

Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales

Rhita Zbadi¹, Hicham Mohti², Fadila Moussaoui²

¹ Service d'endocrinologie et maladies métaboliques, centre hospitalo-universitaire Hassan II, Fès, Maroc
<zbadirhita@gmail.com>

² Laboratoire de biochimie, département d'environnement et santé, faculté des sciences, université de Moulay Ismail, Meknès, Maroc

Le stress oxydatif, tout comme l'inflammation, est reconnu comme étant un acteur clé dans l'apparition et les complications de nombreuses pathologies chroniques. Dans un souci de prévention, il convient donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydatif, afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser les défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les espèces oxygénées activées (EOA) au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides. Dans cette optique, l'étude de l'activité antioxydante d'extraits de sept plantes (*Chenopodium ambrosioides*, *Ajuga iva*, *Urtica membranacea*, *Ziziphus lotus*, *Calendula arvensis*, *Lawsonia inermis* et *Rubus perigrina*), largement utilisées par la population et notamment les patients diabétiques, a été réalisée. Des échantillons de ces plantes, issues de régions différentes du Moyen Atlas (Maroc), sont analysés pour leur teneur en composés phénoliques et testés pour leur activité antioxydante. Les contenus en phénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu et les teneurs en flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). L'estimation quantitative des flavonoïdes et des phénols totaux a montré que les extraits testés sont riches en ces deux types de composés, qui sont de très bons antioxydants. L'activité antioxydante est évaluée par le biais de trois méthodes (piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl [DPPH], réduction du fer [FRAP, pour *ferric reducing-antioxidant power*] et pouvoir chélateur du fer). Les résultats obtenus montrent que tous les extraits sont dotés d'une activité antioxydante, qui varie d'une plante à une autre et, pour une même plante, d'un extrait à un autre.

Mots clés : stress oxydatif, pouvoir antioxydant plantes médicinales, exploration biochimique

De nombreuses affections humaines incluent un stress oxydatif, local ou général, dans leur pathogenèse – au même titre que l'inflammation à laquelle il est souvent associé. Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydatif est le facteur déclenchant originel. C'est le cas des cancers, des pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale et maladie d'Alzheimer). La sclérose latérale amyotrophique familiale en est l'exemple le plus démonstratif.

Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydatif est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires.

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre des systèmes producteurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des systèmes antioxydants, enzymatiques (superoxyde dismutases [SOD], glutathion peroxydases [GPx], etc.) ou non (glutathion, vitamines, etc.). Par sa nature même, le stress oxydatif reste un phénomène physiopathologique difficile à appréhender.



Tirés à part : R. Zbadi

Dans des conditions physiologiques, la production des ERO est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme : la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Le stress oxydant résultera d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques.

En effet, la production d'ERO est un phénomène physiologique participant directement à l'homéostasie cellulaire ; en permanence, dans notre organisme, cette production intervient dans le contrôle de nombreuses fonctions biologiques (signalisation intracellulaire et communication extracellulaire, biosynthèse, etc.). Ainsi, il est préférable de parler de statut oxydant, tant le stress oxydant ne représente qu'une partie du phénomène.

Par ailleurs, l'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant des anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, une prolifération ou une mort cellulaire, des troubles immunitaires, une mutagenèse ou des dépôts de protéines ou de lipofuscine dans les tissus [1, 2].

Il semble donc important de tester l'effet thérapeutique des molécules antioxydantes naturelles ou de synthèse. Celles-là peuvent agir dans la prévention des maladies dégénératives, à la condition d'être apportées très tôt avant l'apparition de mécanismes induits irréversibles, et à doses modérées, car la production basale de radicaux libres est indispensable à de nombreuses fonctions et ne doit pas être supprimée [3, 4].

Outre les sources médicamenteuse et alimentaire, les antioxydants naturels occupent actuellement une place de choix dans les intrants antioxydants, en particulier certaines familles chimiques. Ainsi, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal, et suscitent un grand intérêt pour leur action bénéfique [5].

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le choix des plantes retenues est basé sur une enquête ethnopharmacologique menée auprès de la population de certains quartiers de la ville de Meknès, et fondée sur leurs usages en médecine traditionnelle.

Les plantes sont récoltées sur divers sites. Le matériel végétal est séché à l'ombre, broyé et conservé pour des analyses ultérieures.

Les espèces étudiées sont largement employées, au Maroc et dans plusieurs pays du pourtour méditerranéen, comme remèdes contre diverses affections.

Préparation des extraits

Dix grammes (10 g) de poudre sèche de chaque plante, dissous dans 100 mL d'eau distillée, ont été chauffés à

reflux pendant 15 min. Après filtration à froid, l'extrait est évaporé à sec sous pression réduite à 65 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Les autres extraits (éthanolique, méthanolique et aqueux) sont obtenus par épuisement successif avec des solvants de polarité croissante. Les différentes fractions sont filtrées et évaporées à sec.

Dosage des phénols totaux

La détermination quantitative des polyphénols totaux est effectuée selon la méthode décrite par Li *et al.* utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [6]. Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune.

Lors de l'oxydation de polyphénols, le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit en un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés [7]. Deux cents microlitres (200 μ L) de chaque extrait sont mélangés avec 1 mL du réactif Folin-Ciocalteu fraîchement préparé et 800 μ L de carbonate de sodium à 7,5 % (Na_2CO_3). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 min. La lecture de l'absorbance se fait à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche.

Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des différents extraits a été évaluée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Ce dernier forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols [8].

À 1 mL de chaque extrait (préparés dans le méthanol pour les extraits organiques et l'eau distillée pour l'extrait aqueux), 1 mL d' $AlCl_3$ (2 % dans du méthanol) a été ajouté ; ensuite, une incubation est effectuée à l'obscurité pendant 30 min, suivie de la lecture de la densité optique à 415 nm.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche.

Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de plantes a été évaluée par trois méthodes : piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), réduction du fer (FRAP, pour *ferric reducing-antioxidant power*) et pouvoir chélateur du fer.

Test de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

L'activité antioxydante des extraits testés a été déterminée par la méthode du DPPH selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno *et al.* En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH, de couleur violette, se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, de couleur jaune [9].

Cinquante microlitres (50 µL) de chaque solution des extraits à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2 mg/mL) et ou de l'acide ascorbique (0,005 ; 0,008 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,3 mg/mL) sont ajoutés à 1,95 mL de la solution méthanolique du DPPH. Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite à 515 nm, après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'absorbance (Abs) a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Pour chaque concentration, le test est répété trois fois. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (%IP) :

$$\%IP = \frac{Abs\ contrôle - Abs\ test}{Abs\ contrôle} \times 100$$

Les concentrations inhibitrices médianes (IC50) sont déterminées graphiquement par la régression linéaire.

Réduction du fer

Le pouvoir réducteur du fer dans les différents extraits est évalué selon la méthode décrite par Oyaizu [10]. Cette méthode est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺).

Un millilitre (1 mL) de différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5 ; 1, 1,5 ; 2 et 2,5 mg/mL) de chaque extrait est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1 %.

Les mélanges sont incubés à 50 °C pendant 20 min ; 2,5 mL d'acide trichloracétique (10 %) sont ensuite additionnés pour arrêter la réaction. Après centrifugation des tubes, 2,5 mL du surnageant de chaque concentration sont mélangés avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de FeCl₃ et 6 H₂O (0,1 %). La lecture de l'absorbance est mesurée à 700 nm contre un blanc. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif, dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons testés. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [11].

Chélation du fer ferreux

Le pouvoir chélateur des différents extraits a été évalué selon la méthode décrite par Li *et al.* [12].

La ferrozine, composé stable, forme avec les ions Fe²⁺ libres un complexe ferrozine-Fe²⁺ de couleur violette intense. Une diminution de l'absorbance du complexe

Fe²⁺-ferrozine indique la présence d'antioxydants chélateurs [12].

Cinq cents microlitres (500 µL) des solutions d'extraits ou du chélateur standard (EDTA) à différentes concentrations sont additionnées à 100 µL de FeCl₂ (0,6 mM) et 900 µL de méthanol. Après 5 min d'incubation, 100 µL de ferrozine (5 mM) sont ajoutés et le mélange est agité et laissé au repos pendant 10 min. La lecture de l'absorbance du complexe Fe²⁺-ferrozine est mesurée à 562 nm. Le pouvoir chélateur du fer est exprimé en pourcentage :

$$\text{Pouvoir chélateur (\%)} = \frac{Abs\ témoins - Abs\ extrait}{Abs\ témoins} \times 100$$

Analyse statistique

Tous les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type (SD). La comparaison des groupes avec le contrôle est effectuée en utilisant le logiciel Primer, de biostatistique. Les valeurs sont considérées comme significativement différentes au niveau du seuil 5 % (p < 0,05).

Résultats

Rendement des extraits

L'extrait aqueux des fruits de *Ziziphus lotus* donne le meilleur rendement (42,86 %). Les rendements les plus faibles étaient ceux obtenus par la décoction, et ce pour la plupart des plantes.

La différence de rendements entre les extraits serait due à un certain nombre de facteurs tels que l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement et les méthodes d'extraction appliquées.

Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes

Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes a été effectué en utilisant respectivement les méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Les quantités de phénols totaux et de flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées respectivement en microgrammes équivalents d'acide gallique (EAG) et en microgrammes équivalents de quercétine (EQ).

Teneurs en phénols

Les teneurs en phénols totaux des espèces étudiées ont été rapportées en équivalent milligramme d'acide gallique et déterminés par l'équation de type : $y = 0,010x + 0,031$ sachant que $R^2 = 0,995$ (figure 1). Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

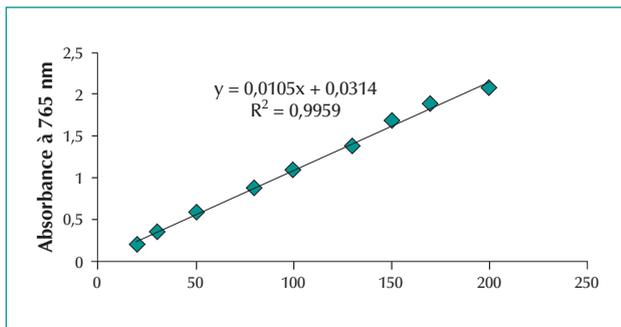


Figure 1. Teneurs en phénols totaux des espèces étudiées rapportées en équivalent milligramme d'acide gallique.

Les résultats montrent que les extraits polaires (méthanolique et aqueux) et le décocté se révèlent plus riches en polyphénols que l'extrait éthanolique.

Les extraits méthanoliques et aqueux, et le décocté de *Calendula arvensis*, renferment des teneurs comparables, élevées, en composés phénoliques : respectivement $293,25 \pm 0,056 \mu\text{g EAG/mg}$, $276,5 \pm 0,054 \mu\text{g EAG/mg}$ et $251 \pm 0,045 \mu\text{g EAG/mg}$. *Lawsonia inermis*, pour sa part, présente également un profil intéressant : $284 \pm 0,014 \mu\text{g EAG/mg}$, $188,75 \pm 0,013 \mu\text{g EAG/mg}$ et $248,25 \pm 0,004 \mu\text{g EAG/mg}$.

Hormis les extraits éthanoliques, les autres extraits, notamment méthanolique et aqueux, des autres plantes présentent une teneur en phénols correcte.

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD.

Teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des espèces étudiées ont été rapportées en équivalent milligramme de quercétine et déterminés à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type : $y = 0,0349x + 0,316$ sachant que $R^2 = 0,993$ (figure 2). Les résultats sont consignés dans le tableau 2.

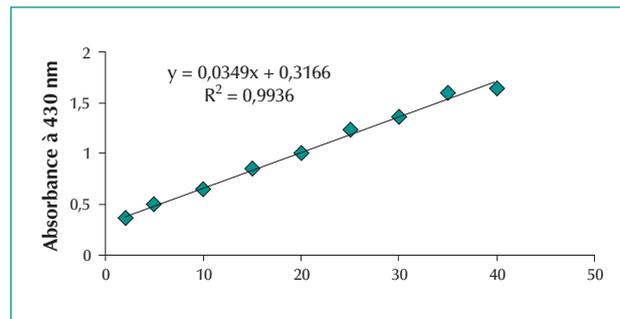


Figure 2. Teneurs en flavonoïdes des espèces étudiées rapportées en équivalent milligramme de quercétine.

L'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et le décocté se révèlent les plus riches en flavonoïdes (tableau 2).

Le taux de flavonoïdes le plus élevé est détecté dans l'extrait aqueux de *L. inermis* ($71,114 \pm 0,027 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait) et l'extrait aqueux de *Z. lotus* ($30,85 \pm 0,011 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait). Le contenu en flavonoïdes des extraits reste très variable selon les espèces.

Activité antioxydante

Piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

L'activité antiradicalaire des différents extraits et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée en suivant la réduction de ce radical DPPH en composé DPPH-H. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires.

Tous les extraits manifestent un pouvoir antiradicalaire envers le DPPH (tableau 3). Signalons que plus la valeur de l'IC50 est petite, plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Pour *L. inermis*, tous les extraits (méthanolique, aqueux, décocté et éthanolique) présentent une activité

Tableau 1. Teneur en phénols totaux des différents extraits.

Plantes étudiées	Teneur ($\mu\text{g EAG/mg}$)			
	Éthanolique	Méthanolique	Aqueux	Décocté
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	$86 \pm 0,004$	$134 \pm 0,014$	$111,25 \pm 0,005$	$74,06 \pm 0,011$
<i>Ajuga iva</i>	$118 \pm 0,001$	$129,5 \pm 0,01$	$171,75 \pm 0,015$	$145,25 \pm 0,016$
<i>Urtica membranacea</i>	$38 \pm 0,008$	$72 \pm 0,016$	$217,75 \pm 0,022$	$86,5 \pm 0,018$
<i>Ziziphus lotus</i>	$3,75 \pm 0,006$	$232,25 \pm 0,038$	$219,25 \pm 0,041$	$67,5 \pm 0,021$
<i>Calendula arvensis</i>	$162,25 \pm 0,017$	$293,25 \pm 0,056$	$276,5 \pm 0,054$	$251 \pm 0,045$
<i>Lawsonia inermis</i>	$174 \pm 0,005$	$284 \pm 0,014$	$188,75 \pm 0,013$	$248,25 \pm 0,004$
<i>Rubus peregrina</i>	$78 \pm 0,01$	$95 \pm 0,029$	$99,5 \pm 0,002$	$74,25 \pm 0,013$

Tableau 2. Teneur en flavonoïdes des différents extraits.

Plantes étudiées	Teneur des flavonoïdes			
	Éthanolique	Méthanolique	Aqueux	Décocté
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	11,37 ± 0,012	28,25 ± 0,006	13,21 ± 0,009	15,70 ± 0,031
<i>Ajuga iva</i>	14,72 ± 0,01	18,77 ± 0,014	27,47 ± 0,012	25,55 ± 0,026
<i>Urtica membranacea</i>	11,37 ± 0,011	27,25 ± 0,02	26,74 ± 0,018	23,71 ± 0,009
<i>Ziziphus lotus</i>	1,55 ± 0,002	6,72 ± 0,011	30,85 ± 0,011	13,59 ± 0,121
<i>Calendula arvensis</i>	13,25 ± 0,01	18,5 ± 0,01	16,50 ± 0,009	14,55 ± 0,066
<i>Lawsonia inermis</i>	16,46 ± 0,007	28,47 ± 0,024	71,11 ± 0,027	47,95 ± 0,016
<i>Rubus peregrina</i>	18,62 ± 0,006	29,44 ± 0,007	26,41 ± 0,006	10,61 ± 0,006

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.

Tableau 3. Activité antiradicalaire IC50 (mg/mL) des extraits des plantes étudiées.

Les plantes étudiées	IC50			
	Éthanolique	Méthanolique	Aqueux	Décocté
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	1,39 ± 0,02	1,20 ± 0,02	1,23 ± 0,07	1,25 ± 0,04
<i>Ajuga iva</i>	0,28 ± 0,02	0,23 ± 0,08	0,24 ± 0,02	0,19 ± 0,09
<i>Urtica membranacea</i>	1,08 ± 0,05	0,44 ± 0,06	0,28 ± 0,02	0,35 ± 0,05
<i>Ziziphus lotus</i>	0,31 ± 0,08	0,24 ± 0,03	0,23 ± 0,01	0,26 ± 0,01
<i>Calendula arvensis</i>	0,21 ± 0,07	0,17 ± 0,05	0,19 ± 0,01	0,15 ± 0,03
<i>Lawsonia inermis</i>	0,18 ± 0,09	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,06	0,15 ± 0,07
<i>Rubus peregrina</i>	0,29 ± 0,08	0,33 ± 0,01	0,25 ± 0,06	0,28 ± 0,03
<i>Acide ascorbique</i>	0,041 ± 0,07			

antiradicalaire assez importante avec des IC50 de l'ordre de 0,10 ± 0,01 mg/g, 0,12 ± 0,46 mg/g, 0,15 ± 0,07 mg/g et 0,18 ± 0,09 mg/g, respectivement.

Les extraits de *C. arvensis* présentent également une activité notable (0,21 ± 0,07 mg/g, 0,17 ± 0,05 mg/g, 0,19 ± 0,01 mg/g et 0,15 ± 0,03 mg/g) respectivement pour les extraits éthanolique, méthanolique, aqueux et décocté.

Pratiquement, tous les extraits de *Z. lotus* et d'*Ajuga iva* présentent la même activité antiradicalaire.

En revanche, les extraits des autres plantes (*Rubus peregrina*, *Urtica membranacea*, *Chenopodium ambrosioides*), présentent une faible activité antiradicalaire comparativement à celle donnée par l'acide ascorbique.

L'antioxydant acide ascorbique a révélé une très bonne activité (0,041 mg/ml), qui est statistiquement similaire aux activités exercées par tous les extraits de *L. inermis* ($p > 0,05$), ainsi que l'extrait aqueux total et méthanolique de *C. arvensis* et l'extrait aqueux total d'*A. iva* ($p > 0,05$).

L'activité antiradicalaire de *C. ambrosioides* et de l'extrait éthanolique de *U. membranacea* reste significativement inférieure ($P < 0,001$) au contrôle positif (acide ascorbique).

Les extraits d'*A. iva*, de *R. peregrina*, de *Z. lotus* et d'*U. membranacea* présentent une différence significative, dans leur activité ($P < 0,05$), avec l'acide ascorbique.

Réduction de fer

Nous avons déterminé la concentration IC50 pour comparer l'activité réductrice des différents extraits (tableau 4). Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

Le pouvoir réducteur le plus élevé est enregistré avec l'extrait aqueux et le décocté des feuilles de *L. inermis* (0,094 ± 0,02 et 0,11 ± 0,03 mg/mL respectivement) comparativement à celui de l'acide ascorbique (0,073 ± 0,02 mg/mL).

Tableau 4. Activité réductrice IC50 (mg/mL) des extraits et du standard.

Les plantes étudiées	IC50			
	Éthanolique	Méthanolique	Aqueux	Décocté
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	3,71 ± 0,08	1,08 ± 0,03	1,84 ± 0,02	2,706 ± 0,04
<i>Ajuga iva</i>	2,61 ± 0,01	1,93 ± 0,02	1,73 ± 0,03	1,38 ± 0,02
<i>Urtica membranacea</i>	6,68 ± 0,01	2,93 ± 0,08	2,43 ± 0,09	1,96 ± 0,05
<i>Ziziphus lotus</i>	3,41 ± 0,01	2,44 ± 0,08	0,72 ± 0,15	1,924 ± 1,21
<i>Calendula arvensis</i>	1,11 ± 0,04	0,51 ± 0,02	0,65 ± 0,06	0,66 ± 0,04
<i>Lawsonia inermis</i>	0,46 ± 0,01	0,30 ± 0,06	0,094 ± 0,02	0,11 ± 0,03
<i>Rubus peregrina</i>	3,06 ± 0,03	2,80 ± 0,1	1,76 ± 1,14	2,35 ± 0,01
Acide ascorbique	0,073 ± 0,02			

Pour les autres extraits, les valeurs d'IC50 varient de 0,51 ± 0,02 mg/mL pour l'extrait méthanolique des fleurs de *C. arvensis* à 6,68 ± 0,01 mg/mL pour l'extrait éthanolique des feuilles d'*U. membranacea*.

L'efficacité de réduction de fer est inversement proportionnelle à la valeur de l'IC50 : acide ascorbique > *L. inermis* > *C. arvensis* > *A. iva* > *R. peregrina* > *Z. lotus* > *C. ambrosioides* > *U. membranacea*.

L'analyse comparative entre le standard et les autres extraits montre qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$).

Activité chélatrice

L'effet chélateur des extraits des plantes testés est mesuré par la réduction directe de $Fe^{3+}(CN^-)_6$ en une forme ferreuse $Fe^{2+}(CN^-)_6$ qui est déterminée par détection spectrophotométrique du complexe $(Fe^{3+})_4 [Fe^{2+}(CN^-)_6]_3$ ayant une forte absorption à 700 nm [15]. La couleur du milieu réactionnel passe du jaune au vert selon l'intensité du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié.

Il en ressort qu'aucun des extraits des différentes plantes testées ne présente d'activité chélatrice.

Les différences entre l'extrait aqueux et méthanolique, l'extrait aqueux total et l'EDTA sont statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Discussion

Les résultats obtenus révèlent que tous les extraits sont dotés d'une activité antioxydante, qui varie d'une plante à une autre et, pour une même plante, d'un extrait à un autre.

Le décocté et les extraits aqueux et méthanolique de *L. inermis* révèlent une activité importante de piégeage du radical DPPH. Des résultats similaires aux nôtres, mentionnant la forte capacité de piégeage des radicaux DPPH dans les extraits aqueux et méthanolique de *L. inermis*, sont signalés par d'autres auteurs [13].

Les mêmes auteurs ont également rapporté que l'extrait aqueux possède une capacité à réduire le fer plus importante que celle de l'extrait méthanolique.

Cette activité de l'extrait aqueux est due probablement à la présence d'un taux élevé en flavonoïdes. L'extrait méthanolique présente quant à lui une activité chélatrice très appréciable, probablement due à sa richesse en phénols totaux et en tanins condensés.

En effet, les polyphénols semblent être d'efficaces donneurs d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale, sans toutefois négliger les autres composés phénoliques mineurs, parce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique [14, 15].

L'extrait méthanolique des fleurs de *C. arvensis*, dans notre étude, présente une activité antiradicalaire et un pouvoir réducteur importants par rapport aux antioxydants standard. Ercetin *et al.* rapportent des résultats similaires concernant l'extrait méthanolique des fleurs de *C. arvensis*. Ces propriétés peuvent être expliquées par la richesse de la plante en composés phénoliques [16]. Pour les différents extraits d'*A. iva*, seul l'extrait méthanolique manifeste une activité antiradicalaire et un pouvoir réducteur significatifs par rapport aux autres extraits. L'activité antioxydante d'*A. iva* objectivée est probablement liée à son contenu notable en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins [17].

Les composés phénoliques semblent être de bons candidats, en termes d'activités antioxydantes, du fait de la

présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres [18].

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité antioxydante. L'activité de ces molécules à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leurs structures, les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui renferment des groupements 3'-4'-dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3OH sur le cycle C [19].

Le reste des plantes, *C. ambrosioides*, *U. membranacea*, *Z. lotus* et *R. peregrina* présentent une timide activité antioxydante, comparativement avec les autres plantes étudiées. *C. ambrosioides* présente une teneur en composés phénoliques importante ; or, son activité antioxydante reste très faible. Ce n'est pas le cas pour *R. peregrina* qui possède une faible teneur en composés phénoliques, mais une bonne activité antioxydante. Ceci peut être expliqué par la présence d'autres substances antioxydantes plus actives que celles existantes dans les extraits végétaux. Une forte teneur en polyphénols n'entraîne pas nécessairement une activité antioxydante puissante [20].

Conclusion

Radicaux libres, stress oxydant, espèces oxygénées activées et antioxydants sont des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même le grand public. Le milieu médical intègre l'importance de ces données, et qu'une augmentation de stress oxydant chez un individu peut être cause d'apparition de diverses pathologies comme les maladies cardio-vasculaires, le cancer ou le diabète sucré. Pour se prémunir contre ces pathologies, il est important de disposer de défenses antioxydantes adéquates, lesquelles doivent nous être apportées par une alimentation saine, particulièrement riche en fruits et en légumes. Actuellement, il existe un réel *consensus* scientifique sur le fait que, plus le statut en antioxydants d'un individu est bas, plus le risque de développer ces pathologies est élevé. Récemment, des avancées spectaculaires ont été réalisées sur l'implication du stress oxydant dans le développement du diabète et des complications qui lui sont associées. Tout ceci a requis et requiert encore la mise au point de méthodes et d'outils performants permettant d'évaluer, le plus correctement possible, le statut de stress oxydant chez un individu. Ceci repose impérativement sur un traitement particulièrement soigneux des échantillons sanguins, qui ne peut se réaliser que dans des laboratoires spécialisés dans le domaine.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits végétaux issus de sept plantes retenues (*L. inermis*, *C. arvensis*, *A. iva*, *Z. lotus*, *R. peregrina*, *C. ambrosioides* et *U. membranacea*), a été évaluée par trois tests : FRAP, DPPH et pouvoir chélateur du fer.

Les résultats obtenus révèlent que tous les extraits sont dotés d'une activité antioxydante, qui varie d'une plante à une autre et, pour une même plante, d'un extrait à un autre. Pour le test de réduction du radical libre DPPH, l'activité antiradicalaire est élevée dans les extraits les plus polaires des différentes plantes étudiées.

Les extraits des feuilles de *L. inermis* et de *C. arvensis* (méthanolique, aqueux, aqueux total) révèlent une forte activité à piéger les radicaux DPPH, un pouvoir réducteur élevé du Fer, mais aucun effet chélateur.

La richesse de nos extraits en phénols totaux et en flavonoïdes, suggère que toute activité biologique dépend de la présence de certains métabolites à l'intérieur des tissus de la plante.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Sohal R S, Mockett R J, Orr W C. Mechanisms of aging : an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med* 1992 ; 33 : 575-586.
2. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Apmis* 2007 ; 115 : 81-103.
3. Sergeant C, Hamon C, Simonoff M, Constans J, Conri C, Peuchant C et al. Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Editors : L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier ; Marcel Dekker. Inc. New York-Basel-Hong Kong, 1998: 409-427.
4. Koehlin-Ramonatxo. Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutr Clin Métabol* 2006 ; 20 : 165-77.
5. Marc F, Davin A, Degléne L, Ferrand C. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit, M/S* 2004 ; 20(4) : 458-63.
6. Li JW, Fan LP, Ding SD, Ding XL. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chem* 2007 ; 103 : 454-60.
7. Boizot N, Charpentier JP. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah Tech Inra* 2006 : 79-82.
8. Kim DO, Chun OK, kim YJ, Moon HL, Leec Y. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J Agric Food Chem* 2003 ; 51(122) : 6509-15.
9. Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-calixto F. À procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Sci. Technology International* 1998 ; 8 : 121-37. u figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Leban Sci J* 2006 ; 7(1) : 3-8.
10. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr* 1986 ; 44 : 307-15.
11. Cao H, Polansky MM, Anderson RA. Cinnamon extract and polyphenols affect the expression of tristetraprolin, insulin receptor, and

glucose transporter 4 in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Arch Biochem Biophys* 2007 ; 459 : 214-22.

12. Li JW, Fan LP, Ding SD, Ding XL. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chem* 2007 ; 103 : 454-60.

13. Babili FE, Valentin A, Chatelain C. Lawsonia Inermis: Its Anatomy and its Antimalarial, Antioxidant and Human Breast Cancer Cells MCF7 Activities. *Pharmaceut Anal Acta* 2013 ; 4 : 203.

14. Guha G, Rajkumar V, Ashok Kumar R, Mathew L. Antioxidant Activity of Lawsonia inermis Extracts Inhibits Chromium(VI)-Induced Cellular and DNA Toxicity. *Evid Based Complement Alternat Med* 2009 ; 2011.

15. Turkmen N, Velioglu YS, Sari F, Polat G. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules* 2007 ; 12 : 484-96.

16. Ercetin T, Sezer Senol F, Orhan IE, Toker G. Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from *Calendula arvensis* L. and *Calendula officinalis* L. *Ind Crops Prod* 2012 ; 36 : 203-8.

17. Makni M, Haddar A, Kriaa W, Zeghal N. Antioxidant Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activities of Ajuugaiva Leaf Extracts. *Int J Food Properties* 2013 ; 16(4) : 756-65.

18. Sokol-Letowska A, Oszmianski J, Wojdylo A. Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. *Food Chem* 2007 ; 103 : 853-9.

19. Panovska TK. In vitro antioxydant activity of some Tencrium species (Lamiaceae). *Acta Pharm* 2005 ; 55 : 207-14.

20. Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Sineiro J, Dominguez H, *et al.* Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem* 2001 ; 72 : 145-71.