

ÉTUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES COMPOSES PHENOLIQUES EXTRAITS DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES DE LA REGION DE BEJAIA

MEKHOUKHE A., MADANI K., CHIBANE M., BRAHMI N.

Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Laboratoire de Biomathématiques, Biochimie, Biophysique et Scientométrie BEJAIA 06000

Email : idoudou.16_04@yahoo.fr

Résumé :

L'objectif de cette étude, est l'estimation de la quantité en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins au niveau des cinq extraits méthanolique de plante (*Ceratoniasiliqua*L, *Crataegus monogyna*Jac, *Fraxinus excelsior*L, *Quercus coccifera*Let *Urticadioica*L). La teneur en polyphénols totaux varie entre 180,85 - 369,76 mg/g MS. les flavonoïdes sont entre 25,60 - 50,56 mg/g MS. La teneur en tanins oscille entre 6,06 - 36,05mg/g MS. Les résultats de l'activité antioxydante obtenus montrent que dans l'ensemble, les plantes présentent un fort pouvoir réducteur mais également une activité antiradicalaire contre le radical DPPH.

Mots clés : Plantes; composés phénoliques; activité antioxydante

Abstract : The aim of this work was to estimate the amount of total polyphenols, flavonoids and tanins present in methanol extract of five plants (*Ceratoniasiliqua*L, *Crataegus monogyna*Jac, *Fraxinus excelsior*L, *Quercus coccifera*L and *Urticadioica*L). Total polyphenol content ranged from 180,85 to 369,76mg/g DM. Flavonoids content oscillate from 25,60 to 50,56mg/g DM. Tanin content ranged from 6,06 to 36,05mg/g DM. Plants extracts were found to have significant antioxidant activities, as evaluated by two methods; DPPH free radical scavenging and reducing power.

Key words: plants, phenolics compounds, antioxidant activity

Introduction

La recherche des substances naturelles à base de plantes médicinales, est un thème porteur depuis quelques années. Les laboratoires pharmaceutiques, toujours à la recherche de nouveaux composés actifs, se tournent de plus en plus, vers l'identification et la caractérisation de molécules issues de matrices naturelles (Wills *et al.* 2000; Djeridane *et al.* 2006). L'étude des caractéristiques de substances naturelles (polyphénols) est l'un des axes de recherche prioritaire de notre laboratoire. Notre travail actuellement est porté sur l'étude de quelques plantes médicinales de la région de Bejaia, d'extraire leur principes actifs (composés phénoliques), de les doser et d'évaluer leur activité antioxydante.

Matériels et méthodes

Prétraitements : Les feuilles des cinq plantes ont été sélectionnés et collectés au niveau de la région de Bejaia, et elles ont subies des prétraitements préalables avant l'extraction (figure1)

Extraction

L'extraction est de type liquide solide (macération 200mg de poudre) par un solvant polaire (méthanol 99%) réalisée selon le protocole décrit par Owen et Johns (1999)

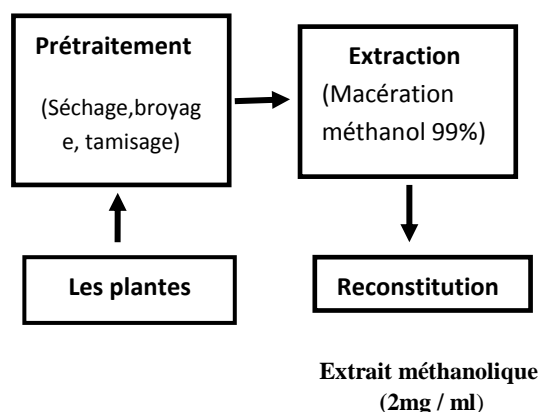


Figure 1. Schéma illustrant les principales étapes de traitement des feuilles des différentes plantes

Etude phytochimique

Dosage des polyphénols totaux

La quantité en polyphénols totaux, est déterminée selon la méthode décrite par Owen et Johns (1999) un volume de la solution des extraits méthanoliques est additionné de l'eau distillée et de FolinCiocalteu à (1N), ajouté Na CO₃ (200g/l), incubé pendant 1heure. Les concentrations en composés phénoliques sont déterminées selon une courbe réalisée avec de l'acide gallique

Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes, est déterminée selon le protocole décrit par Bahorun *et al.* (1996) en utilisant le chlorure d'aluminium (à 2%).

Dosage des tannins

La teneur en tannins est déterminée selon le protocole décrit par Hagerman et Butler (1978) Un volume de la solution d'extrait méthanolique est additionnée de 1ml de la solution BSA (1mg/ml), incubé pendant 24h à 4C°, centrifugé à 14000t/mn. Le précipité récupéré est ajouté à 2ml de la solution SDS /TEA. Ajouté FeCl₃. La quantité en tannin est déterminée selon une courbe établie avec de l'acide tannique

Activité antioxydante

Activité scavenger au radical DPPH'

L'évaluation de l'activité scavenger au radical DPPH de nos extraits de plantes est estimée selon la méthode décrite par Balasuhdram *et al.* (2005). Un volume de la solution méthanolique DPPH (0,2mM) est additionnée à un volume des extrait de plante (à concentrations variables), de même, différentes concentrations d'antioxydants de synthèse (quercétine et acide ascorbique), ont été préparé pour tester leurs effets sur le pouvoir antiradicalaire. La lecture de l'absorbance se fait à 515nm après 30nm. Le % d'inhibition du radical est donné par l'équation suivante : Le % d'inhibition du DPPH = $(Ac - Ae / Ac) \times 100$, Ac: Absorbance du control. Ae: absorbance de l'échantillon

Pouvoir réducteur

Il a été déterminé selon la méthode décrite par Haung *et al.* (2006), avec quelques modifications, Un aliquote d'extraits méthanoliques est additionné d'un volume de tampon phosphate et à de ferricyanure de potassium (K₃F₂(CN)₆) à 1%, après incubation ajouté l'acide trichloracétique à 10%. Prélevé un volume et

ajoutée de l'H₂O distillée et de Chlorure ferrique (0,1%). incubé pendant 10mn à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 700nm une augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur.

Résultats et discussion

Rendement en extraction Les rendements en extractions (figure2) varient entre 40 et 30 %, *C. siliqua* représente la plante avec le taux d'extraction le plus élevé, elle est suivie par *Cr. monogyna*, *F. excelsior*, *U. dioica* et enfin par *Q. coccifera*. D'après certains auteurs, il n'existe pas de technique type, pour l'extraction quantitative des polyphénols, néanmoins, elle peut dépendre, de la libération de ces composés actifs dans la cellule, et de leur capacité à diffuser à travers les solvants extracteurs.

Dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus (figure3), indiquent, que *C. siliqua* représente la plante la plus riche en

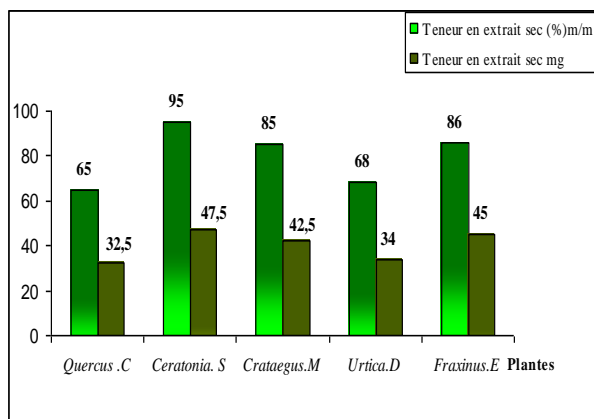
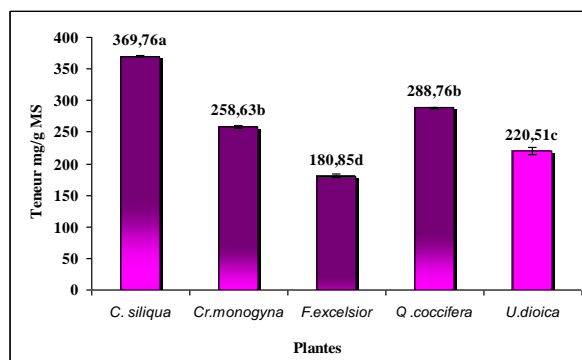


Figure 2. Rendement en extrait sec des différentes plantes étudiées

polyphénols totaux avec un taux de (369,76 ± 1,3183 mg d'EAG/g MS), et *F.excelsior*, le taux le plus faible avec (180,85 ± 3,4042 mg d'EAG/g MS). Cette divergence est probablement tributaire au matériel végétal utilisé rendant impossible une présentation unique et générale d'une technique d'extraction et de quantification des polyphénols.



* Chaque valeur représente la moyenne ± écart type (n= 3)

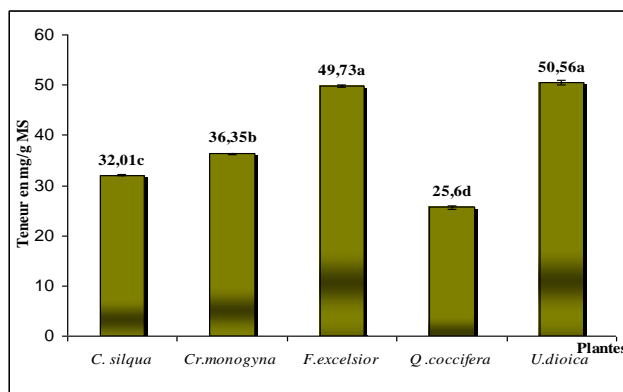
Figure3. Teneur en polyphénols totaux des extraits de plantes

Détermination des flavonoïdes

U. dioica et *F. excelsior* représentent (figure4), les deux plantes avec le taux le plus important 50,56 ± 0,4189 mg EQ /g MS et 49,73 ± 0,1963 mg EQ /g MS alors que *Q. coccifera* présente la plante avec la teneur la plus faible 25,6 ± 0,3138 mg EQ/g MS. Cette différence est probablement liée à la grande diversité structurale des flavonoïdes.

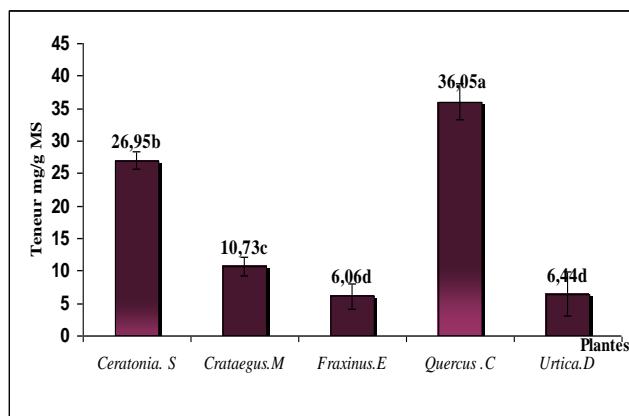
Dosage des tanins

D'après les résultats (figure5) nous remarquons d'emblée, que *Q. coccifera* représente la plante la plus riche en tanins avec 36,05 ± 2,692 EAT mg/g MS, alors que *U.dioica* et *F. excelsior* représentent les deux plantes avec le taux le plus faible avec 6,44 ± 3,3836 EAT mg/g MS et 6,06 ± 1,9324 EAT mg/g MS respectivement



* Chaque valeur représente la moyenne ± écart type (n= 3)

Figure 4. Teneur en flavonoïdes des différents extraits phénoliques

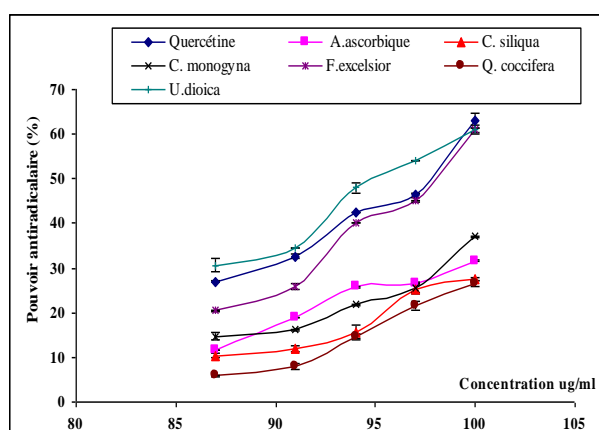


* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type (n = 3)

Figure 5. Teneur en tanins des extraits méthanoliques

Activité scavenger au radical DPPH^{*}

On remarque à partir de la (figure6) que plus on augmente la concentration des extraits cela va de soit pour la quercétine et acide ascorbique (antioxydants de synthèse), plus cette activité s'élève, et cette augmentation diffère d'une plante à une autre et *U.dioica* représente la plante avec le % d'inhibition le plus accru ($61,04 \pm 0,86$).



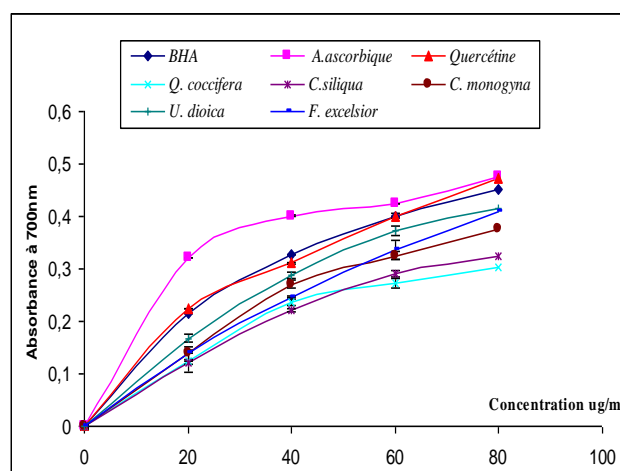
* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type (n = 3)

Figure 6. Pouvoir antiradicalaire en fonction des concentrations des extraits de plantes

Ce pouvoir inhibiteur suit l'ordre décroissant suivant : *U.dioica* > *F.excelsior* > *C.monogyna* > *C.silqua* > *Q.coccifera*.

Pouvoir réducteur du fer

Nous remarquons (figure7), que le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques, de la quercétine, BHA et l'acide ascorbique (antioxydants de synthèse) s'élève avec l'augmentation des concentrations. Le pouvoir réducteur des extraits de plantes suit l'ordre croissant suivant : *Q.coccifera* < *C.silqua* < *C.monogyna* < *F.excelsior* < *U.dioica*



* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type (n = 3)

Figure7. Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des plantes

Conclusion

Les résultats obtenus dans la première partie de ce travail, montrent que dans l'ensemble les plantes testées sont riches en composés phénoliques. Dans cette étude, nous nous sommes penchés sur l'évaluation de l'activité antioxydante de cinq extraits de plante, en déterminant le pouvoir scavenger du radical DPPH, dont les résultats montrent clairement que les plantes étudiées ont toutes l'habileté à piéger le radical DPPH. Nous avons aussi testé cette activité en déterminant le pouvoir réducteur et nous avons constaté que plus la concentration des extraits augmente plus le pouvoir réducteur s'élève ce qui peut refléter la quantité d'antioxydants présents dans les plantes sélectionnées.

Références

[1] Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T. et al. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs

and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel
Forschung*. 46(11): 1086-108

[2] Balasundram N., Yew Ai T., Sambanthamurthi R., Sundram K., Samman S. 2005. Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pac Journal Clinical Nutrition*. 4(4):319-324

[3] Hagerman A.E., et Butler L.G. 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 26 (4): 809-812

[4] Huang Y.C., Chang, Y.H., Shao, Y.Y. 2006. Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan. *Food Chemistry* 98: 529- 538

[5] Owen P. L et Johns T. 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology* 64:149-160

