y et B2 et 7 dans TMS4, TMS30, I88 et 96. Cette présence relativement importante de coumarines dans les feuilles de manioc de Côte

d'Ivoire pourrait faire d'elles des anticoagulants, antimicrobiens et des spasmodiques; un ensemble de propriétés pharmacologiques par excellence qu'on reconnaît aux coumarines (Ladiguina *et al.*, 1983).

3.2.4. Détection des Flavonoïdes

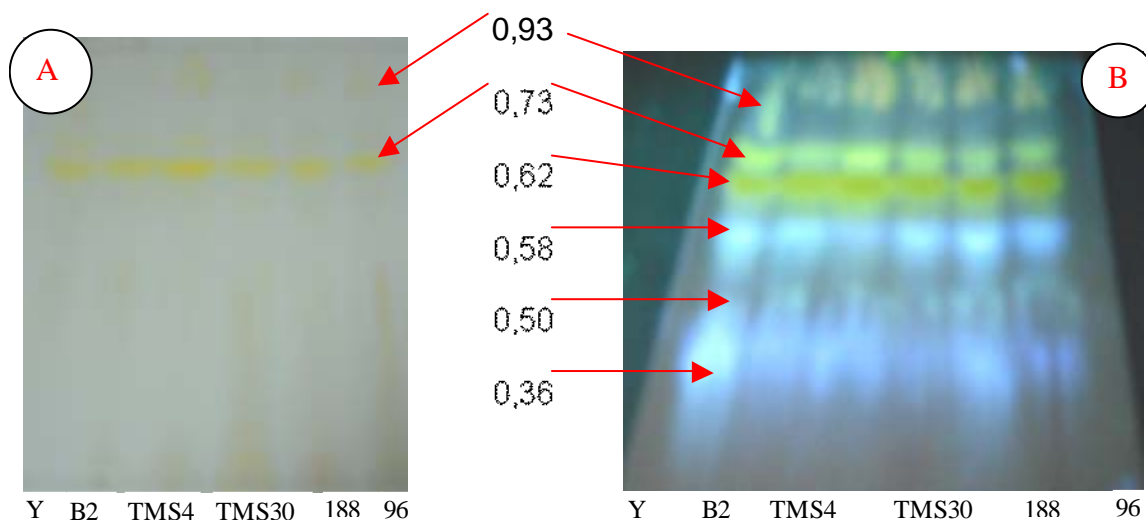
La caractérisation des flavonoïdes dans les extraits bruts a montré que ces composés phénoliques sont fortement présents dans les légumes feuilles des cultivars étudiés. Ce constat est perçu en observant les chromatogrammes (Figures 3 et 4) dont les interprétations sont consignées dans le Tableau 3. Les flavonoïdes sont fluorescents comme d'autres métabolites secondaires sous UV/366 nm. Les xanthones prennent une coloration orange (Ladiguina *et al.*, 1983); les taches jaunes correspondent aux flavonols et/ou aures; les flavones méthylées sont bleues ou pourpres (Dawson *et al.*, 1991). Markham (1982) et Mohammedi (2006) ont montré que les anthocyanidines-3-glycosides donnent des taches orange-rouge et mauve; les flavonols se décèlent sous forme de taches jaunes et vertes, les flavones, flavones méthylées, isoflavones, flavanones et chalcones apparaissent sous forme de taches bleues. Les flavanols et les aures se caractérisent par l'apparition de taches vertes, les flavones et les chalcones présentent une coloration pourpre et orange. Pour se rassurer que ces fluorescences appartiennent aux flavonoïdes, plusieurs révélateurs spécifiques ont été utilisés. Les flavonoïdes forment avec plusieurs réactifs spécifiques (AlCl_3 , Neu) des complexes bien colorés dans le visible ou sous UV/ 366 nm (Georgievskii *et al.*, 1990). En effet, AlCl_3 montre la présence de plusieurs taches de fluorescences différentes, lequel révèle les flavonoïdes en jaune dans le visible.

Tableau 2: Détection des coumarines dans Y, B2, TMS4, TMS30, I88 et 96_Développant : n-BuOH/ AcOH/ H₂O ; 4 :1 :5 (v/v/v)

Extrait	Sans Révélateur				NH ₃		KOH				Acétate de plomb basique				Types des coumarines possibles
	Visible		366nm		366 nm		Visible		366 nm		Visible		UV 366 nm		
	Rf	C	Rf	C	Rf	Couleur	Rf	Couleur	Rf	Couleur	Rf	Couleur	Rf	Couleur	
Y et B2	0,91	Jaune	0,93	Jaune	0,91	J-vert	0,91	Jaune +	0,91	J-bleu	0,88	Jaune	0,91	Jaune-Clair	Coumarine (a) Coumarine (c) 7,8-dihydroxycoumarine (b) Angélicine ou couméstrol (b)
			0,91	jaune									0,88	Vert	
	0,65	Jaune	0,79	Gris-bleu	0,790,71	Vert	0,79	Marron	0,79	Bleu	0,71	Orange	0,71	Vert	
			0,71	Pourpre	0,66	Bl-Vert	0,65	Marron	0,65	Jaune +	0,66	Bleu	0,65	Jaune-foncé	0,65
TMS30 et TMS4	0,91	Jaune	0,65	Pourpre	0,65	Marron-f	0,65	Jaune +	0,65	Bleu-foncé	0,65	Jaune-foncé	0,65	Marron-Org	Coumarine (a) Hydroxy- ou alkoxycoumarines (b) Coumarine (c)
			0,57	Bleu									0,55	Bleu	
	0,65	Jaune	0,55	Vert	0,32	Bleu	0,40	Bleu-Vert	0,32	Bleu-Vert	0,55	Jaune	0,55	Vert	
			0,32	Bleu									0,44	Bleu-Fluor	
I 88 et 96	0,91	Jaune	0,93	Violet	0,91	J-vert	0,91	Jaune+	0,91	J-bleu	0,88	Jaune	0,91	Jaune-Clair	Coumarine (a) Coumarine (c) 7,8-dihydroxycoumarine (b) Angélicine ou couméstrol (b)
			0,91	jaune									0,88	Vert	
	0,65	Jaune	0,79	Gris-bleu	0,790,71	Vert	0,79	Marron	0,79	Bleu	0,71	Orange	0,71	Vert	
			0,71	Pourpre	0,66	Bl-Vert	0,65	Marron	0,65	Jaune +	0,66	Bleu	0,65	Jaune-foncé	0,65
I 88 et 96	0,65	Jaune	0,57	Pourpre	0,57	Marron-f	0,65	Jaune +	0,65	Bleu-foncé	0,65	Jaune-foncé	0,65	Marron-Org	Coumarine (a) Hydroxy- ou alkoxycoumarines (b) Coumarine (c)
			0,55	Bleu									0,55	Bleu	
	0,65	Jaune	0,55	Vert	0,32	Bleu	0,40	Bleu-Vert	0,32	Bleu-Vert	0,55	Jaune	0,55	Vert	
			0,32	Orange									0,44	Bleu-Fluor	

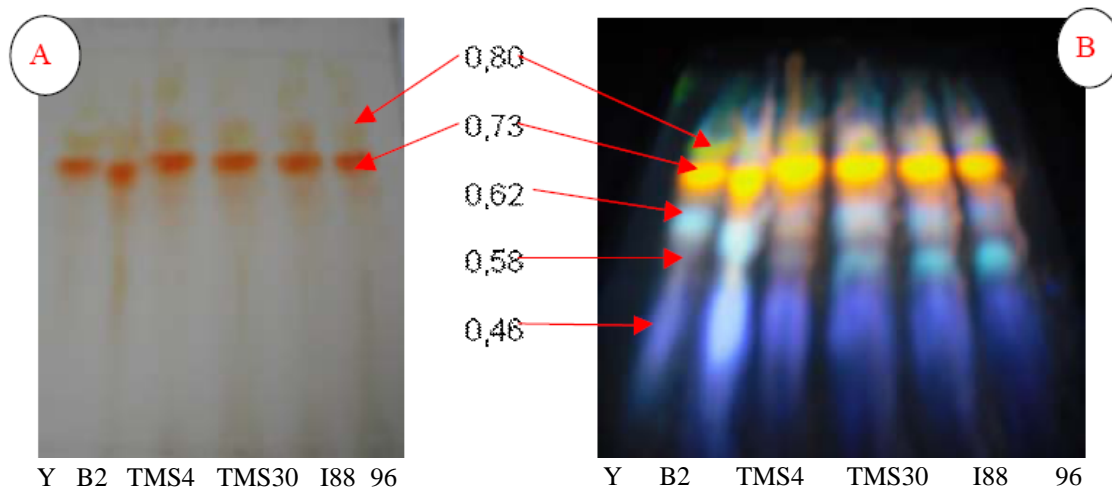
^(a) composé est jaune à visible et plus jaune après KOH ; ^(b) à 366 nm avant et après le traitement par NH₃ ; ^(c) après le traitement par l'acétate de plomb à visible et à 366 nm ; + : intense ; Bl : bleu, vio : violet, J : jaune, Org : orange, Fluor : fluorescent, Marron-f : Marron-fluorescent

Figures 3: Chromatogrammes de détection des flavonoïdes révélés par AlCl_3 dans le visible (A) et sous UV/366 nm (B).



Cependant sous UV/366 nm, la coloration des taches changent du bleu au brun (Lagnika, 2005) ou fluorescent en jaune-vert (Ladiguina *et al.*, 1983) (Figure 3). En somme, dans tous les extrais étudiés, 5 spots correspondent aux flavonoïdes ($R_f = 0,73$; $0,62$; $0,58$; $0,50$ et $0,36$). La présence des flavonoïdes dans les organes étudiés a été confirmée par le réactif de Neu qui les fait apparaître dans le visible sous forme de taches jaune et marron. Sous observation UV/366 nm, ces couleurs s'intensifient et se diversifient (Wagner *et al.*, 1996) (Figure 4).

Figures 4: Chromatogrammes de détection des flavonoïdes révélés par le réactif de Neu dans le visible (A) et sous UV/366 nm (B).



Aussi les flavonoïdes ont-ils été mis en évidence sous UV/366 nm par l'apparition de colorations jaune, orange après révélation avec le réactif de Godin (Chaaib, 2004). Pour chaque tache de couleur spécifique avec un R_f donné, une attribution a été faite avec un type de composé et ce, conformément aux méthodologies rapportées par Markham (1992) et Mohammadi (2006) que nous avons modifiées en associant les résultats que nous avons obtenus par l'emploi du réactif de Neu et du AlCl_3 (Tableau 2). Nous constatons par conséquent, une présence significative de divers types structuraux flavonoïdes dans les extraits étudiés (plus de 8 composés).

I 88 et 6	0,93 0,91	Violet jaune	0,93	Jaune	0,93	Vert-Flu			0,93	J-Clair	Flavone
	0,80	Gris-bleu	0,80	J-Fluor	0,80	Jaune-Flu	0,80	Jaune	0,80	J-Clair	Anthocyanidine-3-glycoside
	0,73	Pourpre	0,73	Orange	0,73	Jaune	0,73	Jaune	0,73	J-Vert	Flavonoïde
	0,65	Pourpre	0,62	Rouge pale	0,62	Vert-Flu			0,62	Bleu-Vert	Flavone, chalcone, isoflavone...
	0,58	Bleu							0,58	Bleu-Fluo	Flavonoïde
	0,55	Vert			0,46	Bleu-Flu			0,50	Brun	Acide phénolique ou catéchol
					0,44-	Trainée bleu			0,36	Bleu-Fluo	Flavonoïde
	0,32	Orange			0,00	flu			0,32	Trainée bleu flu	
									0,00		Acide phénolique ou catéchol

J-: jaune, Flu: fluorescent

Références

- [1] Békro Y. A., Békro M. J. A., Boua B. B., Tra Bi F. H. et Ehile E. E., **2007**. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences et Nature* 4 : pp. 217-225.
- [2] Boua B. B., Békro Y. A., Mamyrbékova-Békro J. A., Wacothon K.C., Ehilé E.E., **2008**. Assessment of sexual stimulant potential of total flavonoïds extracted from leaves of *Palisota hirsuta* Thumb. K. Schum (Commelinaceae). *European Journal of Scientific Research*. 22 (4): 5 33-538
- [3] Bruneton J., **1999**. Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France : Lavoisier.
- [4] Busson F. et Bergeret B., **1958**. Contribution a l'étude chimique des feuilles de manioc *Manihot ulitissima* POHL Euphorbiacées, *médecine tropicale* - Vol. 18 – n° 1
- [5] Byamukama R., Namukobe J. et Kiremire B., **2009**. Anthocyanins from leaf stalks of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Chemistry Departement, Makerere University, P.O. Box 7062, Kampala, Uganda. Vol. 3 (2), pp. 202-225.
- [6] Chaaib K. F., **2004**. Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) Rutaceae. Thèse de doctorat Université de Lausanne (Suisse), 199 p.
- [7] Chhabra S.C., Mahunnah L.A., Mshiu E.N., **1990**. Plants used in traditional medicine in eastern Tanzania. IIL Angiosperms (Euphorbiaceae to Menispermaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 28: 255-283.
- [8] D'abrosca D., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., Fiorentino A., **2007**. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*. 104: 1333-1337.
- [9] Dawson R., Elliott D., Elliott W., Jones K., **1991**. Dictionnaire de biochimiste Edition Mir, Moscou.
- [10] De Almeida A.B.A., Melo P.S., Hiruma-Lima C.A., Gracioso J.S., Carli L., Nunes D.S., Haun M. and Souza Brito A.R.M., **2003**. Antiulcerogenic effect and cytotoxic activity of semi-synthetic crotonin obtained from *Croton cajucara* Benth. *European Journal of Pharmacology* 472 (3): 205-212.
- [11] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A. A., Capasso F., **1999**. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*. 65 (4): 337-353.
- [12] Dekker M., **2002**. Coumarins: analysis by TLC. *Encyclopedia of chromatography*: pp.1-3.
- [13] Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A. et Gmira N., **2003**. *Bull. Sog.Pharm.* France, Bordeaux pp.61-78.

- [14] Frankel F. et Boyd L. C., **1993**. Inhibition of oxidation of human low density lipoprotein by phenolic substances in red wine, *Lancet*, pp. 341.
- [15] Girodet J., Legrand G., Villien B., Mannevy E. et Kammen V. L., **1976**. LOGOS: grand dictionnaire de la langue française. Bordas, Tome II, pp. 2173-3113
- [16] Georgievskii V. P., Komissarenko N. F. et Dmitrouk S. E., **1990**. Substances bioactives des plantes médicinales, édition « Naouka » Novosibirsk: 336 p.
- [17] Harborne J. B., Williams C. A., **2000**. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55 (6): 481-504.
- [18] Hernández T., Canales M., Avila J.G., Duran A., Caballero J., Romo de Vivar A. and Lira R., **2003**. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology*, 88 (2-3): 181-188.
- [19] Husain S. R., Cillard J., Cillard P., **1987**. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*. 26: 2489-2492.
- [20] Ladiguina E. Y., Safronich L. N., Otriacheva V. E., Balandina I. A., Grinkevich N. I., Sorokina A. A., Glizin V. I., Molodojnikova L. M., Mitin Y. S., Samilina I. A. et Ermakova V. A., **1983**. Khimicheskii analiz lekarstvenii rastenii, Moskva vischaya chkola: 172 p. (traduit du russe)
- [21] Lagnika L., **2005**. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg/France): 268 p.
- [22] Lazurevskii G. V., Terntieva I.V., Shamshurine A.A. Prakticheskie raboty po chimii prirodnyx soedinenii., **1966**. Moscou, 335 p. (traduit du russe)
- [23] Lopes M.I., Saffi J., Echeverrigaray S., Pêgas Henriques J.A. and Salvador M., **2004**. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. *Journal of Ethnopharmacology* 95 (2-3): 437-445.
- [24] 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
- [25] Markham K. R., **1992**. Techniques of flavonoid identification biological techniques series. Ed. Treherme J. E. et Rubery P. H. Academic Press., 113p.
- [26] Mohammedi Z. **2006**. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister, 104 p.
- [27] N'Dabalishye I., **1995**. Agriculture vivrière ouest-africaine à travers le cas de la Côte d'Ivoire. Institut des savanes, 384 p.
- [28] Noachovitch G., **1979**. Nourrir pertinemment tous les hommes Tiers-Monde, pp. 795-819 Vol. 20, N° 80
- [29] Pynaert L., **1951**. Le manioc 2^{ème} édition. Direction de l'agriculture Bruxelles. p. 9
- [30] Shahidi F., Wanasundara P. K., **1992**. Phenolic antioxidants, *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 32: 67-103.
- [31] Torel J., Cillard J. & Cillard P., **1986**. Antioxidants activities of flavonoids and reactivity with peroxy radical, *Phytochemistry*, 25: 383-385.
- [32] Wagner H., Bladt S. et Zgainski E., **1996**. Plant drug analysis, a thin layer, chromatography as, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2nd éd. New York, 320 p.