

ABTS : 2,2azinobis- (acide 3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonique)

CLHP: chromatographie liquide haute performance

DPPH : 1,1diphényl-2-picryl-hydrazyl

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

HDL : lipoprotéines de haute densité

H₂O₂:Peroxyde d'hydrogène

IC50 : Concentration inhibitrice de 50 %

IM: Indice de Mousse

LDL : lipoprotéines de faible densité

m/V : Masse à Volume

N: Normal

NAD+ : forme oxydée du nicotinamideadénine dinucléotide

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotidephosphate

NO•: Monoxyde d'azote

ORAC : Oxygen Radical Absorbance

O₂•⁻: Anion superoxyde

¹O₂: Oxygène singulier

OH• :Radical hydroxyle

PI : pourcentage d'inhibition

RL : radicaux libres

ROS : réactive oxygen species (espèces réactives oxygénées)

SOD : superoxyde dismutase

TEAC : Trolox equivalent antioxydant capacity

RO: Radical alcoxy

ROO: Radical peroxy

SOD: Superoxyde dismutase

μg : Microgramme

V/V : Volume à Volume

Figure 1 : protocole d'obtention de l'extrait Ethanolique de <i>solanum melogena</i>	31
Figure 2 : Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique des feuilles de Solanum melonge	56
Figure 3: Pouvoir réducteur de la vitamine.....	57
Figure 4: Evaluation du pouvoir réducteur par rapport aux produits testés	58
Figure 5: Action antioxydante de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Solanum</i> <i>melongena</i> sur le DPPH.....	59
Figure 6: Action de la vitamine C sur le DPPH	60
Figure 7: Evaluation du pourcentage d'inhibition du DPPH par rapport aux produits testés.	61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Apport nutritionnel de l'aubergine crue et cuite	13
---	-----------

Tableau II : Réaction de caractérisation et différenciation des tanins	49
Tableau III: Rf et coloration des spots après la CCM des Tanins	50
Tableau IV: Réactions de caractérisation des flavonoïdes.	51
Tableau V : Réactions de caractérisations des Hétérosides cardiotoniques	53
Tableau VI: Réactions de caractérisation des alcaloïdes	53
Tableau VII: Pourcentages d'inhibitions du solanum melongena et de l'acide ascorbique aux doses testées	60
Tableau VIII: Concentration d'inhibition à 50% du solanum melongena	61
Tableau IX: Concentration d'inhibition à 50% de l'acide ascorbique	62

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : <i>Solanum melongena</i> L. feuilles, fruits et fleurs	8
Photo 2: Fleurs de <i>Solanum melongena</i> L.	9
Photo 3:Fruits de <i>solanum melongena</i>	10
Photo 4: Chromatographie sur couche mince des tanins.....	50
Photo 5 : Chromatographie sur couche mince des flavonoïdes	52
Figure 6 : Chromatographie sur couche mince des alcaloïdes.....	54

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : BIBLIOGRAPHIE	4
CHAPITRE I : ETUDE DE SOLANUM MELOGENA ET GENERALITE SUR LES ANTIOXYDANTS	5
I. PLACE DES SOLANUM DANS LE REGNE VEGETAL.....	5
II. ETUDE SPECIALE DE <i>SOLANUM MELOGENA</i>, L. VAR ESCULENTUS	6
II. 1. Noms vernaculaires	6
II.2. Etude botanique.....	6
II.2.1. Appareil végétatif	6
II.2.1.1. La tige	6
II. 2.1. 2. Les feuilles.....	7
II. 2.2. L'appareil reproducteur	7
II. 2.2. 1. L'inflorescence	7
II. 2.2. 2. Les fleurs	7
II. 2.2. 3. Le fruit	10
II. 3. Répartition et Habitat.....	11
II. 4. Travaux sur la chimie	11
II. 5. Etude sur la pharmacologie	13
II. 6. Propriétés Thérapeutiques Attribuées.....	14
II. 7. Indications	15
CHAPITRE II : LES ANTIOXYDANTS	17
I. GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS.....	17
II. LES PRINCIPALES SOURCES D'ANTIOXYDANTS.....	19
II .1. Les médicaments.....	19
II .2. Source alimentaire.....	20

II .3. Les végétaux sources d'antioxydants Naturels	22
II .4. Les différentes méthodes d'étude de l'activité antioxydants.....	25
II .4.1.Test de réduction du radical 1,1-di-phényl-picryl-hydrazine (DPPH)	25
II. 4.2.Test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes	26
II. 4.3.Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosyme	26
II. 4.4. Activité antioxydante par la méthode ABTS	26
II. 4.5. Activité antioxydante par la méthode PRAP	26
DEUXIEME PARTIE: ETUDES EXPERIMENTALES	28
CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES	29
I. MATERIELS ET REACTIFS	29
I.1. Matériel végétal	29
I.2. Matériel de laboratoire.....	29
I.3. Réactifs.....	29
II. METHODES D'ETUDES.....	31
II.1. Obtention de l'extrait éthanolique des différentes plantes	31
II.2. Screening Phytochimique	32
II.2.1. Détermination de la Teneur en Eau	32
II.2.2. Recherche des hétérosides flavonoïdes	33
II.2.2.1. Solution extractive	33
II.2.2.2. Réaction générale de caractérisation des flavonoïdes	33
II.2.2.2.1. Coloration en milieu alcalin	33
II.2.2.2.2. Coloration par le perchlorure de fer.....	34
II.2.2.2.3. Réaction de shibata	34
II. 2.2.3. Séparation et identification des alcaloïdes par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	35
II. 2.2.3.1. Préparation des extraits	36
II.2.2.3.2. Matériel et réactifs	37

II. 2.2.3.3. Technique	37
II.2.3. Recherche des tanins	37
II.2.3.1. Extraction	38
II.2.3.2. Réaction de caractérisation	38
II.2.3.2.1. Caractérisation par le perchlorure de fer	38
II.2.3.2.2. Caractérisation par l'acide phosphotungstique	38
II.2.3.3. Différenciation des tanins	38
II.2.3.3.1. Précipitation par le réactif de Stiasny	39
II.2.3.3.2. Oxydation des tanins condensés	39
II.2.3.4. Chromatographie sur couche mince des tanins	40
II.2.3.4.1. Préparation des extraits	40
II.2.3.4.2. Matériel et réactifs	40
II.2.3.4.3. Technique	40
II.2.4. Recherche des Hétérosides Anthracéniques	41
II.2.5. Recherche des Saponosides	41
II. 2.6. Recherche des Hétérosides Cardiotoniques	43
II. 2.7. Recherche des Alcaloïdes	44
II.2.7.1. Caractérisation des alcaloïdes	45
II.2.7.1.1. Caractérisation générale	45
II.3. Recherche de l'Activité Antioxydante.....	45
II.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	45
II.3.2. Test de la réduction du fer FRAP	46
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	48
I. RESULTATS DU SCREENING CHIMIQUE.....	48
I.1. Essai de mise en évidence des tanins	48
I.2. Essai de mise en évidence des Hétérosides Flavoniques	51
I.3. Essai de mise en évidence des hétérosides cardiotoniques	52

I.4.Essai de mise en évidence des hétérosides anthracéniques	53
I .5. Essai de mise en évidence des alcaloïdes	53
I. 6. Essai de mise en évidence des saponosides	55
II. RESULTATS DE LA RECHERCHE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	55
II.1.Test de la réduction du fer FRAP	55
II.1.1. Pouvoir réducteur du solanum melongena	55
II. 1.2. Pouvoir réducteur de la vitamine C	56
II. 1. 3. Comparaison de l'activité antioxydante de la vitamine C et des feuilles dus <i>Solanum melongena</i>	57
II. 2.Test au DDPH.....	58
II. 2.1. Test de piégeage des radicaux libres avec le <i>Solanum melongena</i>	58
II. 2.2. Test de piégeage des radicaux libres avec l'acide ascorbique	59
III. DISCUSSION.....	62
CONCLUSION.....	66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72

INTRODUCTION

Depuis que l’Afrique est peuplée, les feuilles, les fleurs, les écorces, les racines... tirées de toutes les strates de la végétation variée du continent, ont sauvés bien des vies humaines. Et l’on est saisi d’admiration pour la faculté de ces peuples d’observer, de comparer, d’expérimenter et, finalement, de sélectionner et de transmettre autant de remèdes contre autant de maladies.

Selon l’organisation mondiale de la santé (O. M. S) ; la médecine traditionnelle se définit comme l’ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s’appuyant exclusivement sur l’expérience vécue et l’observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) (Adjanohoun et coll, 2001).

Sachant qu’une plante peut contenir plusieurs milliers de substances différentes, on peut se rendre compte de la richesse naturelle du règne végétal. L’isolement et la caractérisation de ces composés connus généralement sous l’appellation de « composés bioactifs » constituent un sujet de recherche très actuel. De nombreuses études explorent aujourd’hui la possibilité de leur transformation en ingrédients incorporables dans différents produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques. Cet intérêt particulier est dû au fait qu’au cours des dernières années, les hommes ont commencé à se réorienter vers l’utilisation de produits naturels au détriment de ceux issus de la synthèse chimique. De plus, les résultats des études épidémiologiques mettent en évidence la capacité de ces composés bioactifs à participer au bon déroulement des fonctions vitales de l’organisme humain. Les multiples effets bénéfiques de ces composés issus de sources naturelles sont attribués à leurs diverses activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, antivirale, anti inflammatoire etc.).

Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants.

De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment des constituants antioxydants. L’apport régulier en phytonutriments possédant des

capacités antioxydantes significatives est associé à une faible prévalence de maladies liées au stress oxydatif (cancers, maladies cardiovasculaires et athérosclérose) (Bravo, 1998) et à un faible taux de mortalité (Anderson *et al*, 2001).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de la plante *Solanum melongena L.*, et à évaluer l'activité antioxydante de ses extraits.

L'espèce *Solanum melongena L.*, famille des Solanacées est surtout connue grâce à son fruit (l'aubergine) mais son intérêt thérapeutique n'est nullement négligeable avec ses propriétés cholérétique, diurétique, émolliente, hypcholestérolémiant, laxative...

Ce travail sera divisé en deux parties :

- ❖ **Une Partie Bibliographique** relative à l'étude botanique de *Solanum melongena L.*, sur les antioxydants et les méthodes d'étude de cette activité.
- ❖ **Une Deuxième Partie** qui porte sur le screening chimique et la recherche de l'activité antioxydante.

PREMIERE PARTIE :
BIBLIOGRAPHIE

CHAPITRE I : ETUDE DE *SOLANUM MELONGENA* ET GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS

I. PLACE DES SOLANUM DANS LE REGNE VEGETAL

- Règne : Plantae
- Sous – règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Solanales
- Famille : Solanaceae
- Genre : Solanum

Plante originaire d’Afrique et de l’Inde, Les Solanaceae sont une famille de plantes dicotylédones (Magnoliopsida) appartenant à l’ordre des solanales. Ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes avec des feuilles alternes, simples et sans stipules. La famille comprend près de 98 genres et 2700 espèces et occupe une grande diversité d’habitats, de morphologie et d’écologie. Cette famille cosmopolite est présente partout dans le monde à l’exception de l’antarctique. La majeure diversité d’espèces se rencontre en Amérique du sud et en Amérique centrale. Cette famille comprend des espèces alimentaires d’une grande importance économique telles que la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Solanum lycopersicum*), l’aubergine (*Solanum melongena L.*), et les piments (*Capsicum*). De nombreuses plantes ornementales très populaires appartiennent aux solanacées : *Petunia*, *Schizanthus*, *Salpiglossis* et *Datura*. Certaines espèces, riches en alcaloïdes, sont mondialement connues pour leurs usages médicaux, leurs effets psychotropes ou pour leur toxicité : *Belladone morelle*, *Brugmansia*, *Datura*, *Mandragore*, Tabac. (BEDARD, 2006)

II. ETUDE SPECIALE DE *SOLANUM MELONGENA*, L. VAR ESCULENTUS

II. 1. Noms vernaculaires

Français : aubergine

Wolof : batagnecé :

Peulh : Kobo-kobo

Sérère : batangnecé

Socé : Batancéé

II.2. Etude botanique

II.2.1. Appareil végétatif

L'appareil végétatif est l'ensemble des organes d'une plante (racine, tige, feuille ; qui assurent sa croissance.

II.2.1.1. la tige

L'aubergine est une plante herbacée vivace de 70cm de haut qui possède une tige robuste et pubescente, qui se ramifie et donne à la plante un port étalé (Esprit santé).

II. 2.1. 2. les feuilles

Les feuilles alternes gris-verdâtre sont entières, leur surface est recouverte d'un dense duvet, un peu rugueux au touché.

II. 2.2. L'appareil reproducteur

II. 2.2. 1. l'inflorescence

L'inflorescence est une cyme.

II. 2.2. 2. les fleurs

Les fleurs solitaires, tournées vers le bas sont portées à l'aisselle des feuilles par un long pédoncule. Leur calice est de couleur blanche ou violette et les étamines sont jaunes. Elle comporte un Pédoncule de 1,5-3cm de long, relativement gros, tube de calice 5mm de long ; lobes 1-1,5cm de long, oblongues-lancéolées, s'effilant en acumens 3-5 mm de long, avec un peu d'épines molles. Les filaments mesurent 3-4 mm de long avec des anthrènes de 5-7 mm de long, de forme oblongue, l'ovaire est pubescent au sommet avec des poils étoilés et un style de 1-1,5 cm de long (**Esprit santé**).

La photo 1 présente un champ d'aubergine qui laisse apparaître toutes les parties de la plante. On note ainsi clairement les feuilles, les fleurs ainsi que le fruit *Solanum melongena*.



Photo 1 : *Solanum melongena* L. feuilles, fruits et fleurs (source :wikipedia encyclopédia).

La photo 2 présente une fleur de *Solanum melongena* qui laisse apparaître la couleur du calice (violette), de même que la couleur des étamines et leurs nombres.



Photo 2: fleurs de *Solanum melongena* L. (source: wikipedia free encyclopedia)

II. 2.2. 3. le fruit

Le fruit de *Solanum melongena* porte le nom de la plante (aubergine). Les aubergines sont de grands fruits pendants violets ou blancs. Le fruit cru a la texture d'une éponge et un goût assez désagréable. La variété qui ressemble de près à l'œuf d'une poule aussi bien en forme qu'en dimension est appelée de nos jours aubergine indienne. La variété cultivée en Occident et au Sénégal a une forme similaire mais beaucoup plus grande et sombre. La chinoise a la forme d'un concombre. Aussi bien la chinoise que l'indienne ont des couleurs qui varient du blanc à la tige jusqu'au pourpre brillant au pourpre profond, mais il existe des variétés albinos.

La photo 3 est une récolte de fruit de *Solanum melongena* de couleur violette



Photo 3: Fruits de *Solanum melongena* (source : wikipedia free encyclopedia)

II. 3. Répartition et Habitat

Bien que l'aubergine ait été domestiquée en Inde où l'on pense qu'elle est consommée depuis 2500 ans à 4000 ans, il se peut que son ancêtre sauvage vienne d'Afrique, où il existe de multitudes d'espèces de Solanum aux caractéristiques très proches de celles de l'aubergine cultivée. Depuis l'Inde, elle s'est diffusée en Chine où l'on a produit des variétés à petits fruits de couleur verte, blanche, rouge et lavande. C'est d'ailleurs dans un traité chinois datant de 500 ans avant notre ère qu'elle est mentionnée pour la première fois. Elle sera introduite dans le monde Arabe dès le IX^e siècle, migrant jusqu'en Egypte à l'ouest, et en Turquie au nord. Elle fera son apparition en Espagne entre le VIII^e et le XI^e siècle. Dans ce pays, on apprendra vite à l'apprécier, mais ailleurs en Europe, on s'en méfiera longtemps, probablement à cause de sa ressemblance avec les plantes toxiques (**Bedard, 2006**).

Les Espagnols l'introduiront en Amérique latine au XVI^e siècle, mais elle n'apparaîtra en Amérique que 150 ans plus tard. Aujourd'hui, on la cultive dans toutes les régions chaudes et tempérées de la planète (Esprit santé).

En Europe, l'Italie et l'Espagne assurent les trois quarts de la production qui est de 28.993.563 tonnes (Faostat, 2004). La culture de l'aubergine nécessite de la chaleur (la croissance s'arrête en dessous de 12°C) et de l'eau. La plantation se fait par repiquage de jeunes plantes de 6 à 7 semaines. De nos jours, la culture se fait souvent hors sol sous abri. La récolte intervient environ 5 mois après le semis.

II. 4. Composition chimique

L'aubergine renferme 92 % d'eau, 1,3g de protides, 0,2g de lipides mais aussi 5,5g de glucides pour 100g. Elle renferme également des minéraux (en mg pour 100g) : phosphore 15, magnésium 12, calcium 10, potassium 220, soufre 15-16, sodium 5, chlore 50, fer 0,5, manganèse 0,20, zinc 0,28, cuivre 0,10, iodé environ 0,002. L'aubergine contient également des vitamines (en mg pour

100g) : provitamine A 0,04, B₁ 0,04, B2 0,05, vitamine C, pp 0,6 (VALNET ,1982).

Nous notons également la présence d'acide chlorogénique ; d'anthocyanines ; et d'acides phénoliques (*Esprit santé*).

D'après les travaux de *Dastmalchi K et al (2011)* l'aubergine a des teneurs élevées de conjugués d'acide cafeoyl-quinine. Les isomères de l'acide cafeoylquinine possèdent une activité de piégeage des radicaux libres d'environ 4 fois plus faible que celle de la quercétine. En revanche l'activité de chélation du fer est d'environ 3 à 6 fois supérieure à celle du dihydrate de quercétine.

La présence d'acide cafeoyl-quinine dans le *Solanum melongena* est également évoquée dans les travaux de *Wu et al (2012.)*

Das .S et al (2011) soutient que l'aubergine contient des polyphénols dont la nasunine, il évoque également la présence de vitamine A, de vitamine C et des β-caroténoïdes qui font de l'aubergine un puissant antioxydant.

Les études de *Mishra et al (2012)* confirment la richesse en acide phénolique du *Solanum melongena*.

L'aubergine est la plante comestible qui contient le plus fort taux de nicotine (*Jardin des plantes 2006*).

Le tableau I ci-dessous correspond à une comparaison entre les apports nutritionnels de l'aubergine crue et cuite quant à leurs teneurs en protides, glucides, lipides et en fibres alimentaires mais aussi leurs apports caloriques.

Tableau V : Apport nutritionnel de l'aubergine crue et cuite

Que vaut une « portion » d'aubergine ?

Poids/volume	Aubergine crue, 69 g (200 ml)	Aubergine bouillie, égouttée, 84 g (200 ml)
Calories	17	29
Protéines	0,7 g	0,7 g
Glucides	4,0 g	7,3 g
Lipides	0,1 g	0,2 g
Fibres alimentaires	2,4 g	2,1 g

Source : Santé Canada. Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2005

II. 5. Propriétés pharmacologiques

Saba et Oridepa (2012) soutiennent que l'extrait éthanolique des feuilles de *Solanum melongena L.* a produit une contraction dose-dépendante du muscle lisse de l'ilion de porc de guinée. Ils affirment également une stimulation des récepteurs muscariniques et histaminergiques par cet extrait.

DAS.S et al (2011) ont examiné le rôle des aubergines crues et grillées sur la cardioprotection en utilisant un modèle de cœur de perfusion isolée. La fonction ventriculaire gauche a été contrôlée, et la taille de l'infarctus du myocarde et l'apoptose des cardiomycocytes ont été évalués.

Les résultats de cette étude ont démontré que l'aubergine renferme des composés ayant de puissantes propriétés cardioprotecteurs à en juger par leur capacité à augmenter la fonction ventriculaire gauche, et de réduire la taille de l'infarctus du myocarde et l'apoptose des cardiomycocytes.

D'après les études de LUI X et al (2011) sur l'extrait éthanolique des racines de *Solanum melongena L.* (Solanacées). Cette étude est la première des activités inhibitrices alpha-glucosidase des racines de *S. melongena L.*, et cette observation préliminaire suggère l'usage médicinal potentiel de cette plante.

Les flavonoïdes extraits des fruits de *Solanum melongena L.* administrés par voie orale à une dose de 1 mg/100 g de poids corporel / jour ont montré une action hypolipémiante significative chez les rats nourris normalement. Cette activité peut donc être utile pour les traitements prophylactique et thérapeutique des affections associées à l'hyperlipidémie comme l'athérosclérose (**Pakistan Journal of Nutrition, 2004**).

D'après **Lo Scalzo et al, (2010)**, des dilutions d'extraits successifs du fruit de *Solanum melongena L.* ont montré une activité significative jusqu'à 1,25 µg / ml après la cuisson, tandis que les fruits crus ont donné lieu à une activité jusqu'à 10,00 µg/ ml. Ces résultats ont montré que le traitement thermique couramment utilisée avant consommation peut influer sur l'activité antioxydante de l'aubergine.

II. 6. Propriétés Thérapeutiques Attribuées

L'aubergine cuite avec sa peau, sans excès de corps gras, peut être conseillée pour traiter la parasse hépatobiliaire.

Propriétés : cholérétique, diurétique, émolliente, hypcholestérolémiantre, laxative (**Rivolier et bosserdet, 1977**).

Bien que peu nutritive (29 calories pour 100g), on assigne a l'aubergine des propriétés :

- Antianémique ;
- Laxatif ;
- Diurétique ;
- stimulant hépatique et du pancréas (**VALNET ,1982**).

II . 7. Indications

L'aubergine peut être indiquée pour traiter :

- ✓ certains cas d'anémies ;
- ✓ la scrofurose ;

- ✓ la constipation ;
- ✓ l'oligurie ;
- ✓ Eréthisme cardiaque ; (**VALNET ,1982**)
- ✓ Usages culinaires.

L'aubergine se mange :

- frite telle qu'elle ou en beignets ;
- dans la ratatouille, avec oignons, ail, tomates, poivrons, courgettes, thym et laurier. Additionnée d'olives noires dénoyautées, de céleri et de câpres, c'est la *caponata* italienne ;

On en fera également :

- Un caviar d'aubergine : peler, cuire au four, à la vapeur ou à la poêle, hacher finement la chair et l'assaisonner d'huile d'olive ;
- une moussaka : elle se prépare en alternant dans un plat à gratin des tranches d'aubergines grillées, de la viande d'agneau finement émincée et revenue à la poêle et de la sauce à la tomate, le tout nappé d'une sauce béchamel et garni de fromage râpé. Cuire au four ;
- une *escalivada* : ce plat catalan est composé d'oignons, de poivrons et d'aubergines disposés en étages dans un plat à gratin et arrosés d'un filet d'une bonne huile d'olive espagnole. À la sortie du four, arroser d'un peu d'huile d'olive et de vinaigre de xérès. Servir tiède ou froid.

Au Japon, on coupe en deux les petites aubergines allongées et on incise légèrement leur peau en plusieurs endroits avant de les faire griller au barbecue, nappées d'une sauce épaisse composée de miso et d'un peu de saké, de sucre (ou du miel) et de graines de sésame noir. On les prépare également en tempura (**Vanier. 2006**)

Dans l'alimentation elle sera avantageusement consommée crue, mélangée au hors d'œuvre (**VALNET ,1982**).

CHAPITRE II : LES ANTIOXYDANTS

I. GENERALITES SUR LES ANTI-OXYDANTS

La peau est toujours en contact avec l'oxygène et de plus en plus exposée aux radiations UV. De ce fait nous assistons à une augmentation substantielle des risques de dégâts photooxydatifs sur la peau induite par les différents types d'oxygène (O_2) réactif (ROS) (Scharffetter, 1997).

A l'exception des organismes spécialement adaptés à des conditions anaérobies, l'oxygène est la source de toute vie de tous les organismes vivants aérobies, car ceux-ci utilisent le haut niveau énergétique de l'oxygène moléculaire (O_2), pour oxyder les hydrates de carbone, les protéines, les graisses et produire principalement du CO_2 , H_2O et de l'énergie nécessaire au processus de la vie, exception faite aux organismes anaérobies. Cependant l'oxygène peut être également une source d'agression pour tous les êtres vivants car, sous l'action de rayons U. V, de radiations ionisantes, de métaux de transition et au cours de diverses réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical superoxyde O_2^- les peroxydes alkyles $ROOH$ et les radicaux hydroxyles HO^\cdot , les peroxydes ROO^\cdot et les alkoxydes RO^\cdot . Ils sont appelés espèces réactives de l'oxygène et sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus.

L'oxygène en plus de son action anti-infectieuse est utilisé par des enzymes telles que les monoamino-oxydases ou les monooxygénases pour métaboliser des composés endogènes et exogènes (Cavin, 1999) en outre la production par le corps humain de certains composés comme les prostaglandines passe par intermédiaires radicales.

Cependant ces espèces instables peuvent engendrer des dégâts dans l'organisme en provoquant des dommages à ADN, peroxydant les lipides ou

encore la fragmentation des protéines. Les oxydants jouent un rôle secondaire au processus primaire de la maladie telle que la maladie d'Alzheimer, de Parkinson, du mongolisme ou trizomie21, de la polyarthrite chronique, d'asthme, de l'athérosclérose ou encore le cancer de peau non mélanome et mélanome (Chevalley, 2000).

Les radicaux libres interviennent également dans les phénomènes de vieillissement, qui pourraient être la conséquence des dommages oxydatifs irréversibles accumulés tout au long de l'existence. Bien que le terme radical libre ait souvent été assimilé, à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (Harman, 1992). Les radicaux libres constituent cependant une cible particulièrement prometteuse pour améliorer les traitements thérapeutiques à différents stades pathologiques.

Ainsi un anti-oxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Cependant de nombreux antioxydants interviennent, lorsque les espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo* : c'est l'organisme qui se défend contre les radicaux en produisant des enzymes qui les neutralisent comme le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire tels que le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Michiels et coll., 1994). La vitamine C considérée comme antioxydante, peut être aussi à l'origine de la formation des radicaux hydroxyles en présence de peroxyde d'hydrogène. En plus l'origine des radicaux libres est diverse : la consommation des cigarettes, l'ensoleillement, la pollution (automobile, l'industrialisation).

Selon (Aouissa, 2002), les antioxydants sont des produits chimiques qui retardent la détérioration, la rancidité ou la décoloration causée par l'oxydation.

II . LES PRINCIPALES SOURCES D'ANTIOXYDANTS

Outre les anti-oxydants produits par l'organisme pour sa défense, les sources sont diverses : médicamenteuses, alimentaires et végétales.

II .1. Les médicaments

Actuellement, plusieurs agents thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéinémiques, les β -bloquants et autres anti-hypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes. Parmi ces médicaments, nous pouvons citer :

- Le Probucol® (Lurselle) :

Médicament utilisé pour baisser le taux sanguin de cholestérol, prévenir l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL) (Cavin, 1999).

- La N-acétylcystéine :

Molécule qui agirait de manière significative dans la régénération du glutathion (antioxydant) en pénétrant les cellules.

Elle peut être également utile dans le traitement des blessures du poumon dues à des espèces réactives de l'oxygène (Cavin, 1999).

- L'hydralazine, le captopril, le terazosin :

Médicaments utilisés contre l'hypertension artérielle, reconnus pour la production d'enzymes antioxydantes dans certaines conditions.

II .2. Source alimentaire

L'organisme utilise des substances naturelles antioxydantes. Celles-ci contribueraient de manière significative à la prévention des maladies telles que les maladies cardiaques et le cancer. Il s'agit :

❖ La vitamine E (alpha-Tocophérol)

Il existe quatre isomères α , β , γ , δ tocophérols dont α est le plus puissant. C'est un antioxydant qui in vitro, va se localiser, grâce à sa lipophilie, dans les doubles couches lipidiques des membranes cellulaires, points stratégiques pour arrêter la lipidopéroxydation (BURTON et TRABER, 1990). Elle est présente dans les huiles végétales (huile de palme, d'arachide, de soja, de maïs, de charbon, d'olive pressé à froid et de tournesol), ainsi que dans les graines, les noix, le lait, les œufs, les légumes à feuilles vertes et les amandes (Cavin, 1999).

❖ La vitamine C (acide ascorbique)

L'apport alimentaire en acide ascorbique se réalise par les légumes vertes, le chou, le persil, le poivron, les agrumes et le cassis. C'est un puissant réducteur et intervient dans la régénération de la vitamine E (Mireille, 2001). Elle a été isolée et identifiée par Szent-györgyi au début du siècle. Le thé vert agent antioxydant de référence, contient une proportion importante de procyanidine (Weisburger, 1997). La vitamine C est aussi probablement la plus effective et la moins毒ique de tous les antioxydants soluble dans l'eau identifiée dans le système des mammifères (Levine, 1986 ; Frei et coll., 1988).

Les concentrations de la vitamine C dans les lentilles sont plus élevées que dans le plasma (Taylor et coll., 1991).

❖ La β -carotène (provitamine A)

Possède la capacité de capter l'oxygène singulet et se trouve dans les légumes verts, la salade, les carottes, les épinards, l'abricot, la papaye, le melon, le potiron et d'autres fruits jaunes (Tolo, 2002). Le progrès a été marqué concernant l'effet thérapeutique des agents incluent dans les anti-oxydants naturels, que oppose d'induire alcool oxydative du stress. Le rétinol est un anti-oxydant mais c'est un faible et comme noté précédemment, son hepatotoxicité

intrinsèque potentialisé par l'éthanol complique son utilisation (Krinsky and Deneke, 1982).

❖ Le sélénium

Diminue également la fréquence des maladies cardiaques, sans toutefois faire baisser la tension artérielle et a un effet positif sur le cholestérol. Il est efficace dans le traitement de l'arthrose (Aouissa, 2002). On le retrouve dans la viande, le poisson, et les céréales. Il a été montré qu'un apport quotidien en sélénium de 200 microgrammes faisait baisser de moitié le risque du cancer de la prostate (Aouissa, 2002). Autrefois comme un toxique, ses effets bénéfiques sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure), prévient le vieillissement. Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (Martine, 2002).

II .3. Les végétaux sources d'antioxydants naturels

Les antioxydants d'origine naturelle sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures et sont en général des composés phénoliques. Ils agissent par la désactivation des radicaux par création d'addition covalente, la réduction des métaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition et le captage de l'oxygène singulet. En effet le *Ginkgo biloba L.* (Ginkgoaceae) et l'*Allium sativum L.* (Liliaceae), utilisés dans le traitement de problèmes cérébrovasculaires et circulatoires dus à la vieillesse car ce sont des plantes médicinales les plus connues et économiquement importantes. Ainsi ont été étudiés les polyphénols dont le resvératrol contenus dans le vin rouge, de même que les procyanidines du thé vert et du thé noir. Les constituants à activité antiradicalaire isolés des plantes. Depuis quelques années de nombreux composés ayant des propriétés antioxydantes ont été isolés des plantes. Bien que les antioxydants soient présents dans les parties de la plante, ils sont également répandus entre les plantes alimentaires. Les constituants alimentaires de ces antioxydants, semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies cardiovasculaires et le cancer. Dans la plupart des cas nous rencontrons

les composés phénoliques, possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituant (s) hydroxyles, avec différents fonctionnels dérivés (esters, glycosides,...). Ainsi nous pouvons citer :

❖ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, au sens strict, sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques ; ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides appelés flavonoïdes dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone, la chromone étant la benzo- γ -pyrone. Dans les flavonoïdes au sens large, sont inclus tous les composés en C6 -C3-C6 notamment les dérivés du flavyllium (anthocyanes) (BASSENE (2012)). Les flavonoïdes sont retrouvés dans toutes les parties de la plante à différentes concentrations où ils jouent un rôle déterminant dans le système de défense comme antioxydant. Ils contribuent entre autres à la coloration des fleurs et des fruits en jaune ou en blanc. Les flavonoïdes possèdent de nombreuses vertus médicinales, notamment leur activité particulière dans le maintien d'une bonne circulation (Iserin, et coll., 2001). Ils sont associés à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoire, antivirale, antithrombique, antihépatotoxique, antitumorale, antihypertensive, antibactérienne, antiallergique, et antioxydante (Bossokpi, 2002). Néanmoins les flavonoïdes ont également des effets pro-oxydants sur les protéines, sur la peroxydation des lipides et sur l'ADN (Aouissa, 2002).

Les flavonoïdes sont présents dans les fruits, les légumes, le thé et le vin et agissent soit comme chélateurs de métaux (quercétine, catéchine), soit comme capteurs de radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes, peroxydes (quercétine, rutine, kaempférol). L'apport quotidien de flavonoïdes au sens large est estimé à 1g dans les pays de l'ouest, mais ils sont généralement très résorbés dans le tractus gastro-intestinal (Formica et Regelson, 1995).

❖ Les tanins

Les tanins sont des composants poly phénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux (Iserin, et coll., 2001). Ils possèdent également des propriétés antioxydantes significatives et agissent en donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Ainsi ont eu à démontrer l'inhibition de l'acide ascorbique, du linoléate et de la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. La formation des radicaux tanniques plus stables a pour effet le stoppage de la réaction en chaîne de l'auto oxydation lipidique. Le thé vert (*Camelia sinensis* O. Kuntze, Theaceae) est l'exemple le plus cité. Les intérêts des polyphénols de celui-ci, spécifiquement le gallate d'épigallocatéchine, sont attribués à leurs propriétés anticancéreuses non négligeables et ont aussi prouvé des activités antimutagènes. Les tanins permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (Iserin et coll., 2001).

❖ Les xanthones

Ce sont des polyphénols ayant des propriétés pharmacologiques comme l'inhibition de la monoamine-oxydase, des activités antimicrobiennes et cytotoxiques. Ils ont également des propriétés antioxydantes qui s'appliquent par inhibition de la peroxydation des lipides, ainsi que par le captage de radicaux libres contre les anions superoxydes. Cependant ces études ont été portées sur la mangiférine.

❖ Les coumarines

Elles sont capables d'avertir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes. Les coumarines ont des propriétés diverses parmi lesquelles ont été remarquées les coumarines du

mélilot (*Melilotus officinalis*) et du marronnier d'inde (*Aesculus hippocastanum*) qui contribuent à fluidifier le sang alors que les Furano coumarines comme le bergaptène, contenues dans le céleri (*Apium graveolens*) soignent les affections cutanées (Iserin, et coll., 2001).

❖ Les caroténoïdes

Il s'agit d'un groupe de pigments liposolubles constitués de la membrane des chloroplastes. Ils sont présents dans certaines plantes alimentaires et contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxyles et les alkoyles en capturant les radicaux libres. L'avantage de la quantité élevée du β-carotène dans la nourriture est la diminution des risques de cancers.

❖ Les lignanes

Ce sont des dérivés bifurnyles des graines de sésame (*Sesamum indicum* DC., Pedaliaceae). De nombreuses publications ont été faites sur l'activité antioxydante des lignanes. Depuis quelques années la forte résistance à la dégradation oxydative de l'huile de sésame a été l'objet de nombreuses recherches sur les graines de sésame. Les lignanes diarylfuranofuraniques tel que le sésaminol possèdent des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de cette huile.

II .4. Les différentes méthodes d'étude de l'activité antioxydante

II .4.1.Test de réduction du radical 1,1-di-phényl-picryl-hydrazine (DPPH)

❖ Test sur CCM

Les extraits à tester sont déposés sur des plaques CCM de gel de silice GF254 en aluminium et développés dans des systèmes appropriés. Après le séchage, les CCM sont aspergées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de

DPPH. Les activités anti radicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (Cavin, 1999).

❖ Test en solution

Le DPPH est un radical libre qui absorbe à 517 nm .En présence d'une substance antiradicalaire (antioxydante), les électrons non appariés sont capturés pour donner un produit qui absorbe à 470 nm, ce qui provoque une baisse de l'absorption à 517 nm (BASSENE, 2012).

II. 4.2.Test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes

❖ Test sur CCM

Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis aspergées avec une solution chloroformique à 0.5 mg/ml de b carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de la plaque. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances déjà colorées en jaune, car elles peuvent donner de faux positifs (Cavin, 1999).

❖ Test en solution

Pour ce test, la méthode décrite nécessite la crocine, isolée du safran (*Crocus sativus L.* Iridaceae). Les solutions sont préparées contenant 10 mM de t-BuOH ; 0,5 mM de t-BuOH, ainsi que les composés à tester à différentes concentrations. Ces solutions sont placées sous la lumière à 254 nm et la décoloration de la crocine est mesurée en suivant la diminution de l'absorbance à 440 nm au cours du temps à l'aide d'un spectrophotomètre du type UV Lambda (Cavin, 1999).

II. 4.3.Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome

Un mélange du lysosome (1 mg/ml) et du composé à tester à des concentrations diverses est incubé pendant 20mn à 40°C dans un tampon phosphate (10 mM, PH 7.4). Les composés à tester sont dissous dans du MeOH et 5 ml de cette solution sont ajoutées à la solution protéinique, ceci afin de limiter à 1 % (v/v) la quantité de solvant organique dans l'échantillon (volume total de 0.5 ml). L'oxydation est initiée par l'addition d'hydrochlorure de 2,2'-azobis (2-amino-propane) (AAPH) dissout dans le tampon phosphate. L'oxydation des protéines s'effectue en présence de 10 mM d'AAPH, avec ou sans antioxydant pendant 60 mn. Les mesures se font ensuite par électrophorèse capillaire (Cavin., 1999).

II. 4.4. Activité antioxydante par la méthode ABTS

L'activité antiradicalaire est basée sur la décoloration (mesurée à 534 nm) d'un cation radicalaire stable, ABTS⁺ (2,2'-azinobis-[acide 3-éthylenzothiaziline-6-sulfonique]) en ATBS, en présence de composés antioxydants. Cette méthode est encore appelée TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) (BASSENE, 2012).

II. 4.5. Activité antioxydante par la méthode FRAP

La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) est basée sur la capacité des extraits à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) (BASSENE, 2012).

DEUXIEME PARTIE:
ETUDES EXPERIMENTALES

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL ET REACTIFS

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles d'aubergine récoltées au niveau du technopole de Pikine.

Elles ont été par la suite identifiées au Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie (FMPO) de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Les drogues végétales ont été séchées à l'ombre dans un endroit aéré au même laboratoire.

I.2. Matériel de laboratoire

- broyeur "Brabender OHG Duisburg" ;
- verre de montre ;
- balance de précision "SartoriusP" ;
- évaporateur rotatif de marque "Buchi" 461 ;
- spatule ;
- pH mètre ;
- ballon 500ml ;
- dessiccateur ;
- spectrophotomètre UV/Vis (BTS-350) ;
- pierre ponce ;
- Centrifugeur ROTOFIX 32 A hettich ;
- Incubateur P. O. BOX 1720 memmert.

I.3. Réactifs

- DPPH : 1,1, diphényl-2-pycrylhydrazyl (Sigma Aldrich) ;
- acide L (+) ascorbique (Panreac) ;
- éthanol 95° ;
- Méthanol ;
- Solution de DPPH à 0,25 % ;
- Acide sulfurique ;
- Acide phosphotungstique ;
- Réactif de Stiasny ;
- Réactif de Kedde ;
- Réactif de Baljet ;
- Réactif de Raymond Marthoud ;
- Réactif de Dragendorff ;
- Réactif de Valser Mayer ;
- Réactif de Bouchardât.

II. METHODES D'ETUDES

II.1. Obtention de l'extrait éthanolique des différentes plantes

Les drogues séchées à l'ombre pendant 3 semaines sont broyées pour obtenir une poudre. Ensuite 30 g de poudre de chaque plante sont portés à ébullition sous reflux dans 375 ml d'éthanol pendant 30 minutes. De la pierre ponce est ajoutée pour stabiliser l'ébullition. Après filtration, l'extrait éthanolique ainsi obtenu est évaporé au rotavapor pour donner un résidu sec. Ce

résidu est ensuite repris avec de l'éthanol pour les tests pharmacologiques.
(figure 1)

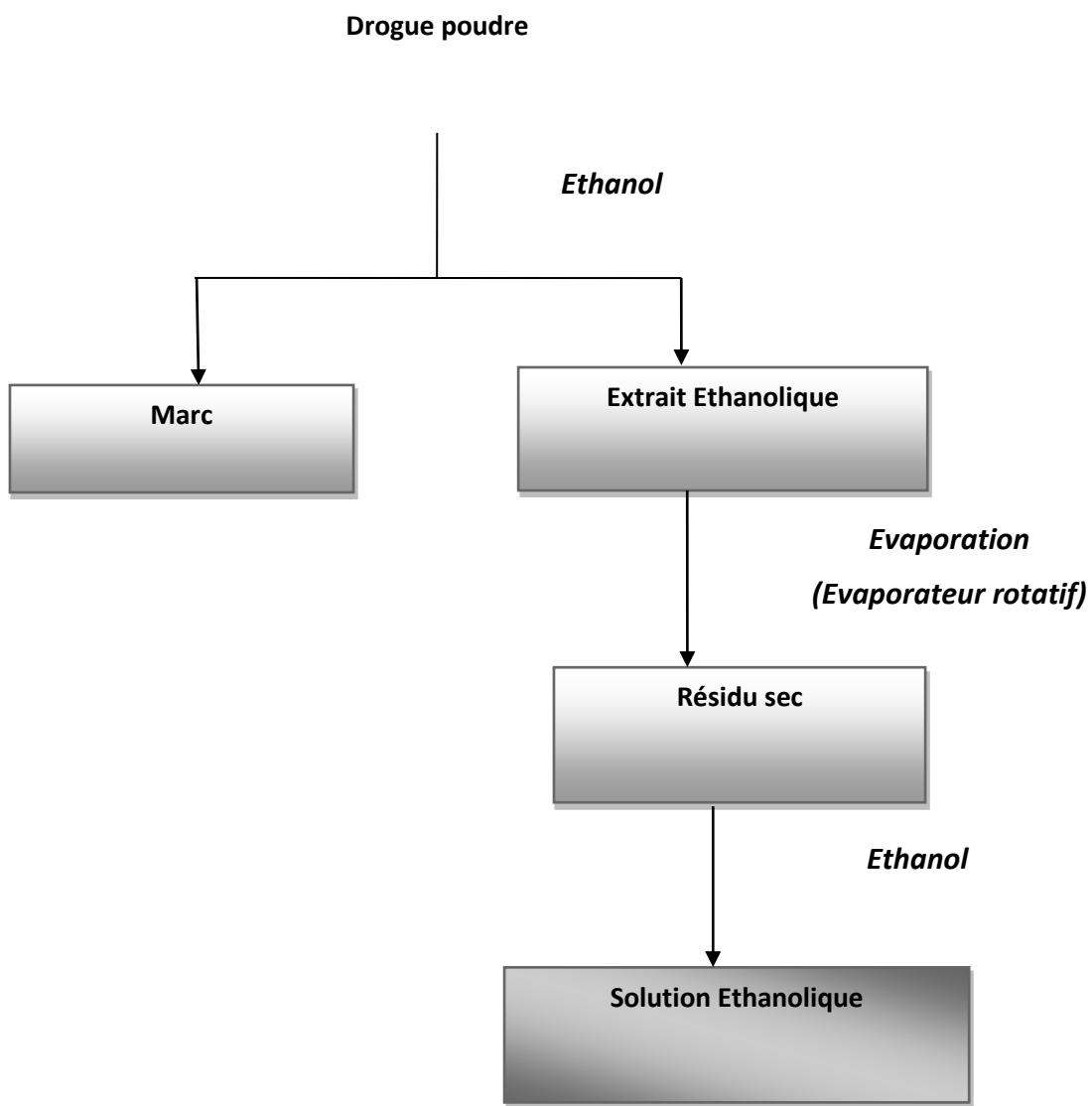


Figure 1 : protocole d'obtention de l'extrait Ethanolique de *Solanum melogena*

II.2. Screening Phytochimique

Ce chapitre sera consacré à la description des différentes méthodes d'analyse utilisées au cours de nos recherches :

II.2.1. Détermination de la Teneur en Eau

La détermination de la teneur en eau a été possible grâce à la méthode gravimétrique.

Elle correspond à la perte de poids de la drogue par dessiccation à l'étuve.

❖ Principe :

Par chauffage à 100-105°C pendant un temps suffisant, la drogue, convenablement divisée, subit une perte de poids qui correspond sensiblement à la totalité de l'eau qu'elle contient.

❖ Mode opératoire

Le mode opératoire consiste à :

- Tarer une capsule préalablement séchée à l'étuve et refroidie dans un dessiccateur ;
- Introduire dans la capsule environ 2g de la drogue broyée : soit P le poids exact de la drogue (au mg près) ;
- Porter à l'étuve entre 100-105°C durant une heure ;
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser : le poids obtenu est P'.

La perte de poids sera rapportée à 100g de drogue et correspond à la teneur en eau de la drogue (TE) en pourcentage :

$$TE = \frac{(P - P') \times 100}{P}$$

II.2.2. Recherche des hétérosides flavonoïdes

Les flavonoïdes, au sens strict, sont des pigments jaunes généralement polyphénoliques. On les retrouve sous forme d'hétérosides appelés flavonoïdes, dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone.

II.2.2.1. Solution extractive

Dans un erlenmeyer, introduire :

- 150ml d'eau distillée ;
- 10 g de poudre de drogue.

Faire bouillir le tout pendant 30mn au bain marie, filtrer et laisser refroidir.

II.2.2.2. Réaction générale de caractérisation des flavonoïdes

II.2.2.2.1. Coloration en milieu alcalin

❖ Principe

En milieu alcalin, les alcaloïdes se dissolvent en donnant des colorations allant du jaune au brun.

❖ Mode opératoire

Dans un tube à essai, quelques ml d'une solution de soude au 1/10e sont ajoutés à 2 ml de la solution extractive.

On note une coloration jaune orangé en présence de flavonoïdes.

II.2.2.2.2. Coloration par le perchlorure de fer

❖ Principe

Du fait de la présence des fonctions phénoliques dans leur génine, les flavonoïdes donnent des colorations variées avec des solutions diluées de chlorure ferrique (FeCl_3).

❖ Mode opératoire

En ajoutant 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl₃ à quelques ml de la solution extractive, on observe une coloration verdâtre qui indique la présence de composés phénoliques.

II.2.2.3. Réaction de shibata

❖ Principe

En milieu alcoolique et en présence d'hydrogène naissant obtenu in situ par action de l'acide chlorhydrique sur du magnésium, les flavonoïdes donnent des colorations variées allant du rouge-orange au violet.

❖ Mode opératoire

Dans un tube en essai introduire :

- 2ml de la solution extractive ;
- 2ml d'alcool chlorhydrique composé de :
 - 2ml d'alcool 96°,
 - 2ml d'eau,
- 1ml de HCl concentré ;
- Quelques fragments de magnésium (attention la réaction est exothermique).

Une coloration rose puis rouge se développera en présence de flavonoïdes.

II. 2.2.3. Séparation et identification des alcaloïdes par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La CCM est une méthode utilisée pour déterminer la présence des substances dans un extrait. Cette méthode est basée sur la distance de migration des différentes substances car chaque substance possède une migration qui lui est propre par un support et un système éluant donné.

❖ Principe

La CCM permet la séparation de substances contenues dans un mélange déposé sur un absorbant grâce à une phase mobile appelée éluant.

L'extrait à analyser et le témoin sont déposés à deux endroits différents mais à la même distance du bord inférieur de la plaque. Cette plaque est introduite dans une cuve contenant l'éluant. Lorsque la migration du solvant (D) est jugée suffisante, la plaque est retirée de la cuve puis séchée. Le révélateur est pulvérisé sur la plaque sèche. Dans le cas où les spots n'apparaissent pas on fait recours à la lampe ultra-violette pour les observer. Les spots sont alors repérés et les distances de migration (d) sont mesurées.

Le comportement chromatographique d'un soluté est estimé par une grandeur notée Rf (Rapport font), caractéristique de la substance pour un support et un système éluant donné.

❖ Technique

Les échantillons sont déposés à 2cm de l'une des extrémités de la plaque à l'aide de micropipettes.

La plaque est ensuite introduite dans la cuve où se trouve le solvant approprié. Après migration, la plaque est retirée puis séchée à l'étuve. On pulvérise ensuite par le révélateur approprié.

❖ Résultats

Ils sont exprimés :

$$RF = \frac{d}{D}$$

d : distance de migration de la substance.

D : distance de migration du solvant.

Les couleurs ou les fluorescences obtenues avec les réactifs de révélation,

Les fluorescences sous lumière ultra-violette.

II. 2.2.3.1. Préparation des extraits :

10 g de poudre d'échantillon et 150ml d'éthanol sont placés dans un ballon de 500ml. Le mélange obtenu est porté à ébullition à reflux pendant 30mn, refroidi, puis filtré. Le décocté ainsi obtenu est évaporé grâce à l'évaporateur rotatif et on obtient un résidu sec qui sera repris par du méthanol. La solution méthanolique ainsi obtenue sera utilisée pour la CCM.

II.2.2.3.2. Matériel et réactifs

- Support : plaque de cellulose,
- Solvant éluant : acide acétique à 15 % dans l'eau, dépôts :
 - Extrait de feuilles de la plante dans le méthanol,
 - Témoin de vitexine à 1 % dans le méthanol,
 - Temion de quercétine à 1 % dans le méthanol.
- Révélateur : chorure d'aluminium à 15 % dans le mélange eau-méthanol (1v/1v).
- Examen sous lampe UV à 254nm.

II. 2.2.3.3. Technique

Le témoin et les extraits à analyser sont déposés sur la plaque de cellulose. Après élution et migration, la plaque est observée sous la lampe UV à = 365 nm et 254 nm, afin de voir les spots fluorescents.

La plaque est ensuite séchée à l'étuve à 100°C pendant 5 minutes, puis on pulvérise une solution de chlorure d'aluminium à 15 % dans le méthanol. On observe ensuite à l'UV.

La présence des flavonoïdes est caractérisée par des spots jaunâtres.

II.2.3. Recherche des tanins

Les tanins sont des composés polyphenoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre dure et imputrescible en se fixant sur les protéines. On distingue deux grands groupes de tanins :

- Les tanins hydrolysables ou pyrogalliques qui sont des esters d'oses et d'acides phénols (acides gallique en particulier),
- Les tanins condensés, non hydrolysables ou catechiques qui dérivent des catéchols et des proanthocyanidols par condensation.

II.2.3.1. Extraction

La caractérisation se fait sur un infusé à 10 %.

Sur 5g de drogue, verser 50 ml d'eau bouillante et laisser infuser pendant 30 minutes puis filtrer.

II.2.3.2. Réaction de caractérisation

II.2.3.2.1. Caractérisation par le perchlorure de fer

On ajoute quelques gouttes de solution de perchlorure de fer à 2 %, à 5 ml de la solution extractive puis on agite. La présence des tanins est signalée par une coloration brun vert du mélange.

II.2.3.2.2. Caractérisation par l'acide phosphotungstique

Les tanins donnent avec l'acide phosphotungstique une coloration bleue. On dilue l'infusé au 1/10e puis on ajoute ensuite à 1 ml de la solution :

- 1 ml d'une solution d'acide phosphotungstique,
- 9 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 25 %

Il apparaîtra une coloration bleue du mélange.

II.2.3.3. Différenciation des tanins

Elle permet de distinguer les deux catégories de tanins à savoir :

- Les tanins condensés ;
- Les tanins hydrolysables.

II.2.3.3.1. Précipitation par le réactif de Stiasny

❖ **Principe :**

En milieu acide et à chaud, les tanins condensés sont précipités par le réactif de Stiasny tandis que les tanins hydrolysables restés en solution donnent avec le perchlorure de fer à 2 % une coloration bleue, ceci après saturation du filtrat avec l'acétate de sodium.

❖ **Mode opératoire :**

Il consiste à ajouter à 15 ml de l'infusé, 8 ml de réactif de Stiasny (formaldéhyde chlorhydrique) puis chauffer au bain-marie à ébullition pendant 30 min La précipitation montre la présence des tanins condensés On filtre et sature le filtrat par l'acétate de sodium, puis on ajoute quelques gouttes de solution de chlorure ferrique à 2 % : il apparaît une coloration bleu-noir indiquant la présence des tanins hydrolysables non précipités par le réactif de Stiasny.

II.2.3.3.2. Oxydation des tanins condensés

❖ **Principe**

Par chauffage en milieu chlorhydrique, les tanins condensés s'oxydent en phlobaphènes colorés en rouge.

❖ **Mode opératoire :**

On ajoute à 5 ml de l'infusé, 1 ml d'acide chlorhydrique puis on porte à ébullition. Il se développe une coloration rouge due à la formation de phlobaphènes.

Remarque :

Au cours de la conservation des drogues à tanins condensés, une partie de ces tanins s'oxyde en phlobaphènes responsables de la coloration rouge de ces drogues.

II.2.3.4. Chromatographie sur couche mince des tanins

II.2.3.4.1. Préparation des extraits

10g de poudre d'échantillon et 150 ml d'éthanol sont placés dans un ballon de 500 ml. Le mélange obtenu est porté à reflux pendant 30mn, refroidi, puis filtré. Le décocté ainsi obtenu est évaporé grâce à l'évaporateur rotatif et on obtient un résidu sec qui sera repris par du méthanol. La solution méthanolique ainsi obtenue sera utilisée pour la CCM.

II.2.3.4.2. Matériel et réactifs

- Support : silice
- Solvant de migration : acétate d'éthyle/méthanol/eau (40v/8v/5v)
- Dépôts :
 - Témoin d'acide tannique ;
 - Extraits de la plante à analyser
- Révélateur : mélange chlorure ferrique, acide acétique, eau (2v/2v/96v)

II.2.3.4.3. Technique

Le témoin et les extraits à analyser sont déposés sur la plaque, puis laissés migrer dans la cuve. Après une bonne migration, la plaque de silice est observée sous lampe UV à $\lambda = 365$ et 254 nm. La plaque est ensuite séchée à 100°C à l'étuve pendant 5 minutes, puis révélée avec FeCL₃. Les tanins donnent des taches de couleur noire.

II.2.4. Recherche des Hétérosides Anthracéniques :

Les hétérosides anthracéniques ou anthracénosides sont des substances de structures homogènes dérivées de l'anthracène. Les plantes qui les renferment sont utilisées comme purgatif. La réaction de Borntraeger est utilisée pour la caractérisation des hétérosides anthracéniques.

❖ Principe :

Les génines anthracéniques donnent en présence d'un alcali une coloration rouge qui est intense avec les génines oxydés.

❖ Mode opératoire :

Le mode opératoire consiste à :

- Mélanger 100 mg d'extrait sec, 20 ml d'eau distillée, 1 ml de HCL concentré ;
- Porter au bain-marie pendant 15 mn ;
- Laisser refroidir ;
- Extraire, après filtration, avec 10 ml de chloroforme ;
- Evaporer à sec la solution chloroformique ;
- Ajouter au résidu 2 ml d'ammoniaque au $\frac{1}{2}$.

On observe une coloration jaune qui vire au rouge par chauffage au bain-marie.

II.2.5. Recherche des Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides caractérisés entre autres par leur pouvoir aphrogène en solution aqueuse.

❖ Principe

La drogue est extraite par décoction aqueuse, puis la teneur en saponosides sera évaluée par la détermination de « l'indice de mousse » sur le décocté.

❖ Mode opératoire

■ Préparation du décocté :

Dans un erlenmeyer de 500 ml, mettre :

1 g de poudre de drogue

100 ml d'eau

Puis porter au bain-marie à ébullition modérée pendant 30 mn on filtre après refroidissement et on ajuste à 100 ml.

- Mesure de « l'indice de mousse » : IM

Dans une série de 10 tubes calibrés numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1,2, 3,4... 10 ml du décocté.

Dans chaque tube, on ajuste le volume à 10 ml par addition d'eau distillée ; puis on agite pendant 15 secondes dans le sens de la longueur (2 agitations par seconde) ; on laisse reposer 15 mn et enfin on mesure la hauteur de la mousse.

Le tube X dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm va servir de base au calcul de l'indice de mousse.

- Calculs :

$$X \text{ ml de décocté à } 1\% = X/100 \text{ g de drogue.}$$

Les tubes étant dilués dans 10 ml d'eau, la concentration dans le tube est donc égale à $X/1000$.

L'indice de mousse (IM) est :

$$IM = \frac{1000}{X}$$

Remarque :

- Si la hauteur de la mousse est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice de mousse est inférieur à 100.
- Si cette hauteur est supérieure à 1 cm dans tous les tubes, il faut faire une nouvelle détermination après avoir dilué le décocté au 1/10^e ou plus.

II. 2.6. Recherche des Heterosides Cardiotoniques

Ce sont des substances constituées d'une génine de nature stéroidique sur laquelle sont fixés une fraction osidique et un cycle lactonique insaturé. On les utilise dans le traitement des insuffisances cardiaques.

- ❖ **Principe :**

Après dégraissage, les hétérosides cardiotoniques donnent en milieu alcalin des réactions colorées avec les dérivés nitrés.

Ainsi on obtient les colorations suivantes selon le réactif utilisé :

- Baljet : rouge orange stable,
- Kedde : rouge pourpre stable,
- Raymond-Marthoud : violette fugace.

❖ Mode opératoire

➤ Extraction :

Mettre 1g de poudre de drogue en contact deux fois de suite avec 4 ml d'éther de pétrole pendant 3 mn. Décanter et sécher à l'air libre : on obtient une poudre dégraissée.

Introduire la poudre dégraissée dans un tube à essai ; ajouter 5 ml de mélange chloroforme/éthanol (4v/1v).

Laisser macérer 30 mn en agitant de temps à autre et filtrer.

➤ Caractérisation :

Le filtrat est réparti dans trois tubes à hémolyse puis on verse dans chaque tube respectivement :

- 0,5 ml de réactif de Baljet,
- 0,5 ml de réactif de Kedde,
- 0,5 ml de réactif de Raymond-Marthoud.

On ajoute dans chaque tube 2 gouttes de lessive de soude dilué au 1/5e dans l'alcool à 95°C puis on agite en s'assurant que le pH est bien alcalin.

On observe les colorations décrites ci-dessus.

II. 2.7. Recherche des Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent un groupe chimique très hétérogène, difficile à définir précisément.

Le terme alcaloïde est généralement appliqué aux substances organiques, basiques, azotées et douées de propriétés physiologiques.

II.2.7.1. Caractérisation des alcaloïdes

II.2.7.1.1. Caractérisation générale

❖ Principe

Ce sont des réactions de précipitation. En solution aqueuse acide (pH 1 et 2), les sels d'alcaloïdes donnent avec les complexes iodés des métaux lourds des précipités colorés caractéristiques.

Les trois réactifs les plus utilisés sont :

- le réactif de BOUCHARDAT (solution iodo-iodurée de potassium) qui donne un précipité brun en présence d'alcaloïdes ;
- le réactif de DRAGENDORFF (solution iodo-bismuthite de potassium) qui donne un précipité orangé à rouge vermillon en présence d'alcaloïdes ;
- le réactif de VALSER-MAYER (solution mercuri-iodure de potassium) qui donne un précipité blanc-jaunâtre en présence d'alcaloïdes.

II.3. Recherche de l'Activité Anti-Oxydante

II.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

❖ Principe :

La méthode utilisée est celle de Molyneux (2003). 4 mg de poudre de DPPH sont dissous dans 100 ml d'éthanol. La conservation de la solution se fait à l'abri de la lumière pendant 12h. Puis dans une série de tubes à essai contenant

0,8 ml d'extrait à différentes concentrations, sont ajoutés 3,2 ml de la solution de DPPH. Les extraits sont testés aux concentrations suivantes : 12,5-25-50-100-200 µg/ml. L'acide ascorbique utilisé comme antioxydant de référence est testé à ces mêmes concentrations. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante pour chaque concentration le test est répété 3fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (PI%).

$$\text{PI\%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Les valeurs de l'EC50 ont été déterminées grâce au logiciel stat graphic.

II.3.2. Test de la réduction du fer FRAP :

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (Oyaizu, 1986). Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1 %. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000pm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combiné avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1 %. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et al 1965).

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS DU SCREENING CHIMIQUE

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques sur les feuilles de *Solanum melongena*.

Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité et de la turbidité ou la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

Ainsi :

- Une réaction franchement positive est représentée par : +++
- Une réaction moyennement positive est représentée par : ++
- Une réaction faiblement positive est représentée par : +
- L'absence de la substance est représenté par : ☒

Les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence plusieurs groupes chimiques.

I.1. Essai de mise en évidence des tanins

Les résultats obtenus au cours de ces analyses ont montré la présence de faibles quantités de tanins condensés et hydrolysables au niveau des feuilles de *Solanum melongena*.

La CCM des extraits méthanoliques a donné les mêmes résultats avec la présence d'un spot noirâtre de faible coloration.

Les résultats sont illustrés par les tableaux II et III de même que la photo 4.

Le tableau II représente les essais de caractérisations des tanins et les colorations obtenues de même que l'intensité de celles-ci, mais aussi les réactions permettant leurs différenciations.

Tableau VI : Réaction de caractérisation et différenciation des tanins

Réactions de caractérisations	Résultats (colorations)	Intensités
Caractérisation par le perchlorure de fer :	brun vert	+++
Caractérisation par l'acide phosphotungstique	bleue	+++
Différenciation des tanins		
Précipitation par le réactif de Stiasny	Bleue	++
Oxydation des tanins condensés	rouge	++

Le tableau III représente les Rf des feuilles de *solanum mélongena* et de l'acide gallique après migration et la couleur des spots obtenus.

Tableau VII: Rf et coloration des spots après la CCM des Tanins.

Rf	Coloration des spots au

		FeCl₃
AG	4,8	Noir
F	5,5	Noir



Photo 4: Chromatographie sur couche mince des tanins

Eluant : acétate d'éthyle /méthanol /eau (40v/8v/5v)

Légende :

- AG : acide gallique
- F : feuilles de *Solanum melongena*

I.2. Essai de mise en évidence des Hétérosides Flavoniques

Les résultats obtenus ont montré la présence de flavonoïdes dans les feuilles de *Solanum melongena*.

Ces résultats sont illustrés par le tableau IV et la Photo 5.

Le tableau IV représente les réactions de caractérisations des flavonoïdes ainsi que les colorations obtenues de même que leurs intensités

Tableau VIII: Réactions de caractérisation des flavonoïdes.

Réactions de caractérisations	Résultats (colorations)	Intensité
Coloration en milieu alcalin	jaune au brun.	+++
Coloration par le perchlorure de fer	verdâtre	+++
Réaction de shibata	rouge-orange	++



Quer =Quercetine

F= feuille

Photo 5 : Chromatographie sur couche mince des flavonoïdes

I. 3.Essai de mise en évidence des hétérosides cardiotoniques :

Les réactions générales de caractérisation des hétérosides cardiotoniques descendent la présence de celles-ci dans les feuilles de *Solanum melongena*.

Ces résultats sont illustrés par le tableau V.

Le tableau IV représente les réactions de caractérisations des Hétérosides cardiotoniques ainsi que les colorations obtenues de même que leurs intensités.

Tableau V : Réactions de caractérisations des Hétérosides cardiotoniques

Réactifs utilisés	Résultats (colorations)	Intensités
réactif de Baljet	rouge orange	+++
réactif de Kedde,	rouge pourpre	+++
réactif de Raymond-Marthoud	Violette	+++

I. 4.Essai de mise en évidence des hétérosides anthracéniques :

L'analyse n'a pas révélé la présence d'hétérosides anthracéniques au niveau des feuilles.

I .5. Essai de mise en évidence des alcaloïdes :

Les réactions générales de caractérisation des alcaloïdes se sont avérées positives. Ainsi on peut en conclure que les feuilles de *Solanum melongena* contiennent ainsi une grande quantité d'alcaloïdes.

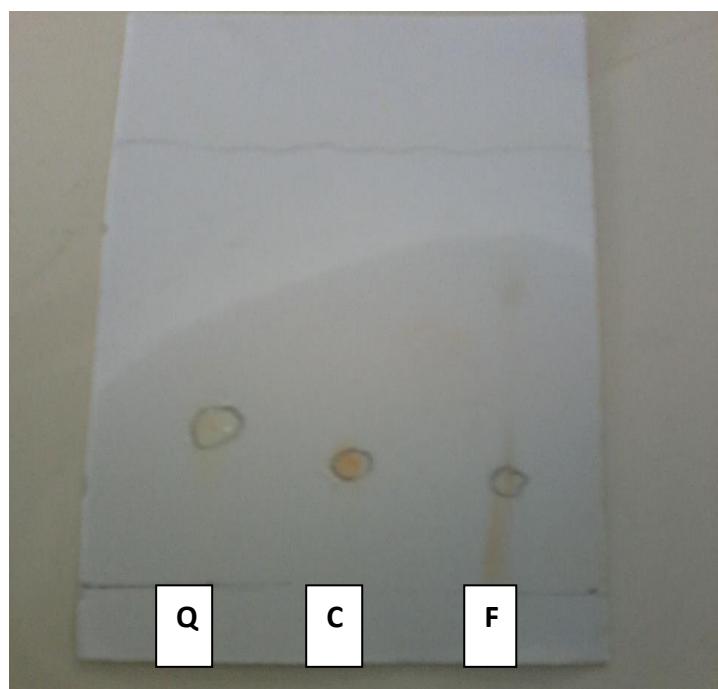
Ces résultats sont illustrés par le tableau VI et la figure 6.

Le tableau IV représente les réactions de caractérisations des Hétérosides cardiotoniques ainsi que les colorations obtenues de même que leurs intensités

Tableau VI: réactions de caractérisation des alcaloïdes

Réactions de caractérisations	Résultats (colorations)	Intensités
Réactif de BOUCHARDAT	Précipité brun	+++
réactif de DRAGENDORFF	Précipité orangé à rouge	+++
réactif de VALSER-MAYER	Précipité blanc-jaunâtre	+++

La photo 6 présente une chromatographie en couche mince des alcaloïdes avec la couleur des spots des témoins et de l'extrait éthanolique des feuilles de *Solanum melongena*.



Q : Quinine

C : Cinchonine

F : Feuille

Photo 6 : chromatographie sur couche mince des alcaloïdes

I. 6. Essai de mise en évidence des saponosides :

Pour tous les échantillons, la hauteur de la mousse est inférieure à 1 cm ($IM < 100$), d'où la présence d'une faible teneur en saponosides dans les feuilles d'aubergine.

II. RESULTATS DE LA RECHERCHE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

II.1. Test de la réduction du fer FRAP

II.1.1. Pouvoir réducteur du *Solanum melongena*

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques des feuilles de *Solanum melongena* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible (Benzie, et al 1996). Il est universel et peut être appliqué aussi bien avec les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Li et al 2008). La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700nm (chung et al 2002). En d'autres termes, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi-quantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction rédox (Amrowicz et al 2004). Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dose dépendante (concentration dépendante). Ainsi la DO passe de 0,011 à la concentration de 6,25 µg/ml à 0,164 pour 200 µg/ml (fig. 2).

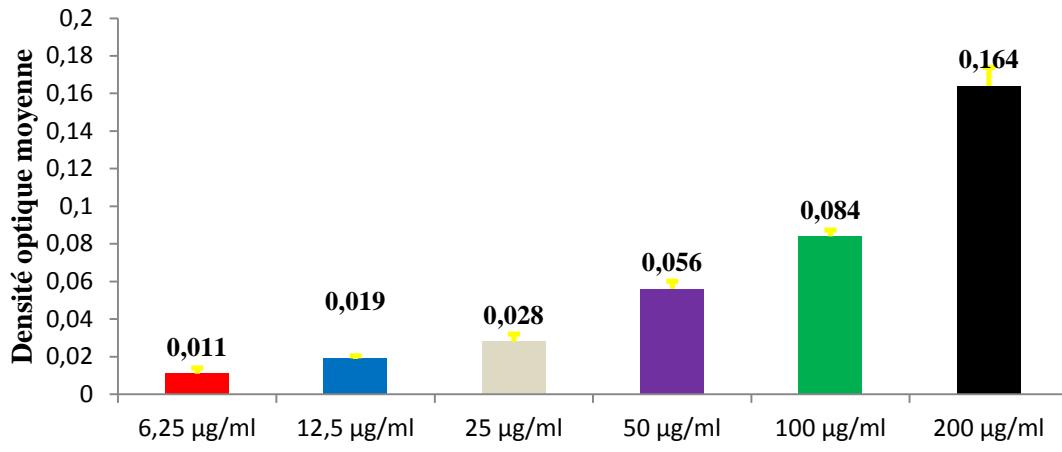


Figure 2 : Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique des feuilles de *Solanum melongena*

II. 1.2. Pouvoir réducteur de la vitamine C

L'acide ascorbique choisi comme référence a été testé à des concentrations plus faibles que celles utilisées pour les extraits. La solution éthanolique de l'acide ascorbique présente une densité optique très élevée à toutes les concentrations testées et de manière dose dépendante comme l'atteste la figure 3. A la plus faible concentration ($0,39 \mu\text{g/ml}$), elle présente une activité antioxydante avec une $\text{DO}=0,071$. A $3,125 \mu\text{g/ml}$, une activité importante est notée avec une $\text{DO}=0,27$, largement supérieure à la DO du *Solanum melongena* à $200 \mu\text{g/ml}$. A la plus forte concentration testée ($12,5 \mu\text{g/ml}$), la meilleure activité se confirme avec une DO de 0,75.

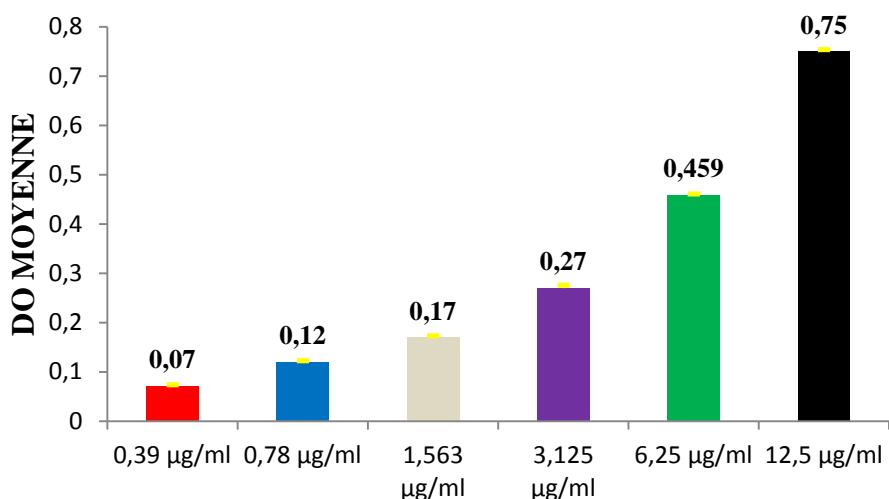


Figure 3: Pouvoir réducteur de la vitamine C

II. 1. 3. Comparaison de l'activité anti-oxydante de la vitamine C et des feuilles d'*Solanum melongena*

Le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de *Solanum melongena* à la concentration la plus élevée (200 $\mu\text{g/ml}$), bien que significatif reste nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique qui à seulement 12,5 $\mu\text{g/ml}$ présente une densité optique de 0,75 (figure 4).

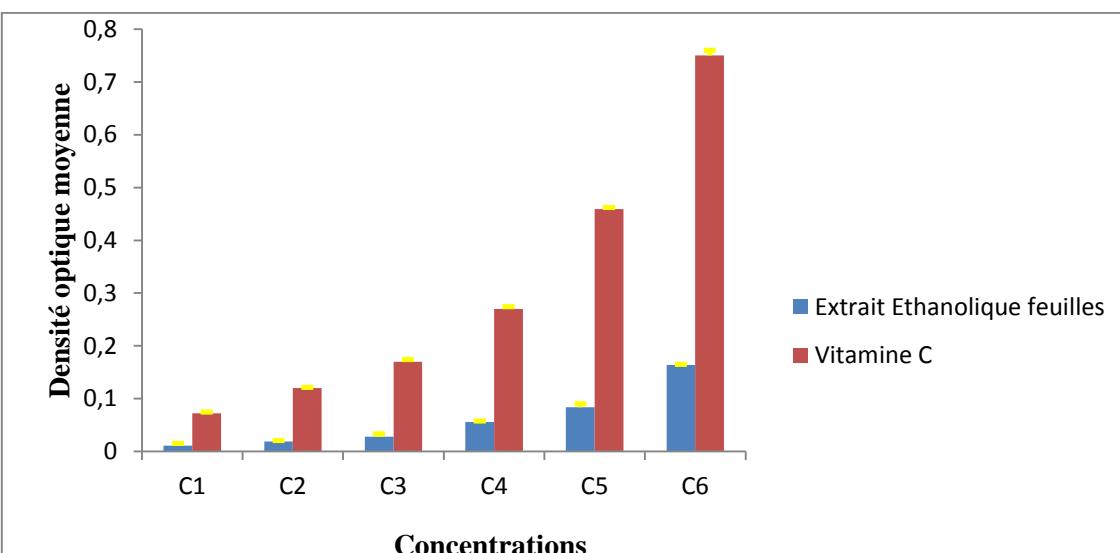


Figure 4: Evaluation du pouvoir réducteur par rapport aux produits testés.

Pour *Solanum melongena* : C1= 6,25 ; C2=12,5 µg/ml ; C3= 25 µg/ml ;

C4=50 µg/ml ; C5=100 µg/ml et C6=200 µg/ml.

Pour l'acide ascorbique : C1=0, 39 µg/ml ; C2=0,78 µg/ml C3=1,56 µg/ml ; C4=3,125 µg/ml;

C5=6,25 µg/ml ; et C6=12,5 µg/ml.

II. 2. Test au DDPH

II. 2.1. Test de piégeage des radicaux libres avec le *Solanum melongena*

L'action de l'extrait éthanolique de *Solanum melongena* illustrée par la figure 1, montre une inhibition significative du DPPH ($p<0,0001$) à toutes les concentrations testées de l'extrait éthanolique. A 6,25 µg/ml *S.melongena* présente une faible activité avec un PI de $28,30\pm0,37\%$. A 12,5 µg/ml, *Solanum melongena* présente une bonne activité cette activité est dose dépendante et on obtient un plateau avec un PI de $30,28\pm0,45\%$. Elle est pratiquement la même à 25 µg/ml avec un PI de $34,11\pm2,69\%$. La plus forte activité est obtenue à 200 µg/ml avec un PI de $68,28\pm1,77\%$. Cette activité reste plus élevée que celle obtenue à 100 µg/ml ($53,21\pm3,19\%$).

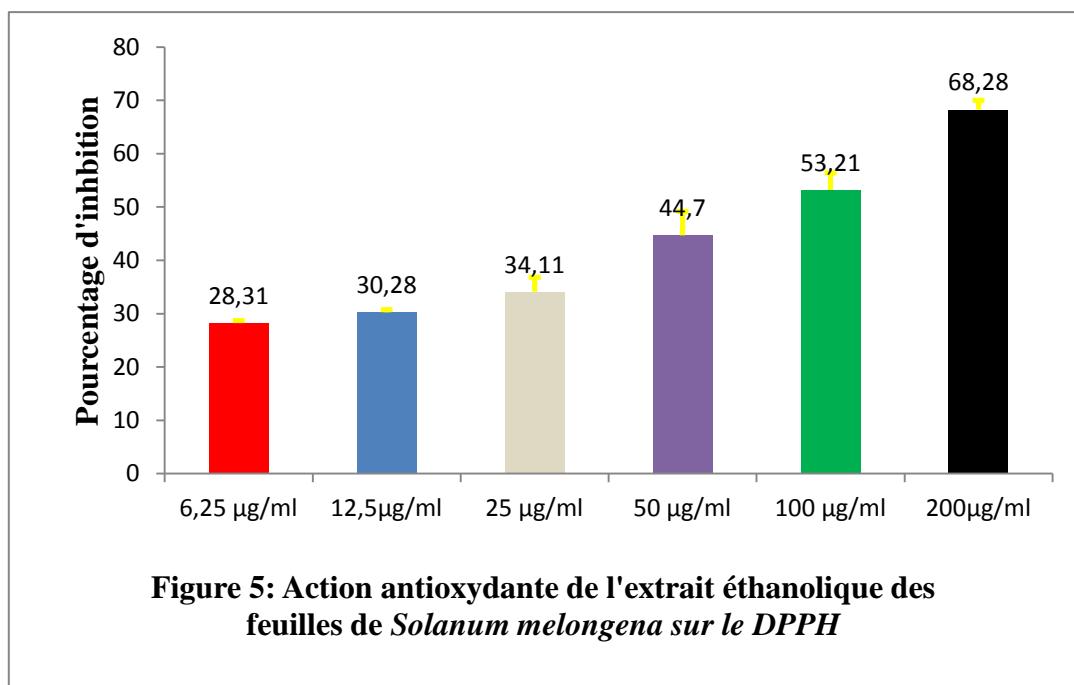
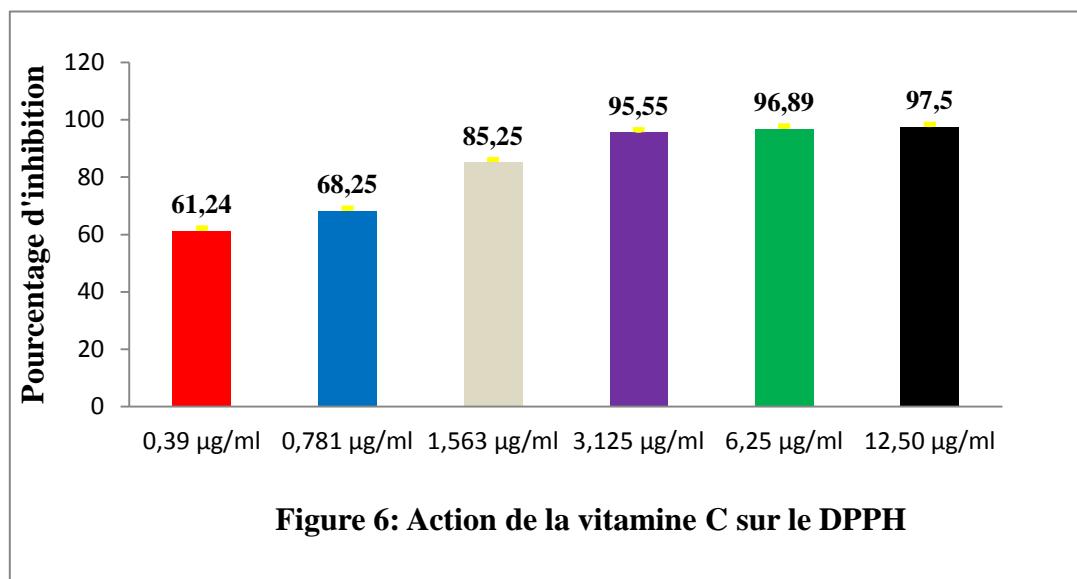


Figure 5: Action antioxydante de l'extrait éthanolique des feuilles de *Solanum melongena* sur le DPPH

II. 2.2. Test de piégeage des radicaux libres avec l'acide ascorbique

L'acide ascorbique choisi comme référence a été testé à des concentrations plus faibles que celles utilisées pour les extraits. La solution éthanolique de l'acide ascorbique inhibe significativement le DPPH à toutes les concentrations testées et de manière dose dépendante comme l'atteste la figure 6. A la plus faible concentration ($0,39 \mu\text{g/ml}$), elle présente une activité antioxydante avec un PI de $61,24 \pm 0,27\%$. A $3,12 \mu\text{g/ml}$, une activité importante est notée avec un PI de $95,55 \pm 0,38\%$. A la plus forte concentration testée ($12,5 \mu\text{g/ml}$), la meilleure activité se confirme avec un PI de $97,50 \pm 0,36\%$. La différence est significative entre les effets des quatre premières concentrations ($0,39-0,78-1,56-\mu\text{g/ml}$).



Le tableau VII représente les pourcentages d'inhibitions du *Solanum melongena* et de l'acide ascorbique aux doses testées avec leurs marges d'erreurs .

Tableau VII: pourcentages d'inhibition du *Solanum melongena* et de l'acide ascorbique aux doses testées

	C1	C2	C3	C4	C5	C6
<i>Solanum melongena</i>	28,31±0,37*	30,28±0,45*	34,11±2,69*	44,70±4,48*	53,20±3,19*	68,28±1,77*
acide ascorbique	61,24±0,27*	68,25±0,18*	85,25±0,27*	95,55±0,38*	96,89±0,27*	97,50±0,36*

Pour *Solanum melongena* : C1= 6,25 ; C2=12,5 µg/ml ; C3= 25 µg/ml ;

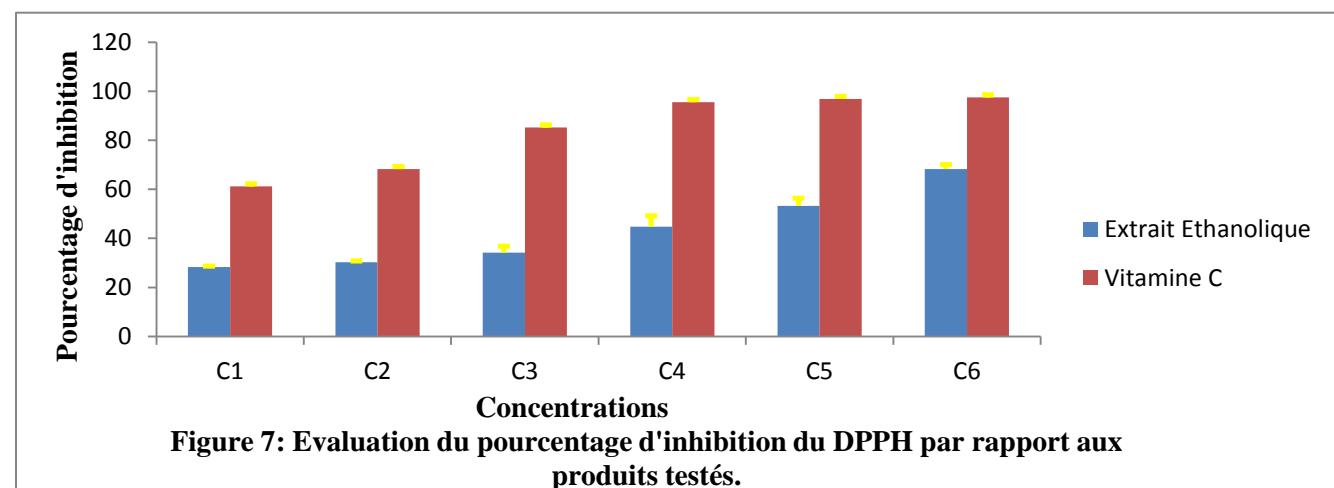
C4=50 µg/ml ; C5=100 µg/ml et C6=200 µg/ml

Pour l'acide ascorbique : C1=0,39 µg/ml ; C2=0,78 µg/ml C3=1,56 µg/ml

C4=3,125 µg/ml ; C5=6,25 µg/ml ; et C6=12,5 µg/ml

* : différence significative versus témoin négatif (solution de DPPH) ; n=3 pour chaque concentration testée.

La figure 6 représente la comparaison des pourcentages d'inhibitions de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique du *Solanum melongena* concentration testées.



Le tableau VIII représente la concentration d'inhibition moyenne à 50% du *Solanum melongena*.

Tableau VIII: Concentration d'inhibition à 50% du *Solanum melongena*

CI50 ₁	82,20 µg/ml	CI50 MOYENNE 83,06±14,9 µg/ml
CI50 ₂	101,8 µg/ml	
CI50 ₃	65,2 µg/ml	

Le tableau IX représente la concentration d'inhibition moyenne à 50% de l'acide ascorbique.

Tableau IX: Concentration d'inhibition à 50% de l'acide ascorbique

CI50 ₁	0,34 µg/ml	CI50 MOYENNE 0,32±0,013 µg/ml
CI50 ₂	0,33 µg/ml	
CI50 ₃	0,31 µg/ml	

III. DISCUSSION

Le screening chimique effectué avait pour but, de déterminer les groupes phytochimiques représentés dans l'échantillon de plante testé. Ainsi on note une forte teneur en alcaloïde et en hétéroside cardiotonique. En effet les solanacées sont une famille à forte teneur d'alcaloïdes. Ceci expliquerait l'utilisation de la plante dans Eréthisme cardiaque (**VALNET, 1982**). Ce criblage physico-chimique montre que les feuilles de *Solanum melongena* contiennent des tanins et des flavonoïdes qui sont de nature polyphénolique. Les flavonoïdes confèrent aux plantes qui les renferme des propriétés antithrombique, antihépatotoxique, antihypertensive, antiallergique et antioxydante (Bossokpi,

2002). Ceci expliquerait l'utilisation du *Solanum melongena* dans la paraïsse hépatobiliaire.

Les composés polyphénoliques sont connus pour être de bons antioxydants naturels (CHUNG et al, 1998 ; JOVANOVIC, 1998).

Cependant, bien que renfermant des polyphénols, ils n'ont pas montré une nette activité de chélation du fer comparé à l'acide ascorbique. En effet Le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de *Solanum melongena* à la concentration la plus élevée testé (200 µg/ml), bien que significative (0,164) reste nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique qui à seulement 12,5 µg/ml présente une densité optique de 0,75 Ceci pourrait être dû à une teneur probablement plus faible en flavonoïdes et en tanins (IVANOVA et al, 2005).

Inversement, des études ont montré la forte activité des fruits d'aubergine qui s'explique par une forte teneur en composés polyphénoliques. Ce fort pouvoir de réduction des fruits est confirmé par les travaux de **Dastmalchi, et al. (2011)** ; des composés présent dans le fruit d'aubergine possèdent une activité de chélation du fer d'environ 3 à 6 fois supérieur à celle du dihydrate de quercétine.

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong et al 2004) et (Kumaran et al 2007)

Une évaluation future de la teneur en polyphénols dans les différents extraits devrait nous éclaircir dans ce sens.

La détermination de l'activité antioxydante par le test de piégeage des radicaux libres révèle qu'à toutes les concentrations testées, les extraits éthanoliques de *Solanum melongena* inhibent significativement de manière dose-dépendante le DPPH. L'acide ascorbique utilisé comme référence, à la plus faible concentration testée (6,25µg/ml), présente un PI significativement plus

élevé que celui de l'extrait éthanolique de *Solanum melongena L.* $61,24\pm0,27\%$ contre $28,31\pm0,37\%$ respectivement.

A 200 µg/ml l'extrait éthanolique de *S. melongena L.* est nettement plus importante que celle de *Cassia sieberiana DC* qui à la même concentration présente un PI de $60,89\pm4,98\%$ (FALL, 2012). Ainsi, on en déduit que l'extrait éthanolique du *Solanum melongena L.* présente une activité antioxydante plus importante que celui du *Cassia sieberiana DC*.

Il est aussi à noter que d'après les études de WADE, (2013), *Euphorbia balsamifera (L)*, *Euphorbia hirta (L)*, *Plyllanthus acidus(L)* et *Phyllanthus amarus* présentent une activité antioxydante avec comme PI : $31,42\pm2,22\%$; $36,72\pm2,07\%$; $20,02\pm0,80\%$; $44,63\pm3,83\%$ respectivement à la concentration de 12,5µg/ml. Le PI de l'extrait éthanolique des feuilles de *Solanum melongena L.* ($30,28\pm0,45\%$) à la même concentration (12,5µg/ml) est nettement supérieur à celle de *P. acidus (L)*. cette activité bien que comparable à celle d'*Euphorbia balsamifera (L)*, est moins importante que l'activité de *Phyllanthus amarus* (SCHUM. et THONN.) et *Euphorbia hirta (L)*.

D'après SENE, (2013) l'extrait éthanolique des feuilles d'*Aphania senegalensis* présente une activité antioxydante avec un PI de $34,4\pm0,01\%$ à la concentration de 150µg/ml. Cette activité est moins importante que celle de *S. melongena* car à seulement 100µg/ml elle présente un PI de $53,20\pm3,19\%$.

Les mêmes études révèlent une importante PI de l'extrait éthanolique des feuilles de *Saba senegalensis*. En effet, à 10µg/ml le PI des feuilles de celui-ci est de $86,8\pm0,05\%$ donc largement supérieur à celle du *S. melongena* à la plus forte concentration testée ($68,28\pm0,077\%$ à 200µg/ml).

La détermination de la concentration d'inhibition à 50% (CI_{50}) nous a permis de comparer l'activité de piégeage des radicaux libres du

Solanum melongena L. et du produit de référence (acide ascorbique). Selon les résultats enregistrés, l'extraits éthanolique de *S .melongena* est doté d'un pouvoir antioxydant modéré avec une CI_{50} moyenne de $83,06\pm14,9 \mu\text{g/ml}$ mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de $0,32\pm0,013 \mu\text{g/ml}$.

CONCLUSION

La médecine traditionnelle reste encore le premier recours pour plus de 80 % de la population africaine à cause de l'inaccessibilité des médicaments conventionnels. Les recherches concernant les plantes et les recettes des pharmacopées traditionnelles ont mis en évidence les richesses de celles-ci. Elles ont également permis une connaissance plus approfondie des plantes, tant au point de vue de leur composition chimique, que de leur activité pharmacologique. Notre étude a pour but de déterminer la phytochimie de la poudre de feuille de *Solanum melongena* et de rechercher les propriétés antioxydante ou anti-radicalaire de celle-ci.

Dans l'organisme, les radicaux libres peuvent avoir des effets nocifs. Leur effets destructeurs, au niveau cellulaires, s'expliquent par la présence d'électron (s) célibataire (s) très réactif (s) sur une de leurs orbitales, susceptibles de s'apparier aux électrons des composés environnant. Ces composés ainsi spoliés deviennent, à leur tour, des radicaux et amorcent une réaction en chaîne.

Les molécules cibles sont les protéines, les acides nucléiques et les acides gras polyinsaturés, en particulier ceux des membranes cellulaires et des lipoprotéines.

Parmi les antioxydants végétaux, certains sont regroupés dans la famille des polyphénols, c'est-à-dire les flavonoïdes et les tanins. Ce sont d'importants agents protecteurs de notre santé, en diminuant les risques de cancer.

Il existe également d'autres antioxydants d'origine naturelle, tels que les caroténoïdes, l'acide ascorbique ou vitamine C, les tocophérols tels que la vitamine E.

La plante que nous avons étudiée appartient à la famille des Solanaceae. Cette famille comprend près de 98 genres et 2700 espèces et présente une grande diversité d'habitat, de morphologie et d'écologie. Elle comprend des espèces alimentaires d'une grande importance économique telles que la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Solanum lycopersicum*), l'aubergine (*Solanum melongena*), et les piments (*Capsicum*). De nombreuses plantes ornementales très populaires appartiennent aux solanacées : *Petunia*, *Schizanthus*, *Salpiglossis* et *Datura*. Certaines espèces, riche en alcaloïdes, sont mondialement connues pour leurs usages médicaux, leurs effets psychotropes ou pour leur toxicité : *Belladone morelle*, *Brugmansia*, *Datura*, *Mandragore*, *Tabac*.

Les essais de caractérisation menés sur les feuilles de la plante, montrent que les polyphénols sont représentés. En effet, les flavonoïdes et les tanins sont identifiés dans l'échantillon de feuilles du *Solanum melongena*. La CCM des flavonoïdes a montré, d'une part que les Rf de l'extrait et du témoin (quercétine) sont les mêmes et d'autre part des spots de même coloration (jaune). Concernant les alcaloïdes, des précipités bien prononcés sont notés lors des réactions de caractérisations, attestant leur forte présence. La CCM des alcaloïdes a confirmé les réactions en tubes.

La mise en évidence des hétérosides cardiotoniques s'est révélée positive.

Seule la réaction de mise en évidence des dérivés anthracéniques est négative.

Enfin, on note de faibles quantités de saponosides dans les feuilles d'aubergine. A la suite de ce screening phytochimique, l'activité antioxydante a été recherchée avec le Test de piégeage du radical libre DPPH et le test de la réduction du fer FRAP.

Le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de *Solanum melongena L.* est dose dépendante (concentration dépendante). Ainsi la DO passe de 0,011 à la concentration de 6,25 µg/ml à 0,164 pour 200 µg/ml .ce pouvoir réducteur bien que significatif reste nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique qui à seulement 12,5 µg/ml présente une densité optique de 0,75.

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *Solanum melongena L.* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) *vis-à-vis* du radical DPPH à été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaire.

Ainsi, le pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique de *S. melongena* est de $68,28 \pm 1,77\%$ à une concentration de l'ordre de 200 µg/ml.

Cette activité bien qu'importante reste inférieure à celle de l'acide ascorbique. La détermination de la concentration d'inhibition à 50% (CI_{50}) nous a permis de comparer l'activité de piégeage des radicaux libres du *S. melongena* et de la vitamine C. l'extrait éthanolique des feuilles d'aubergine est doté d'un pouvoir antioxydant modéré avec une CI_{50} moyenne de $83,06 \pm 14,9$ µg/ml relativement plus élevée que celle de la vitamine C qui est de l'ordre de $0,32 \pm 0,013$ µg/ml. Cependant, il s'agit d'extraits bruts contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable qu'ils contiennent des

composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de l'acide ascorbique.

Néanmoins, l'extrait éthanolique des feuilles de *Solanum melongena L.* a montré une activité antioxydante plus importante que celle du *Cassia sieberiana* (*L*) et du *Phyllanthus acidus* (*L*). cette activité reste cependant comparable à celle d'*Euphorbia balsamifera* (*L*).

Les substances antioxydantes peuvent permettre de réduire les effets négatifs du stress oxydatif rencontré dans de nombreuses maladies cardiovasculaires. Il a également été établi que certains principes actifs antioxydants isolés de plantes médicinales stimuleraient l'immunité (LEE et al, 2009).

Autant de facteurs qui justifient la recherche et l'emploi de ces plantes à activité antioxydante.

Ainsi, les études en perspective doivent s'orienter vers l'isolement des principales molécules impliquées dans cette activité ainsi que la détermination de leur mécanisme d'action.

❖ RECOMMANDATIONS

- Une étude ultérieure devrait permettre également d'évaluer la proportion de polyphénols présents dans chaque partie de plantes ainsi que la propriété antioxydante réelle de celles-ci.
- Certains anti-oxydants synthétiques présentant des risques de cancérogénicité (Velioglu *et al*, 1998), Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques.
- Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient contribuer de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. ADJANOHOUM J.E.; AKE ASSI L.; FLORET J. J.; GUINKO S.; KOUMARE M.; AHYI A.; M.R.; RAYNAL J. (1979).**

Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et forestiques au Mali. ACCT, Paris. 291 P.

2. AMAROWICZ R., PEGG R.B., RAHIMI-MOGHADDAMC P., BARL B., et Weil J.A.(2004).

Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry. 84, 551–562.

3. ANDERSON, K.J; TEUBER, SS; GOBEILLE, A; CREMIN, P; WATERHOUSE, A.L; STEINBERG, F.M. (2001).

Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. Biochemical and molecular action of nutriments. *J Nutrition*, 131: 2837–42.

4. ANNIE BEDARD, 2006

Aubergine[En ligne] disponible sur <http://fr.wikipedia.org/wiki/Aubergine> consulté le 23 aout 2013

5. AOUISSA, ETIANN. (2002)

Etudes des activités biologiques et de la toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L, Thèse de pharmacie, 130 p.

6. BASSENE E. 2012.

Initiation à la recherche sur les substances naturelles, presse universitaire de Dakar 2012, 160.ISBM : 2-913184-74-X.

7. BENZIE I.F.F.et STRAIN J.J. (1996).

The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239, 70-76.

8. BRAVO, L. (1998).

Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nutr Rev*, 56: 317– 33. Contribution à l'étude phytochimique des Safracées : isolementd'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse, doctorat, Lausanne, 28-29 p.

9. BURTON GW, Traber MG. (1990).

vitamin E :Antioxydant activity, biokinetics, and bioavailability. Annual review of nutrition; 10:357-382 in A.D. FALL(2012) :Etude chimique et pharmacologique des racines de Cassia sieberiana DC (Caesalpiniaceae,these doctorat, Dakar; Mai 2012,33p

10. CAVIN, A. (1999).

Investigations phytochimiques des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire. *Tinospora crisp* (Menispermaceae), *Merremia emarginata* (Convovulaceae) et *Orophea enneandra* (Annonaceae), Thèse doctorat, Lausanne, 243 p.

11. CHEVALLEY, I. (2000).

Contribution à l'étude phytochimique des Safracées : isolementd'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse, doctorat, Lausanne, 28-29 p.

12. CHUNG KT, WONG TY, WEI CI, HUANG YW, LIN Y (1998).

Tannins and human health: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 38:421-464.

13. CHUNG Y-C., CHANG C-T., CHAO W-W., LIN C-F., et CHOU S-T. (2002).

Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 2454–2458.

14.DAS S , RAYCHAUDHURI U , M FALCHI , BERTELLI A , BRAGA PC , DAS DK, 2011.

Effets cardioprotecteurs de l'aubergine crue et cuite (*Solanum melongenaL*). Centre de recherche cardiovasculaire de l'Université du Connecticut School of Medicine, Farmington, CT 06030-1110, USA. 2011 Jul; 2 (7) :395-9.

15. DASTMALCHI K Ma C, WHITAKER BD , Kennelly EJ .2011.

Deux nouveaux antioxydant malonated isomères de l'acide caféoylquiniques dans les fruits de parents d'aubergines sauvages. Journal of food chemistry.2011 Sep 14; 59 (17) :9645-51.

16. Esprit santé.

Légumes de A à Z /aubergine bio-solanum melongena, [En ligne] disponible sur :<http://www.espritsante.com/11-fiche-877> aubergine +bio+Solanum +melongena.html consulté le 12 septembre 2013.

17. FALL. A.D, 2012.

Etude chimique et pharmacologique des racines de *Cassia sieberiana* DC(Caesalpiniaceae).Thèse doct s science, 173 pages Dakar.

18. FAOSTAT, (2004).

Microsoft Encarta 2007-collection aubergine (principaux producteurs, importations et exportation données Faostat (2004).

19. FORMICA, J.V. et REGELSON, W.

(1995): Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids.Food Chem.Toxicol, 33, 1061-1080 p.

20. FREI, B., STOCKER, R., and AMES, B.N.

(1988). Antioxidant defenses and lipidperoxidation in human blood plasma. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **85**, 9748-9752 p.

21. HARMAN. D. (1992).

The flavanoids. Advances in Research since 1986, Edition Chopaman and Hall, London.

22. HERTOG M.G.L., FESKENS E.J.M., HOLLMAN P.C.H., KATAN M.B., KROMHOUT D. (1993).

Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. Lancet 342:1007-1011.

23. ISERIN, P., MASSON, M., RESTELLINI, J.P. (2001).

Larousse Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparations, soins, Edition Vuef, Paris, 335 p.

24. IVANOVA D., GERLOVA D., CHERVENKOV T., YANKOVA T. (2005).

Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 96 (1-2), 145-150

25. Jardin des plantes, 2006.

Les solanacées [En ligne] disponible sur :<http://www.jardindesplantes.net/la-biodiversite/les-solanacees#page3> consulté le 13 novembre 2013

26. JEONG S.M., KIM S.Y., KIM D.R., JO S.C., NAM K.C., AHN D.U., et JOVANOVIC S.V., STEENKEN S., SIMIC M.G., HARA Y. (1998).

Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. In: RICE-EVANS, PACKER L (eds) Flavonoids in Health and Disease. New York: Marcel Dekker Inc., p:137-161.

27. KUMARAN, A. et KARUNAKARAN, R.J.(2007).

In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 40, 344–352

28. KRINSKY, N.I., and DENEKE, S.M. (1982).

Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. J. Natl. Cancer Inst. 69, 205-210 p.

29. LEE S.C. (2004).

Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. Journal of Agriculture andFood Chemistry. 52, 3389–3393. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids.Food Chem.Toxicol, 33, 1061-1080 p.

30. LEVINE, M. (1986).

New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. N. Engl. J. Med. 314, 892-902 p.

31. LI H-B. , WONG C-C., CHENG K-W., FENG C. (2008).

Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts

32. LO SCALZO R , FIBIANI M , G MENNELLA , ROTINO GL , DAL SASSO M , M CULICI , SPALLINO A , BRAGA PC (2010).

Le traitement thermique de l'aubergine (*Solanum melongena* L.) augmente la teneur en antioxydants et l'effet inhibiteur sur l'éclat des neutrophiles humains.

58 (6):3371-9

33. MAJHENIC L., KERGET M.S., et KNEZ Z. (2007).

Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry. 104, 1258–(10).

34. MARTINE, J. (2002).

Les oligoéléments une force douce pour la santé in santé diagnostic, Divas, 34, 82 p.

35. McCAY, P.B. (1985).

Vitamin E interaction with free radical and ascorbate. Annu. Rev. Nutr. 5, 323-340 p.

36. MICHELS, C., PAES, M., TOUSSAINT, O. et REMACLE, J. (1994).

Importance of seglutathione peroxidase, catalase and Cu/ Zn-So for cell surviva against oxidative stress. Free Radical. Biol. Med. 17, 235-348 p.

37. MIREILLE, C.T. et Al. (2001).

Le guide du préparateur en pharmacie d'Afrique noire, Edition Ngcom, Paris, 68 p.

38. MISHRA BB , GAUTAM S , SHARMA, 2012.

Purification et la caractérisation de la polyphénol oxydase (PPO) de l'aubergine (*Solanum melongena*). Division Technologie Alimentaire, Centre de recherche atomique Bhabha, Mumbai 400 085, Inde. 2012 15 PTOM; 134 (4) :1855-61

39. NEUWINGER, H.D. (2000).

African Traditional Medecine A dictionary of plant use and applications, Edition Medpharm GmbH, Germany 589 p.

40. OYAIZU, M. (1986).

Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44, 307–315.

41. Pakistan Journal of Nutrition, 2004.

Hypolipidaemic Potentials of *Solanum melongena* and *Solanum gilo* on Hypercholesterolemic Rabbits 3 (3): 180-187, 2004

42. PAULETTE VANIER.2006.

L'aubergine au fil du temps, usage culinaire, conservation, jardinage biologique, écologie et environnement. [En ligne] disponible sur http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?dc=aubergine_nu consulté le 15 novembre 2013

43. RIVOLIER CAROLE, BOSSERDET PIERRE, 1977.

Secret et vertus des plantes médicinales. Sélection du reader's digest SA. Premier édition, 308 P

44. SENE B, 2013.

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des feuilles d'Aphania senegalensis (Sapindaceae) et de Saba senegalensis. Thèse doct. Pharm, N° :36,88 pages, Dakar.

45. SABA AB , Oridupa OA, 2012.

Réactivité pharmacologique de Guinée porc isolé iléon à des extraits de feuilles d'éthanol d'Amaranthus caudatus et Solanum melongena. Département de physiologie vétérinaire, de biochimie et de pharmacologie, Université d'Ibadan 7 juin 2012; 27 (1) :73-8.

46. SANCHEZ-MORENO C., LARRAURI J.A., et SAURA-CALIXTO F. (1998).

A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal Science Technology International. 8, 121-137.

47. SCHARFFETTER-KOCHANEK, K. (1997).

Photoaging of the connective Tissue of Skin: Its Prevention and Therapy, in document Advances in Pharmacology. Antioxidants in disease mechanisms and Therapy, Edition AP (Academic Press), Germany, volume 38, 693 p.

48. SIDDHURAJU P.et BECKER K. (2007).

The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry. 101(1), 10-19.

49. SINGLETON V.L.et ROSSI J.A. (1965).

Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. American Journal of Technology and Viticulture. 16, 144-153.

50. TAYLOR, A., JACQUES, P.F., NADLER, D., MORROW, F., SULSKY, S.I., and SHEPARD, D. (1991).

Relationship in humans between ascorbic acid consumption and levels of total and reduced ascorbic acid in lens, aqueous humor, and plasma. Curr. Eye Res. 10, 751-759 p.

51. TOLO, A.D. (2002).

Etude des activités biologiques et de la toxicité des écorces de racine de *Securidaca longepedunculata* Fres (Polygalaceae), Thèse de Pharmacie.

52. VALNET JEAN 1982.

traitement des maladies par les légumes, les fruits, et les céréales.Maloine.SA
8^e édition 1982, 176-177, ISBN : 2-22-00794-9

53. WADE. V, 2013.

Etude de l'activité antioxydante de quatre euphorbiaceae de la flore Sénégalaise : Euphorbia balsamifera (Linn) ;Euphorbia hirta (L) ;Phyllanthus acidus (L) ; et Phyllanthus amarus (Schun.et Thonn). Thèse doct,pharm. N° :71, 110 pages, Dakar.

54. WEIL J.A.(2004):

Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry. 84, 551–562., Bamako, 87 p.

55. WEISSBURGER, J.H. (1997):

Tea and health: a historical perspective. *Cancer Lett.* 114, 315-317 p.

56. WU SB, MEYER RS, WHITAKER BD, LITT A, KENNELLY EJ. 2012:

Antioxidant glucosylated caffeoylquinic acid derivatives in the invasive tropical soda apple, Solanum viarum. Department of Biological Sciences, Lehman College, 250 Bedford Park Boulevard West, Bronx, New York 10468, USA. 2012 Dec 28; 75(12):2246-50.

57. WIKIPEDIA.

Solanaceae [enligne] disponible sur :<http://fr.wikipedia.org/wiki/Solanaceae> #Alcalo.C3.AF des le 13 novembre 2013

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes Condisciples.

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :

Le président du jury

Vu :

Le Doyen.....

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, le Président de l'assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et par
délégation

Le Doyen

RESUME

La médecine traditionnelle reste encore le premier recours pour plus de 80 % de la population africaine à cause de l'inaccessibilité des médicaments conventionnels. Notre travail a porté sur le Screening phytochimique et la recherche de l'activité antioxydante sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Solanum melongena*. En effet les molécules antioxydantes de synthèse sont actuellement remises en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Ainsi, la recherche de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels est d'actualité.

Les essais de caractérisation menés sur les feuilles de la plante, montrent que les polyphénols sont représentés. En effet, des flavonoïdes et des tanins ont été identifiés. Concernant les alcaloïdes, des précipités bien prononcés furent notés, attestant leur forte présence. Les CCM ont confirmées les réactions en tubes. La mise en évidence des hétérosides cardiotoniques s'est révélée positive. Seule la réaction de mise en évidence des dérivés anthracéniques est négative. Enfin, on a noté de faibles quantités de saponosides dans les feuilles de *Solanum melongena*.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer FRAP a indiqué que les extraits méthanoliques ont une bonne activité antioxydante $61,24 \pm 0,27\%$ à la concentration $C_6=200 \text{ } \mu\text{g/ml}$. D'autre part, le test de FRAP a révélé que l'extrait éthanolique de *Solanum melongena L.* est dose dépendante (concentration dépendante). Ainsi la DO passe de 0,011 à la concentration de $6,25 \text{ } \mu\text{g/ml}$ à 0,164 pour $200 \text{ } \mu\text{g/ml}$. ce pouvoir réducteur bien que significatif reste nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique qui à seulement $12,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$ présente une densité optique de 0,75. Ainsi, cette étude nous a révélée les grandes propriétés antioxydantes de l'aubergine largement supérieure à celle de nombreuse plante antioxydante reconnues.

Mots clés : *Solanum melongena* (L.), screening chimique, activité antioxydante, DPPH, FRAP.