

STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FLAVONOIC EXTRACT OF A MEDICINAL PLANT (*CALOTROPIS PROCERA*) OF AHAGGAR TAMANRASSET

M. A. Belalem^{1*}, B. Labeled^{1,2,3}, H. Darraji², A. Bouhrira¹, A. Reggani¹, R. M. Kebbab¹,
S. R. Boutamine¹

¹Laboratoire des Sciences & Environnement : “Bio Ressources, Géochimie-Physique, Législation et Développement Socio-Economique » Centre Universitaire de Tamanghasset, Algeria

²Laboratoire EVRNZA, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algeria

³Ecole Normale Supérieur Ouargla-ENS-, Algeria

Received: 02 October 2018 / Accepted: 21 December 2018 / Published online: 01 January 2019

ABSTRACT

Calotropis procera is a famous medicinal plant in the region of Hoggar Tamanrasset in southern Algeria. In this study, will have undertaken the study of the antioxidant activity of the flavonoid extract of this plant using several solvents (diethylether, ethyl acetate and N-butanol), the potential antioxidant extracts was determined on the based on their scavenging activity of the stable DPPH free radicals. The values of IC₅₀ (mg / ml) were for the extract of 0.020 g/l, 0.014 g/l and 0.029 g/l successively for diethyl ether, ethyl acetate and N-butanol. Compared to the salts of ascorbic acid (VC) and tocopherol acid (VE) which were 0.011g/l and 0.015 g/l respectively. In addition the FRAP (Fenic antioxidant power reduction) effective acetate test on the same extract. By using VEAC (Vit E equivalent antioxidant capacity) it is found that the ethyl acetate extract has a higher reducing power than the other extracts equal to 1.115 g/l. diethyl ether 0.956 g/l and n-butanol 0.987 g/l and ascorbic acid (VC) was considered a positive test with a VEAC is equal to 2.031g/l.

Key words: Medicinal plant, *Calotropis procera*, flavonoid extract, antioxidant activity, Hoggar Tamanrasset

Author Correspondence, e-mail: belalem1962@gmail.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v11i1.21>



1-INTRODUCTION

Calotropis procera, commun dans le Sahara : central, méridional, et plus rare au Sahara septentrional [1], il se rencontre dans tout le sahel, en Afrique oriental et en Arabie jusqu'au Indes. D'ailleurs, nous pouvons signaler de nombreuses utilisations relatives à cette plante selon les us et les coutumes réputées dans le territoire Africain, comme par exemple : Ses feuilles sont utilisées pour soulager ou guérir de nombreux cas médicaux difficiles tels que : l'hypertension artérielle, l'œdème, la toux, la filariose, l'anasarque, en cas d'avortement. Même, contre les morsures de serpent, les crises d'asthme, la tuberculose. Ses racines sont reconnues par leur activité antitoxique, anti-lèpreuses, antisiphilitiques, anti-asthmatiques, même au traitement de la folie [2]. Son latex, a été largement utilisé pour traiter les douleurs dentaires et les hémorroïdes [3]. Les fleurs sont efficaces à petite dose contre les rhumes, la toux, l'asthme ... etc. [4]. Parmi les constituants chimiques communs isolés des feuilles, des fruits et des tiges de *Calotropis procera*, on cite comme exemple : Calotropine, Calotropagénine [4], et ceux des feuilles on a : les polysaccharides. D'ailleurs les Glycosides cardiotoniques ont été signalés chez les tiges. Sans oublier ceux qui sont extraits des fleurs tels : les flavonoïdes, Anthocyanines, stérols... etc. Et ceux de latex, comme : les Stérols, Hétérosides, Alcaloïdes, enzymes protéolytiques... etc. [2]. Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle même en pharmacologie, vu son activité : antibiotique, antifongique, nématocide, insecticide... etc. A cet effet, nous nous sommes intéressés d'étudier son activité antibiologique, tout en basant sur les études qui ont été réalisées dans ce cadre.

2-MATERIALS AND METHODS

2-1-Préparation des extraits flavonoïques

L'extraction des flavonoïdes totaux (FT) à partir de *Calotropis procera* est une extraction de type liquide-liquide qui repose sur le principe de solubilité dans les solvants organiques. Le choix du solvant dépend de la nature des composés à extraire, de leur solubilité dans le solvant et surtout de la nature du matériel végétal. Elle est basée sur le degré de solubilité des polyphénols dans les solvants organiques. De ce fait, trois solvants organiques de polarités différentes ont été utilisés (l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol) selon le protocole d'extraction décrit par [5].

2-2- Analyse quantitative des extraits de flavonoïdes

2-2-1. Détermination du rendement :

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein et le poids du ballon vide.

$$\mathbf{R \% = (PEB/PMV) \times 100}$$

R : rendement.

PEB : poids de l'extrait brut obtenu après macération dans (Méthanol/eau) (g).

PMV : poids de matière végétale (g).

2-2-2 Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes totaux dans les différentes fractions de *Calotropis procera* est réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium [6]. À un millilitre de chaque échantillon est ajouté à 1 ml de la solution de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 : 2%) dans le méthanol. Le mélange est laissé réagir pendant 10 min puis la lecture de l'absorbance est faite à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (1-25 $\mu\text{g/ml}$) et exprimée en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme de matières sèches totales (MST) (mg EQ/ g de MST).

2-2-3 Test DPPH

La capacité de don d'atomes d'hydrogène ou d'électrons de l'extrait correspondant a été mesurée à partir du blanchiment de la solution MeOH de DPPH colorée en violet. Ce dosage spectrophotométrique utilise un radical stable 1, 1-diphényl-picrylhydrazyle (DPPH) comme réactif [7]. 50 μl de diverses concentrations de l'extrait dans du MeOH ont été ajoutés à 5 ml d'une solution MeOH à 0,004% de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes à température ambiante, l'absorbance a été lue contre un blanc à 517 nm. L'inhibition de la DPPH radicalaire en pourcentage a été calculée selon la formule:

$$\text{Inhibition\%} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100;$$

où :

A_0 : est l'absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs sauf le composé d'essai)

A : est l'absorbance du composé d'essai. Concentration d'extraction fournissant 50% d'inhibition

(IC_{50}) a été calculée à partir du graphique en termes de pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration d'extrait. Tous les tests ont été réalisés en triple. La vitamine E et la vitamine C ont été prises comme contrôle positif.

2-2-4. Dosage FRAP

Le test de puissance antioxydante réductrice ferrique (FRAP) fournit une mesure de la capacité réductrice des extraits de plantes. Cette méthode a été établie par Benzie et Strain [8]. Le réactif FRAP a été fraîchement préparé en mélangeant ensemble 2, 4, 6-tripyridyl-triazine (TPTZ) 10 mM et 20 mM de chlorure ferrique dans un tampon acétate 0,25 M, pH 3,6. 100 μ L d'échantillon d'essai ont été ajoutés à 300 μ L d'eau distillée, suivis de 3 mL de réactif FRAP. L'absorbance a été lue à 593 nm après 5 min d'incubation à température ambiante contre un blanc. La courbe standard du tocophérol a été construite. L'activité antioxydante a pu être déterminée à partir de la courbe standard en tant que capacité antioxydante équivalente de vitamine E. L'activité antioxydante de chaque échantillon a été comparée à la vitamine C standard. Les données présentées sont une moyenne de trois répétitions.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3-1. Analyse quantitative

3.1.1. Détermination du rendement

L'extraction des flavonoïdes est basée sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques à partir de la poudre de feuilles de la plante *Calotropis procera* récoltée dans la région de Hoggar (Tamanghasset), montre que l'extrait d'acétate d'éthyle le rendement le plus élevé (14,2%) suivi de l'extrait butanolique représentant (8,6%) puis de l'extrait d'éther éthylique (6,8%)

Tableau 1. Evaluation quantitative des flavonoïdes totaux des extraits de *Calotropis procera*

Extrait	Rendement moyen (%)	La masse de l'extrait (g /10g de MST)	Couleur de l'extrait
Ether Diéthylique	6.8	0,68	Vert foncé
Acétate d'éthyle	14,2	1,14	Jaune
n-Butanol	8,6	0,86	Marron foncé

3.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Les fractions représentant les flavonoïdes totaux (FT) dans les différents extraits flavonoïques récoltés, sont déterminées en mg d'équivalent de quercétine par gramme de matières sèches totales (MST) de plantes récoltées dans la région Hoggar Tamanghasset. Les FT ont été quantifiés par la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la quercétine est le flavonoïde pris comme référence pour la courbe d'étalonnage ($R^2=0,999$) (figure 1).

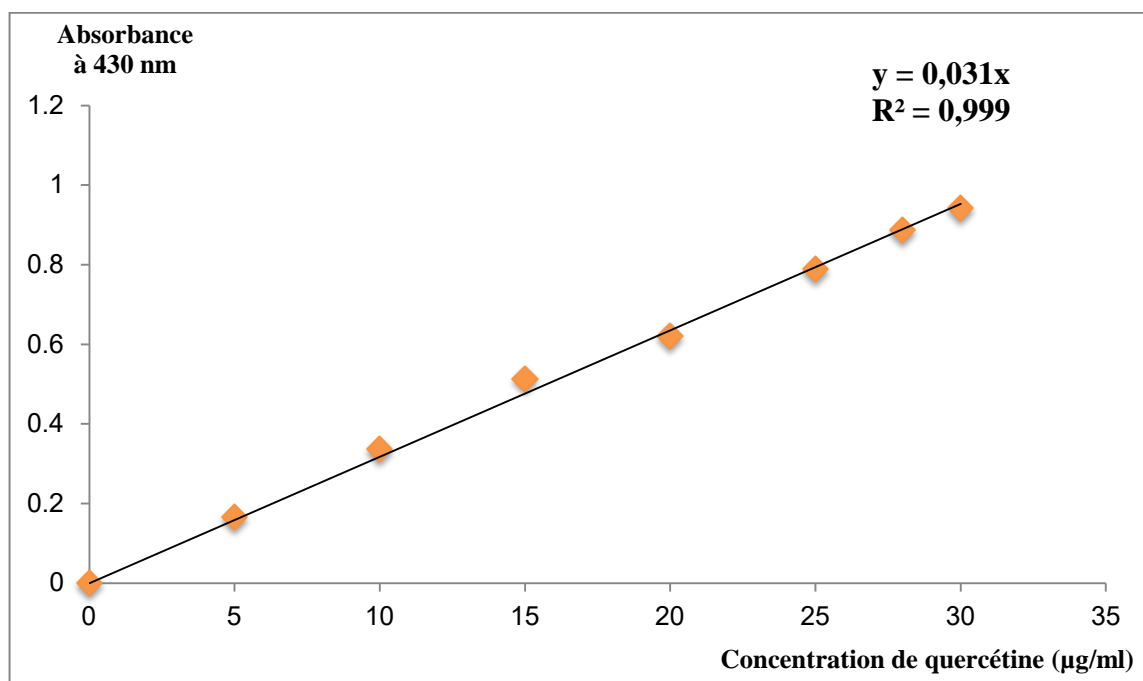


Fig.1. Courbe étalon à la quercétine utilisée pour quantifier les flavonoïdes totaux

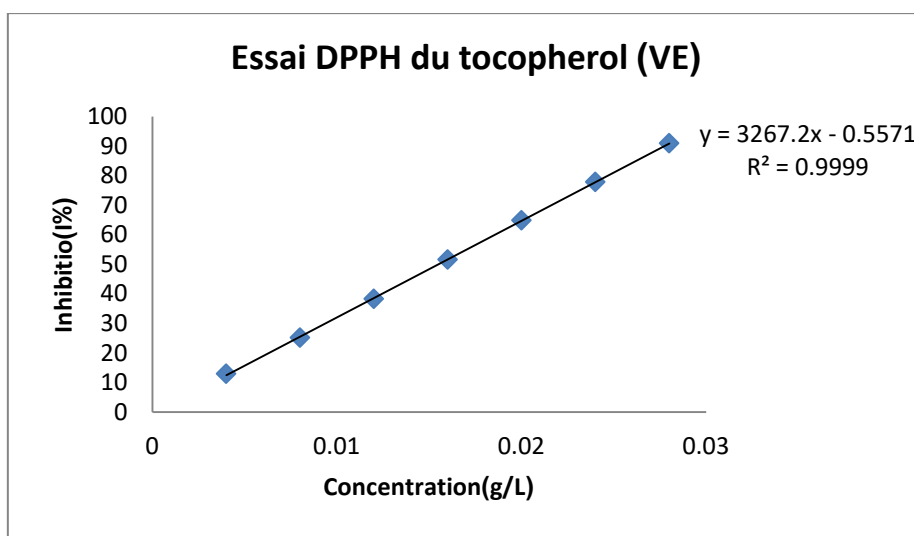
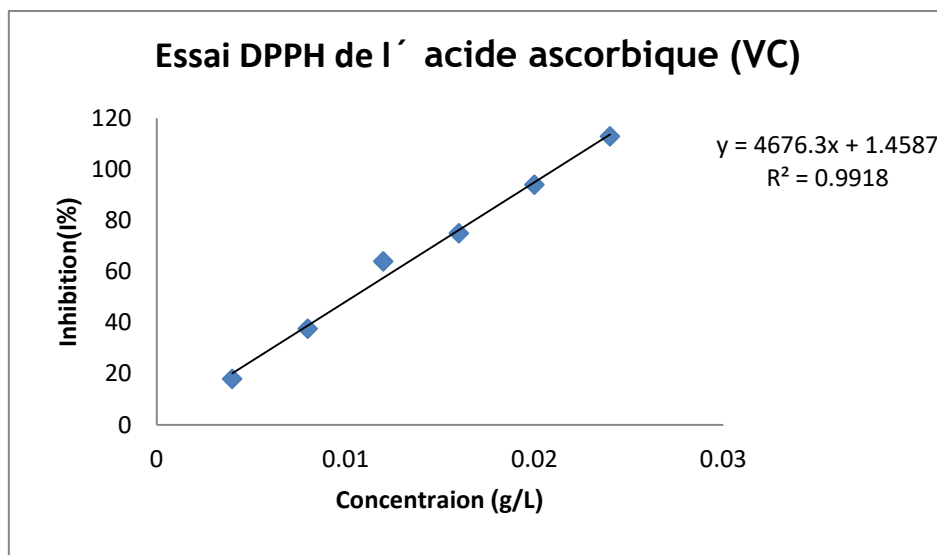
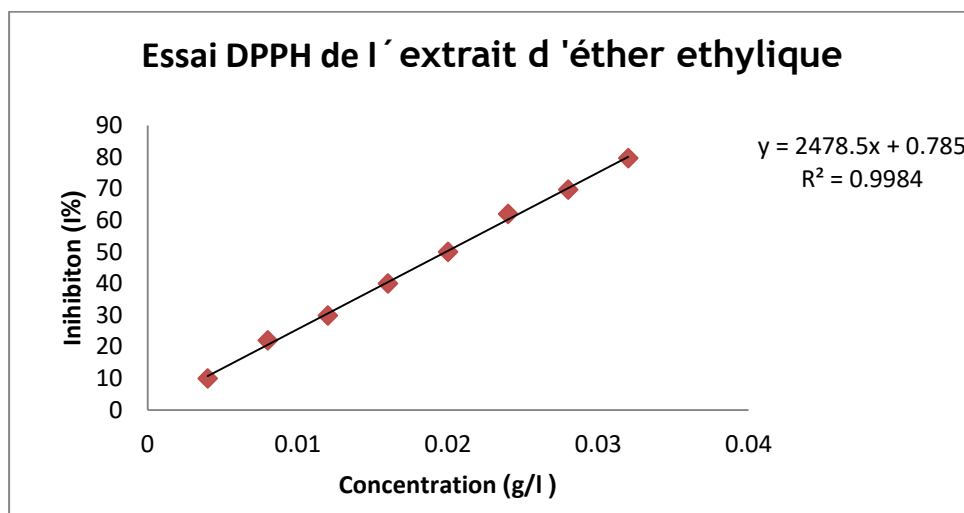
Tableau2. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux obtenus par la méthode du $AlCl_3$ des extraits de *Calotropis procera*

Extraits	Quantité de FT (mg/g de MST)
Ether diéthylique	0,98 ± 0,10
Acétate d'éthyle	1,12 ± 0,02
n-Butanol	1,16 ± 0,32

Les résultats de dosage de flavonoïdes révèlent que les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique contiennent le plus de molécules flavonoïques que l'extrait d'éther diéthylique ce qui témoigne de la richesse de ces formes phénoliques dans cette plante.

3.2. Activité de piégeage des radicaux DPPH

Suivant les courbes (2,3,4,5,6) de changement de pourcentage d'utilisation en fonction des concentrations de tous les extraits de la plante (*Calotropis procera*) et d'acide ascorbique (VC) et techoferol (VE)

**Fig.2.** Essai DPPH de tocopherol (VE)**Fig.3.** Essai DPPH de l'acide ascorbique (VC)**Fig.4.** Essai DPPH de l'extrait d'éther diéthylique

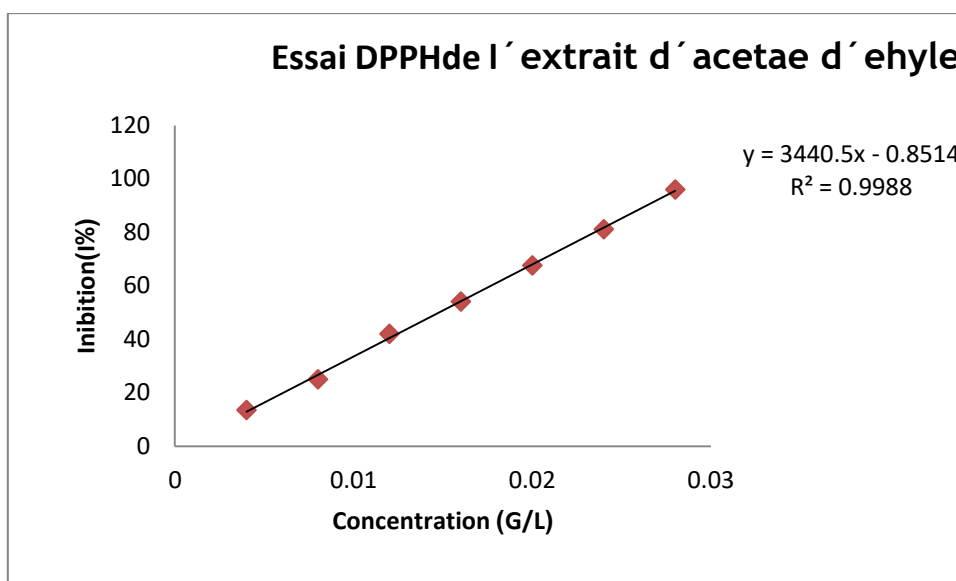


Fig.5. Essai DPPH de l'extrait d'acétate d'éthyle

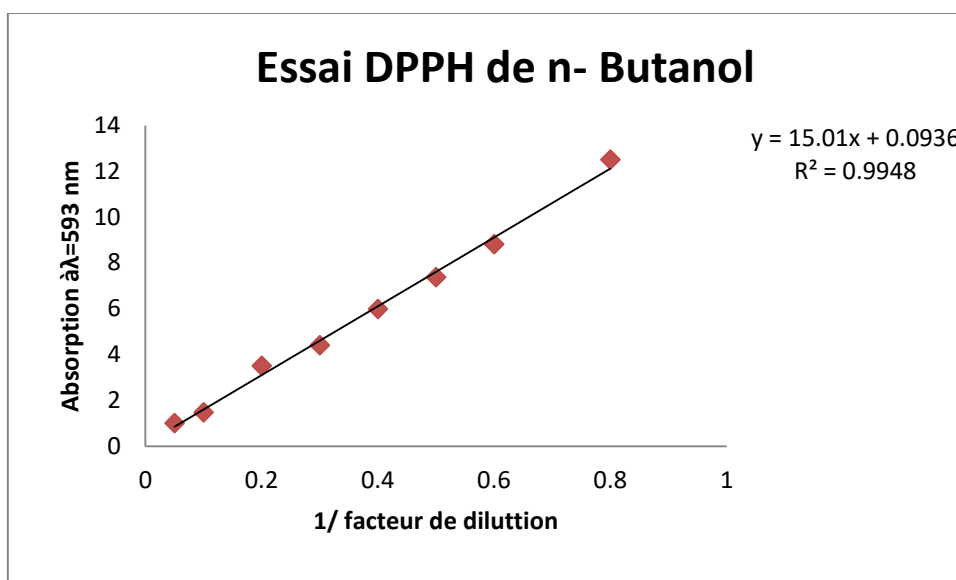


Fig.6.: Essai DPPH de l'extrait de n-butanol

Dès que la valeur de IC₅₀ diminue, l'activité antioxydante augmente. Suivant les résultats sur le tableau (2) on conclue :

Tableau 3. IC₅₀ for the tested extracts

Extraction	Diéthylether	Acétate d'éthyle	n- butanol	Vitamine C	Vitamine E
IC ₅₀ (g/l)	0,020	0,014	0,029	0,011	0,015

Tous les extraits traités possèdent une activité antioxydante moindre par rapport à l'acide ascorbique utilisés dans l'industrie alimentaire comme conservateur. La plus grande valeur de l'activité antioxydante a été trouvée dans l'extraits d'acétate d'éthyle de l'IC₅₀ a atteint 0,014g/l.

3.3. Capacité réductrice (FRAP)

Suivant les courbes (7, 8, 9, 10, 11).

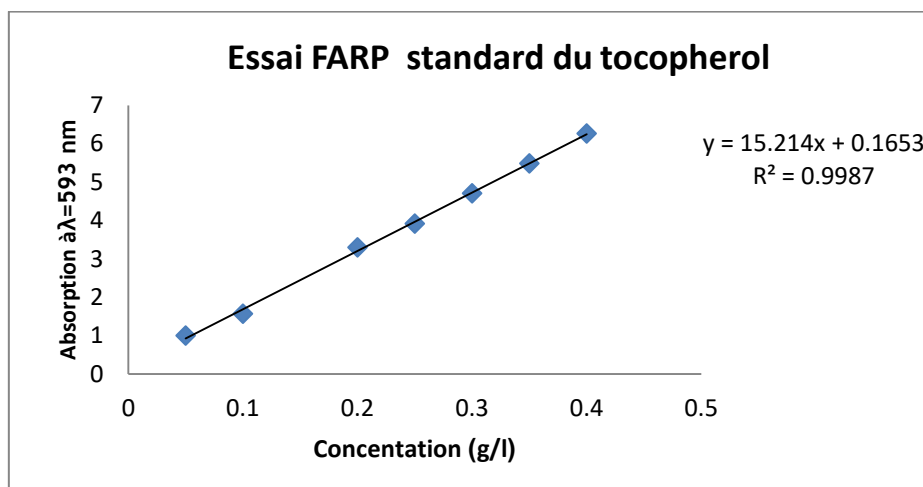


Fig.7. Essai FRAP standard du tocophérol

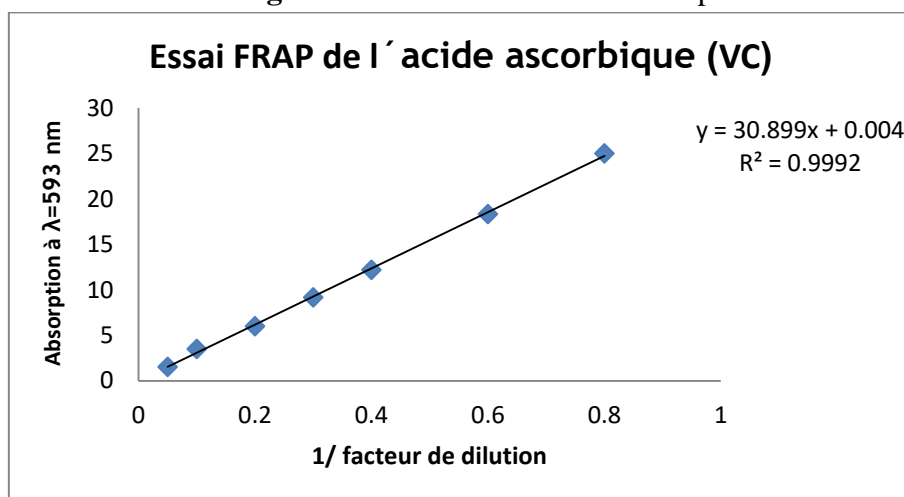


Fig.8. Essai FRAP de l'acide ascorbique

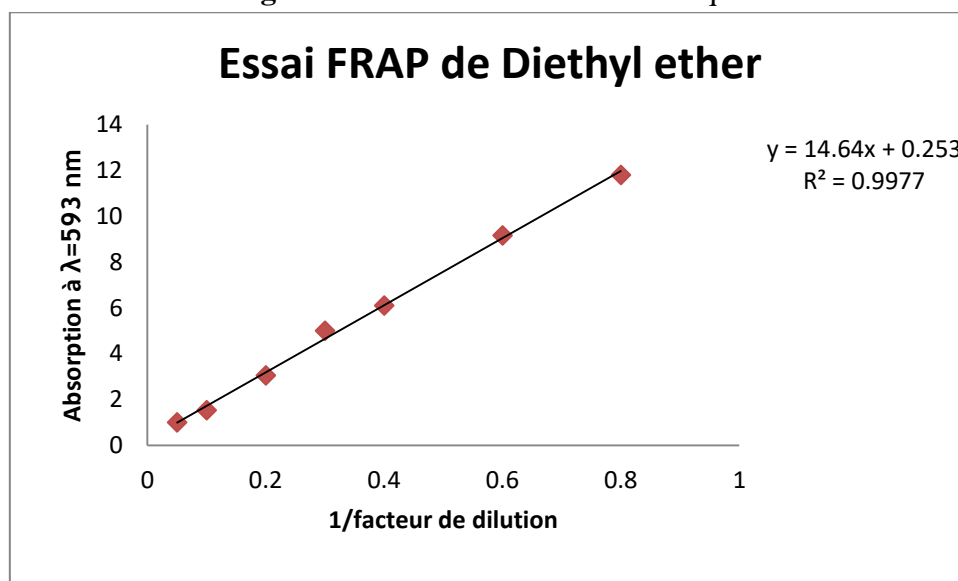
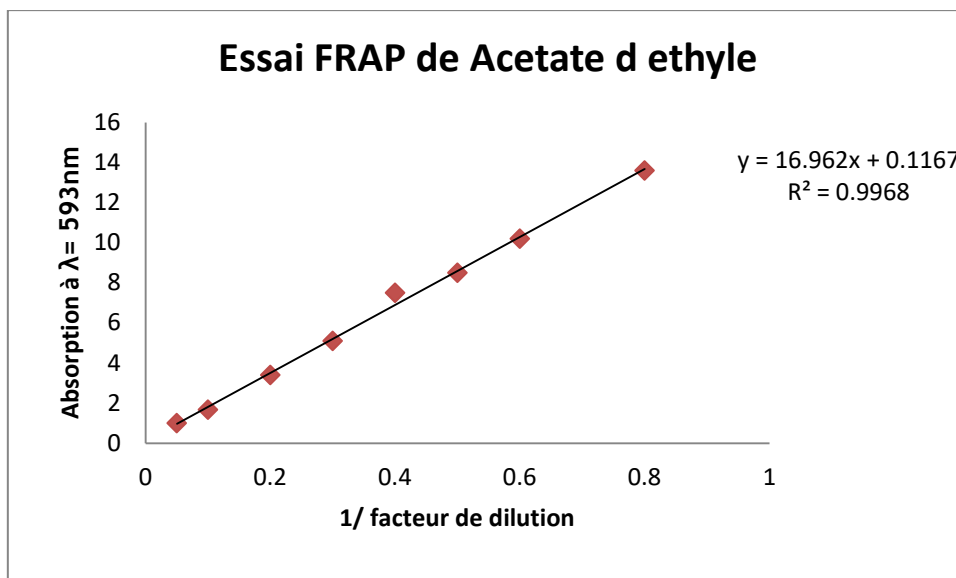


Fig.9. Essai FRAP de Diethyl ether



• **Fig.10.** Essai FRAP de Acétate d'éthyle

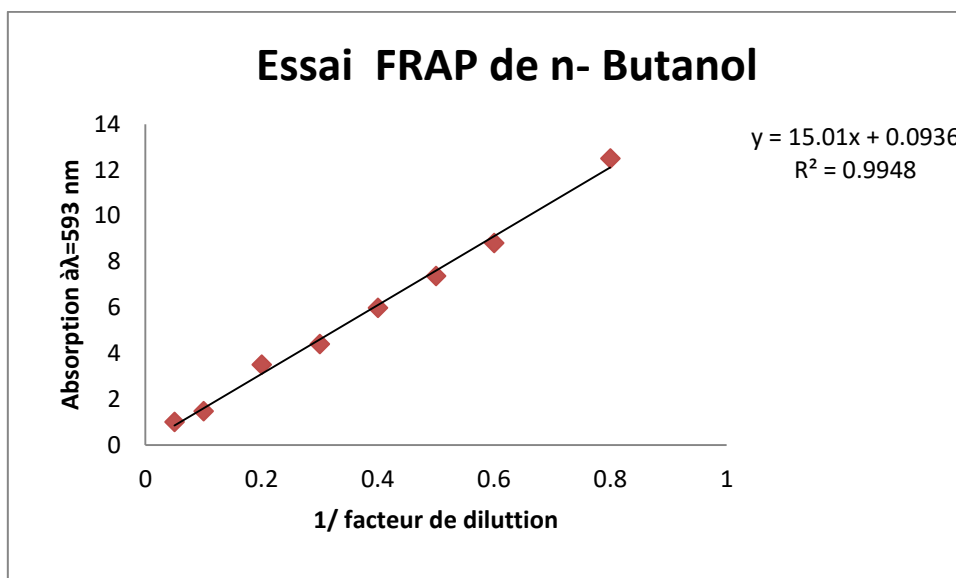


Fig.11. Essai FRAP de n- Butanol

Suivants les résultats sur le tableau (4) on conclue. La capacité antioxydante équivalente entre le techoferol (VE) et les extraits (diethylether =0,956g/l) (acétate d'éthyle =1,115g/l) (N-butanol = 0,987g/l) et l'acide ascorbique (VC)=2,031g/l). Ces résultats montrent que l'acide ascorbiques (VC) utilisé dans l'industrie alimentaire a une action antioxydante meilleur que l'activité antioxydante des extraits. On compare les extraits, on trouve que l'extrait acétate d'éthyle a une activité antioxydante meilleure que les autres extraits.

Tableau 4. La capacité antioxydante équivalente entre le techoferol (VE) et les extraits et l'acide ascorbique (VC)

Extraction	Diethylether	acétate d'éthyle	n- butanol	Vitamine C
VEAC (g/l)	0,956	1,115	0,987	2,031

CONCLUSION

- Suivant les résultats obtenus et les conditions expérimentales, il a été montré que tous les extraits ont une activité antioxydante.
- La plus grande valeur d'activité antioxydant des extraits a été trouvée dans l'extrait acétate d'éthyle, et cette valeur est moindre que celle trouvée dans l'acide ascorbique utilisé dans l'industrie alimentaire comme conservateur.

Références bibliographiques

- [1] Ozenda P., 1977- Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 p.
- [2] Patricia Rachel Nikiema W., 2004- Etude des propriétés pharmacochimiques des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) : Caractéristiques phytochimique, toxicologique, antibactérienne, antifongique et antiinflammatoire. Thèse de doctorat., Université de Bamako, Burkina Faso, 162 p.
- [3] Ali Omar M., 2009- Pharmacopée traditionnelle et valorisation d'autres ressources naturelles par la femme Toubou dans le Termit – Niger. Mémoire Master. Institut international d'ingénierie de l'eau et de l'environnement, Niger 88 p.
- [4] Mohammedi Z., 2013- Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 170 p.
- [5] MERGHEM R., JAY M., VIRICEL M. R., BAYET C. ET VOIRIN B. 1995. Five 8-C benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiatae). *Phytochemistry.*, 38 (3) : 637-640.
- [6] BAHORUN T, GRESSIER B., TROTIN F., BRUNET C., DINE T., LUYCKX M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN J.C., and PINKAS M. (1996). Oxygenspecies scavenging activity of phenolic extracts from hawtorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimlforsch/Drug Res.*, 46(11): 1086- 1089.
- [7] Burits, M., Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323–328.
- [8] Benzie I.F.F., Strain J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power“: The FRAP assay. *Analitical Biochemistry*, 239, 292: 70-76.

How to cite this article:

Belalem MA, Labed B, Darraji H, Bouhrira A, Reggani A, Kebbab RM, SR. Boutammine. Study of the antioxidant activity of flavonoic extract of a medicinal plant (*calotropis procera*) of Ahaggar Tamanrasset. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2019, 11(1), 315-324.