

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**Abs** : Absorbance

**ABTS** : Acide-2,2'-azinobis-(3-éthylbenzoline-6-sulfonique)

**ABTS<sup>+</sup>** : Radical cation ABTS

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**Apo B** : Apoprotéine B

**CAT** : Catalase

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CE<sub>50</sub>** : Concentration efficace à 50% de l'activité oxydante

**CI<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50% de l'activité oxydante

**ClO<sup>-</sup>** : Anion hypochlorite

**CUPRAC**: Cupric ion reducing antioxydant capacity

**DMPD**: N,N-diméthyl-p-phénylène diamine dihydrochloride

**DO**: Densité optique

**DPPH**: 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle

**DPPH<sup>•</sup>** : Radical DPPH

**ERO** : Espèce réactive de l'oxygène

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique

**FRAP**: Ferric ion Reducing Antioxydant Parameter

**FTC** : Thiocyanate ferrique

**GPx** : Glutathion peroxydase

**GR:** Glutathion reductase

**GSH :** Glutathion

**GSSH :** Glutathion oxydé

**Im :** Indice de mousse

**LDL :** Low Dendity Lipoprotein

**LPO :** Peroxydation lipidique

**mg EAG/g :** Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme

**MVC :** Maladies cardiovasculaires

**NADPH :** Nicotinamide adénosine dinucleotide phosphate

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> :** Carbonate de sodium

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**ONOO<sup>-</sup> :** Peroxynitrite

**O<sub>3</sub> :** Ozone

**PI :** Pourcentage d'inhibition

**PPT :** Polyphénols totaux

**RP :** Pouvoir réducteur

**SOD :** Superoxyde dismutase

**SSO :** Statut de stress oxydatif

**TBA :** Acide thiobarbiturique

**TEAC :** Trolox Equivalent Antioxydant Capacity

**UV :** Ultraviolet

**V/V :** Volume sur Volume

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 1</b> : Origine des radicaux libres.....	7
<b>Figure 2</b> : Déséquilibre de la balance « antioxydants et pro-oxydants ».....	8
<b>Figure 3</b> : Lésion de l'ADN par attaque des rayonnements UV.....	9
<b>Figure 4</b> : Plaque d'athérome.....	10
<b>Figure 5</b> : Formation d'une plaque d'athérosclérose .....	12
<b>Figure 6</b> : Structure de l' $\alpha$ -tocophérol .....	19
<b>Figure 7</b> : Structure de l'acide ascorbique .....	20
<b>Figure 8</b> : Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	20
<b>Figure 9</b> : Manguier. ....	22
<b>Figure 10</b> : Les feuilles de <i>Mangifera indica</i> var. <i>Kent</i> .....	23
<b>Figure 11</b> : Une mangue de la variété <i>kent</i> .....	23
<b>Figure 12</b> : Structure chimique de l'acide gallique.....	24
<b>Figure 13</b> : Structure chimique de la Quercétine .....	25
<b>Figure 14</b> : Structure chimique de la mangiférine .....	25
<b>Figure 15</b> : Structure chimique de la catéchine $\psi$ -taraxasténone .....	26
<b>Figure 16</b> : Réaction entre DPPH et l'antioxydant .....	32
<b>Figure 17</b> : Structure chimique de l'ABTS <sup>•+</sup> .....	32
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	51
<b>Figure 19</b> : Courbe d'évaluation de l'activité antioxydante sur le radical DPPH .....	53
<b>Figure 20</b> : Courbe d'évaluation de l'activité antioxydante sur le radical ABTS <sup>•+</sup> .....	56

## LISTE DES PHOTOS

---

<b>Photo 1</b> : Caractérisation des polyphénols .....	44
<b>Photo 2</b> : Caractérisation des tanins catéchiques .....	45
<b>Photo 3</b> : Caractérisation des tanins hydrolysables.....	46
<b>Photo 4</b> : Caractérisation des flavonoïdes .....	46
<b>Photo 5</b> : Caractérisation des alcaloïdes.....	47
<b>Photo 6</b> : Caractérisation des flavonoïdes par chromatographie sur couches minces visualisant la présence de flavonoïdes .....	49
<b>Photo 7</b> : Caractérisation des alcaloïdes par chromatographie sur couches minces visualisant l'absence d'alcaloïdes.....	50

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau I</b> : Principaux radicaux libres et leurs structures chimiques.....	5
<b>Tableau II</b> : Indices de mousse obtenus pour les différents extraits .....	48
<b>Tableau III</b> : Récapitulatif des résultats du screening phytochimique.....	48
<b>Tableau IV</b> : Absorbances de l'acide gallique .....	50
<b>Tableau V</b> : Valeurs en phénols totaux de <i>Mangifera indica</i> var. <i>kent</i> .....	51
<b>Tableau VI</b> : Action inhibitrice de l'activité antioxydante sur le DPPH' .....	52
<b>Tableau VII</b> : Action inhibitrice de l'acide ascorbique sur le DPPH' .....	52
<b>Tableau VIII</b> : Valeurs des CI <sub>50</sub> , des CE <sub>50</sub> , des PA trouvées pour les extraits des trois parties de la plante et de l'acide ascorbique .....	54
<b>Tableau IX</b> : Action inhibitrice de l'activité antioxydante sur le radical ABTS <sup>+</sup> .....	55
<b>Tableau X</b> : Action inhibitrice de l'acide ascorbique sur le radical ABTS <sup>+</sup> ....	55

## TABLE DES MATIERES

---

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique</b> .....	4
Chapitre I : Stress oxydatif .....	5
I. Généralités .....	5
I.1. Définition des radicaux libres .....	5
I.2. Origine des radicaux libres .....	6
I.3. Rôles des radicaux libres dans l'organisme.....	7
II. Stress oxydatif .....	8
II.1. Définition.....	8
II.2. Origine du stress oxydatif .....	8
II.3. Conséquences du stress oxydatif.....	9
III. Pathologies liées aux stress oxydatif .....	10
III.1. Stress oxydatif et athérosclérose.....	11
III.2. Stress oxydatif et maladie d'Alzheimer.....	12
III.3. Stress oxydatif et maladie de Parkinson .....	13
III.4. Stress oxydatif et le diabète .....	13
III.5. Stress oxydatif et autres maladies .....	13
IV. Méthodes de diagnostic d'un état de stress oxydatif.....	14
V. Antioxydants .....	16
V.1. Définition .....	16
V.2. Antioxydants endogènes .....	16
V.2.1. Systèmes enzymatiques.....	16

V.2.2. Systèmes non enzymatiques.....	17
V.3. Antioxydants exogènes .....	18
Chapitre II : Rappels bibliographiques sur <i>Mangifera indica</i> .....	21
I. Etude taxonomique .....	21
I.1. Nom scientifique.....	21
I.2. Position systématique .....	21
I.3. Description botanique.....	21
II. Origine et répartition géographique .....	24
III. Chimie de la plante .....	24
III.1. Composés phénoliques.....	24
III.1.1. Acides phénoliques .....	24
III.1.2. Esters phénoliques .....	25
III.1.3. Flavonoïdes .....	25
III.1.4. Xanthones.....	25
III.1.5. Tanins.....	26
III.2. Caroténoïdes.....	26
III.3. Triterpénoïdes et stéroïdes .....	26
III.4. Acides aminés .....	26
III.5. Acides gras.....	27
IV. Pharmacologie .....	27
IV.1. Etude ethnobotanique .....	27
IV.2. Etude pharmacologique .....	27
IV.2.1. Propriétés antioxydantes.....	27
IV.2.1.1. Propriétés antioxydantes d'extrait de feuilles.....	28

IV.2.1.2. Propriétés antioxydantes d'extraits de l'épicarpe de la mangue .....	28
IV.2.1.3. Propriétés antioxydantes d'extraits de l'écorce .....	28
IV.2.2. Autres propriétés pharmacologiques .....	28
Chapitre III : Différentes méthodes de détermination de l'activité antioxydante .....	30
1. Réduction du DPPH' .....	31
2. Test ABTS (Acide-2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) .....	32
<b>DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>33</b>
I. Cadre d'étude.....	34
II. Matériel et Méthodes.....	34
II.1. Matériel végétal.....	34
II.2. Appareillage .....	34
II.3. Réactifs .....	35
III. Méthodes d'étude.....	36
III.1. Extraction .....	36
III.2. Préparation des extraits .....	36
III.3. Préparation de la solution méthanolique.....	37
III.4. Screening phytochimique.....	37
III.4.1. Réactions de caractérisation.....	37
III.4.1.1. Composés phénoliques.....	37
III.4.1.1.1. Tanins catéchiques ou condensés .....	37
III.4.1.1.2. Tanins hydrolysables .....	38
III.4.1.1.3. Flavonoïdes .....	38
III.4.1.2. Alcaloïdes.....	39

III.4.1.3. Saponosides.....	39
III.4.2. Identification par chromatographie sur couche mince.....	39
III.4.2.1. Flavonoïdes .....	40
III.4.2.2. Alcaloïdes.....	40
III.5. Dosage des composés phénoliques totaux (PPT) .....	40
III.5.1. Principe .....	40
III.5.2. Mode opératoire .....	41
III.6. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode spectrophotométrique avec le DPPH .....	41
III.7. Expression des résultats .....	42
III.8. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de l'ABTS .....	42
III.9. Expression des résultats .....	43
Chapitre IV : Résultats et Discussion .....	44
I. Résultats.....	44
I.1. Extraction.....	44
I.2. Screening phytochimique .....	44
I.2.1 Réactions de caractérisation .....	44
I.2.1.1 Composés phénoliques .....	44
I.2.1.2. Tanins catéchiques.....	45
I.2.1.3. Tanins hydrolysables .....	45
I.2.1.4. Flavonoïdes.....	46
I.2.1.5. Alcaloïdes .....	47
I.2.1.6. Saponosides.....	47
I.2.2. Identification par chromatographie sur couche mince .....	48

I.2.2.2. Alcaloïdes .....	49
I.3. Dosage des composés phénoliques.....	50
I.4. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode spectrophotométrique utilisant le DPPH' .....	52
I.5. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode ABTS <sup>+</sup> .....	55
<b>II. Discussion.....</b>	<b>57</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>58</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>58</b>

# **INTRODUCTION**

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. La médecine traditionnelle demeure le recours principal d'une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé, non seulement du fait qu'elle constitue un élément important du patrimoine culturel, mais aussi pour les moyens financiers limités face aux produits conventionnels (**Kone**, 2009). Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**OMS**, 2002).

En dehors de la fréquente efficacité de ces remèdes traditionnels, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Newman et al.**, 2000).

Le stress oxydatif est impliqué dans un large spectre de maladies qui ont un impact énorme sur la santé des populations. Ce stress oxydatif s'installe lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination. 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) et à un faible taux de mortalité (**Anderson et al.**, 2001).

Par ailleurs, le Sénégal est un pays producteur de mangues. Il est classé en 5<sup>ème</sup> position après Nigeria, Niger, Guinée et Mali au niveau de l'Afrique de l'Ouest. Ainsi, l'exportation de fruit connaît une certaine incidence économique. De même l'utilisation de certaines parties de la plante dans diverses pathologies dans la pharmacopée traditionnelle est constatée depuis très longtemps.

Enfin, le Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique s'inscrit depuis quelques années dans l'évaluation de l'activité antioxydante de différentes parties de la plante.

Ceci justifiant notre étude qui porte sur la recherche de l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *kent*.

Ainsi, notre travail sera divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique relative à des rappels sur le stress oxydatif, sur le manguier ou *Mangifera indica*, et sur les méthodes d'étude de l'activité antioxydante.
- Une deuxième partie portant sur un screening chimique et la recherche de l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tiges et de *Mangifera indica*.

**PREMIERE PARTIE :**  
**Etude bibliographique**

## Chapitre I : Stress oxydatif

### I. Généralités

#### I.1. Définition des radicaux libres

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Cependant, nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (Lessard, 2000).

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire. Cette propriété le rend très réactif du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour des radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne.

**Tableau I** : Principaux radicaux libres et leurs structures chimiques (Haton, 2005)

Radical libre (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	$\text{HO}^{\cdot}$
Radical hydroperoxyde	$\text{HOO}^{\cdot}$
Radical peroxyde	$\text{ROO}^{\cdot}$
Radical alcoxyle	$\text{RO}^{\cdot}$
Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$
Peroxynitrite	$\text{ONOO}^{\cdot}$
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\cdot -}$

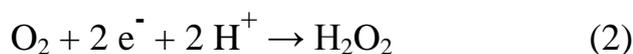
## I.2. Origine des radicaux libres

La chaîne de transport des électrons peut laisser « fuir » une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 2% de l'oxygène subit une réduction monoélectronique (addition d'un seul électron, (voir réaction (1)), conduisant à la formation du radical superoxyde  $O_2^{\cdot -}$ , au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q).

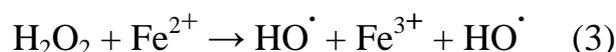


De même, la NADH-déshydrogénase située dans la membrane mitochondriale interne, ainsi que la NADPH oxydase présente au niveau des cellules vasculaires endothéliales, peuvent conduire à la formation de radicaux  $O_2^{\cdot -}$ . Par ailleurs, l'apparition de radicaux superoxydes peut résulter de l'auto-oxydation (oxydation par l'oxygène) de composés tels que des neuromédiateurs (adrénaline, noradrénaline, dopamine...), des thiols (cystéine), des coenzymes réduits ( $FMNH_2$ ,  $FADH_2$ ), mais aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système des cytochromes  $P_{450}$  présent au niveau du réticulum endoplasmique.

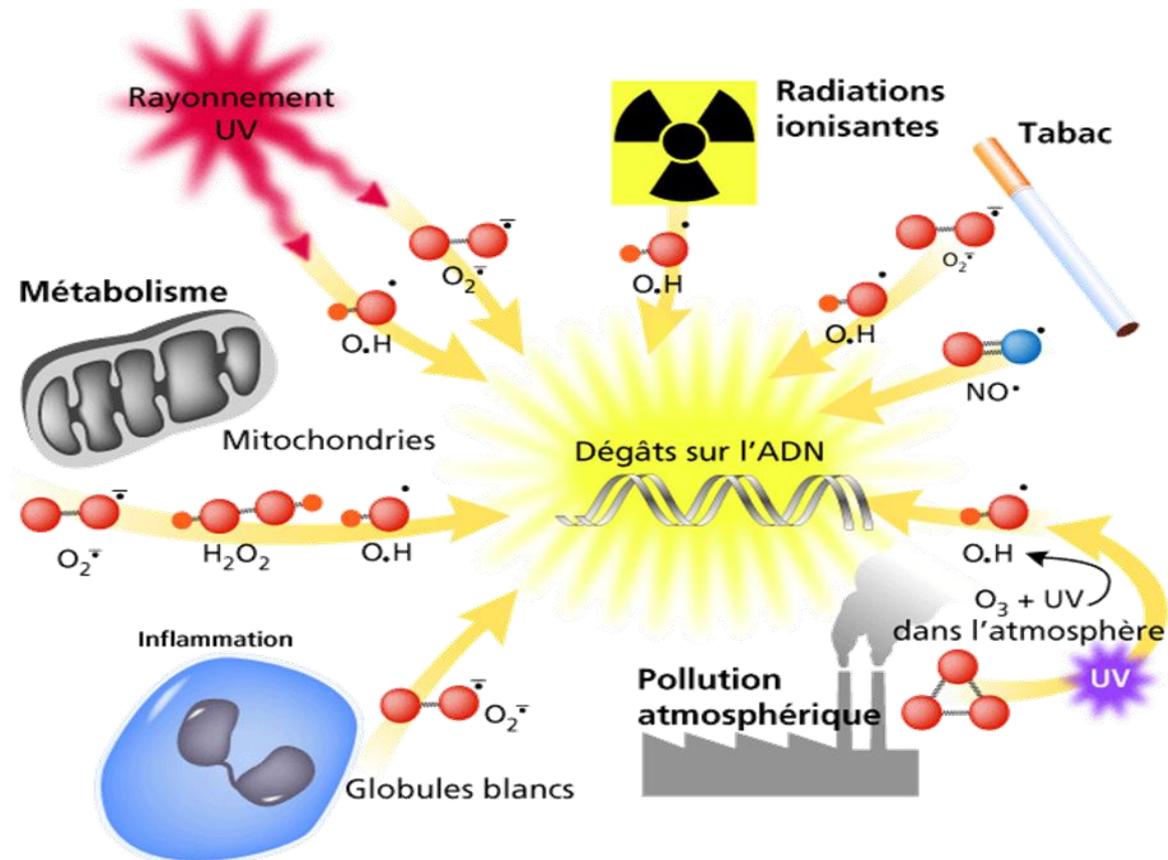
L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène,  $H_2O_2$ ) peut résulter de la réduction biélectronique de l'oxygène (voir réaction (2)) en présence d'oxydase (aminoacide oxydase, glycolate oxydase, urate oxydase...) qui se trouve dans les peroxysomes.



La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$  en présence de cation métallique tel que  $Fe^{2+}$  (réaction de Fenton, réaction (3)).



Il existe également de nombreuses sources exogènes telles les polluants photochimiques, le tabac, les drogues, ou les radiations ionisantes, pénétrant l'organisme par le système respiratoire, l'alimentation ou les muqueuses (Kohen, 2002).



**Figure 1 :** Origine des radicaux libres ([www.lanutrition.fr](http://www.lanutrition.fr))

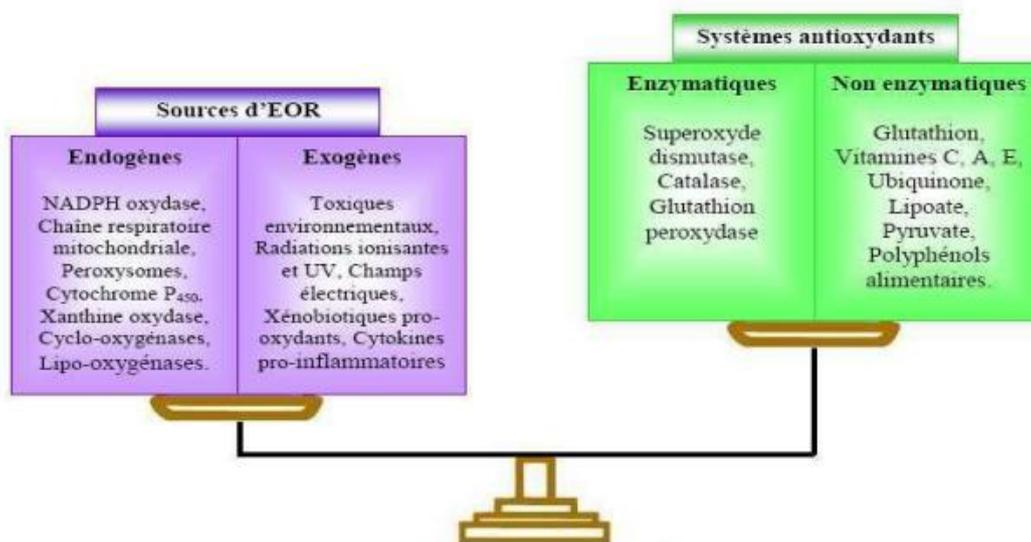
### I.3. Rôles des radicaux libres dans l'organisme

La grande majorité des radicaux libres est impliquée dans l'entretien et le fonctionnement de l'organisme particulièrement dans le processus de la fécondation, de la maturation et du mouvement cellulaires. Ils jouent aussi un rôle majeur dans la production de médiateur cellulaires, l'élimination des produits toxiques et la défense contre l'invasion des microbes et des virus, de même que contre les cellules tumorales. Mais dans d'autres cas, les radicaux libres peuvent être impliqués dans la pathogenèse des maladies qui peuvent éventuellement conduire au dérèglement de l'organisme et à son vieillissement.

## II. Stress oxydatif

### II.1. Définition

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants – antioxydants » en faveur des oxydants, c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires (**Sergent**, 2000).



**Figure 2** : Déséquilibre de la balance « antioxydants et pro-oxydants »  
(**Shimizu**, 2004)

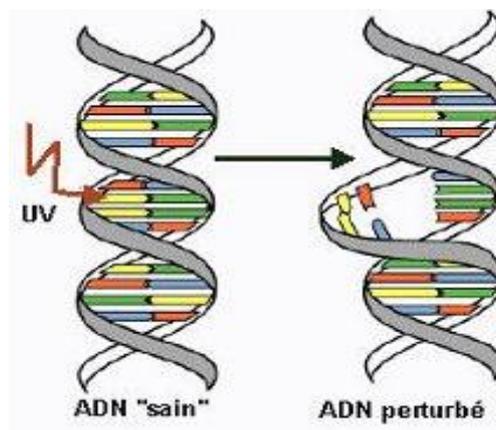
### II.2. Origine du stress oxydatif

La rupture d'équilibre, lourde de conséquence peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies/reperfusions, suivant des thromboses. Par ailleurs, la rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments présents dans les aliments (**Favier**, 2003).

### II.3. Conséquences du stress oxydatif

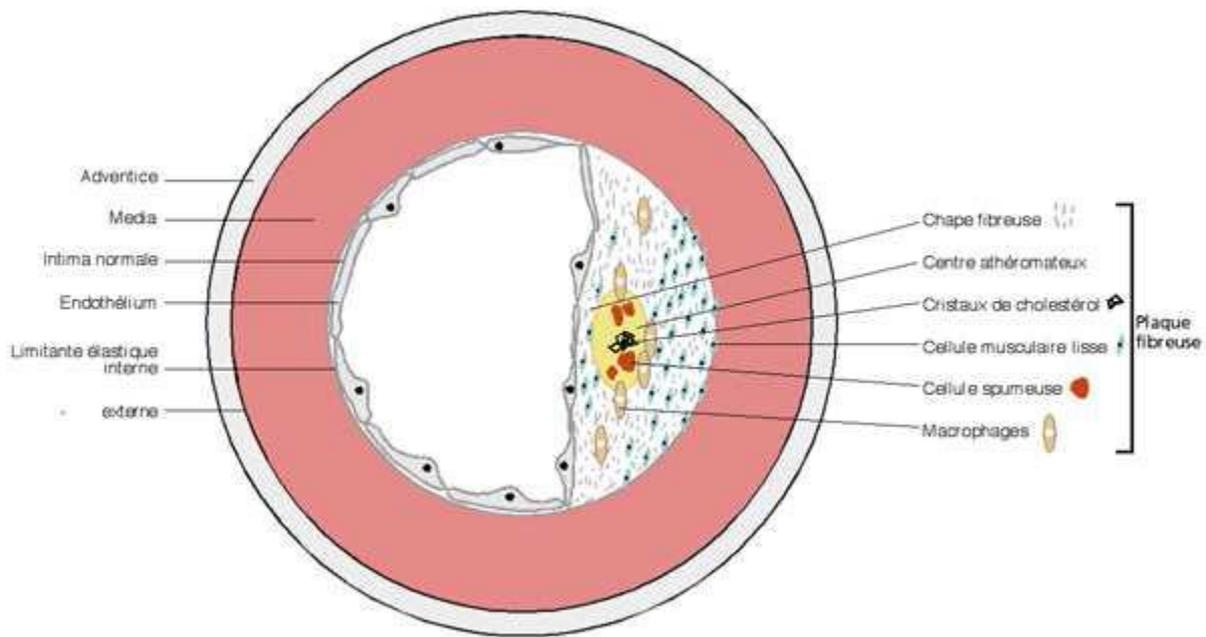
Les radicaux libres sont responsables de dommages sur toutes les molécules biologiques comme les acides nucléiques, les lipides, les protéines (Favier, 2003).

- ❖ Au niveau de l'ADN, les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagènes ou un arrêt des réplifications. Ils agissent en provoquant des altérations de base, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Shimizu, 2004).



**Figure 3 :** Lésion de l'ADN par attaque des rayonnements UV

- ❖ Les ERO produites par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les monocytes-macrophages sont susceptibles d'oxyder les lipoprotéines, notamment les lipoprotéines de basse densité (LDL) conduisant à la formation de stries lipidiques, première étape dans la formation de la plaque d'athérome (épaississement des artères par un dépôt composé, en partie, d'esters de cholestérol).



**Figure 4 : Plaque d'athérome (Léoni, 2001)**

- ❖ Les radicaux, issus des rayonnements ionisants, entraînent essentiellement des réactions d'oxydation des protéines. Les protéines les plus sensibles aux attaques des radicaux libres sont celles qui comportent des acides aminés possédant un atome de soufre (cystéine, méthionine). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport. Par exemple, les résidus cystéine des protéines sont facilement oxydés par des ERO pour former un radical thiol. Quant aux résidus méthionine, ils peuvent être oxydés rapidement en sulfones. Les protéines modifiées deviennent inactives et plus sensibles à l'action des protéases (Nadal, 2009).

### **III. Pathologies liées aux stress oxydatif**

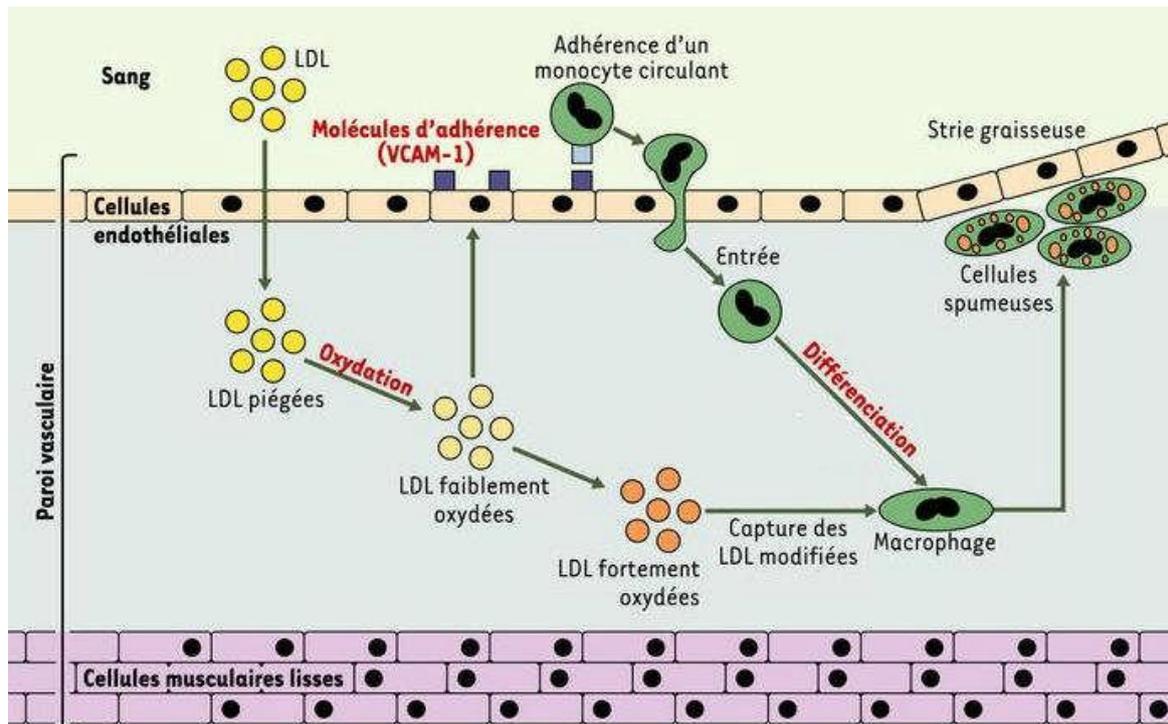
En raison de leur réactivité élevée, les espèces réactives interagissent avec toute une série de substrats biologiques conduisant à l'altération de l'homéostasie cellulaire de l'organisme. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant démontré.

En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes en passant par l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, le diabète, etc. (**Roberts et Sindhu, 2009**)

### **III.1. Stress oxydatif et athérosclérose**

L'organisation mondiale de la santé (OMS) décrivait l'athérosclérose en 1958 comme une association variable de remaniement de la couche interne des artères de gros et moyen calibre. Elle consiste en une accumulation de graisses (les lipides), de glucides complexes (les sucres), de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts de calcaires. Le tout est accompagné de modification de la structure interne de l'artère.

Lors de l'athérogénèse, est constatée une lésion anatomique touchant les artères. A l'origine, les lipoprotéines, en particulier les LDL, peuvent demeurer prisonnières de protéoglycanes sécrétés par les cellules endothéliales au niveau de l'intima des artères. Les cellules endothéliales produisent des radicaux libres qui peuvent venir attaquer l'apo B des lipoprotéines prisonnière de l'intima ou les lipoprotéines qui ne font que traverser la paroi artérielle. La molécule d'apo B ainsi modifiée sera reconnue par le système immunitaire comme étant une substance étrangère et les macrophages recrutés au niveau de la lésion pourront alors les internaliser par les récepteurs spécifiques ou le récepteur des LDL oxydées. Les macrophages accumulent alors massivement du cholestérol et sont ainsi convertis en cellules spumeuses riches en cholestérol. Cette oxydation crée une inflammation au niveau de l'endothélium déclenchant ainsi le recrutement et l'infiltration de monocytes circulant dans l'intima et conduisant à la constitution de stries graisseuses, dites stries lipidiques, à la surface luminale. Une plaque mature d'athérosclérose est composée de deux éléments : un cœur lipidique et une matrice.



**Figure 5 : Formation d'une plaque d'athérosclérose (Belkheiri, 2010)**

### III.2. Stress oxydatif et maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une pathologie dégénérative liée aux cellules et aux neurones du cerveau. Les neurones sont responsables de la transmission d'informations par l'influx nerveux. Ce dernier est un signal bioélectrique qui se propage le long de l'axone du neurone jusqu'à la synapse (zones de contact entre neurones). Lorsque, l'information transportée par l'influx nerveux doit se rendre à un neurone, la synapse décharge l'acétylcholine, un médiateur chimique qui permet à l'information de se rendre à destination (**Groulx et Beaulieu, 2004**).

Lors de la progression de la maladie d'Alzheimer, la concentration d'acétylcholine diminue (**Smith et al. 1995**). De nombreuses études suggèrent qu'avec la maladie d'Alzheimer, des niveaux accrus de stress oxydatif et de peroxydation se produisent.

La peroxydation des lipides membranaires peut favoriser la mort neuronale de plusieurs façons, y compris par le biais de l'altération des transporteurs de glucose, des transporteurs de glutamates et des ATPases (**Tiffany**, 2012).

### **III.3. Stress oxydatif et maladie de Parkinson**

La maladie de Parkinson décrite initialement en 1881 est une maladie neurodégénérative caractérisée par la présence de symptômes et de lésions neuropathologiques spécifiques. Elle se déclare autour de 60 ans et dure en moyenne 13 ans (**Hughes *et al.***, 1993). Cette maladie s'accompagne d'un stress oxydant en relation à la fois avec un dysfonctionnement mitochondrial et un défaut d'élimination des protéines oxydées par le protéasome.

### **III.4. Stress oxydatif et le diabète**

Les complications du diabète sont fortement liées à un certain nombre de facteurs. A côté de l'hyperglycémie chronique et la glycation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif (**Guerci *et al.***, 2001 ; **Punitha *et al.***, 2005). En effet, le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités d'espèces oxygénées activées dont font partie les radicaux libres. Le patient diabétique présente une surproduction des ROS d'une part et d'autre part, une diminution des antioxydants, ce qui génère un état de stress oxydatif à l'origine des micro et macro angiopathies (**Pincemail *et al.***, 1999 ; **Huang *et al.***, 2004).

### **III.5. Stress oxydatif et autres maladies**

Dans le cas du vieillissement, est constatée une augmentation des risques pathologiques, que ce soit le cancer ou toute autre maladie. Cette diminution de la protection est due aux interférences enzymatiques :

- Augmentation des enzymes oxydantes : de la xanthine-oxydase, des lipoxygénases
- Baisse des enzymes protectrices : catalase, et principalement des enzymes spécifiques au glutathion : glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase
- Baisse des SOD : cu-znSOD, MnSOD, FeSOD
- Baisse du glutathion et des acides lipoïques

Face à ces déséquilibres, à ce débordement des défenses, il se produit un état de stress oxydatif (**Morelle-Lauzanne**, 2006).

Les maladies cardiovasculaires (MCV) correspondent à la première cause de mortalité et de morbidité dans les pays industrialisés. Il a été démontré que la peroxydation des lipoprotéines, essentiellement les lipoprotéines de faible densité (LDL), constitue une étape critique d'un processus très complexe aboutissant à l'athérosclérose (**Belkheiri**, 2010). Ce qui est à l'origine de la plus part des MCV.

Les ERO sont aussi observées au cours de l'inflammation, elles sont produites directement par le complexe enzymatique NADPH des cellules phagocytaires activées. Ce mécanisme lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et corps étrangers. De plus, les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines comme le TNF- $\alpha$  qui est capables de faire produire des radicaux libres par la mitochondrie des cellules cibles (**Favier**, 2003).

#### **IV. Méthodes de diagnostic d'un état de stress oxydatif**

Une seule méthode ne peut à elle seule rendre compte du statut de stress oxydatif (SSO). Il importe donc d'avoir à sa disposition une batterie de tests adéquats afin d'évaluer exactement la situation (**Gutteridge**, 1992).

- **Le rapport vitamine c /  $\alpha$ -tocophérol** : ces deux antioxydants agissent en synergie et la valeur optimale du rapport doit être supérieure à 1,3.

Des valeurs inférieures sont clairement associées avec un risque accru de développer des maladies cardiovasculaires (Gey, 2004).

- **Le rapport glutathion réduit (GSH) / glutathion oxydé (GSSG) :** c'est un excellent marqueur du stress oxydant et de son importance. En effet, le glutathion réduit réagit très rapidement avec les ERO pour former le GSSG ; plus la valeur de ce rapport est basse, plus le stress oxydatif est élevé.



- **Le rapport Cu / Zn :** A concentration élevée, le cuivre devient pro-oxydant et favorise la formation des ERO. A l'opposé, le zinc inhibe les réactions radicalaires induites par le cuivre. La mesure du rapport plasmatique Cu / Zn est donc un excellent marqueur du stress oxydant. De plus, il existe une corrélation positive étroite entre la valeur de ce rapport et le taux circulant de peroxydes lipidiques (Pincemail, 2007).
- **La 8-hydroxy-2'-desoxyguanosine (8-OH-dG) :** les ERO ont une grande affinité de réaction avec certaines bases constitutives de l'ADN. La guanine est ainsi facilement transformée en 8-OH-dG qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces systèmes sont défectueux, la 8-OH-dG s'accumulera au sein de l'ADN causant ainsi des mutations impliquées dans le développement du cancer. La concentration de la 8-OH-dG doit être standardisée par rapport à la créatinine lorsqu'elle est mesurée dans les urines (Chen, 2005).
- **Le statut en fer :** Le fer joue un rôle de catalyseur dans la formation des ERO. Dans les conditions physiologiques, il n'est pas présent sous une forme libre responsable de cet effet néfaste. L'analyse des protéines transporteuses du fer sera donc un élément important dans l'établissement du SSO. Un grand nombre de travaux suggèrent l'implication des métaux de transition comme le fer ou le cuivre dans le développement de l'athérosclérose (Meyers, 2000).
- **L'homocystéine :** c'est un acide aminé soufré qui est un intermédiaire dans le métabolisme de la méthionine et de la cystéine.

Un taux élevé d'homocystéine constitue un facteur de risque cardiovasculaire. L'homocystéine est sensible à l'oxydation et génère des ERO qui peuvent oxyder les LDL, particulièrement en présence de métaux comme le fer ou le cuivre (Sies, 1999).

## **V. Antioxydants**

### **V.1. Définition**

Dans les conditions normales, le métabolisme aérobique chez les mammifères génère des substances réactives de l'oxygène, lesquelles sont susceptibles de créer d'importants préjudices à l'organisme. Le stress oxydatif est impliqué dans un large spectre de maladies qui ont un impact énorme sur la santé des populations. Cependant, en guise de protection, les cellules possédant des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques ainsi que des mécanismes de défense exogènes, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant résultant du mécanisme aérobique, ce sont les antioxydants.

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentrations relativement faibles, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats.

Ainsi, il existe principalement deux types d'antioxydants suivant leur origine : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes.

### **V.2. Antioxydants endogènes**

Ces antioxydants sont produits dans l'organisme.

#### **V.2.1. Systèmes enzymatiques**

##### **✓ La superoxyde dismutase (SOD)**

La SOD, est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène.

Cette enzyme existe sous deux formes : une forme cytoplasmique qui nécessite comme cofacteur les ions de cuivre et zinc (CuZnSOD) et l'autre mitochondriale utilise le manganèse comme cofacteur (MnSOD).



✓ **La catalase**

Cette enzyme est présente principalement dans les peroxysomes et les hématies. Elle sert d'appoint à l'action de la glutathion peroxydase (GPx) et catalyse la dismutation de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en oxygène et en eau (**Lindhu-shepard B., Shaffer J., 1993**).



✓ **La glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de 4 sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de séléno-cystéine. La GPx assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type ROOH en ROH. Cette enzyme lutte contre les radicaux libres qui, s'ils sont en trop grand nombre, vont attaquer et détruire l'ADN.

✓ **L'hème oxygénase**

L'hème oxygénase dégrade l'hème (pro-oxydant) en bilirubine qui est un antioxydant capable de prévenir l'oxydation des LDL.

### **V.2.2. Systèmes non enzymatiques**

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs se comportant comme des piègeurs de radicaux libres (**Kikugawa et Beppu 1987**). Ils protègent les biomolécules (acides nucléiques, les protéines, les lipides etc).

✓ **La transferrine ou sidérophiline et la lactoferrine**

Elles exercent leurs effets protecteurs en complexant le fer, l'empêchant ainsi de catalyser la formation du radical  $\text{HO}\cdot$ .

✓ **La céruléoplasmine**

Elle agit en transportant le cuivre et en neutralisant l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ . Elle catalyse également l'oxydation du fer ferreux en fer ferrique, sans libération de radicaux libres oxygénés intermédiaires.

✓ **L'albumine**

Elle se combine au cuivre et empêche la formation du radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ ). C'est également un puissant piègeur du radical hypochloreux ( $ClO^{\bullet}$ ), un oxydant produit par la myéloperoxydase au cours de la phagocytose.

✓ **L'haptoglobine et l'hémopexine**

Elles auraient une propriété antioxydante par fixation de l'hémoglobine et de l'hème qui sont porteuses de fer qu'elles peuvent libérer et donc initier des réactions telles que la lipidoperoxydation. L'haptoglobine qui se lie fortement à l'hémoglobine, et l'hémopexine, qui se lie à l'hème libre, forment des complexes éliminés rapidement par l'organisme (**Oshiro et Nakajima, 1988**).

✓ **L'acide urique**

Il inhibe la peroxydation lipidique en fixant le fer et le cuivre. C'est également un piègeur du radical peroxyde et de l'acide hypochloreux.

✓ **La bilirubine**

Elle aurait une action protectrice par sa liaison avec l'albumine transporteuse d'acides gras libres.

### **V.3. Antioxydants exogènes**

Ils sont constitués par toutes les substances d'origine alimentaire de nature chimique différentes capables d'inhiber l'action des radicaux libres.

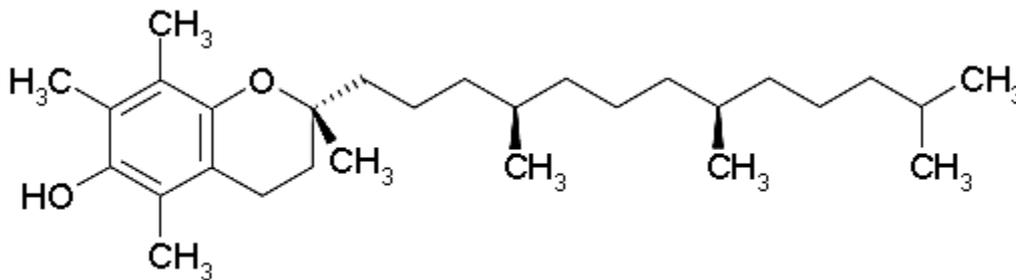
✓ **Le sélénium**

C'est un antioxydant essentiel. Il agirait comme coenzyme pour la glutathion peroxydase, enzyme antioxydante capable de réduire les lipides oxydés des membranes cellulaires. Il est retrouvé dans la viande, le poisson, et les céréales.

Il diminue la fréquence des maladies cardiaques, sans toutefois faire baisser la tension artérielle et a un effet positif sur le cholestérol. Des études ont aussi montré son efficacité dans le traitement de l'arthrose (Aouissi I.W.R., 2001).

✓ **La vitamine E (ou tocophérol)**

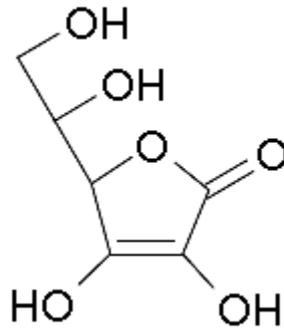
Il existe quatre isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tocophérols dont  $\alpha$  est le plus puissant. C'est un antioxydant abondant dans les germes de blé, les légumes verts, les corps gras et qui, *in vitro*, va se localiser, grâce à sa lipophilie, dans les doubles couches lipidiques des membranes cellulaires, points stratégiques pour arrêter la lipidopéroxydation. Elle joue notamment un rôle antioxydant primordial en empêchant les LDL « Low Density Lipoprotein » de s'oxyder et de se déposer dans les artères. Elle diminue donc le risque des troubles cardiaques et des accidents cérébrovasculaires.



**Figure 6 :** Structure de l' $\alpha$ -tocophérol

✓ **La vitamine C (ou acide ascorbique)**

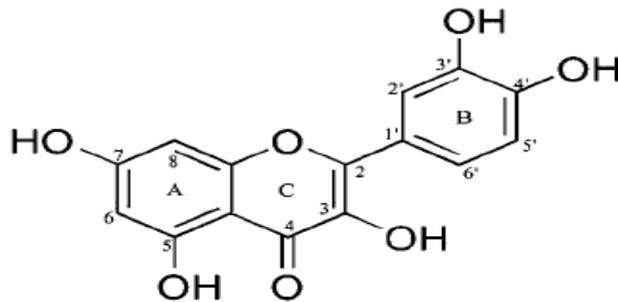
L'acide ascorbique (C-OH) joue un rôle très important en assurant la régénération de l'alpha-tocophérol en le transformant en un radical très peu réactif (C-O $\cdot$ ) (Bielski *et al.*, 1975) à partir duquel l'acide ascorbique est régénéré grâce à une NADH réductase. Il est peu probable que l'acide ascorbique piège directement les radicaux hydroxyles. Comme dans le cas de plusieurs autres antioxydants, un surplus d'acide ascorbique peut s'avérer néfaste (c'est-à-dire avoir un effet oxydant), surtout lorsque les membranes sont pauvres en alpha-tocophérol ou en présence d'une concentration élevée de métaux de transition.



**Figure 7 :** Structure de l'acide ascorbique

### ✓ Les composés phénoliques

Il existe de nombreux autres antioxydants. Parmi ces substances, certaines sont regroupées dans le groupe des composés phénoliques, composés principalement de trois familles : les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Bien que non essentielles, ces substances jouent pourtant un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant. Les flavones et les flavonoïdes sont retrouvés dans les fruits, le vin et le thé. Les caroténoïdes sont présents dans les carottes, les fruits rouges et jaunes, les légumes verts (**Gosh *et al.*, 2009**).



**Figure 8 :** Structure générale du noyau des flavonoïdes

Les composés phénoliques expriment les propriétés antioxydantes par : le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), la suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, la protection des systèmes de défenses antioxydants de l'organisme (**Boudiaf, 2006**).

## **Chapitre II : Rappels bibliographiques sur *Mangifera indica***

Le manguier (*Mangifera indica*) est une plante issue de la flore Indo-Birmane et qui comprend environ 50 000 espèces de plantes supérieures en Afrique parmi les 250 000 espèces présentes dans le monde (**Fleurenthin *et al***, 1990). Comme toute plante médicinale, elle a au moins une de ses parties (feuilles, tiges, écorces, fruits ou graines foliaires) utilisées à des fins thérapeutiques.

### **I. Etude taxonomique**

#### **I.1. Nom scientifique**

*Mangifera indica*

#### **I.2. Position systématique**

<b>Règne :</b>	Végétal
<b>Embranchement :</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Ordre :</b>	Sapindales
<b>Sous-ordre :</b>	Anacardiinés
<b>Famille :</b>	Anacardiacees
<b>Genre :</b>	<i>Mangifera</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Indica</i>

#### **I.3. Description botanique**

Le manguier (figure 2) est un arbre fruitier assez important pouvant atteindre 8 à 40 m de hauteur et 1,50 m de diamètre.



**Figure 9 :** Manguier [<http://www.agrelma.com/Fruits-Mango-Varietad-Kent-Caja-Peru/o13701.html>].

➤ **Les racines**

Les racines du manguier s'enfoncent profondément dans le sol en se ramifiant et peuvent aller jusqu'à 8 mètres dans les régions arides. Ainsi, le manguier développe un système adéquat pour faire face à la sécheresse.

➤ **Le tronc**

Le tronc du manguier est de nature très épaisse, se ramifiant en branches de plus en plus petites qui portent des feuilles, des fleurs et des fruits. Les branches sont dures et cassantes. Le tronc possède une écorce lisse, légèrement fissurée et de couleur gris-brun foncée à noir. La sève est une résine transparente jaune foncée, composée de 75% de résine et de 15% de gomme et d'acide tannique.

➤ **Les feuilles**

Les feuilles du manguier sont persistantes et dures, de grande taille allant de 12 à 35 cm de long sur 3 à 16 cm de large. Ce sont des feuilles alternes à bords lisses, de forme elliptique et lancéolée, avec la base du limbe plus large que le sommet. Elle présente une nervure centrale claire bien marquée ainsi que 15 à 20 nervures latérales claires.

Une odeur de térébenthine se dégage lorsque les feuilles sont froissées.



**Figure 10 :** Feuilles de *Mangifera indica* var. *Kent*

➤ **Le fruit**

La mangue est une drupe ovale plus ou moins aplatie latéralement. Sa peau ou épicarpe est lisse, coriace et est assez mince en général pour les espèces cultivées. Elle est colorée de teintes différentes selon l'expression au soleil et la variété, allant du jaune vert au rouge orangé.

Le noyau de la mangue est coriace, assez grand et fortement adhérent à la chair et il renferme une amande de grande taille (4 à 7 cm sur 1 cm d'épaisseur).



**Figure 11 :** Mangue de la variété *kent* (Vanniere *et al.*, 2013)

## II. Origine et répartition géographique

Le manguier est originaire des forêts de la région Indo-Birmane, il est cultivé dans le sous-continent indien depuis plusieurs années, les Portugais l'introduisent en Afrique et en Amérique au XVIIIème siècle, enfin au XXème siècle, il fut répandu avec succès dans toutes les régions chaudes.

Depuis, il s'est naturalisé et survit parfois en pleine forêt équatoriale signalant l'implantation d'anciens villages (orpailleurs, amérindiens).

## III. Chimie de la plante

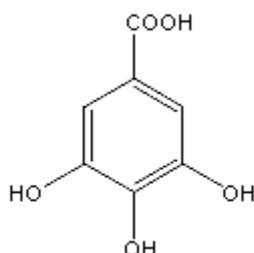
*Mangifera indica* est un arbre constitué d'un grand nombre de métabolites appartenant à diverses classes chimiques.

### III.1. Composés phénoliques

Le manguier est une espèce chez qui des composés phénoliques ont été isolés et identifiés, incluant des acides phénoliques, des esters phénoliques, des flavonoïdes, des xanthones comme la mangiférine et des tanins (**Chieli**, 2009).

#### III.1.1. Acides phénoliques

Parmi les acides phénoliques présents au niveau du manguier sont rencontrés principalement l'acide gallique, l'acide ellagique, l'acide procatéchique, l'acide quinique, l'acide shikimique, l'acide coumarique, l'acide 3,4-dihydroxy benzoïque et l'acide benzoïque (**Chieli**, 2009).



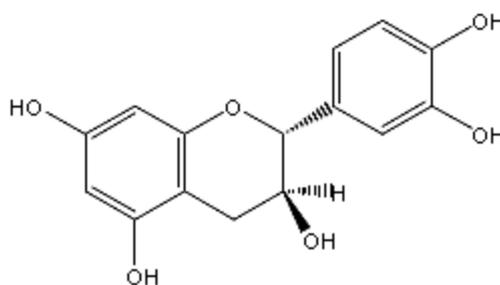
**Figure 12** : Structure chimique de l'acide gallique

### III.1.2. Esters phénoliques

Les principaux esters phénoliques présents au niveau du manguier sont le galloate de méthyle, le galloate de propyle et le benzoate de propyle (Wauthoz, 2007).

### III.1.3. Flavonoïdes

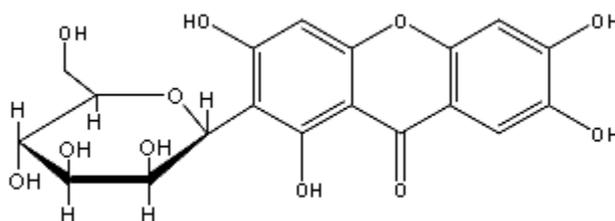
Le manguier est une source intéressante en flavonoïdes avec la présence de catéchine, d'épicatéchine, de quercétine et d'hypérine.



**Figure 13** : Structure chimique de la Quercétine

### III.1.4. Xanthones

L'un des composés phytochimiques le plus connu du manguier est la mangiférine, ou 2-béta-D-glucopyranosyl-1, 3,6,7-tetrahydroxy-9-one, qui est un hétéroside de xanthone présent dans de nombreux organes de l'arbre (Wauthoz, 2007).



**Figure 14** : Structure chimique de la mangiférine

### III.1.5. Tanins

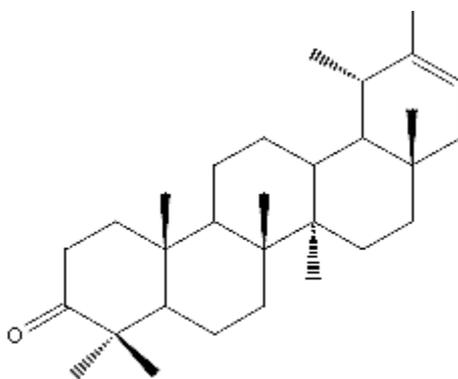
Les tanins du manguier se concentrent au niveau des tiges (10 à 20%), des feuilles avec l'ester méthylique de l'acide gallique et l'acide protocatéchique, mais aussi au niveau des fruits avec l'acide éllagique (Adjanooum, 1993).

### III.2. Les caroténoïdes

Des caroténoïdes dont la lutéoxanthine, le  $\beta$ -carotène, la violanxanthine sont présents dans le fruit et sont responsables en partie de sa coloration orangée (Adjanooum, 1993).

### III.3. Triterpénoïdes et stéroïdes

Dans les feuilles et l'écorce du manguier, des triterpénoïdes et des stéroïdes ont été identifiés : la  $\psi$ -taraxastérone, le taraxérol, le friedelin, le lupéol et le  $\beta$ -sistostérol principalement (Adjanooum, 1993).



**Figure 15** : Structure chimique de la catéchine  $\psi$ -taraxasténone

C'est au niveau des tiges et des racines que la présence entre autres de l' $\alpha$ -amyrine, l'acide mangiféronique et l'acide mangiférolique est notée.

### III.4. Acides aminés

Les acides aminés identifiés dans le manguier sont principalement l'alanine, la glycine, la leucine, la tyrosine et la valine.

### **III.5. Acides gras**

La composition en acides gras des noyaux des graines de mangues varie avec l'espèce mais elle est généralement riche en acide stéarique, oléique, arachidonique, linoléique et palmitique.

## **IV. Pharmacologie**

### **IV.1. Etude ethnobotanique**

Par sa teneur en fécule qui la rend nutritive, la mangue peut-être mangée fraîche. Cependant, consommée en grande quantité, elle peut occasionner des diarrhées passagères pouvant être dangereuses chez l'enfant.

L'amande grillée, pilée et réduite en poudre est conseillée pour éliminer les vers intestinaux.

L'écorce du tronc posséderait des propriétés astringentes, antidysentériques et antiblénorragiques. En décoction, elle est prescrite en gargarismes pour soit, soigner les aphtes, les gingivites et les autres plaies de la bouche ; en bains de siège pour traiter les diarrhées dysentériques.

Au Mali, la décoction des feuilles est utilisée pour le traitement du sommeil. Les feuilles sèches en infusion s'utilisent comme ascaricide (**Pousset**, 2004).

### **IV.2. Etude pharmacologique**

#### **IV.2.1. Propriétés antioxydantes**

L'effet antioxydant est l'activité biologique qui a été la plus recherchée *in vitro* pour les principes actifs tirés des plantes. En effet, les informations sur une activité antioxydante sont toujours intéressantes pour découvrir des plantes contenant des substances ayant des propriétés de conservation alimentaire par exemple. Ces données peuvent permettre aux chercheurs de s'attarder sur d'autres propriétés éventuelles.

#### **IV.2.1.1. Propriétés antioxydantes d'extrait de feuilles**

Une étude a évalué l'activité antioxydante d'extrait aqueux et éthanoliques de feuilles de manguier par plusieurs tests tels que : le DPPH, la peroxydation lipidique et l'apoptose (**Ling, 2009**).

#### **IV.2.1.2. Propriétés antioxydantes d'extraits de l'épicarpe de la mangue**

Selon les auteurs d'une étude, il apparaît que *in vitro*, les extraits d'épicarpes de mangue présentent un effet protecteur vis-à-vis de la peroxydation lipidique, de la dégradation des membranes et des changements morphologiques des érythrocytes suite à un stress oxydatif (**Ajila et al, 2007**).

#### **IV.2.1.3. Propriétés antioxydantes d'extraits de l'écorce**

Dans une autre étude, l'activité antioxydante de la chair de mangue a été comparée à celle de quatorze autres fruits tropicaux provenant de Floride. Les mangues se positionnent à la huitième place des fruits possédant une activité antioxydante vis-à-vis du radical peroxy. Cependant, l'activité antioxydante augmente avec le degré de maturité des mangues (**Mahattanatawee et al., 2006**).

#### **IV.2.2. Autres propriétés pharmacologiques**

Les extraits aqueux et alcooliques des graines de *Mangifera indica* obtenus après macération présentent une activité antioxydante plus efficace que le loperamide (**Sairam et al., 2003**). Il est établi qu'une consommation régulière de fruits et de légumes permet de diminuer le taux de mortalité lié au cancer du côlon. Ainsi, les composés phénoliques présents dans la mangue révèlent une action intéressante vis-à-vis des cancers du sein et surtout du colon (**Norato et al., 2010**).

Des traitements traditionnels à base d'écorces du manguier sont présentés comme ayant une activité anti-inflammatoire et à ce titre utilisés dans les

stomatites, les gingivites et dans les traitements anti-rhumatismaux (**Gouvernement du Sénégal**, 1971).

La mangue détient aussi une activité antidiabétique. L'extrait aqueux des feuilles de manguier diminuerait la glycémie lors d'une normoglycémie et d'une hyperglycémie provoquée par l'ingestion de glucose (**Aderibigbe *et al.***, 2001).

### **Chapitre III : Les différentes méthodes de détermination de l'activité antioxydante**

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composés à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon précise. Plusieurs techniques *in vitro* ainsi que *in vivo* sont utilisées pour déterminer le potentiel antioxydant d'extraits de plantes, de produits alimentaires, d'actifs ou d'ingrédients, etc. (Blois, 1958).

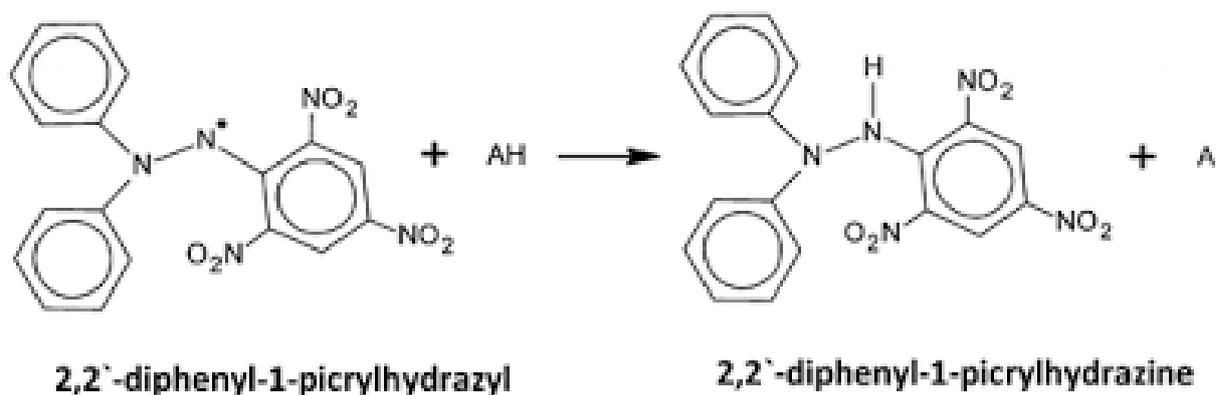
Ainsi une étude a listée à partir de 74 articles publiés, 19 méthodes *in vitro* et 10 *in vivo* (Alam *et al.*, 2013) :

- ✓ Activité de piégeage du DPPH
- ✓ Essai de balayage du peroxyde d'hydrogène
- ✓ Activité de piégeage du monoxyde d'azote
- ✓ Une activité de piégeage des radicaux peroxy nitrile
- ✓ Trolox capacité antioxydante équivalente (TEAC) méthode / ABTS cation radicalaire essai de décoloration
- ✓ Dosage du pouvoir réducteur ferrique antioxydant (FRAP)
- ✓ Activité de piégeage du radical superoxyde (SOD)
- ✓ Activité de piégeage du radical hydroxyle
- ✓ Méthode de la capacité d'absorbance du radical oxygène
- ✓ Méthode du pouvoir réducteur (RP)
- ✓ Méthode de phosphomolybdène
- ✓ Méthode du thiocyanate ferrique (FTC)
- ✓ Méthode de l'acide thiobarbiturique (TBA)
- ✓ Méthode de DMPD (N,N-diméthyl-p-phénylène diamine dihydrochloride)
- ✓ Méthode de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène par dosage du diène conjugué
- ✓ Méthode de la xanthine oxydase
- ✓ La méthode CUPRAC (Cupric ion reducing antioxydant capacity)

- ✓ La capacité de réduction du plasma ferrique
  - ✓ La méthode du glutathion réduit (GSH)
  - ✓ La méthode du glutathion peroxydase
  - ✓ Le glutathion-s-transférase
  - ✓ La superoxyde dismutase
  - ✓ La catalase (CAT)
  - ✓ Dosage du  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (GGT)
  - ✓ Dosage du glutathion réductase (GR)
  - ✓ Méthode de la peroxydation lipidique (LPO)
  - ✓ Dosage du LDL
- Cependant, les plus utilisées sont la réduction du DPPH et l'ABTS

### 1. La réduction du DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques (**Berset**, 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La méthode est basée sur la dégradation du radical synthétique DPPH $\cdot$  de coloration violette. L'antioxydant à tester aura la capacité de stabiliser le radical DPPH $\cdot$  par la libération d'un électron ou par transfert d'un atome d'hydrogène à l'atome d'azote. La décroissance de coloration violette au cours du temps permet de déterminer la EC<sub>50</sub>, temps au bout duquel 50% de la coloration est perdue. Généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH $\cdot$  (EC<sub>50</sub>), (des comparaisons de EC<sub>50</sub> sont réalisées), le résultat est dépendant de la concentration en DPPH $\cdot$  initiale.

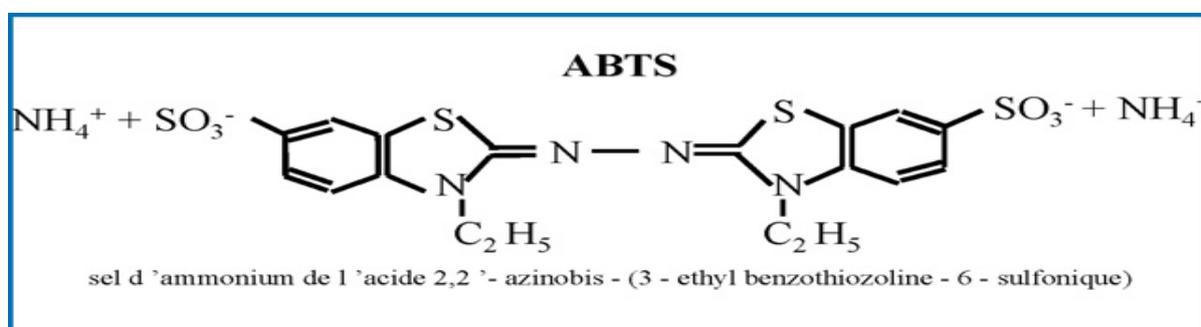


**Figure 16 :** Réaction entre DPPH et l'antioxydant

## 2. Le test ABTS (2,2'-azinobis (acide-3-éthylbenzothizoline-6-sulfonique))

Le test  $ABTS^{\cdot+}$  est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique  $ABTS^{\cdot+}$  de coloration bleu-verte en le transformant en  $ABTS^+$  incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant. Une comparaison est faite avec la capacité du trolox (analogue structurale de la vitamine E) à capturer le radical  $ABTS^{\cdot+}$ .

La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La capacité antioxydante exprimée en équivalent trolox correspond donc à la concentration de trolox ayant la même activité que la substance à tester à une concentration.



**Figure 17 :** Structure chimique de l' $ABTS^{\cdot+}$

**DEUXIEME PARTIE : PARTIE  
EXPERIMENTALE**

## **I. Cadre de l'étude**

Notre étude s'est déroulée dans le Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontologie de l'université Cheikh Anta Diop de Dakar. Il s'agit d'un laboratoire disposant entre autres d'appareils pour l'extraction et l'analyse chimique de végétaux ainsi que l'étude des propriétés antioxydantes.

## **II. Matériel et Méthodes**

### **II.1. Matériel végétal**

Le matériel utilisé est constitué par les feuilles, les racines et les écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *kent*.

Les feuilles ainsi que les racines et les écorces de tiges ont été cueillies à maturité, dans la communauté rurale de Diender, située à l'Ouest du pays, faisant partie de l'arrondissement de Keur Moussa, du département de Thiès, de la région de Thiès, au Sénégal, en août 2014.

Les drogues ont été séchées à l'abri du soleil, puis réduites en poudre et gardées dans des enveloppes en papier.

### **II.2. Appareillage**

- Spectrophotomètre UV-visible (mono-faisceau) Jenway 6300
- Balance de précision Bel engineering
- Broyeur SK1
- Vortex (Heidolph Reax 2000)
- Evaporateur rotatif (Buchi)
- Agitateur magnétique
- Réfrigérateur
- Etuve (Mettler)
- Spatule

- Erlenmeyer
- Bécher
- Ampoule à décanter
- Chauffe-ballon
- Tubes à essai
- Burettes
- Micropipettes
- Verre de montre
- Fiole jaugée
- Entonnoir
- Papier filtre
- Plaque de silice
- Cuve pour CCM

### **II.3. Réactifs**

- Ethanol (Scharlau, degré de pureté : 99,9%)
- Méthanol (Scharlau, degré de pureté : 99,8%)
- Cyclohexane (Scharlau, degré de pureté : 99,7%)
- Chlorure ferrique (2%)
- Eau distillée
- Réactif de Stiasny (méthanol, acide chlorhydrique 2 : 1 v/v)
- Acétate de sodium
- Acide ascorbique (Sigma-Aldrich)
- Acide gallique
- Alcool chlorhydrique (concentré à 50%)
- Copeaux de magnésium
- Alcool iso amylique
- Acide sulfurique (10%)

- Réactif de Draggendorf (réactif à l'iodo-bismutathite de potassium)
- Réactif de Mayer (réactif au mercuri-iodure de potassium)
- Persulfate de potassium (Sigma Aldrich, 99%)
- Réactif de Folin Appli chem Panreac
- Solution de DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl-hydrazyl) Aldrich
- Solution d'ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthyl benzo thiazoline-6-sulfonique), (Fluka, degré de pureté : 99%)

### III. Méthodes d'étude

#### III.1. Extraction

L'objectif de cette étude est d'extraire une grande majorité des composés actifs contenus dans les organes de la plante. L'extraction est généralement dictée par les informations bibliographiques concernant la chimie des constituants de la plante. Ainsi, l'éthanol est utilisé comme solvant extractif. L'extraction s'est effectuée en 3 étapes :

- ❖ **La macération** : cette méthode de préparation a été choisie car elle permet de limiter la dégradation des composés thermolabiles ;
- ❖ **La filtration** : elle est réalisée sous vide, à l'aide d'une fiole de Kitasato, un entonnoir et du papier filtre ;
- ❖ **L'évaporation** : elle est réalisée à l'aide de l'évaporateur rotatif et permet de se débarrasser de l'éthanol et d'obtenir un extrait sec

#### III.2. Préparation des extraits

Les drogues séchées à l'ombre (feuilles, racines, écorces de tiges) sont broyées pour obtenir une poudre fine. Ensuite 12,5 grammes de poudre de chaque partie sont introduits dans un erlenmeyer, puis mélangés avec 62,5 ml d'éthanol à 70°. Le mélange ainsi obtenu est soumis à une macération à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 48h.

Après filtration, les extraits éthanoliques obtenus sont délipidés en utilisant le cyclohexane comme solvant. Cette opération permet de récupérer les composés phénoliques et d'éliminer la chlorophylle.

Les produits obtenus sont ensuite évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif et un extrait brut sec de chaque partie de la plante est obtenu.

### **III.3. Préparation de la solution méthanolique**

Pour chaque extrait, 0,1 g est repris dans 4 ml de méthanol pour donner une solution méthanolique de 25 mg/ml utilisée pour les tests de recherche et d'évaluation de l'activité antioxydante.

### **III.4. Screening phytochimique**

Les différents groupes chimiques sont recherchés à partir des infusions de 5% obtenues par dissolution de 5 g de poudre de chacune des parties de la plante, dans 100 ml d'eau bouillante pendant 30 mn.

#### **III.4.1. Réactions de caractérisation**

##### **III.4.1.1. Composés phénoliques**

Pour mettre en évidence les composés phénoliques, la réaction au  $\text{FeCl}_3$  a été utilisée. Ainsi, à 2 ml de chaque solution est ajoutée une goutte de solution de  $\text{FeCl}_3$  2%. Le  $\text{FeCl}_3$  provoque l'apparition d'une coloration bleue noirâtre ce qui témoigne la présence de composés phénoliques.

##### **III.4.1.1.1. Tanins catéchiques ou condensés**

Les tanins catéchiques, non hydrolysables sont mis en évidence après addition du réactif de Stiasny (formaldéhyde chlorhydrique) par formation de précipité.

#### ❖ **Mode opératoire**

A 1 ml de l'infusion à 5%, est ajouté 0,5 ml du réactif de Stiasny (méthanol, acide chlorhydrique 2 : 1 v/v) ; le mélange obtenu est chauffé au bain marie à 90°C pendant 15 mn.

L'apparition d'un précipité montre la présence de tanins catéchiqes.

#### **III.4.1.1.2. Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont mis en évidence avec le  $\text{FeCl}_3$  après saturation à l'acétate de sodium.

#### ❖ **Mode opératoire**

Pour révéler les tanins galliques, 0,5 ml de l'infusé précédent est prélevé. Cette solution est ensuite saturée avec de l'acétate de sodium, à ce mélange, est ajouté 0,1 ml d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 2%. Le développement d'une teinte bleue noire indique la présence de tanins galliques non précipité par le réactif de Stiasny.

#### **III.4.1.1.3. Flavonoïdes**

La réaction à la cyanidine permet de révéler la présence de flavonoïdes libres (flavones, flavanones et dihydroflavonols).

#### ❖ **Mode opératoire**

A 1 ml de l'infusé, est ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (concentré à 50%). Ensuite, 1 ml d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium y sont versés. L'apparition d'une coloration rose orangé témoigne de la présence de flavones au niveau des tiges et la coloration rose violacée indique la présence de flavanones au niveau des feuilles et des racines.

### **III.4.1.2. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes, en milieu acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) à 10%, et en présence de réactif de Dragendorff (solution iodo-bismuthate de potassium), donnent un précipité.

#### **❖ Mode opératoire**

10 grammes de poudre sont macérés dans 50 ml de  $H_2SO_4$  à 10%. Après 24 h de macération à température ambiante, le macéré est filtré et lavé à l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat. 1 ml de filtrat est prélevé et mélangé avec 5 gouttes de réactif de Dragendorff. L'absence d'alcaloïdes est prouvée par la non précipitation du mélange.

### **III.4.1.3. Saponosides**

Pour mettre en évidence une drogue à saponoside, il suffit de mettre en évidence leur pouvoir aphrogène en observant la mousse générée par cette drogue.

#### **❖ Mode opératoire**

Dans un ballon contenant 100 ml d'eau bouillante est introduit 1 g de poudre, le mélange est maintenu à ébullition légère pendant 15 min puis, la suspension est filtrée. Le filtrat obtenu est introduit dans 10 tubes numérotés de 1 à 10 puis, les tubes sont complétés avec de l'eau jusqu'à 10 ml. La hauteur de la mousse est mesurée 15 mn après agitation. L'indice de mousse est calculé à partir du numéro de tube (N) dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm.

### **III.4.2. Identification par chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes de séparation : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur affinité avec la phase stationnaire et la nature de solvant de migration.

La CCM est effectuée pour les flavonoïdes et les alcaloïdes.

#### **III.4.2.1. Flavonoïdes**

Le témoin, constitué par la rutine et les extraits à analyser sont déposés à l'aide d'une micropipette sur la plaque de silice, séparés par des intervalles de 1 cm. La plaque est ensuite introduite dans la cuve contenant la solution d'acide acétique à 15% utilisée comme solvant de migration. Après séchage, la plaque est révélée avec une solution de chlorure d'aluminium à 5% dans le mélange eau-méthanol. L'observation à la lampe UV à 366 nm révèle la présence de spots de couleur blanche témoignant de la présence de flavonoïdes.

#### **III.4.2.2. Alcaloïdes**

Le même mode opératoire est répété avec cependant comme support la plaque de silice. Le solvant utilisé est un mélange de chloroforme et diéthylamine (45/5 v/v). L'atropine est employée comme témoin. Après séchage, la plaque est pulvérisée avec la solution de Dragendorff. Des spots de couleur rouge sont observés seulement pour le témoin utilisé.

### **III.5. Dosage des composés polyphénoliques totaux (PPT)**

#### **III.5.1. Principe**

Le réactif utilisé est celui de « Folin-Ciocalteu » ; c'est un mélange de complexe des acides phosphotungstiques ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdéiques ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune.

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm.

Le dosage des PPT est effectué par la comparaison de l'absorbance mesurée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

### **III.5.2. Mode opératoire**

Un volume de 0,5 ml de l'extrait alcoolique de *mangifera indica* (0,1mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml du réactif de « Folin-Ciocalteu » dilué au 1/10<sup>e</sup> avec de l'eau distillée et 2 ml de carbonate de sodium 0,5 M (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Après 30 mn à température ambiante, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm. L'acide gallique est l'antioxydant de référence. Des concentrations de 0, 0,01, 0,015, 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,15, 0,2 mg/ml sont préparées dans des tubes. Dans chaque tube, on rajoute 2,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10<sup>e</sup> et 2 ml de carbonate de sodium. Les tubes sont incubés à température ambiante, à l'abri de la lumière pendant 30 mn puis lus au spectrophotomètre contre un blanc. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage (absorbance en fonction de la concentration).

La projection de la valeur de l'absorbance de l'extrait sur la courbe permet de déterminer la teneur en phénols en termes d'équivalence d'acide gallique (mg/g de matière sèche). Toutes les analyses sont réalisées en triplicata.

### **III.6. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode spectrophotométrique avec le DPPH**

La méthode utilisée est celle de **Scherer *et al*** (2009).

Des concentrations de 25 mg/ml sont préparées en dissolvant 0,1 g de chaque extrait brut sec avec 4 ml de méthanol. De chaque solution, 0,4 ml est prélevé puis mélangé avec 3,6 ml de méthanol pour obtenir une solution mère de concentration 2,5 mg/ml. Ensuite, une série de dilutions est effectuée dans 8 tubes à essai pour obtenir des concentrations de 0,1-0,15-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7 mg/ml. Enfin, 0,1 ml de chaque solution ainsi préparées est mélangé avec 3,9 ml de la solution méthanolique violette de DPPH.

Les tubes sont enveloppés dans du papier aluminium, pour les protéger contre la lumière. La lecture de l'absorbance est effectuée au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant le méthanol comme blanc. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence.

### III.7. Expression des résultats

Trois mesures sont effectuées pour chaque concentration testée.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) selon la formule :

$$\text{PI} = \{(\text{Abs. blanc} - \text{Abs. Ech.}) / \text{Abs. blanc}\} \times 100$$

Abs. blanc = Absorbance méthanol

Abs. Ech. = Absorbance Echantillon (0,1 ml extrait + 3,9 ml solution DPPH')

$$\text{CE}_{50} = \text{CI}_{50} / \text{M}_{\text{DPPH}}$$

CE<sub>50</sub> : concentration efficace à 50%

CI<sub>50</sub> = concentration inhibitrice à 50%

M<sub>DPPH</sub> = masse molaire DPPH

$$\text{PA} = 1 / \text{CE}_{50}$$

PA : pouvoir antiradicalaire

### III.8. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de l'ABTS

La méthode utilisée est celle de **Léong** et **Shui** (2002). A une solution d'ABTS<sup>•+</sup> dans 10 ml d'eau à 7 mMoles (38,40 mg), est ajoutée une solution de persulfate de potassium 2,5 mMoles (6,75 mg). Le mélange est gardé dans l'obscurité à la température ambiante pendant 16 h avant usage. Ce mélange est ensuite dilué avec du méthanol pour obtenir une absorbance de 0,7 à 734 nm. Les extraits sont testés aux concentrations suivantes : 0,05-0,1-0,15-0,2-0,3-0,35 mg/ml. Le méthanol est utilisé comme blanc.

L'activité antioxydante est mesurée en additionnant 0,05 ml d'extrait à tester à 3 ml de la solution d'ABTS<sup>•+</sup>. L'acide ascorbique est utilisé comme référence. La lecture se fait après 2 mn au spectrophotomètre à 734 nm.

### **III.9. Expression des résultats**

Trois mesures sont effectuées pour chaque concentration testée.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) selon la formule :

$$\mathbf{PI = \{(Abs. Blanc - Abs. Ech.) / Abs. blanc\} \times 100}$$

Abs. blanc = Absorbance methanol

Abs. Ech. = Absorbance (0,05 ml extrait + 3 ml de solution ABTS<sup>•+</sup>)

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

### I. Résultats

#### I.1. Extraction

Les extractions de 12,5 g de poudre, menées sur les trois parties de la plante (feuilles, racines, écorces de tiges) ont donné en poids d'extraits secs : 2,45 g pour les feuilles, 2,3 g pour les racines et 2 g pour les écorces de tiges. Le rendement d'extraction est obtenu selon la formule :

$$r = \text{Poids extrait sec évaporé} / \text{Poids poudre végétale}$$

Ainsi, les différents rendements obtenus sont :

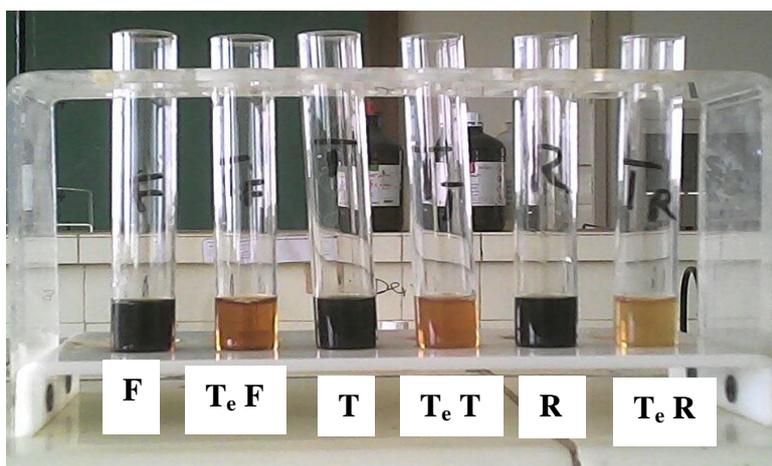
- 19,6% pour les feuilles
- 18,4% pour les écorces de tiges
- 16,0% pour les racines

#### I.2. Screening phytochimique

##### I.2.1 Réactions de caractérisation

###### I.2.1.1 Composés phénoliques

Toutes les parties étudiées donnent en présence du  $\text{FeCl}_3$  une coloration bleue noirâtre témoignant de la présence de composés phénoliques (photo 1).



**Photo 1** : Caractérisation des composés phénoliques (Ndiaye A., 2016)

#### Légende

F : feuilles

T<sub>e</sub> F : témoin feuilles

T : tiges

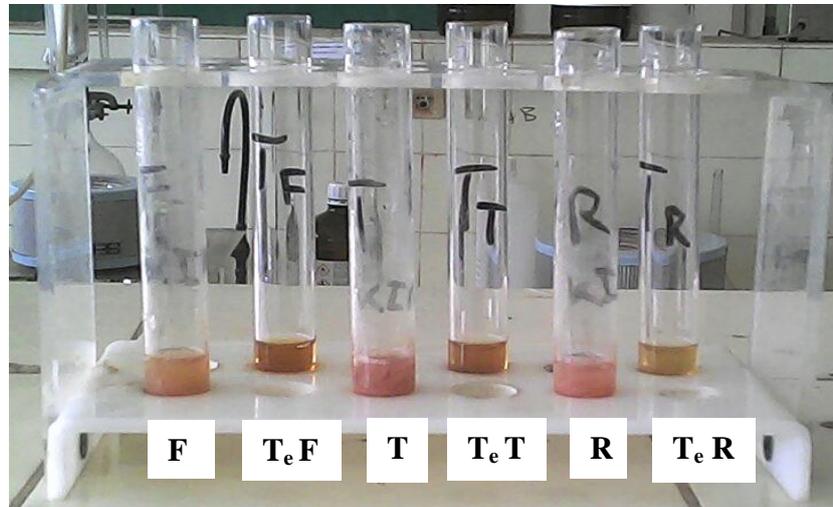
T<sub>e</sub> T : témoin tiges

R : racines

T<sub>e</sub> R : témoin racines

### I.2.1.2. Tanins catéchiqes

Les différents extraits, en présence du réactif de Stiasny conduit à la formation d'un précipité confirmant ainsi la présence de tanins condensés (photo 2).



**Photo 2** : Caractérisation des tanins catéchiqes (Ndiaye A., 2016)

#### Légende

F : feuilles

T<sub>e</sub>F : témoin feuilles

T : tiges

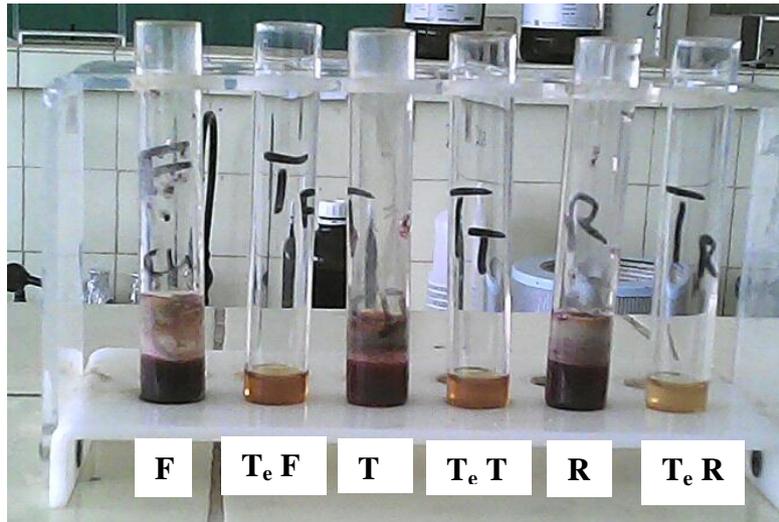
T<sub>e</sub>T : témoin tiges

R : racines

T<sub>e</sub>R : témoin racines

### I.2.1.3. Tanins hydrolysables

La réaction de mise en évidence des tanins hydrolysables, non précipité par le réactif de Stiasny, est positive grâce à l'apparition de coloration bleue noire (photo 3).



**Photo 3 : Caractérisation des tanins hydrolysables (Ndiaye A., 2016)**

Légende

F : feuilles

T<sub>e</sub> F : témoin feuilles

T : tiges

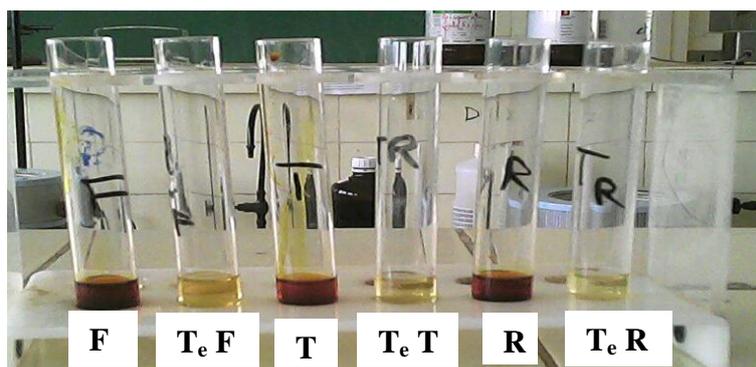
T<sub>e</sub> T : témoin tiges

R : racines

T<sub>e</sub> R : témoin racines

**I.2.1.4. Flavonoïdes**

La réaction à la cyanidine a donné une coloration rose orangé au niveau des tiges indiquant la présence de flavones et une coloration rose violacée caractéristique des flavanones au niveau des feuilles et des racines (photo 4).



**Photo 4 : Caractérisation des flavonoïdes (Ndiaye A., 2016)**

Légende

F : feuilles

T<sub>e</sub> F : témoin feuilles

T : tiges

T<sub>e</sub> T : témoin tiges

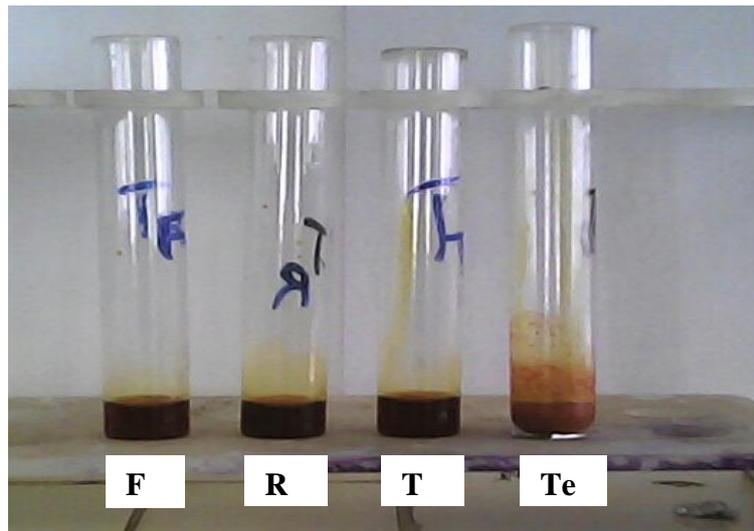
R : racines

T<sub>e</sub> R : témoin racines

### I.2.1.5. Alcaloïdes

Les trois parties de la plantes étudiées ne donnent pas de précipité en présence du réactif de Dragendorff, contrairement à une étude effectuée sur le *Datura metel* qui est une plante riche en alcaloïdes (photo 5).

Au vu des résultats, il n'a pas été observé de précipité. Nos extraits ne contiennent pas d'alcaloïdes.



**Photo 5 :** Caractérisation des alcaloïdes (Ndiaye A., 2016)

#### Légende

F : feuilles      T : tiges      R : racines      T<sub>e</sub> : témoin

### 1.2.1.6. Saponosides

La mise en évidence des saponosides repose sur le calcul des indices de mousse. Pour chaque extrait, l'indice de mousse est obtenu en considérant le numéro du tube où la hauteur de mousse est de 1 cm.

$$IM = 1000/N$$

IM = indice de mousse

N = numéro du tube dont la hauteur de la mousse est égal à 1 cm

**Tableau II :** Indices de mousse obtenus pour les différents extraits

Extraits	Numéro de tube (N)	Indice de mousse (IM)
Feuilles	7	142,85
Ecorces de tige	9	111,11
Racines	8	125,00

Les résultats obtenus, montrent que les feuilles présentent un indice de mousse plus élevé que les racines et les écorces de tiges (tableau II).

**Tableau III :** Récapitulatif des résultats du screening phytochimique

Substances organiques	Résultats
Composés phénoliques	+
Tanins catéchiques	+
Tanins hydrolysables	+
Flavonoïdes	+
Alcaloïdes	-

Légende :

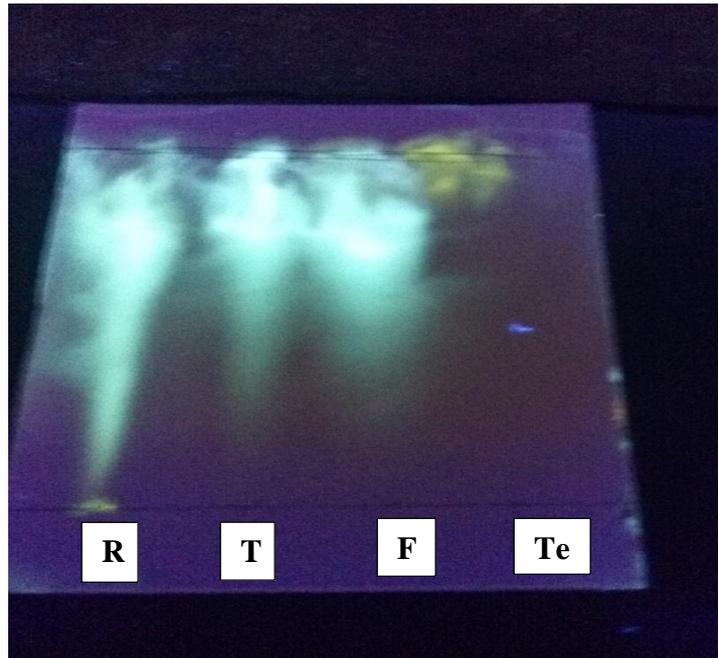
+ : présence de substance

- : absence de substance

### **I.2.2. Identification par chromatographie sur couche mince**

Après dépôt et élution du témoin (la rutine) et des extraits méthanoliques, la plaque est séchée puis pulvérisée avec une solution de chlorure d'aluminium à 5%. L'observation à la lampe UV révèle la présence de spots de couleur blanche confirmant la présence de flavonoïdes (photo 6).

Ainsi, les extraits méthanoliques sont riches en flavonoïdes.



**Photo 6** : Caractérisation des flavonoïdes par chromatographie sur Couches minces visualisant la présence de flavonoïdes (Ndiaye A., 2016)

Légende

R : racines

T : tiges

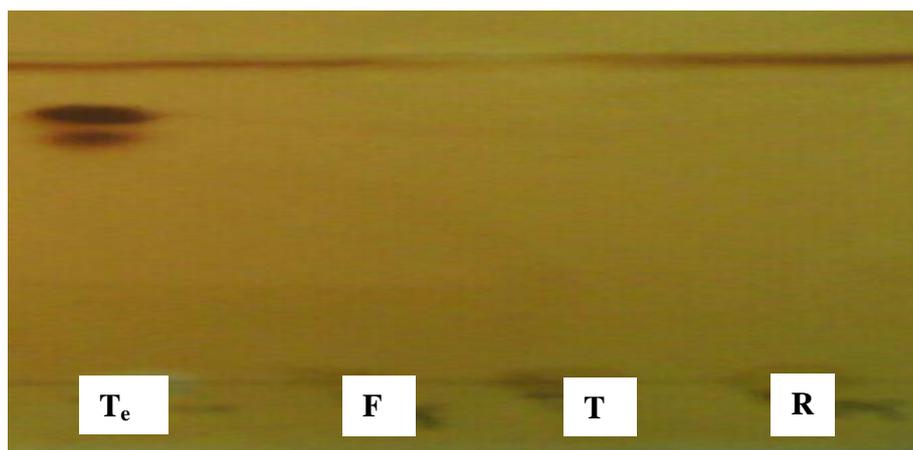
F : feuilles

T<sub>e</sub> : témoin

### **I.2.2.2. Les alcaloïdes**

Après dépôt et élution du témoin (atropine) et des extraits méthanoliques, la plaque est séchée puis pulvérisée avec une solution de Dragendorff. Des spots de couleur rouge sont observés seulement pour le témoin, confirmant ainsi l'absence d'alcaloïdes dans nos extraits.

Ainsi, les extraits ne renferment pas d'alcaloïdes (photo 7).



**Photo 7 :** Caractérisation des alcaloïdes par chromatographie sur couches minces visualisant l'absence d'alcaloïdes (Ndiaye A., 2016)

Légende

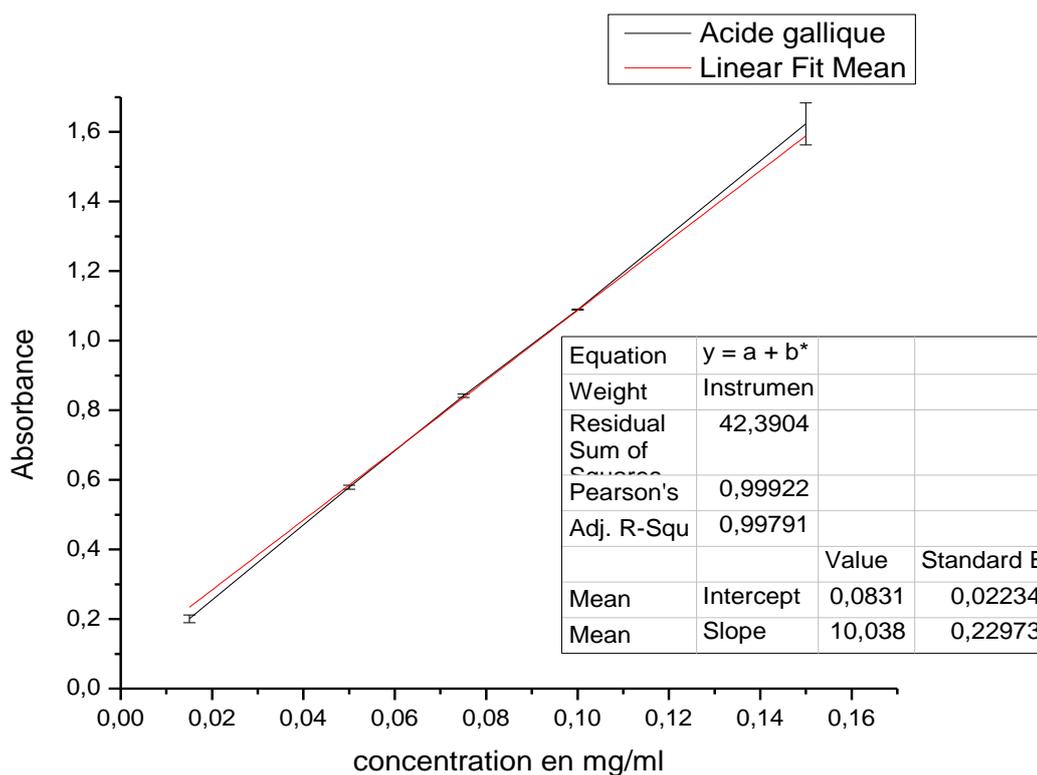
T<sub>e</sub> : témoin      F : feuilles      T : tiges      R : racines

**I.3. Dosage des composés phénoliques**

**Tableau IV :** Absorbances de l'acide gallique

Concentrations (mg/ml)	Absorbance	Absorbance	Absorbance	Moyenne	Ecart type
0,015	0,198	0,191	0,213	0,201	0,011
0,05	0,574	0,585	0,577	0,579	0,006
0,075	0,842	0,846	0,837	0,842	0,004
0,1	1,090	1,091	1,088	1,090	0,002
0,15	1,652	1,664	1,554	1,623	0,060

Selon les résultats obtenus, l'absorbance varie en fonction de la concentration. Ainsi, plus la concentration est forte, plus l'absorbance est importante (tableau IV) et la progression est linéaire (figure 18).



**Figure 18 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La projection de la valeur de l'absorbance de l'extrait alcoolique de *Mangifera indica* var. *kent* sur la courbe d'étalonnage d'acide gallique nous donne la teneur en phénols totaux selon le tableau V.

**Tableau V :** Valeurs en phénols totaux de *Mangifera indica* var. *kent*

	<b>Feuilles</b>	<b>Ecorces de tige</b>	<b>Racine</b>
<b>Teneur en polyphénols totaux</b>	289,00±5,29	590,60±12,58	367,50±2,86

Ainsi, d'après les résultats obtenus, les écorces de tiges présentent une teneur en composés phénoliques plus importante que pour les racines et pour les feuilles.

#### **I.4. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode spectrophotométrique utilisant le DPPH**

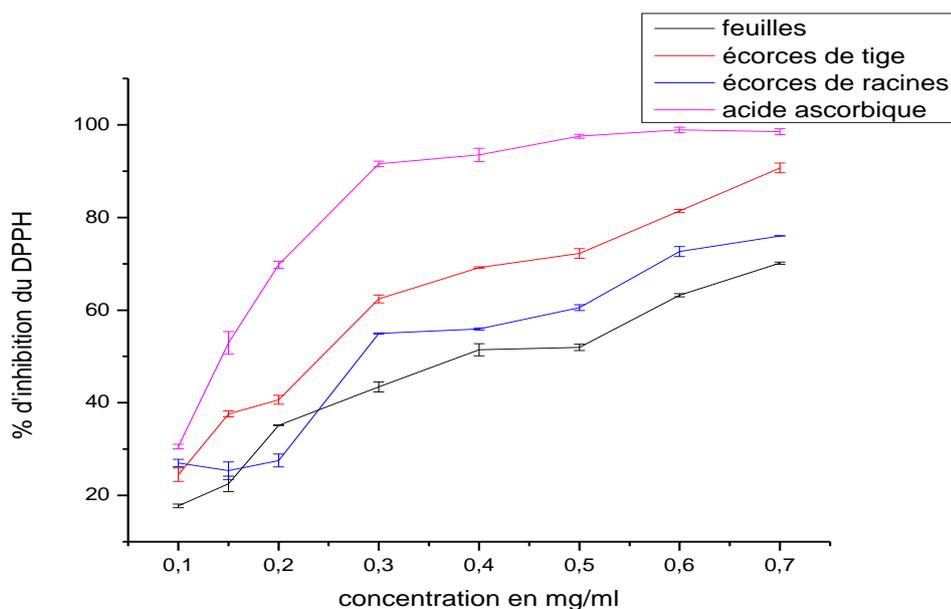
La capacité antioxydante, exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, des trois extraits méthanoliques ainsi que celle de la référence sont indiquées selon les tableaux suivants :

**Tableau VI : Action inhibitrice de l'activité antioxydante sur le DPPH**

<b>Concentrations en mg/ml</b>	<b>0,1</b>	<b>0,15</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>
<b>% d'inhibition des feuilles</b>	17,744	22,484	35,143	43,435	51,427	51,965	63,211	70,133
<b>% d'inhibition des écorces de tige</b>	24,467	37,593	40,644	62,404	69,176	72,230	81,413	90,675
<b>% d'inhibition des racines</b>	26,998	25,343	27,531	54,952	55,947	60,538	72,651	76,022

**Tableau VII : Action inhibitrice de l'acide ascorbique sur le DPPH**

<b>Concentration en mg/ml</b>	<b>0,1</b>	<b>0,15</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>
<b>% d'inhibition de l'ac. Ascorbique</b>	30,563	52,905	69,784	91,574	93,518	97,547	98,892	98,530



**Figure 19 :** Courbe d'évaluation de l'activité antioxydante sur le radical DPPH

A toutes les concentrations testées, l'extrait méthanolique des feuilles, des racines, et des écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *kent* inhibent le DPPH (tableau VI et figure 19).

A la concentration de 0,1 mg/ml, les trois extraits présentent des pourcentages d'inhibition de 17,744 % pour les feuilles, 24,467 % pour les écorces de tiges et 26,998 % pour les racines. Aux concentrations 0,4 mg/ml et 0,5 mg/ml, les extraits donnent des pourcentages d'inhibition respectivement 51,427 % et 51,965 % pour les feuilles, 69,176 % et 72,230 % pour les écorces de tiges, 55,947 % et 60,538 % pour les racines. La plus forte activité est observée avec les concentrations de 0,6 et 0,7 mg/ml avec comme pourcentages d'inhibition 63,211 % et 70,133 % au niveau des feuilles, 81,413 % et 90,675 % pour les écorces de tiges, 72,651 % et 76,022 % au niveau des racines.

L'acide ascorbique utilisé comme référence présente les meilleurs pourcentages d'inhibition avec 30,563 % à la concentration de 0,1 mg/ml et 98,892 % et 98,530 % aux concentrations de 0,6 et 0,7 mg/ml.

L'activité antioxydante peut être estimée par la concentration  $CI_{50}$  de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH<sup>•</sup> dans le milieu réactionnel, par la  $CE_{50}$  qui exprime la concentration efficace à 50%, qui est le rapport de la  $CI_{50}$  sur la molarité de DPPH<sup>•</sup>, ou par le PA (pouvoir antiradicalaire) qui est l'inverse de la  $CI_{50}$ . Ainsi, la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa  $CI_{50}$  est petite.

A partir des courbes, l'évaluation de l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *kent* ont donné les valeurs de la  $CI_{50}$  respectivement de 0,380 mg/ml, 0,250 mg/ml et 0,280 mg/ml. L'acide ascorbique présente une  $CI_{50}$  de 0,140 mg/ml qui est nettement inférieure à celles des trois extraits étudiés (tableau VIII).

**Tableau VIII** : Valeurs des  $CI_{50}$ , des  $CE_{50}$ , des PA trouvées pour les extraits des trois parties de la plante et de l'acide ascorbique

	<b><math>CI_{50}</math> (g/l)</b>	<b><math>CE_{50}</math> (g/mol)</b>	<b>PA</b>
<b>Feuilles</b>	0,380±0,015	374,750±0,160	0,002
<b>Ecorces de tige</b>	0,250±0,022	247,520±0,140	0,004
<b>Racines</b>	0,280±0,003	277,220±0,040	0,003
<b>Ac. ascorbique</b>	0,140±0,004	138,610±0,020	0,007

Les écorces de tiges présentent une  $CI_{50}$  plus proche de la référence par rapport aux feuilles et aux écorces de tiges.

### **I.5. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode ABTS<sup>•+</sup>**

Les capacités antioxydantes, exprimées en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup>, des trois extraits méthanoliques ainsi que celle de la référence obtenue sont indiquées selon les tableaux suivants :

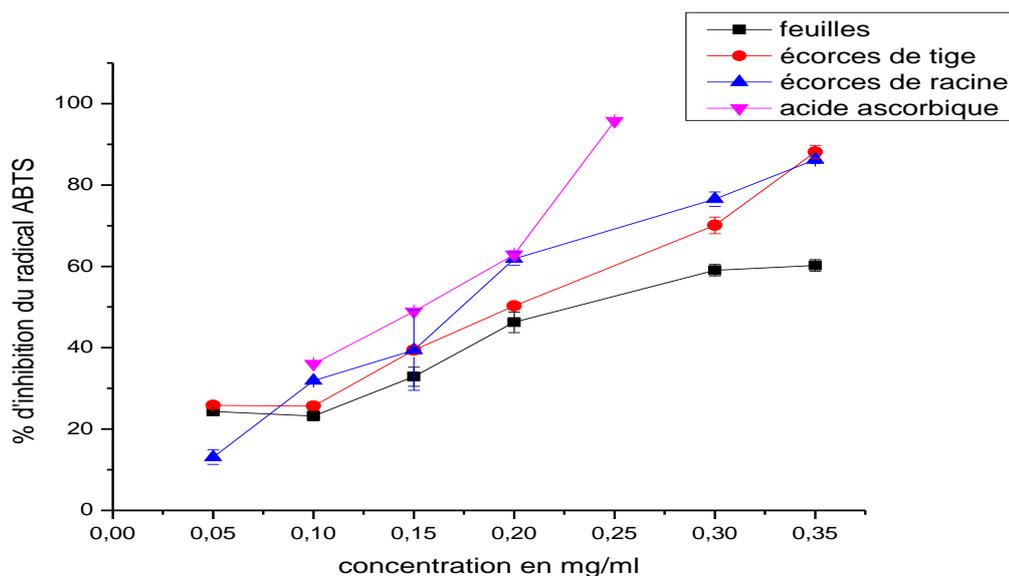
**Tableau IX :** Action inhibitrice de l'activité antioxydante sur le radical ABTS<sup>•+</sup>

<b>Concentrations en mg/ml</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>0,15</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,35</b>
<b>% d'inhibition des feuilles</b>	24,321	23,218	32,872	46,256	59,060	60,241
<b>% d'inhibition des écorces de tiges</b>	25,808	25,625	39,418	50,267	70,073	88,126
<b>% d'inhibition des racines</b>	13,097	31,866	39,377	61,866	76,522	86,214

**Tableau X :** Action inhibitrice de l'acide ascorbique sur le radical ABTS<sup>•+</sup>

<b>Concentrations en mg/ml</b>	<b>0,1</b>	<b>0,15</b>	<b>0,2</b>	<b>0,25</b>
<b>% d'inhibition de l'ac. ascorbique</b>	36,024	48,874	62,888	95,711

Les valeurs des pourcentages d'inhibition obtenues nous ont permis de tracer les courbes en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques (figure 20).



**Figure 20 :** Courbe d'évaluation de l'activité antioxydante sur le radical  $ABTS^{\cdot+}$

Tous les produits testés inhibent l' $ABTS^{\cdot+}$  à toutes les concentrations. Cette inhibition augmente en fonction de la dose de l'extrait méthanolique.

A une concentration de 0,05 mg/ml, les extraits de feuilles, de racines et d'écorces de tiges présentent des pourcentages d'inhibition respectivement de 24,321 %, 25,808 %, 13,097 %. A la concentration de 0,2 mg/ml, sont observés des pourcentages d'inhibition de 46,256 % au niveau des feuilles, 50,267 % pour les écorces de tiges et 61,866 % au niveau des racines. Aux concentrations de 0,3 et 0,35 mg/ml, les extraits présentent respectivement des pourcentages d'inhibition de 59,060 % et 60,241 % pour les feuilles, 70,073 % et 88,126 % pour les écorces de tiges, 76,522 % et 86,214 % pour les racines.

L'acide ascorbique, testé avec les concentrations de 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 mg/ml, donnent des pourcentages d'inhibition respectivement de 36,024 %, 48,874 %, 62,888 % et 95,711 %.

## II. Discussion

Dans le cadre de cette étude, l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tiges de mangue variété *kent* a été mise en évidence et évaluée respectivement par des réactions de caractérisation, par CCM et par des méthodes spectrophotométriques utilisant les radicaux 2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyle (DPPH<sup>•</sup>) et acide-2,2'-azinobis (3-éthyl benzothiazoline- 6-sulfonique) (ABTS<sup>•+</sup>).

L'éthanol utilisé pour l'extraction des principes actifs contenus dans les feuilles, les racines et les écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *kent* est un solvant polaire. Le choix de ce solvant repose sur sa capacité d'extraire le maximum de composés polaires notamment les polyphénols, les tanins, les flavonoïdes, qui sont contenus dans les différentes parties de *Mangifera indica*.

Cependant, bien que les parties étudiées soient de la même plante, une variation des rendements d'extraction est remarquée. Pour une quantité de 12,5 g de poudre, les feuilles donnent un meilleur rendement avec 19,6 %, suivis des écorces de tiges avec 18,4 % et les racines donnant un rendement de 16,0 %. Les travaux antérieurs de Kebé (2016) sur les mêmes parties de *Mangifera indica* avec la variété « Diegg bou gatt » ont donné comme rendements 19,52 % pour les écorces de tiges, 17,96 % pour les racines et 12,24 % au niveau des feuilles.

Une autre étude effectuée sur la variété *Palmer* (Mbaye F., 2016) présente des rendements de 21,2 % au niveau des écorces de tiges, 2,77 % pour les racines et 1,47 % pour les feuilles.

Les travaux antérieurs de Mboliyou (2016) portant sur la variété *Kete* révèle des rendements de 11,44 % pour les écorces de tiges, 14,16 % pour les racines et 11,2 % pour les feuilles

Les réactions de caractérisation ainsi que la chromatographie sur couche mince réalisées sur les extraits mettent en évidence la présence de composés

phénoliques, de flavonoïdes, de tanins, de saponosides, etc. D'autre part, elles révèlent l'absence d'alcaloïdes.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus avec Kébé, Mbaye et Mboliyou réalisés dans les mêmes conditions avec les variétés *Dieg bu gat*, *Palmer* et *Kete*.

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG / g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe tracé de l'acide gallique. Ainsi, pour les trois parties étudiées de *Mangifera indica* var. *kent*, nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux. La teneur la plus élevée est constatée au niveau des écorces de tiges, elle est de l'ordre de 590,60 mg EAG / g, suivi par les racines avec une teneur de 367,50 mg EAG / g, puis les feuilles avec une teneur de 289,00 mg EAG / g. D'autres études effectuées sur la variété *Palmer* (Mbaye F. 2016) et sur la variété *Dieg bou gatt* (Kébé F., 2016) ont donné comme teneurs en phénols totaux respectivement de 252 mg EAG / g et 267 mg EAG / g pour les écorces de tiges, 362,25 mg EAG / g et 375,00 mg EAG / g pour les racines, 434,50 mg EAG / g et 66,56 mg EAG / g au niveau des feuilles.

L'activité antioxydante est testée par la méthode spectrophotométrique au DPPH et celle de l'ABTS. En effet, ces deux méthodes sont parmi les plus utilisées pour l'évaluation directe et rapide de l'activité antioxydante en raison de leur simplicité (Bozin *et al.*, 2008).

Le test au DPPH<sup>\*</sup> (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle) a été effectué selon le protocole décrit par Scherer *et al.* (2009). Cette méthode permet, en l'absence de tout artéfact significatif de conclure que la drogue testée renferme une ou plusieurs substances douées d'activité antioxydante. En effet, les substances contenues dans l'extrait bien qu'étant douées de propriétés antioxydantes

pourraient avoir un mécanisme d'action différent de celui mis en jeu dans le piégeage du DPPH $\cdot$ .

L'action des trois extraits éthanoliques de mangue variété *kent*, montre une inhibition significative de l'activité oxydante du radical DPPH $\cdot$ . A 0,1 mg/ml les racines présentent une activité de 26,998 %, les écorces de tiges 24,467 % et les feuilles 17,744 %. Cette activité est dose dépendante pour les feuilles, les racines et les écorces de tiges. Pour des concentrations allant de 0,15 à 0,7 mg/ml, l'extrait éthanolique des écorces de tiges présente la meilleure activité, suivies des racines et des feuilles. Les études effectuées dans les mêmes conditions sur la variété *Palmer* (**Mbaye N. F.**, 2016), sur la variété « Diegg bou gatt » (**Kébé F.**, 2016) et sur la variété *Kete* (**Mboliyou M.T.**, 2016) présentent des résultats similaires.

Afin de comparer le pouvoir antioxydant des différents extraits par la méthode au DPPH, le calcul des  $CI_{50}$ ,  $CE_{50}$ , et PA des différents extraits a été effectué.

Comparées à l'acide ascorbique ( $CI_{50}$  0,140 $\pm$ 0,004), la meilleure  $CI_{50}$ , est observée pour les écorces de tiges suivies des racines et ensuite les feuilles avec des  $CI_{50}$  respectives de 0,250 $\pm$ 0,022, 0,280 $\pm$ 0,0030 et 0,380 $\pm$ 0,150. Ces valeurs sont supérieures à celles des études effectuées sur l'extrait d'amande de *Mangifera indica* var. *Kent* dont la  $CI_{50}$  est de 0,12 mg/ml (**Niang M.**, 2014) et sur l'amande de *Mangifera indica* var. *Palmer* dont la  $CI_{50}$  est de l'ordre de 0,109 mg/ml (**Diouf N. M.**, 2015).

Une étude portant sur des extraits obtenus par macération de poudre d'amandes de varités Bu sew, Coagshall et Kingston ont présenté respectivement des  $CI_{50}$  de 0,72 mg/ml, 0,44 mg/ml et 0,48mg/ml (**Gueye R.S. et al.**, 2016).

A partir des  $CI_{50}$ , sont déduites les  $CE_{50}$  qui évoluent dans le même sens que les  $CI_{50}$ , et les PA qui évoluent dans le sens contraire des  $CI_{50}$ . L'activité antioxydante est plus importante pour l'extrait éthanolique des écorces de tiges ( $CE_{50}$  = 247,520 $\pm$ 0,140 et PA = 0,004) suivie des racines

( $CE_{50} = 277,220 \pm 0,040$  et  $PA = 0,003$ ) et ensuite les feuilles ( $CE_{50} = 374,750 \pm 0,160$  et  $PA = 0,0026$ ) mais reste inférieure à celle de l'acide ascorbique ( $CE_{50} = 138,610 \pm 0,020$  et  $PA = 0,007$ ).

L'acide ascorbique est donc plus actif sur le radical DPPH que les extraits éthanoliques des feuilles, des racines et des écorces de tiges, de *Mangifera indica* var. *kent*. L'extrait des écorces ayant une meilleure activité antiradicalaire suivie des racines et enfin les feuilles.

Le test antiradicalaire ABTS<sup>+</sup> montre une activité dose dépendante pour l'extrait éthanolique des racines. Cependant, il a été noté pour les extraits des feuilles et des écorces de tiges une légère diminution du pourcentage d'inhibition à la concentration de 0,1 mg/ml. L'activité plus importante pour l'extrait des racines pourrait être due soit en une teneur plus élevée en substances phénoliques soit à la présence d'autres composés qui agiraient en synergie pour une meilleure activité antioxydante.

D'après **Remesy et al.** (1996), les composés phénoliques sont réputés être de bons antioxydants.

Par ailleurs, il a été établi que l'efficacité antioxydante d'un radical A' lié à un proton (AH) augmente si la force de liaison A-H est faible et le radical A' résultant est le plus stable possible. Ce qui est le cas pour les composés phénoliques et les flavonoïdes qui sont parmi les meilleurs donateurs d'électron ou d'hydrogène (**Shahidi et Naczk**, 2004). Les flavonoïdes, sont également des composés phénoliques qui agissent comme antioxydant en stabilisant les radicaux peroxydes, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet (**Monica et al.**, 2010).

Pour les deux tests au DPPH et à l'ABTS, l'acide ascorbique utilisé comme référence, présente la meilleure activité avec des pourcentages d'inhibition plus élevés que ceux des extraits.

# **CONCLUSION**

L'utilisation des plantes dans le traitement des maladies est une pratique qui date de l'antiquité. Les recherches concernant les plantes et les recettes des pharmacopées traditionnelles ont permis de mettre 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.

Dans l'organisme, les radicaux libres peuvent avoir des effets nocifs. Leurs effets destructeurs, au niveau cellulaires, s'expliquent par la présence d'électron(s) célibataire(s) très réactif(s) sur une des orbitales, susceptible(s) de s'apparier aux électrons des composés environnant. Ces composés ainsi spoliés deviennent, à leur tour, des radicaux libres 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, occasionnant ainsi, l'apparition de maladies dégénératives (diabète, Alzheimer, cancer, athérosclérose, etc.). Ces radicaux libres peuvent être neutralisés à travers la chimio-prévention utilisant les composés antioxydants présents dans l'alimentation de l'homme et dans les plantes médicinales.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antioxydant des feuilles, des racines et des écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *Kent*.

*Mangifera indica* appartient à la famille des anacardiées. C'est un arbre fruitier dont la production au Sénégal est d'environ 120 000 tonnes, représentant 61 % de la production fruitière, 33 600 emplois et s'étendant sur 41 000 hectares, avec des exportations seulement 8 000 tonnes. De plus, différentes parties de la plante sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle.

Ainsi, après extraction par macération de 12,5 g de poudre des différentes parties étudiées de la plante dans 62,5 ml d'éthanol à 70°, les résidus secs obtenus ont donné différents rendements : 19,6 % pour les feuilles, 18,4 % pour les écorces de tiges et 16,0 % pour les racines. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux de la variété « Dieg bou gatt », (**Kébé F.**, 2016) et de la variété *Kete*, (**Mboliyou M.T.**, 2016). Les travaux de **Mbaye F.**, (2016) sur la variété *Palmer* donnent avec les écorces de tiges un rendement plus important.

Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence la présence de familles chimiques telles que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides. Les alcaloïdes ne sont pas présents au niveau des parties étudiées de la plante. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec les variétés *Dieg bou gatt*, *Palmer* et *Kete*.

L'analyse qualitative des extraits de feuilles, des écorces de tiges et des racines de *Mangifera indica* par chromatographie sur couche mince a permis de confirmer la présence de flavonoïdes et l'absence d'alcaloïdes dans les extraits.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée en utilisant les méthodes DPPH<sup>•</sup> et ABTS<sup>•+</sup>. Le test *in vitro* DPPH<sup>•</sup> a été utilisé selon le protocole défini par **Scherer et al.**, (2009). Le test ABTS a été effectué selon le protocole décrit par **Léong et Shui** (2002).

Le DPPH<sup>•</sup>, un radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés antioxydants. L'intensité de la coloration mesurée au spectrophotomètre à 517 nm est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante des composés.

L'acide ascorbique connu comme étant un puissant antioxydant est utilisé comme référence.

Cependant, pour le piégeage du radical DPPH et en comparant les concentrations inhibitrices à 50% des différents extraits à ceux de l'acide ascorbique, il a été remarqué une activité antioxydante très importante des

écorces de tiges ( $CI_{50} = 0,250 \pm 0,022$ ) suivis des racines ( $CI_{50} = 0,280 \pm 0,003$ ) et les feuilles ( $CI_{50} = 0,380 \pm 0,015$ ) mais reste inférieure à la capacité de piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique ( $CI_{50} = 0,140 \pm 0,004$ ).

Ces résultats montrent que les extraits éthanoliques des feuilles, des racines et des écorces de tiges de *Mangifera indica* var. *Kent* ont une activité antioxydante intéressante.

La méthode spectrophotométrique utilisant le radical  $ABTS^{\cdot+}$  est effectuée pour confirmer l'activité antioxydante.

Ainsi l'utilisation de ces trois parties de plante pourrait être envisageable comme sources d'antioxydants.

Cependant, les études en perspectives pourraient s'orienter vers un fractionnement bioguidé de ces différents extraits et d'identifier les molécules responsables du pouvoir antioxydant.

# **BIBLIOGRAPHIE**

1. **Aderibidge A.O., Emudianughe T.S., Lawal B.A.S., (2001)**  
Evaluation of the antidiabetic action of *Mangifera indica* in mice-Phytotherapy Recherche 15, p 456-458.
2. **Adjanohoum E.J., Dramane K.L., (1993)**  
Revue de medecines et pharmacopées africaines : *Mangifera indica* L. Agence de coopération culturelle et technique ; p 49-61.
3. **Ajila C.M., Naidu K.A., Bhat S.G., Rao U.J.S.P., (2007)**  
Bioactive compounds and antioxydant potentiel of mango peel extract, Food chemistry, 105, p 982-988.
4. **Alam M.N. Bristi N.J., Raffiquzzaman M., (2013)**  
Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi pharmaceutical journal, 21, p 143-152.
5. **Anderson K.J., Teuber S.S., Gobeille A., Cremin P., Waterhouse A.L., Steinberg F.M., (2001)**  
Walnut polyphénolics inhibit *in vitro* human plasma and LDL oxidation. Biochemical and molecular of nutriments. Journal nutrition, 131: 2837-2842.
6. **Angelov G. (2008)**  
Antioxydant properties of some Bulgarian Wines. Journal of international Scientific Publication: Materiels, Methods, and technologies, 3(1), 143-150.
7. **Aouissi I.W.R., (2001)**  
Etude des activités biologiques et de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae), Thèse Pharmacie, Université de Bamako, Mali, 127p.
8. **Belkheiri N. (2010)**  
Dérivés phénoliques à activité antiathérogène. Thèse en Chimie-biologie, Toulouse, Université de Toulouse III, 193 p.
9. **Bercet C., Cuvelier M.E., (1995)**  
Use of free radical method to evaluate antioxydant activity, Food Science and Technology, 28(1): 25-30.
10. **Bielski J. Benon H.J., Helen W.R., Phillipe C.C., (1975)**  
Some properties of the ascorbate free radical, Annals of the New York Academy of Sciences, 258, p. 231-237.

- 11. Blois M.S. (1958)**  
Antioxydants determination by the use of stable free radical. *Nature.com*, 181: 1199-2000.
- 12. Bougatef A. Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y., Nasri M. (2009)**  
Antioxydant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal protease. *Food chemistry*, 114, p 1198-1205.
- 13. Boyd N.F. (1991)**  
The possible role of lipid peroxidation in breast cancer risk. *Free Radical Biology and Medicine* 10: 185-90.
- 14. Bozin B. Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igic R., (2008)**  
Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food chemistry* 111: 925-929.
- 15. Brand-Williams W. et al. (1995)**, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technol*, 28: 25-30.
- 16. Chen C. Li B., Xing L., Jia G., Wang T., Gao Y., Zhang P., (2005)**  
Increased oxidative DNA damage, as assessed by urinary 8-hydroxy-2'-desoxyguanosine concentrations, and serum redox status in persons exposed to mercury. *Clin Chem*, 51, 759-767.
- 17. Chieli E., Romiti N., Rodeiro I., Garrido G. (2009)**  
*In vitro* effects of *Mangifera indica* and polyphénols derived on ABCBI/ P-glycoprotein activity-food and chemical toxicology 47; 2703-2710.
- 18. De Laroussille F. (1980)**  
Le manguier-Edition Maisonneuve et Larose, Paris.
- 19. Di Monte D.A. (1992)**  
glutathione in Parkinson's disease : a link between oxidative stress and mitochondrial damage? *Annals of neurology*, Wiley Online Library.
- 20. Diattara D. (2014)**  
Etude de l'activité antioxydante des feuilles et écorces du tronc de *Pterocarpus erinaceus* poir. (Fabaceae). Thèse pharmacie, Université cheikh anta diop, Dakar, 94 p.

**21. Diop S. (2013)**

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des baies d'une plante de la flore chinoise : *Lycium barbarum* Linne. Thèse pharmacie, Université cheikh anta diop, Dakar, 67 p.

**22. Diouf N.M. (2015)**

Etude chimique et capacités antioxydantes de l'amande de *Mangifera indica* L. variété *Palmer* (Anacardiaceae). Thèse pharmacie, Université cheikh anta diop, Dakar, 97 p.

**23. Dorta E. (2011)**

Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: Effect on antioxidant. (éd.) LWT- food science and Technology, p8.

**24. Favier A. (2003)**

Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, Actualité chimique p 108-115.

**25. Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., (2003)**

Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? Actualité chimique, 96, p 91-96.

**26. Gey K.F. (2004)**

Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer.

**27. Ghosh D., Sheepens A., (2009)**

Molecular nutrition and food research, Wiley Online Library, 53(3), 322-331.

**28. Gouvernement du Sénégal (1971)**

Ministère du développement rural, direction des eaux et des forêts de Dakar, flore illustrée du Sénégal. Tom 1 (Acanthacées à Avicenniacees), 261-263.

**29. Groulx B., Beaulieu J. (2004)**

La maladie d'Alzheimer, de la tête au cœur. Les éditions Publistar, 216 p.

**30. Guerci B., Bohme P., Kearney-Schwartz A., Zannad F., (2001)** Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Diabetes Metab. 27, 436-447.

- 31. Gueye R.S., Sarr M., Balde M., Diedhiou A., Ndoye I., Tine Y., Sarr F.B., Ndiaye A., Técko-Agbo A., Seck M., Fall D. Welle A. (2015)**  
Etude physico-chimique et minéralogique comparative des attapulgites de Mbodiène (Sénégal) et de Mormoiron (France). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1) : 412-421.
- 32. Gutteridge J.M.C. (1992)**  
Invited review free radicals in disease processes : A compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Comm*, 19 : 598 - 620.
- 33. Halem M. (2012)**  
Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Mémoire de master, Université Ferhat Abbas-sétif, 86 p.
- 34. Haton C. (2005)**  
Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, p 43.
- 35. Holvoet P. Vanhaecke J., Janssens S., Van de Werf F., (2004)**  
Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation*, 98, 1487-1494.
- 36. Hozowa A., Jacobs D.R., Steffes M.W., Gross M.D., Steffen Lyn M., Lee D., (2007)**  
Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction : the Coronary Artery Risk Development in young adults (CARDIA)/ Young adult longitudinal trends in antioxydants. *Clinical-Am Assoc. Clin Chem*, 53(3), p 447-455.
- 37. Huang H., Alder S., (2004)**  
Oxidant stress in kidneys of spontaneously hypertensive rats involves both oxidase overexpression and loss of extracellular superoxyde dismutase. *American Journal of Physiology*, 287(5), 907-913.
- 38. Hughes A.J., Daniel S.E., Blankson S. (1993)**  
A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Archives neurology*, 50 : 140-148.

- 39.Hyardin A. Astier Catherine., Méjean L., (2009)**  
Peut-on parler de fonctionnalité pour un aliment de formulation complexe ?  
Cahiers de nutrition et de diététique, 54500 Vandoeuvre-les-Nancy, France.
- 40.Jacque B. (2004)**  
Biochimie métabolique. Ed ellipes Paris p. 217-219-220-223-225.
- 41.Jenner P. (2003)**  
oxydative stress in Parkinson's disease. Annals of neurology-Wiley online library, 53, S26-S38.
- 42.Kébé F. (2016)**  
Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tige de *Mangifera indica* L. Var. « Diégg bou gatt » (Anacardiaceae). Thèse Pharmacie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar.
- 43.Kikugawa K., Beppu M., (1987)**  
Periodate – induced lipid oxidation of erythrocyte membranes, Springer Link, 22(5), p 312 – 317.
- 44.Kohen R., Nyska A., (2002),**  
Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxydants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicol patholo, 30(6), p 620-650.
- 45.Ladoh Y. Dibong S.D., Nyegue M.A., Djembissi Talla R.P. Lenta Ndjakou B., Mpondo E. Yinyang J., Wansi J.D., (2014)**  
activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmentera capitata* (Loranthaceae) récolté sur *Citrus sinensis*. Journal Home, Vol. 84.
- 46.Leong L.P., Shui G. (2002)**  
An investigation of antioxydant capacity of fruits in Singapore markets - Food chemistry, 76: 69-75.
- 47.Leoni J. (2001)**  
physiopathologie de l'athérosclérose – Mécanisme et prévention de l'athérombose. Thèse Pharmacie, Université de Franche – comté, France.
- 48.Lindhau – shepard B., Shaffer J., (1993)**  
Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2, cells confert protection from oxidative damage, Free rad boil Med, 15: 581-8.

- 49.Ling L.T., Yap S.A., Radhakrishnan A.K., Subramaniam T., Ammu K., Cheng H.M., Palanisamy U.D., (2009)**  
Standardised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxidant- Food Chemistry 113; p 1154-1159.
- 50.Liu F.X., Fu S.F., Bi X.F., Chen F., Liao X.J., Hu X.S., (2013)** Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China, Food Chemistry, 138(1): 396-405.
- 51.Mahattnatawe K., Manthey J.A., Luzio G., Talcott S.T., Goodner K., Elizabeth A.B., (2006)**  
Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruit. Journal of Agricultural and Food chemistry 54, p. 7355-7363.
- 52.Malgras D. (1992)**  
Arbres et arbruste guérisseurs des savanes maliennes. Medicinal trees and shrubs of the Malian savana, p. 478.
- 53.Mbaye F. (2016)**  
Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tige de *Mangifera indica* var. *Palmer*. These Pharmacie, Université Cheikh Anata Diop, Dakar, 77 p.
- 54.Mboliyou M.T. (2016)**  
Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles, des racines et des écorces de tiges de *Mangifera indica* L. var. *Kete* (Anacardiacees). These Pharmacie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 87 p.
- 55.Mecocci P., Mac garvey U., Beal M.F., (1994)**  
Oxidative damage to mitochondrial DNA is increased in Alzheimer's disease. Annals of neurology 36, 746-51.
- 56.Meyers D.G. (2000),**  
The iron hypothesis does iron play a role in atherosclerosis ? Transfusion, 40, p. 1023-1029.
- 57.Mishra K., Ojha H., Chaudhury N.K., (2012)**  
Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. Food chemistry, 130(4): 1036-1043.
- 58.Monica G., Verstraeten S.V., Oteiza P.I., Fraga C.G. (2010)**  
Antioxydant actions of flavonoids : thermodynamic and kinetic analys. Archives of biochemistry and biophysics, 501(1): 23-30.

**59. Morelle-Lauzanne E. (2006)**

L'alimentation, le stress oxydatif : sources de lipoperoxydation, comment s'en protéger ? *Phytothérapie*, 4(1), p. 234-240.

**60. Morffi J., Rodeiro I., Hernandez S.L., Gonzalez L., Herrera J., Espinosa-Aquirre J.J., (2012)**

Antimutagenic properties of *mangifera indica* L. stem bark extract and evaluation of its effects on Hepatic CYP1A1. *Plant foods for human*, 67(1), p. 223-228.

**61. Nacz M., Shahidi F. (2004)**

Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1): 95-111.

**62. Nadal B. (2009)**

Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants. Thèse Chimie, Université Paris sud-Paris XI, France, 277 p.

**63. Nesaretnam K., Koon T.H., Selvaduray K.R., Bruno S.R., (2008)**

Modulation of cell growth and apoptosis response in human prostate cancer cells supplemented with tocotrienols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(1), p. 23-31.

**64. Niang M. (2015)**

Evaluation de l'activité antioxydante de l'amande de *Mangifera indica* L. var. Kent (Anacardiaceae). Thèse pharmacie, Université cheikh anta diop , Dakar, 110 p.

**65. Noratto G.D., Bertoldi M.C., Krenek K., Talcott S.T., Stringheta P.C., Mertens-Talcott S.U., (2010)**

Anticarcinogenic effects of polyphenolics from mango (*Mangifera indica*) varieties. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 58, p. 4104-4112.

**66. Oshiro S., Nakajima H., (1988)**

Intrahepatocellular site of the catabolism of hem and globin moiety of hemoglobin-haptoglobin after intravenous administration to rats. *Journal of Biomedical chemistry*, 263, 16032-16038.

**67. Pincemail J., Vanbelle S., Gaspard S., Collette G., (2007)**

Relationship between oxidative stress and the taking of oral contraceptives in women aged 40-48 years. *Human Reprod*, 22(8) : 2335-2343.

- 68.Pousset J.L. (2004)**  
plantes médicinales d’afrique. Comment les reconnaitre et comment les utiliser ? Edisud, Aix en provence, 169-170.
- 69.Punitha I.R., Rajendran K., Shirwaikar A., (2005)**  
Alcoholic Stem Extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxydant status in streptozotocin- nicotinamide induced diabetic rats. Evidence – Based complementary and alternative medicine, 2(3), 375-381.
- 70.Remesy C. (1996)**  
A quinolone alkaloid with antioxydant activity from the aleurone layer of anthocyanin pigmented rice. J. Nat. Pro, 64(12): 1579-1580.
- 71.Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M., Schieber A., (2008)**  
Phenolic compounds and antioxydant capacity of brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. Food chemistry 110(3): 620-626.
- 72.Roberts C., Sindhu K.K. (2009)**  
Oxidative stress and metabolic syndrome. Life sciences, 84(21) : 705-712.
- 73.Saikat S., Biplab D., Devanna N., Chakraborty R., (2013)**  
Total phenolic, total flavonoid content and antioxidant capacity of the leaves of *Meyna spinose* roxb., an Indian medicinal plant. Chinese Journal of Medicines, 11(2): 0149-0157.
- 74.Sairam K., Hemalatha S., Kumar A., Srinivasan T., Ganesh G., Shankar M., Venkataraman S., (2003)**  
Evaluation of antidiarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*-Journal of Ethnopharmacology, 84, p. 11-15.
- 75.Scherer R., Godoy H. (2009)**  
Antioxydant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food chemistry 112(3): 654-658
- 76.Sergent O. Griffon B., Cillard P., Cillard J., (2000)**  
Alcool et stress oxydatif. Pathologie Biologie, 49(9), p 689-695.
- 77.Shimuzi H. (2004)**  
Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population : the Hisayama study. Stroke, 35(9) : 2072-2077.

**78.Sies H. (1997)**

Antioxydant in disease mechanisms and therapy, Advances in Pharmacology, Academic Press, New York, 38.

**79.Smith M.A., Rudnicka-Nawrot M., Richey P.L., Praprotnik D., Mulvihill P., Miller C.A., Sayre L.M., Perry G., (1995)**

Carbonyl-related posttranslational modification of neurofilament protein in the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. Journal of neurochemistry, 64 : 2660-2666.

**80.Tiffany C. E. (2012)**

Le potentiel antioxydant de l'alimentation tel qu'estimé par le score ORAC : une comparaison des personnes âgées avec démence du type d'Alzheimer avec ceux des témoins sans problèmes cognitif. Mémoire Master-Nutrition, Université de Montréal, France.

**81.Vanniere H., (2013)**

*Mangifera indica* L., Itinéraire technique, 88p.

**82.Wauthoz N., Balde A., Saidou Balde E., Van Dam M., (2007)**

Ethnopharmacology of *Mangifera indica* L. Bark and pharmacological Studies of its Main c-glucosylxanthone, Mangiferine-International Journal of Biomédical and pharmaceutical sciences global science Books, p112-119.

**83.www. Labo-nutrinov.com**, consulté le 17 janvier 2016

**84.www. phytomania.com**, consulté le 22 mars 2016

**85.www. Anastore. com**, consulté le 15 février 2016

# 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 instruite 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