



NOTE DE RECHERCHE

AVRIL 2015 • V.2, N°4.

ÉTUDE DU POTENTIEL ANTIOXYDANT DES EXTRACTIBLES DE *MYRIANTHUS ARBOREUS*

Résumé : Dans le but de valoriser les extractibles d'écorce de racines de *Myrianthus arboreus* à des fins thérapeutiques, une étude sur la quantification des polyphénols et sur l'évaluation de la capacité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique ainsi que de leur fraction acétate d'éthyle et hexanique a été réalisée. Il ressort de ces analyses que la fraction acétate d'éthyle et l'extrait éthanolique sont enrichis en polyphénols et leur potentiel antioxydant est aussi élevé ou parfois meilleur que celui des antioxydants standards tels que le BHT, un antioxydant synthétique, ou l'Oligopin®, un extrait commercial purifié, riche en proanthocyanidines oligomères.

Applications potentielles et retombées industrielles : La tendance actuelle des industries pharmaceutique alimentaire, ou nutraceutique, étant d'incorporer dans leurs formulations des produits naturels, on anticipe que l'extrait éthanolique et la fraction acétate d'éthyle trouveront des applications très prometteuses.

INTRODUCTION

La biomasse forestière est une source importante de composés bioactifs. Parmi ceux-ci, les polyphénols sont, de nos jours, l'objet de beaucoup d'études, notamment en tant qu'antioxydants naturels. Cette propriété leur est attribuée en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres provenant d'espèces réactives d'oxygène (EROs) telles que l'anion superoxyde ($O_2 \cdot^-$), le radical hydroxyle ($HO \cdot$), le radical peroxy ($ROO \cdot$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2). La formation des EROs est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'homme. Cependant, d'autres sources exogènes sont à l'origine des EROs, c'est le cas du tabagisme et des expositions aux UV ainsi qu'aux polluants chimiques. Le déséquilibre créé entre la surproduction d'EROs et les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme conduit à un stress oxydatif. Les biomolécules sont souvent affectées par les EROs et leur oxydation provoque le vieillissement prématuré et des maladies telles que l'Alzheimer, le cancer, l'athérosclérose et le diabète sucré. *Myrianthus arboreus* est un arbre issu de la forêt secondaire d'Afrique dont l'extrait aqueux d'écorce de racines est utilisé dans le traitement traditionnel contre le diabète de type II. Aucune étude scientifique n'a, jusqu'ici, été menée sur cette partie de la plante. Notre projet vise à étudier les effets bénéfiques des extraits phénoliques d'écorces de racines sur la santé à travers l'évaluation de leur potentiel antioxydant.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODE

• Les écorces de racine de *M. arboreus* ont été récoltées en République Démocratique du Congo, en décembre 2012. Après séchage à l'air, elles ont été emballées et envoyées au Laboratoire de Chimie du bois de l'Université Laval. Elles ont ensuite été broyées et tamisées (40-60 mesh). La poudre brute obtenue a servi à la préparation de deux extraits majeurs : l'extrait aqueux (AQ) obtenu par chauffage à reflux pendant 2h et l'extrait éthanolique (95%) obtenu après 24 h de macération. À l'aide d'une ampoule à décanter, l'extrait éthanolique

(EtOH) a été divisé en deux fractions à savoir la fraction hexanique (HEX) et la fraction acétate d'éthyle (ACE).

• Les teneurs en phénols totaux (TP), en flavonoïdes (TFI), en proanthocyanidines (PAs) et en acides hydroxycinnamiques (TAHC) ont été estimées à l'aide de la spectrophotométrie UV-visible en utilisant les méthodes décrites par St-Pierre¹. Tous les résultats sont exprimés en mg équivalent de la molécule standard utilisée par gramme de l'extrait sec.

• L'activité antioxydante des extraits a été examinée par des tests *in vitro*. Le premier test vise à piéger le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Le mélange (1 :1, v/v) entre le réactif DPPH et l'extrait est déposé dans l'appareil SFA-20 Rapid Kinetics Accessory et l'absorbance est lue après 30 min à 516 nm. Le deuxième essai utilise la méthode de phosphomolybdène qui est basée sur la réduction de molybdène Mo(VI). On mesure la capacité réductrice de l'extrait à l'absorbance égale à 695 nm. Enfin, les tests ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity Assays) étudient la capacité d'un extrait à protéger l'oxydation de la fluorescéine (ORAC-FL) ou du pyrogallol red (ORAC-PGR) en présence d'un oxydant chimique, l'AAPH (générateur des radicaux $ROO \cdot$). La dégradation de la fluorescéine ou du pyrogallol au cours du temps sera mesurée par fluorimétrie (excitation : 520 nm et émission : 483 nm) ou par spectrophotométrie UV-visible (540 nm). La valeur ORAC finale est calculée en utilisant une courbe standard linéaire de Trolox et l'aire sous la courbe nette (ASC nette) (Figure 1). $ASC\ nette = ASC\ échantillon - ASC\ blanc$.

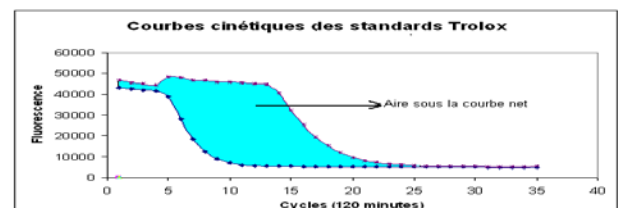


Figure 1 : Aire sous la courbe nette entre le standard de 50 µM et de 0 µM

II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

• Les résultats (Tableau 1) révèlent que la fraction acétate d'éthyle (ACE) de l'extrait EtOH se distingue par des teneurs élevées en phénols totaux (TP) et en acides hydroxycinnamiques (TAHC) par rapport aux extraits et à la fraction HEX. En revanche, tous les extraits et fractions accusent une faible teneur en flavonoïdes (TFI). La teneur en proanthocyanidines (PAs) de l'extrait EtOH et de sa fraction ACE est par contre similaire. De plus, les teneurs en flavonoïdes et en acides hydroxycinnamiques de la fraction ACE s'approchent de celles de l'Oligopin[®], un extrait standardisé pris comme référence. Qui plus est, l'extrait EtOH et la fraction ACE présentent des teneurs en AHC supérieures à celles des extraits EtOH de l'écorce et du bois des essences canadiennes telles que l'érable à sucre (91 ± 60 mg CAE/g) ou le bouleau jaune (117 ± 10 mg CAE/g)².

Tableau 1 : Teneurs en différentes classes de polyphénols

Extraits	TP	TFI	PAs	TAHC
AQ	146.6±6.5 ^b	2.9±0.1 ^a	6±0.4 ^a	31±1.5 ^e
EtOH	292.2±1.3 ^c	3.6±1.3 ^a	71.3±3.3 ^c	173±1.3 ^c
ACE	331.5±2.5 ^d	5.3±0.1 ^b	68.3±0.8 ^c	201±1.5 ^d
HEX	138±1.6 ^a	2.4±0.1 ^a	26.5±0.7 ^b	58±2.6 ^b
Oligopin [®]	572.9±12.1 ^e	7.4±0.1 ^c	105±9.6 ^d	335.5±3.4 ^e

a, b, c et d indiquent les différences significatives entre les extraits (Test de Tukey, p<0.05). TP = en mg équivalent de l'acide gallique (GAE) par g d'extrait sec; TFI = en mg équivalent de quercétine (QE) par g d'extrait sec; PAs = en mg équivalent de chlorure de cyanidine (CCHE) par g d'extrait sec; TAHC = en mg équivalent d'acide chlorogénique (CAE) par g d'extrait sec.

• Sur la Figure 2, la capacité antioxydante de l'extrait est d'autant plus élevée que la EC₅₀ est petite. Les résultats montrent que l'extrait EtOH et sa fraction ACE possèdent le plus fort potentiel à piéger le radical DPPH comparé à l'extrait aqueux (AQ) et à la fraction HEX, ainsi qu'au BHT (butyl hydroxytoluène), un antioxydant synthétique. Cependant, leur potentiel serait similaire à celui de l'Oligopin[®].

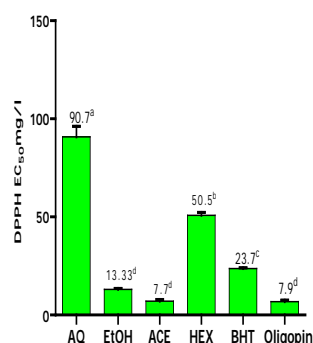


Fig. 2 : Capacité des extraits à piéger le radical DPPH

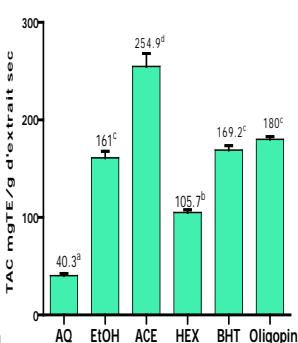


Fig. 3 : Capacité des extraits à réduire le Mo(VI)

¹ St-Pierre F., Achim A., Stevanovic T. 2013. Composition of ethanolic extracts of wood and bark from *Acer saccharum* and *Betula alleghaniensis* trees of different vigor classes, *Industrial Crops and Products*, 41, pp.179-187

• Les résultats du deuxième test de l'activité antioxydante des extraits et des fractions démontrent la même tendance que pour le radical DPPH. L'extrait aqueux (AQ) montre un pouvoir réducteur de Mo(VI) plus faible que l'extrait EtOH et ses fractions. En effet, la fraction ACE démontre encore le plus fort potentiel antioxydant, suivi de l'extrait EtOH, dont l'activité n'est pas significativement différente de celle de BHT et de l'Oligopin[®].

Tableau 2 : Valeurs ORAC-FL et ORAC-PGR des extraits et fractions de *M. arboreus*

Extraits	ORAC _{FL} (mmol of TE/g)	ORAC _{PGR} (mmol of TE/g)
AQ	1.47 ± 0.1 ^a	0.35 ± 0.02 ^a
EtOH	4.82 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.05 ^c
ACE	9.14 ± 0.9 ^b	2.2 ± 0.09 ^d
HEX	1.60 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.06 ^b
Oligopin [®]	12.2 ± 2.7 ^b	4.3 ± 0.07 ^e

a, b, c et d indiquent les différences significatives entre les extraits (Test de Tukey, p<0.05).

• L'effet protecteur des extraits contre l'oxydation du pyrogallol (PRG) ou de la fluorescéine (FL) induite par les ROO• est traduit dans le Tableau 2. Les valeurs ORAC-PGR sont inférieures à celles de l'ORAC-FL. Ceci peut être expliqué si l'on considère que seulement une fraction de polyphénols contenue dans les extraits est capable de protéger les radicaux issus du PGR. En outre, les valeurs ORAC-PGR sont influencées par la «qualité» des polyphénols présents dans l'extrait tandis que les ORAC-FL dépendent plutôt de la quantité de polyphénols. Dans tous les cas, l'extrait EtOH et la fraction ACE sont d'excellents antioxydants par rapport à l'extrait AQ et la fraction HEX. Fait intéressant, la valeur ORAC-FL de la fraction ACE n'est pas significativement différente de celle de l'Oligopin[®]. Notons que la valeur ORAC-FL de l'Oligopin[®] obtenue est proche de celle exigée dans l'industrie alimentaire (15 mmol de TE/g).

III. CONCLUSIONS

• Au regard des résultats obtenus, l'extrait EtOH, et en particulier sa fraction ACE, sont les antioxydants les plus efficaces.

• L'éthanol étant un solvant « vert », l'extrait EtOH et, par ricochet sa fraction ACE, est susceptible d'être valorisé par les industries pharmaceutique ou alimentaire.

• Dans un pays en voie de développement comme la République Démocratique du Congo, ces résultats auront des retombées économiques incontestables. Ils permettront d'envisager des préparations normalisées sous forme de médicaments traditionnels améliorés pour la population qui n'a pas toujours les moyens pour se procurer les médicaments occidentaux.

² Garcia-Perez M. et al. 2010. Antioxidant, toxicological and antiproliferative properties of canadian polyphenolic extracts on normal and psoriatic keratinocytes, *Journal of ethnopharmacology*, 132, pp. 251-258

Auteurs: Pierre Kasangana M.Sc., Pierre Haddad Ph.D. et Tatjana Stevanovic Ph.D.

Pour plus d'informations: Tatjana Stevanovic, professeur titulaire

Tatjana.Stevanovic@sbf.ulaval.ca ; (418) 656-7337

Centre de recherche sur les matériaux renouvelables, Pavillon Gene-H.-Kruger,
2425 rue de la Terrasse, Université Laval, Québec, Qc, Canada G1V 0A6

<http://www.materiauxrenouvelables.ca>