

CARACTERISATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DE
PISTACIA LENTISCUS ET FRAXINUS ANGUSTIFOLIA

Boukerouis Djoudi, Atmani Dina et Atmani Djebbar

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A. MIRA de Bejaia, argua Ouzamour, 06000 (Algérie).
E-mail : boukerouisdjoudi@yahoo.fr Tel/Fax : 034219396.

Résumé :

Cette étude est consacrée à la caractérisation de l'effet antioxydant des extraits de *Pistacia lentiscus* et de *Fraxinus angustifolia*, dans le but d'établir un appui scientifique pour leur exploitation dans le domaine thérapeutique. Les extraits de feuilles de *P. lentiscus* ont exprimé des effets anti-DPPH avoisinant 90% à 100µg/ml. L'écorce et les feuilles de *F. angustifolia* ont montré aussi des effets relativement importants (87%). Les extraits aqueux du chloroforme et d'hexane des feuilles de *P. lentiscus* sont doués d'un potentiel anti-radicalaire intéressant, en exprimant respectivement, des IC_{50} de 2,89 et 3,08µg/ml. Quant aux extraits de *F. angustifolia*, la meilleur IC_{50} obtenue est celle de l'extrait éthanolique de l'écorce (28µg/ml) alors que les extraits apolaires ont exhibé des IC_{50} élevées (>100µg/ml). La chromatographie sur couche mince appliquée aux extraits de *P. lentiscus* et *F. angustifolia* a permis d'isoler les fractions responsables de l'effet scavenger.

Mots clés : Caractérisation, *F. angustifolia*, *P. lentiscus*, 2, 2 diphénylpicrylhydrazil (DPPH), activité antiradicalaire, chromatographie sur couche mince.

Abstract:

This study is consecrated to characterize the antioxydant activity of *Pistacia lentiscus* and *Fraxinus angustifolia*; in order to establish a scientific support for their exploitation in the therapeutic domain. *P. lentiscus* leaf extracts exhibited high scavenging activity superior to 90% at 100µg/ml. *F. angustifolia* leaf and bark extracts showed also relatively high activity (87%). Aqueous fractions from hexane and chloroform of *P. lentiscus* leaf extracts showed an interesting anti-radical capacity, with IC_{50} values of 2.89 and 3.08µg/ml, respectively. In the case of *F. angustifolia*, the best IC_{50} is that of bark ethanolic extract (28µg/ml) whereas apolar extracts exhibited high IC_{50} values (>100µg/ml). Thin layer chromatography analysis of *P. lentiscus* and *F. angustifolia* extracts allowed the isolation of fractions responsible for scavenging effect.

Keywords: Characterization, *F. angustifolia*, *P. lentiscus*, 2, 2 diphénylpicrylhydrazil (DPPH), anti-radical activity, thin layer chromatography.

I- Introduction

En Algérie les plantes médicinales sont utilisées de façon traditionnelle dans le traitement des pathologies inflammatoires. En effet, les métabolites secondaires des végétaux supérieurs sont une source intéressante de substances qui peuvent lutter contre le stress oxydant, tel est le cas des composés phénoliques. Dont, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant.

II- Matériel et méthodes

II-1- Extraction des principes actifs

Le matériel végétal a été récolté en juillet 2006 dans un endroit naturel à Azrun Bechar à Amizour dans la willaya de Bejaia. Après séchage à l'air libre et broyage, nous avons adopté la méthodologie d'extraction des polyphénols décrite par Chiang et ses collaborateurs (Chiang et al., 1994), avec de légères modifications.

II-2- Evaluation de l'activité anti-radicalaire contre le radical DPPH

La méthode menée dans notre travail pour l'évaluation de l'effet scavenger des extraits des deux plantes contre le radical DPPH est celle de Maisuthisakul et ses collaborateurs (2007).

II-3- Etude chromatographique des extraits des plantes

Les extraits ont été fractionnés par chromatographie sur couche mince de gel de silice, l'analyse des chromatogrammes a été réalisée à la lumière du jour, sous UV et avec la vanilline sulfurique. La mise en évidence des fractions dotées d'activité anti-DPPH a été effectuée par pulvérisation de la solution éthanolique de radical DPPH selon la méthode de Sievers et al. (2002).

III- Résultats.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire contre le radical DPPH des deux plantes à la concentration de

Tableau I. Activité anti-radicalaire contre le DPPH à 100µg/ml des extraits de *P. lentiscus* et *F. angustifolia*.

Extraits	Effet scavenger (%)		
	<i>P. lentiscus</i>	<i>F. angustifolia</i>	
	Feuilles	Ecorce	Feuilles
Ethanol	90,87±0,20 ^b	87,96± 0,68 ^a	76,94± 1,84
Acétate d'éthyle	90,93±0,77 ^b	87,11± 1,74 ^a	68,29± 1,00
Aqueux acétate d'éthyle	90,74 ±1,48 ^b	87,11± 0,27 ^a	87,53± 1,07 ^a
Chloroforme	92,40±1,12 ^c	35,70± 2,10	57,09±1,37
Aqueux chloroforme	93,34±0,41 ^c	nd	nd
Hexane	93,80±0,69 ^c	21,44± 0,29	38,18±1,47
Aqueux hexane	92,92±1,87 ^c	nd	nd

-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
 -Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0,05).

100µg/ml a montré que l'effet des extraits de *P. lentiscus* est le plus fort avec une moyenne qui dépasse 90%, une valeur supérieure même à celle des standards (acide gallique, rutine, acide tannique) (tableau I et II). D'autre part, l'écorce et les feuilles de *F. angustifolia* ont manifesté aussi des effets relativement importants (87%), notamment au

Tableau II. Activité anti-radicalaire contre le DPPH à 100µg/ml des standards.

Standards	Effet scavenger (%)
A. ascorbique	93,15±0,98
A. gallique	87,33±0,59
Catéchine	81,68±0,37a
Rutine	82,76±0,41a

- Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=3)
- Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0,05).

niveau des trois premiers extraits (éthanol, acétate d'éthyle et aqueux d'acétate d'éthyle), tandis que les deux derniers extraits (chloroforme et hexane) ont exprimé des effets faibles (tableau I).

Les extraits ayant manifesté un effet scavenger supérieur à 50% ont été testés selon leur capacité à

réduire le radical DPPH en fonction de leur concentration en parallèle avec les standards. La majorité de ces extraits a atteint des activités basses à 10µg/ml ; par contre, l'extrait éthanolique et les extraits aqueux de feuilles de *P. lentiscus* ont maintenu leur effet stable à cette concentration. Par conséquent, les IC₅₀ qui expriment le potentiel anti-radicalaire le plus important sont celles des extraits aqueux d'hexane et chloroforme des feuilles de *P. lentiscus* avec des valeurs de 2,89 et 3,08µg/ml, respectivement (tableau III). Ces valeurs sont comparables à celles de molécules connues pour leur effet anti-radicalaire, comme l'acide gallique, la catéchine et la rutine (tableau IV), suivis par celles de l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux d'acétate d'éthyle (6µg/ml) de la même plante. Pour le reste des extraits, leurs IC₅₀ varient de 28µg/ml pour l'extrait éthanolique de l'écorce aux IC₅₀ les plus élevées (>100µg/ml) des feuilles et l'écorce de *F. angustifolia* (tableau III).

Les résultats de l'étude chromatographique sur couche mince ont montré la richesse des extraits des deux plantes en divers composés doués de l'effet anti-radicalaire.

Tableau III. Détermination des IC₅₀ des extraits de *P. lentiscus* et *F. angustifolia*.

Extraits	IC ₅₀ (µg/ml)		
	<i>P. lentiscus</i>	<i>F. angustifolia</i>	
	Feuilles	Ecorce	Feuilles
Ethanol	6,45 ± 0,59 ^b	28,75 ± 5,83	54,46 ± 2,38
Acétate d'éthyle	46,98 ± 0,45d	40,90 ± 1,36c	59,32 ± 3,35
Aqueux acétate d'éthyle	6,08 ± 0,45b	40,16 ± 0,26c	46,87 ± 1,89d
Chloroforme	47,66 ± 0,33d	>100	82,73 ± 3,31
Aqueux chloroforme	3,08 ± 0,6a	nd	nd
Hexane	47,39 ± 0,15d	>100	>100
Aqueux hexane	2,89 ± 0,6a	nd	nd

- Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=3) ; - Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0,05).

Tableau IV. Détermination des IC₅₀ des standards.

Standards	Effet scavenger (%)
A. ascorbique	4,8±0,38
A. gallique	2,86±0,73a
Catéchine	3,7±0,24
Rutine	3,42±0,56a

- Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=3)
 -Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0,05).

IV- Discussion

Ces différents résultats pourraient se justifier par les teneurs variables et la diversité des molécules contenues dans les extraits. En effet, l'importante activité anti-radicalaire des extraits de feuilles de *P. lentiscus* serait essentiellement due, d'après l'étude chromatographique, aux formes complexes des composés phénoliques, notamment les tannins hydrolysables et leurs dérivés (dérivés galloyles). Les extraits aqueux du chloroforme et d'hexane qui ont exprimé des potentiels anti-radicalaires intéressants apparaissent les plus riches en ces composés.

L'analyse chromatographique des extraits de l'écorce de *F. angustifolia*, suggère que leur activité anti-radicalaire serait due à différents dérivés phénoliques simples d'après leur couleur sous UV et leur RF. Quant aux feuilles de *F. angustifolia* l'effet anti-radicalaire est dû à deux

fractions, dont une serait la rutine (Kostova et Iossifova, 2006).

V- Conclusion

Nous concluons à partir de cette étude que les extraits des deux plantes constituent une source inestimable en divers composés phénoliques doués d'activité anti-radicalaire, ce qui témoigne et justifie leur utilisation en médecine traditionnelle dans le traitement de maladies liées au stress oxydant.

VI- Références

- [1] Chaing, H.S.; Juilo, Y.; and Lu, F. J. (1994). Xanthine oxidase inhibitors form the leaves of *Alsophila Spinulosa* (hook) Tryon. *Journal of Enzyme Inhibition*, 8(1): 61-71.
- [2] Kostova, I.; and Iossifova, T. (2007). Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia*, 78: 85-106.
- [3] Maisuthisakul, P.; Pongaswatmanit, R. and Gordon, M. H (2007). Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). *FoodChemistry*, 100:1620-1629.
- [4] Sievers, A.; Oshinowo, L.; Schultze, W.; Koch, A.; and Richter, R. (2002). Simple thin-layer chromatographic test for antioxydative compounds using DPPH assay. *Camag Bibliography Service*, 88: 14-15.

