



Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart. (*Areaceae*)

Mbaye DIENG, Alioune Dior FALL, Kady DIATTA, William DIATTA et Emmanuel BASSENE*

Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université Cheikh Anta Diop, BP: 5005 Dakar, Fann, Sénégal.

*Auteur correspondant, E-mail: aynenut@gmail.com

RESUME

Borassus aethiopum est une plante de la famille des Arécacées. C'est un géant palmier qui présente un tronc dur appelé stipe, des racines fasciculées et des feuilles longues en forme d'éventail. Elle est presque cosmopolite et ses différentes parties sont utilisées dans nombreux domaines : économiques, écologiques, alimentaires et sanitaire. En effet, sur le plan sanitaire, la pharmacopée utilise l'alcinât des feuilles en boisson dans l'eau pour traiter la bilharziose viscérale (Sakande, 2004). L'objet de notre étude est de déterminer la teneur en polyphénols et de tester l'activité antioxydante d'extraits de feuilles en comparaison avec ceux des inflorescences mâles. Ainsi, la méthode colorimétrique de Folin Denis, décrite par Bassène (2012) a été utilisée pour le dosage des polyphénols. L'activité antioxydante a été déterminée par les méthodes chromatographique sur couche mince selon Takao et al. (1994) et colorimétrique décrite par Sakande (2004). Les teneurs en polyphénols totaux obtenues sont 13,56% et 5,6% Eq d'acide tannique respectivement dans les feuilles et les inflorescences mâles. Les teneurs respectives en tanins dans les feuilles et les inflorescences mâles ont été évaluées à 13,46% et 5,47% Eq d'acide tannique. La chromatographie sur couche mince a révélé une activité antioxydante dans les extraits de feuilles et d'inflorescences mâles. Par la méthode colorimétrique utilisant le DPPH, les résultats obtenus en mg Eq d'acide ascorbique sont 4 et 5 mg Eq respectivement dans les extraits d'acétate éthylique et butanolique de feuilles ; les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique d'inflorescences mâles respectifs ont une activité antioxydante évaluée à 10 et 20 mgEq d'acide ascorbique. Les résultats obtenus de cette étude montre que les extraits de feuilles ont des teneurs en polyphénols et en tanins supérieures à celles des extraits d'inflorescences mâles. L'activité antioxydante a été deux fois plus importante dans les extraits de feuilles que dans les extraits d'inflorescences mâles. Cependant, dans les feuilles l'extrait d'acétate d'éthyle renferme deux fois plus de polyphénols et de tanins que l'extrait butanolique ; l'activité antioxydante est aussi plus élevée dans ce premier extrait.

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Borassus aethiopum*, feuilles, inflorescences mâles, polyphénols, tanins, activité antioxydante.

INTRODUCTION

Le rônier, *Borassus aethiopum* est un palmier géant. Il présente un tronc dur appelé stipe ou fût généralement non ramifié,

monocaulaire et pleionanthe (Sambou, 1989). Les feuilles en bouquet terminal, sont grandes et forment une couronne de 8 m de diamètre (Thione, 2000). Selon Aubreville (1959), le

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.41>

rônier est une espèce de lumière répandue en Afrique dans les régions de savane et de steppe et en milieu forestier, dans la formation secondaire. C'est une espèce très utile dans le domaine environnemental, économique et sanitaire.

Sur le plan environnemental, les épis des inflorescences mâles produisent un bon engrais potassique en se décomposant (Maydell, 1983). Sur le plan économique, le pétiole des palmiers sert à fabriquer des meubles (lits, fauteuils, tables, tabourets, des tamis comme support de grillage) ; le tronc débité est utilisé dans la construction des maisons et ponts. Dans la pharmacopée, Le calcinât des feuilles est utilisé en boisson dans l'eau et traiterait la bilharziose viscérale (Sakande, 2004). La tigelle de la noix germée en décoction lutterait contre l'impuissance sexuelle (Nacoulma, 1996).

En effet, l'intérêt que suscite *Borassus aethiopum* dans la pharmacopée traditionnelle a motivé notre attention sur l'étude comparée de la chimie et de la pharmacologie des inflorescences mâles et des feuilles qui sont plus accessibles et dont l'exploitation serait plus avantageuse que celle des autres parties de la plante pour la sauvegarde de l'espèce. L'objectif de cette étude est de déterminer la teneur en polyphénols totaux et tanins et de tester l'activité antioxydante des extraits de feuilles en comparaison avec ceux d'inflorescences mâles.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Nous avons travaillé sur des feuilles et des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* qui ont été récoltées respectivement au mois de décembre (2010) dans les villages de Ndiao Bambaly (région kaffrine) et de Essyl (région ziguinchor), situés tous au Sénégal.

Après identification botanique au laboratoire de pharmacognosie et de botanique

de la FMPO/UCAD, les drogues végétales ont été séchées à l'air libre, à l'abri du soleil, puis réduites en poudres avec un broyeur.

Méthodologie

Dosage des polyphénols totaux et des tanins

La méthode colorimétrique de Folin Denis, décrite par Joslyn (1970) et Bassène (2012) a été utilisée et légèrement modifiée. Elle est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, en présence de polyphénols pour donner une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 670 nm.

Extraction

Dans un ballon, 11, 20 g de poudre de feuilles ou d'inflorescences mâles ont été portés à ébullition sous reflux avec 500 ml d'eau distillée, pendant 30 mn. Le décocté obtenu a été filtré avec du coton et le filtrat est évaporé à sec.

Mode opératoire

Les mêmes quantités d'extraits secs (50 mg) de feuilles et de d'inflorescences mâles ont été dissoutes séparément dans 100 ml d'eau distillée ainsi, on obtient deux solutions. Après, 10 ml de chaque solution ont été prélevés et versés dans un tube à essai ; dans chaque tube, nous avons ajouté 2 ml du réactif de Folin Denis puis, 3 mn plus tard 2 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium ont été ajoutés ; après 30 mn, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre au 670 nm contre du blanc réactifs (10 ml d'eau distillée + 2 ml de Folin Denis + 2 ml de solution saturée de carbonate de sodium).

Dans 10 tubes à essai, une gamme d'étalon d'acide tannique a été préparée dans les mêmes conditions avec des concentrations allant de 0,0045 à 0,05 mg/ml, à partir d'une solution mère obtenue en dissolvant 5 mg d'acide tannique de marque PRS Panreac dans 110 ml d'eau distillée.



Dosage des tannins

Nous avons procédé à la fixation des tannins avec de la caséine. Ainsi, dans chaque extrait, 30 ml ont été prélevés et 3 g de caséine y ont été ajoutés, puis les solutions obtenues ont été soumises à une agitation magnétique durant 3 h et ensuite filtrées avec du coton. Dans les filtrats obtenus, les polyphénols résiduels ont été dosés suivant le même protocole décrit plus haut. A partir des résultats obtenus, la teneur en tannins a été déduite suivant la relation : teneur en tannins (Tta) = teneur en polyphénols totaux (Tpt) – teneur en polyphénols résiduels (Tpr).

Activité antioxydante

Extraction

Les poudres (200 g) de feuilles ou d'inflorescences mâles ont été traités par de l'eau bouillante sous réfrigérant à reflux pendant 4 h. Après filtration avec du coton, la solution aqueuse des inflorescences est épuisée successivement par le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le butanol-1 ; celle des feuilles par l'acétate d'éthyle et le butanol-1. Après, les solutions obtenues ont été évaporées à sec pour servir aux essais.

Méthode bio-autographique

Cette méthode utilise la chromatographie sur couche mince (CCM) suivie d'une révélation au DPPH (1,1 diphényl pycrylhydrazine) selon (Takao et al., 1994), décrite par Bassène (2012). Ainsi, la CCM a été réalisée selon les caractéristiques suivantes :

- Une plaque : Merck KGaA Gel de silice 60 F₂₅₄ sur feuille d'aluminium ;
- Un éluant : butanol-acétate d'éthyle-eau (65 :15 :25) ;
- Des dépôts : 4 µl de solution méthanolique des extraits secs ;
- Un révélateur : une solution méthanolique de DPPH à 2 mg/ml à pulvériser sur la plaque chromatographique après

séchage à l'étuve. Les zones d'activités anti-radicalaires apparaissent en jaune-clair sur fond violet après un temps optimal de 30 mn.

Méthode colorimétrique

Le principe de ce test est basé sur le fait que le DPPH est un radical libre qui présente une bande d'absorption caractéristique à 517 nm liée à la résonance des électrons non appariés. En présence d'une substance chimique anti-radicalaire, il y a capture des électrons non appariés de façon stœchiométrique et des produits de la réaction n'absorbent plus que vers 470 nm. Cela se traduit par une baisse de l'absorption à 517 nm liée à la décoloration de la solution de DPPH. Il est donc possible de suivre la réaction par spectrophotométrie dans le visible et de comparer l'intensité colorante 50 (IC50) de la substance étudiée à celle d'un antioxydant connu tel que l'acide ascorbique. IC50 peut être définie comme étant la quantité de produits nécessaire pour faire diminuer la coloration de réactif (DPPH) de moitié 50% (Sakande, 2004).

- Préparation de la solution de DPPH

Dans 100 ml de méthanol analytique 99,8%, ont été dissous 25 mg de la poudre de DPPH ; la solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière. A partir de cette solution mère, une gamme d'étalonnage a été préparée, à des concentrations comprises entre 12,5 et 50 µg/ml, puis la lecture de l'absorbance effectuée à 505 nm contre un blanc méthanol.

- Préparation des solutions à tester et celle de la référence

De l'extrait sec (500 mg) et de l'acide ascorbique (250 mg), ont été dissous séparément dans 20 ml d'un mélange éthanol/eau (70/30, V/V). Ainsi, des solutions à tester aux concentrations comprises entre 500 et 2500 µg/ml ont été préparées et pour la référence, nous avons des solutions à des concentrations allant de 4 à 20 µg/ml.

La solution de DPPH choisie a une valeur d'absorbance de 0,456 à 505 nm, puis à



chaque mesure, 3,9 ml ont été prélevés de cette solution et on ajoute 0,1 ml de la solution à tester. Ce mélange réactionnel a été agité vigoureusement 10 secondes durant ensuite transféré dans un tube à essai de 4 ml. La lecture des absorbances a été faite à 505 nm contre du blanc méthanol, à des intervalles de temps réguliers. La concentration correspondante à une baisse de 50% de l'absorbance de la solution de DPPH choisie a été déterminée. La valeur obtenue de la solution à tester est comparée avec celle de la référence.

RESULTATS

Dosage des polyphénols totaux et des tanins

La courbe d'étalonnage de l'acide tannique est établie à partir de la droite de régression $y = 30,529x + 0,0089$ avec $R^2 = 0,9987$. Les teneurs en polyphénols totaux trouvées sont : feuilles 13,56 Eq Acide tannique ; inflorescences mâles 5,6 Eq. AT ; pour les tanins : feuilles 13,467 Eq. AT, inflorescences mâles 5,474 Eq. AT (Figure 1).

Activité antioxydant

Méthode bio-autographique

La révélation de la plaque chromatographique par la solution de DPPH a montré que tous les extraits testés ont une activité anti-radicaire. Cette activité est marquée par la présence de spots jaunes.

Méthode colorimétrique

La courbe d'étalonnage du DPPH est établie à partir de la droite de régression $Y = 36,481x - 4.10 \cdot 10^{-5}$ avec $R^2 = 1$.

La mesure de l'activité anti-radicaire exprimée en IC_{50} activité antioxydant par mg de DPPH donne : 0,05 g pour la référence l'acide ascorbique, 0,2 g et 0,25 g respectivement pour les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de feuilles ; 0,5 g et 1 g pour les extraits acétate d'éthyle et butanolique d'inflorescences mâles. Exprimée en équivalent milligramme d'acide ascorbique (mEqAAs) nous obtenons : 4 mgEqAAs et 5 mgEqAAs respectivement pour les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique des feuilles ; 10 mgEqAAs et 20 mgEqAAs respectivement pour les extraits d'acétate d'éthyle et butanol d'inflorescences mâles.

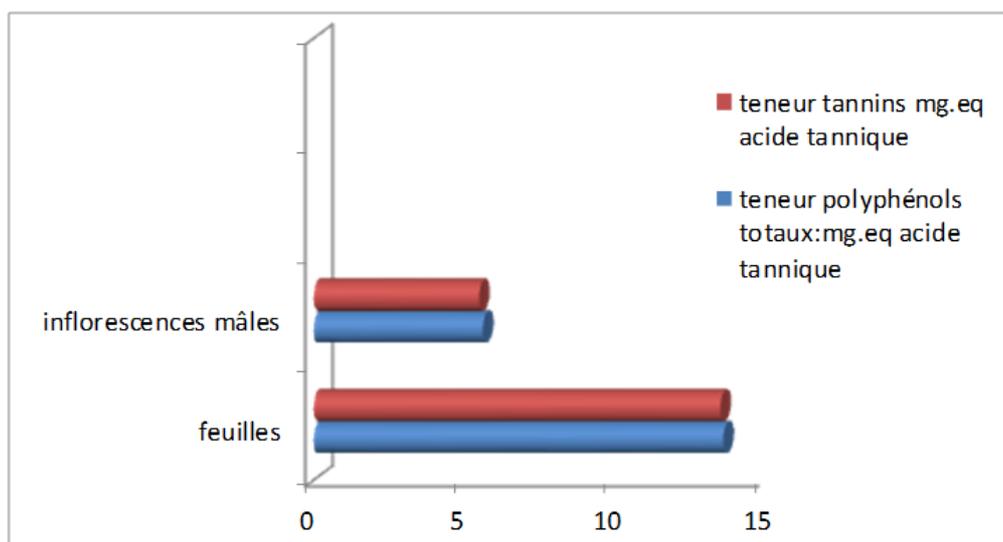


Figure 1 : Polyphénols totaux et tanins des extraits aqueux de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* Mart. (Arecaceae).

DISCUSSION

Les teneurs en polyphénols totaux et en tanins sont plus élevées dans les feuilles que dans les inflorescences mâles. La CCM et la spectrophotométrie, révèlent une activité antioxydante de tous les extraits testés. Cependant, cette activité anti-radicalaire est respectivement 2 à 4 fois plus élevée avec les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de feuilles qu'avec ceux des inflorescences mâles du rônier. Mais, comparés à l'acide ascorbique les extraits de feuilles sont 4 à 5 fois moins actifs et ceux des inflorescences mâles 10 à 20 fois moins actifs. En effet, ces résultats confirment ceux de Sakande (2004) qui a trouvé dans les extraits d'inflorescences mâles une activité 20 fois moindre que l'acide ascorbique.

Cette activité anti-radicalaire plus importante dans les feuilles pourrait être liée aux polyphénols (tanins et flavonoïdes) présents à des teneurs 2 fois supérieures dans les feuilles que dans les inflorescences mâles. Cette différence entre les deux organes a été observée dans l'activité anti-inflammatoire et antalgique (Dieng, 2013). En effet, plusieurs auteurs ont rapporté des propriétés antioxydantes des flavonoïdes (Kumarappan, 2012 ; Yan, 2002), ainsi que les tanins (Afaq, 2005).

Il serait très intéressant de pousser cette étude afin de déterminer les principes responsables de cette activité antioxydante, pour une meilleure utilisation de la plante surtout ses feuilles, pour lutter contre certaines pathologies liées au stress oxydatif.

REFERENCES

- Afaq F, Saleem M, Krueger CG, Reed JD, Mukhtar H. 2005. Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- κ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *International Journal of Cancer*, **113**(3) : 423-433.
- Aubreville A. 1959. Les monocotylédones. La flore forestière de la Côte d'Ivoire, C.T.F.T, vgent. Sur. Marne, tome 15; 317.321.
- Bassène E. 2012. *Initiation à la Recherche sur les Substances Naturelles Extraction, Analyse et Essais Biologiques*. Presse Universitaire de Dakar : Dakar ; 150p.
- Dieng M, Fall AD, Sarr SO, Diatta K, Diatta W, Sy GY, Bassène E. 2013. Activité anti-inflammatoire des feuilles de *Borassus aethiopum*, Mart.(Arecaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci*, **7**(2): 805-808.
- Joslyn M. 1970. *Methods in Food Analysis* (2nd edn). Academic Press: New York, London.
- Kumarappan CT, Thilagam E, Mandal SE. 2012. Antioxidant activity of polyphenolic, extracts of *Ichnocarpus frutescens*. *Saudi J. Biol Sci.*, **19**(3): 49-55.
- Maydell H-YV. 1983. Arbres et arbustes du sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Eschborn, G T.
- Nacoulma O. 1996. Plantes médicinales et pratique médicale traditionnelle au Burkina fasso, cas du plateau central. Tome II, Doctorat ès sciences naturelles. Université de Ouagadougou.
- Sakande J. 2004. Etude bio guidée des propriétés pharmacologiques d'extraits et fraction de *Borassus aethiopum* Mart (Arecaceae) approche du mécanisme biochimique d'action. Thèse unique en sciences biologiques appliquées- Université de Ouagadougou.
- Sambou B. 1989. Rônier *Borassus aethiopum* Mart. et rôneraies au Sénégal : état actuel et condition de restauration. Thèse de doctorat de troisième cycle en sciences de l'environnement Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Takao T. et al. 1994, A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Brotech. Brochen.*, **58**: 1780-1783.
- Thione LA. 2000. Biologie de la reproduction et l'étude de l'impact de l'exploitation des feuilles et fruits sur la productivité des rôniers. Thèse de troisième cycle en biologie végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Yan X, Murphy BT, Hammond GB, Vinson JA, Neto CC. 2002. Antioxidant activities and antitumor screening of extracts from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*). *J Agric Food Chem*, **50**(21): 5844-5849.

