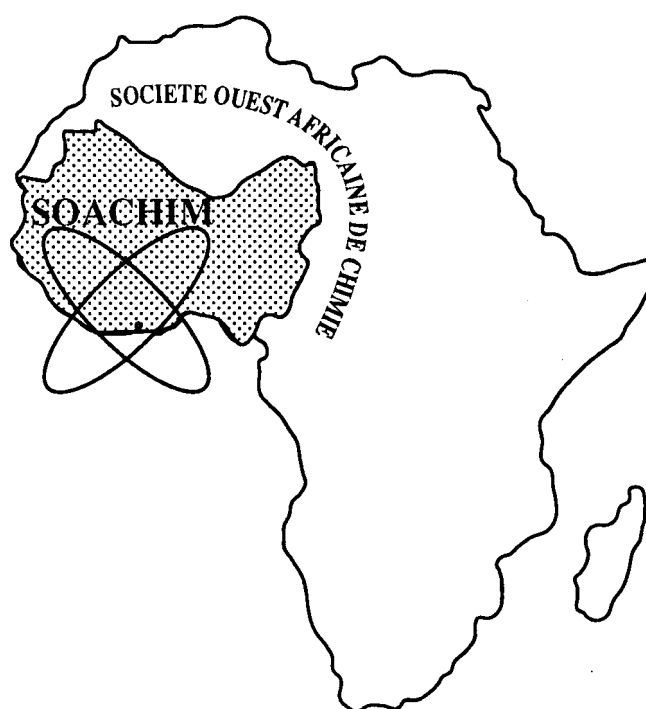


Composition chimique et activité antifongique d'extraits d'Euphorbia hirta L.

**Dior Samb, Abou Moussa Sow, Mohamet Diop,
Nalla Mbaye, Bédié Mbow, Mouhamadou Fofana,
Ibrahima Ndiaye, El Hadj Alioune Fall**

Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie
J. Soc. Ouest-Afr. Chim. (2022), 051 : 87 - 92
27^{ème} Année, 2022



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

A la mémoire de mon cher Professeur Ibrahima Ndiaye

Composition chimique et activité antifongique d'extraits d'*Euphorbia hirta* L.

Dior Samb^{1*}, Abou Moussa Sow¹, Mohamed Diop¹, Nalla Mbaye², Bédié Mbow¹,
Mouhamadou Fofana¹, Ibrahima Ndiaye¹, El hadj Alioune Fall¹

¹ Groupe de Recherche sur les Substances Bioactives, Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques,
Université Cheikh Anta Diop, BP 5005 Dakar, Sénégal.

² Laboratoire de Phytochimie et de Protection des Végétaux ; Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences
et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005 Dakar, Sénégal.

(Reçu le 10/02/2022 – Accepté après corrections le 17/12/2022)

Résumé : L'analyse chromatographique (CPG-SM) des extraits bruts hexanique et acétate d'éthyle d'*Euphorbia hirta* L. a montré que ces extraits sont essentiellement constitués d'acides gras, de composés aromatiques. L'activité antifongique des extraits évaluée en fonction de leur potentiel à inhiber la croissance mycélienne des champignons, a été testée contre *Colletotrichum gloeosporioides* (penz) et *Fusarium sp.*, deux champignons phytopathogènes des manguiers. Les résultats ont montré que l'extrait hexanique a un faible taux d'inhibition, soit moins de 3,0% à 10000 ppm. Pour l'extrait à l'acétate d'éthyle, des taux d'inhibition de 57,0% et 60,0% ont été obtenus à 8000 ppm respectivement pour *Colletotrichum gloeosporioide* et *Fusarium sp.*

Mots clés : *Euphorbia hirta* L., extraits, composition chimique, activité antifongique.

Chemical composition and antifungal activity of *Euphorbia hirta* L. crude extracts

Abstract: The phytochemical screening (GC-MS) of the hexanic and ethyl acetate crude extracts of *Euphorbia hirta* L. revealed that, it essentially contained fatty acids, and aromatic compounds.

Antifungal activity of both crude extracts has been evaluated against mango tree phytopathogenic fungi, *Colletotrichum gloeosporioides* (penz), and *Fusarium sp.* Evaluation of antifungal activity was based on the potential of crude extracts to inhibit the mycelial growth of fungi. The hexanic crude extract showed a weak rate inhibition (< 3.0%) against both fungi. The ethyl acetate crude extract provided 57.0% and 60.0% inhibition rate at 8000 ppm respectively against *Colletotrichum gloeosporioide*, and *Fusarium sp.*

Key words: *Euphorbia hirta* L., extracts, chemical composition, antifungal activity.

* Auteur de correspondance, Dior Samb, E-mail : diorsidi@gmail.com ; Tél : +221 77 264 67 77.

1. Introduction

L'agriculture dispose d'un important potentiel pour contribuer significativement à la croissance du Produit Intérieur Brute (PIB) du Sénégal et l'horticulture constitue un axe majeur de la croissance économique du pays^[1]. Dans beaucoup de pays industrialisés non producteurs de mangues, la consommation a fortement augmenté. Ceci a pour conséquence dans les pays producteurs d'Afrique comme le Sénégal, la valorisation de la ressource avec une augmentation des revenus des producteurs. Le Sénégal fait partie des plus grands exportateurs de mangues en Afrique de l'Ouest, derrière la Côte d'Ivoire, le Mali et le Burkina Faso^[2]. La filière mangue constitue ainsi un secteur prometteur et porteur de croissance. En 2015, le Sénégal a exporté 16770 tonnes de mangues dans la sous-région Ouest africaine et en Europe dont 76% du volume exporté est destiné à l'Union Européenne avec une croissance annuelle moyenne de 20% entre 2000 et 2015^[3]. Malgré un bilan positif ces dernières années, la production de mangues est confrontée à de nombreux problèmes entomologiques qui sont souvent d'ordre phytopathologiques. En effet, beaucoup de maladies telles que l'antracnose et la fusariose, qui sont très fréquentes chez les manguiers (*Mangifera indica L.*), surviennent à différents stades de la production^[4-7], entraînant ainsi une dépréciation de la qualité du produit et des pertes de rendements énormes. Ces infections sont généralement dues à des champignons phytopathogènes parmi lesquels on peut citer *Colletotrichum gloeosporioides* (penz) et *Fusarium sp.*^[8, 9].

Au Sénégal, les dégâts provoqués par ces pathogènes sur les fruits sont à l'origine de 90% des pertes de production dans certaines régions comme la Casamance^[10] et plus de 42% dans la zone des Niayes^[8, 10]. Pour limiter ces pertes, les agriculteurs utilisent des pesticides de synthèse^[11, 12]. Cependant, il a été noté que l'utilisation de ces produits chimiques bien qu'efficaces dans la lutte contre les agents fongiques causent d'énormes dégâts sur la santé et l'environnement. En effet, les résidus de pesticides sur les récoltes sont responsables d'une toxicité à long terme sur les organes de la plante, sur l'environnement et sur les consommateurs^[13]. Ainsi, l'utilisation des extraits de plantes comme alternative aux pesticides chimiques pourrait constituer une voie salubre. De ce fait, la recherche de molécules bioactives issues d'extraits de plantes devient une priorité.

Notre travail consiste à étudier la composition chimique des extraits d'*Euphorbia hirta L.* et d'évaluer leur activité antifongique contre

Colletotrichum gloeosporioides (penz) et *Fusarium Mangifera.*, en vue de l'amélioration des conditions de production, de conservation et d'exportation de la mangue.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

La plante entière d'*Euphorbia hirta L.* a été collectée au jardin botanique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Les feuilles, tiges et racines ainsi récoltées ont été lavées puis séchées au laboratoire à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant quarante jours. La matrice sèche a été ensuite broyée à l'aide d'un moulin à mil artisanal jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

2.2. Champignons

Deux champignons phytopathogènes ont été utilisés pour les tests ; il s'agit de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) et *Fusarium sp.* Les souches ont été isolées des feuilles et des fruits de manguiers infestés. L'identification a été effectuée au microscope (Motic B3 professional Series, input : 12v =2A, Lamp : 12V/ 20W Halogen).

2.3. Préparation des extraits

Une masse de 700 g de poudre d'*Euphorbia hirta L.* a été macérée dans 2 litres d'éthanol pendant 24 heures puis filtrée. Le filtrat ainsi obtenu a été évaporé sous vide puis le résidu déposé dans des verres de montre et placé sous la hotte afin d'éliminer toute trace de solvant. Les 24,88 g d'extrait brut éthanolique obtenus sont repris dans 100 mL d'eau puis soumis à une nouvelle extraction avec 2 fois 100 mL d'hexane. Après décantation et évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif, 16,30 g d'extrait brut hexanique sont obtenus. La phase aqueuse a ensuite été extraite avec 100 mL d'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 2,34 g d'extrait à l'acétate d'éthyle après évaporation. L'activité antifongique des extraits bruts hexanique et acétate d'éthyle a été évaluée contre les deux champignons.

2.4. Screening chimique des extraits

Le criblage phytochimique a été réalisé pour définir la présence ou non de famille de composés (polyphénols, alcaloïdes, quinones, flavonoïdes, saponines, tannins et stérols, coumarines, leucoanthocyanes, mucilages) dans les différents extraits bruts.

2.4.1 Polyphénols

Dans 2 mL d'extrait, on ajoute une goutte d'une solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 2%. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte

plus ou moins foncée indique la présence des polyphénols.

2.4.2 Alcaloïdes : test de Mayer

L'extrait est repris dans 2 mL d'acide chlorhydrique (HCl) dilué à moitié. La formation d'un précipité jaune, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (1,35g de HgCl₂ + 5g de KI dans 100 mL d'eau distillée, témoigne de la présence d'alcaloïdes.

2.4.3 Tannins catéchiques : réaction de Bate-Smith

Un mélange de 0,5 mL d'extrait et 1 mL d'acide chlorhydrique (HCl) concentré porté à ébullition pendant 5 min, montre une coloration rouge brique s'il y a présence de tannins catéchiques.

2.4.4 Tannins galliques : réaction de Stiasny

Si l'addition de 0,5 mL du filtrat des tanins catéchiques à 5mL de CH₃CO₂Na (5M) en présence de et 3 à 4 gouttes d'une solution de FeCl₃ 2% donne une coloration bleue noire qui se développe cela confirme l'existence de tannins galliques. En présence du réactif de Stiasny, les tannins condensés précipitent.

2.4.5 Stérols et polyterpènes : réaction de Liebermann

L'extrait est dissout dans 1 mL d'anhydride acétique, on y ajoute 0,5 mL d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive.

2.4.6 Flavonoïdes

Une petite quantité de l'extrait est dissoute dans 1 mL d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et on n'y additionne de quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration allant de l'orange au rouge pourpre indique une réaction positive aux flavonoïdes^[14].

2.4.7 Leucoanthocyanes

Elles sont caractérisées par la réaction à la cyanidine sans ajout de copeaux de magnésium avec chauffage pendant 10 à 15 mn au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes il se développe une coloration rouge cerise ou violacée.

2.4.8 Mucilages

A un volume de 1 mL d'un décocté à 10% sont ajouté 5 mL d'éthanol absolu, l'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilage.

2.4.9 Coumarines

On fait une extraction avec 5 ml d'éther pendant 24h, après évaporation de l'éther, on y ajoute 2 mL d'eau distillée chaude. La solution ainsi obtenue est partagée entre 2 tubes à essai. On ajoute de 0,5 mL d'une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 25 % dans l'un des tubes à essai, l'apparition d'une fluorescence bleue intense sous une lampe UV à 366 nm indique la présence de coumarines.

2.5 Analyse chromatographique des extraits

La composition chimique des extraits bruts hexanique et à l'acétate d'éthyle a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse (CPG, Agilent 7890) couplée à un détecteur à ionisation de flamme (FID, 6890 Agilent) et à un spectromètre de masse (SM, Agilent 5975). A cet effet, 1 µL d'extrait brut dilué à 10% dans l'éthanol est injecté par analyse. La colonne utilisée est polaire de type VF-WAX (60 m x 0,25 mm, 0,5µm d'épaisseur de film). La programmation de température est la suivante : isotherme à 70°C pendant 6 min puis élévation graduelle de 5°C/min jusqu'à 250°C où la température est maintenue pendant 90 min. Le gaz vecteur est l'hélium à flux constant de 30 psi pour la CPG/FID et 23 psi pour la CPG/SM. Pour cette dernière, l'abondance relative des pics est comprise entre 30 et 350 m/z.

Le pourcentage de chaque constituant a été déterminé grâce au couplage CPG/FID en faisant le rapport de l'aire du pic intégrée par ce constituant sur la somme des aires de tous les composés. Quant à l'identification, elle a été effectuée par comparaison des temps de rétention obtenus en CPG/FID et des spectres de masse obtenus en CPG/SM avec ceux de la base de données NKS (75 000 spectres).

2.6 Préparation du milieu de culture biologique

Le milieu de culture est à base de PDA (Potato Dextrose Agar). Une masse de 39 g de PDA est dissoute dans 1 litre d'eau distillée puis homogénéisée avec l'agitateur magnétique. Le mélange est par la suite stérilisé par autoclavage pendant 90 min à une température de 120°C et une pression de 1,5 bar. Après 30 min de refroidissement, le milieu de culture est coulé dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre à raison de 20 ml par boîte. Les boîtes de pétri sont laissées pendant 48 heures sous la hotte pour s'assurer que le milieu de culture soit dépourvu de contamination avant ensemencement.

2.7 Evaluation de l'activité antifongique des extraits

L'activité antifongique des extraits a été testée contre deux champignons, *Colletotrichum gloeosporioides*

(penz) et *Fusarium sp.* Cette activité a été évaluée en fonction du taux d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons par les extraits. Pour ce faire, différentes doses d'extraits ont été préparées en diluant l'extrait dans 1 mL d'éthanol et complété jusqu'à 100 mL de solution de PDA. Le témoin négatif est constitué uniquement de 1 mL d'éthanol et de 99 mL de PDA sans ajout d'extrait. Les tests sont réalisés en triplicata. 24 heures après la préparation des doses, l'inoculation est faite en déposant un disque mycélien d'environ 1,1 cm de diamètre d'une pré-culture âgée de 7 jours au centre de la boîte de pétri. Ces boîtes ont été incubées à 30 °C à l'étuve. La mesure des diamètres de la croissance mycélienne des colonies est faite sur deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de pétri. L'évaluation a été effectuée toutes les 48 heures pendant une semaine. Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne exprimé en % est calculé selon la formule suivante ^[15]:

$$I(\%) = \frac{D - d}{D} \cdot 100$$

D : représente le diamètre de croissance mycélienne du champignon dans les boîtes témoins

d : représente le diamètre de croissance mycélienne du champignon dans les boîtes traitées avec les extraits.

3. Résultats et discussion

Les rendements d'extraction sont de 2,3% et 0,33% respectivement pour l'extrait hexanique et celui acétate d'éthyle.

3.1 Composition chimique des extraits

3.1.1 Screening chimique

Le **tableau I** présente les résultats du screening chimique réalisé sur les extraits hexanique et acétate d'éthyle. Le screening chimique a permis d'identifier les différentes familles de composés présentes dans les extraits hexanique et acétate d'éthyle. Les stérols, polyterpènes et mucilages ont été détectés dans les deux types d'extrait. Quant aux coumarines et tanins galliques, leur présence n'a été notée que dans l'extrait acétate d'éthyle. Les autres familles de composés recherchées (flavonoïdes, polyphénols, leucoanthocyanes, tanins catéchiques) sont absentes dans les deux extraits.

Tableau I : Screening chimique

Métabolites	Extrait hexanique	Extrait acétate d'éthyle
Polyphénols	-	-
Flavonoïdes	-	-
Alcoïdes	-	-
Stérols et polyterpènes	+	+
Leucoantocyanes	-	-
Mucilages	+	+
Coumarines	-	+
Tanins catéchiques	-	-
Tanins galliques	-	+

3.1.2 Composition chimique de l'extrait hexanique

L'analyse chromatographique a montré que l'extrait hexanique est essentiellement composé d'acides gras (58,2%) (**Tableau II**). En effet, les composés majoritaires de cet extrait sont l'acide linoléique (30,3%) et l'acide palmitique (18,4%). Les deux autres acides présents dans l'extrait sont l'acide linoléique (7,8%) et l'acide myristique (1,7%). Nous avons aussi noté la présence de l'acétate d'isophytyle (15,5%) et du phytol (14,3%).

Tableau II Composition chimique de l'extrait hexanique d'*Euphorbia hirta L.*

Nom des composés	Temps de rétention (min)	Composition (%)
Acétate d'isophytyle	55,5	15,5
Palmitate d'éthyle	70,0	1,5
Oléate d'éthyle	79,3	0,9
Linoléate d'éthyle	81,8	1,0
Linoléate d'éthyle	84,5	2,7
Phytol	85,4	14,3
Acide myristique	88,1	1,7
16-octadécénal	96,1	1,3
Acide palmitique	96,3	18,4
Bis(2-éthylhexyl)phthalate	107,2	4,6
Acide linoléique	108,0	7,8
Acide linoléique	111,6	30,3
total		100

3.2 Activité antifongique : taux d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons en fonction des extraits

L'extrait hexanique a enregistré des taux d'inhibition faibles (2,4% et 2,9%) ce qui indique une faible concentration ou une faible activité de ces substances antifongiques.

Pour l'extrait acétate d'éthyle, les taux d'inhibition pour *Colletotrichum gloeosporioides (penz)* et *Fusarium sp.* respectivement de 57% et 60% ont été obtenus à 8000 ppm.

Tableau III Composition chimique de l'extrait acétate d'éthyle d'*Euphorbia hirta* L.

Nom des composés	Temps de rétention (min)	Composition (%)
Pinène isomères	10,0	0,34
β-myrcène	11,3	0,28
limonène	12,5	13,16
1,8-cinéole	12,8	1,03
p-cymène	14,7	0,17
4-hydroxy-4méthylpentan-2-one	17,5	0,62
acide acétique	20,0	0,46
Alcène	20,5	29,9
Linalol	22,8	0,60
β-caryophyllène	25,0	0,41
α-terpinéol	26,9	0,23
Alcane	29,9	0,92
2-méthoxy-5-méthyl-thiophène	30,3	2,18
acétate de lauryle	31,5	1,89
acétate d'isophytyle	32,7	1,50
dodécane-1-ol	33,2	1,38
acétate d'isophytyle isomère	33,3	0,42
acrylate de dodécyle	34,0	5,22
(E)-cinnamaldéhyde	35,0	1,99
ester aliphatique	38,4	0,44
palmitate d'isopropyle	39,2	1,24
diéthylphthalate	41,3	2,23
ester aliphatique	41,8	0,54
hexadécane-1-ol	42,3	0,82
acide benzoïque	42,5	0,43
acide laurique	43,2	0,88
octadécane-1-ol	43,4	1,52
3,5-di-ter-butyl-4-hydroxybenzaldéhyde	43,8	0,68
acétate aliphatique	47,0	2,11
diisobutyl phthalate	47,4	
acide palmitique	51,6	3,90
(z) octadéc-9-énamide	53,2	4,99
acide stéarique	58,2	1,59
Bis (2-éthylhexyl) phthalate	61,0	8,27
composé hydroxycétonique	62,7	2,15
Total		99,89

Tableau IV Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* (penz) et *Fusarium sp.* en fonction de la concentration des extraits d'*Euphorbia hirta* L.

Champignons	Extrait hexanique	Extrait acétate d'éthyle
<i>Colletotrichum Gloeosporioides</i> (penz)	8000 ppm : 2,4%	8000 ppm : 57,0%
<i>Fusarium sp.</i>	8000 ppm : 2,9%	8000 ppm : 60,0%

L'extrait acétate d'éthyle plus riche en métabolites secondaires présente des taux d'inhibition plus importants que l'extrait hexanique. Cela est dû à la polarité du solvant acétate d'éthyle qui extrait les composés polaires dont certains ont une activité antifongique très élevée.

4. Conclusion

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antifongique des deux extraits de la plante *Euphorbia hirta* L. et d'identifier certains constituants

chimiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

Les tests menés sur *Colletotrichum gloeosporioides* (penz) et *Fusarium sp.* ont montré que l'extrait acétate d'éthyle est le plus actif avec des taux d'inhibition allant de 57 à 60% à 8000 ppm, par contre l'extrait hexanique le moins actif présente des taux d'inhibitions très faibles (2,9 % et 2,4 % à 8000 ppm) montrant ainsi une faible présence de molécules antifongiques. La plante *Euphorbia hirta* L. est une alternative pour inhiber la croissance mycélienne des champignons au laboratoire.

5. Références

- [1] Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie / service régionale de la statistique et de la démographie de Dakar : situation économique du Sénégal (2013), 1.
- [2] Strebelle J., Analyse et propositions sur la construction des marchés locaux nationaux régionaux en Afrique analyse complémentaire : Position des op dans la filière mangue en Afrique de l'ouest et au Sénégal ; Partenariat Afrique/Europe pour des Politiques Agricoles et Agroalimentaires plus Durables et Solidaires. Bruxelles (2013), 23.
- [3] Ministère du commerce, du secteur informel de la consommation, de la promotion des produits locaux et des PME et l'USAID. La Semaine de la mangue du Sénégal autour du thème : La Mangue ! Délicieux trésor de l'Afrique de l'Ouest (2016), 15.
- [4] Alemu K., Ayalew A., Woldetsadik K., Effect of aqueous extracts of some medicinal plants in controlling anthracnose disease and improving postharvest quality of mango Fruit. *Persian Gulf Crop Protection* (2014) 3(3), 84-92.
- [5] Arauz LF., Mango Anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. *Plant Diseases* (2000) 84 (6), 600-611.
- [6] Zakaria L., Juhari NZ., Vuaya SI., Anuar ISM., Molecular Characterization of *Colletotrichum* Isolates Associated with Anthracnose of Mango Fruit. *Sains Malaysiana*, (2015) 44 (5), 651-656.
- [7] Cissé MM : Activité antifongique de quatre huiles essentielles de la flore du Sénégal dans la lutte contre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., champignon pathogène responsable de l'anthracnose de la mangue (*Mangifera indica* L.), mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Phytopharmacie et Protection des Végétaux, Université Cheikh Anta Diop, Dakar. FST : (2016), 22.
- [8] Mbaye N., Inventaire et caractérisation des champignons phytopathogènes responsables de maladies post-récolte des mangues (*Mangifera indica* L.) produites dans la zone des Niayes du Sénégal: cas des variétés Kent et Keitt, destinées à l'exportation. Thèse 3^{ème} Cycle de Biologie Végétale, Fac. Sciences, (2006) ,121.
- [9] Diédhiou PM., Mbaye N., Dramé A., and Samb PI., Alteration of post-harvest diseases of mango *Mangifera indica* through production practices and climatic factors. *African Journal of Biotechnology*, (2007) 6 (9), 1087-1094.
- [10] Diédhiou PM., Diop SAG., Mbaye N., Diédhiou I., Diallo Y., Djiba S., Faye R., Samb PI., Mango rotting in southern Senegal a big phytosanitary challenge. *International Journal of Biosciences*, (2014a) 5 (5), 183-188.
- [11] Wafaa H., Shabaan AM., Saleh M.A.E., Biological Management of Mango Malformation Using Antifungal Compound from *Streptomyces aureofaciens*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. (2014) 49, 283-291.
- [12] Diédhiou PM., Diop SAG., Mbaye N., Diédhiou I., Diallo Y., Djiba S., Faye R., Samb P.I., Mango rotting in southern Senegal a big phytosanitary challenge. *International Journal of Biosciences* (2014a) 5 (5), 183-188.
- [13] Ozbay N., Newman SE., Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathol J.* (2004) 3, 9-18.
- [14] Najaa MA., "Teknik Pengamalan Khalwah dalam Tariqah di Malaysia." *AL-'ABQARI: Journal of Islamic Social Sciences and Humanities* (2011).
- [15] Doumbouya M., Abo K., Lepengue AN., Camara B., Kanko K., Aidara D., Koné D., Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huiles essentielles, sur des champignons telluriques des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Sciences* (2012) 50, 3520-3532.