

## Phenolic composition and antioxidant activity of *Solanum sodomeaum* fruit extract during two ripening stages

### Etude de la composition phénolique et des potentialités antioxydantes des extraits de fruits de *Solanum sodomeaum* au cours de deux stades de maturation

I. OUERGHEMMI<sup>1</sup>, I. BETTAIEB REBEY<sup>1</sup>, H. HARBAOUT<sup>1</sup>, M. HAMMAMI, R. KSOURI<sup>1</sup>,  
M. SAIDANI TOUNSI<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Medicinal and Aromatic Plants, Biotechnology Center of Borj-Cedria, BP 901, Hammam-Lif 2050, Tunisia.

\*Corresponding author : [moufidatounsi@yahoo.fr](mailto:moufidatounsi@yahoo.fr)

**Abstract** – The phytochemical study of the Tunisian *Solanum sodomeaum* fruit showed that the phenolic composition of their extracts varied according to the ripening stage. Indeed, fruits at full maturity were richer in phenols with predominance of condensed tannin. Furthermore, the analysis of the fruit extracts by HPLC showed that the catechin hydrate is the major compound at the beginning of the maturation while the gentisic acid is the major one of full ripe fruit. Indeed, the methanolic extract of the immature fruit was characterized by an important amount of flavonoids. On the other hand, the study of the antioxidant abilities of the different parts of fruit extracts allowed us to notice that the best antioxidant activity was attributed to seed extracts which showed an important antiradical and reducing activities ( $IC_{50} = 2.74 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  and  $EC_{50} = 1.69 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). The evaluation of the biological activities of *Solanum sodomeaum* fruit was realized also, on various organic extracts obtained after a continuous extraction by soxhlet (chloroforme, chloroforme-methanol and methanol) at two ripening stages. Indeed, results showed the efficiency of methanolic extracts to inhibit the free radicals DPPH and to reduce the ferrous ions.

**Keywords** : *Solanum sodomeaum*, phenolic composition, maturation, antioxidant.

**Résumé** – L'étude phytochimique de la plante tunisienne *Solanum sodomeaum* nous a permis de déduire que la composition phénolique des fruits varie selon le stade de maturation. En effet, les fruits à la maturation complète sont plus riches en phénols où la fraction dominante est celle des tannins condensés. L'analyse des macérâts méthanoliques des fruits par HPLC a montré que la catéchine hydrate est le composé majeur de la fraction phénolique au début de la maturation alors que l'acide gentisique est le composé majeur des fruits mûrs. Les flavonoïdes sont présents en grande quantité dans les extraits méthanoliques des fruits immatures. L'exploration des activités antioxydantes des extraits méthanoliques des différentes parties du fruit de *Solanum* nous a permis de constater que les pépins exhibent une activité antioxydante importante, ils manifestent des activités antiradicalaires et réductrices intéressantes ( $CI_{50} = 2.743 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  et  $CE_{50} = 1.69 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Aussi, une évaluation plus approfondie des activités biologiques a été réalisée sur différents extraits organiques obtenus après une extraction continue par soxhlet (extraits chloroformique, chloroforme-méthanol et méthanoliques) des fruits de *Solanum sodomeaum* à deux stades de maturation. En effet, les résultats relatifs à l'activité antioxydante ont montré l'efficacité des extraits méthanoliques des fruits à inhiber les radicaux libres DPPH et à réduire les ions ferreux.

**Mots clés** : *Solanum sodomeaum*, composés phénoliques, maturation, antioxydant.



## 1. Introduction

Depuis toujours, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes pour se soigner. D'après Newmann et Cragg (2010), deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle et sont obtenus par héli synthèse à partir d'un pharmacophore ou par modification d'un produit naturel. En effet, l'étude des plantes médicinales montre que la plupart de ces espèces sont riches en métabolites secondaires (Yang et al. 2016), qui se caractérisent par leur utilisation en thérapie comme antimicrobiens (Sharma et al. 2016), anti-inflammatoires (Perera et al. 2016), et anticancéreux (Jacob-Herrera et al. 2016). Or, la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses d'origine naturelle est basée sur la répartition des plantes médicinales et sur les études ethnobotaniques qui permettent de réaliser des inventaires de plantes d'une zone ou d'un pays, puis par des études phytochimiques et pharmacologiques. Inscrit dans ce contexte général, ce travail avait pour objectif de caractériser chimiquement les fruits de la plante *Solanum sodomaeum* et d'en évaluer ses potentialités biologiques. *Solanum sodomaeum* est connue par son utilisation dans divers domaines (alimentaire, médicinal, pharmaceutique) (Marchoux et al. 2008). Des études antérieures ont indiqué que *S. sodomaeum* (pomme du diable) possède des propriétés anticancéreuses (Cham, 2013) dues à la présence de glycoalcaloïdes solasonine (SS) et la solamargine (SM). Les recherches sur les composés phénoliques de *Solanum* sont très rares. Ainsi, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude de la composition phénolique et de l'activité antioxydante des différents extraits des fruits de *S. sodomaeum* en fonction de leur stade de maturation et l'évaluation de leurs potentialités antioxydantes.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Extraction des polyphénols par macération

Cette extraction a été faite en mélangeant 2.5 g de matière végétale sèche avec 25 ml d'éthanol 80%. Le mélange est agité pendant 30 min et gardé au repos pendant 24 heures à 4°C en obscurité. Enfin, ce mélange est filtré sur du papier Watman N°4 sans cendre. Les extraits ainsi obtenus sont conservés à 4°C pour les différentes analyses.

### 2.2. Dosage des polyphénols totaux

Une prise de 125µl de l'extrait dilué 10 fois est mélangée avec 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 min, une prise de 1250 µl de CO<sub>3</sub>(Na)<sub>2</sub> à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variant de 50 à 500 mg.l<sup>-1</sup>. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG.g<sup>-1</sup> MS).

### 2.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Une prise de 0.25 ml de chaque extrait dilué 5 fois a été additionnée de 0.075 ml de NaNO<sub>2</sub> (5 %). Le mélange est laissé pendant 6 min avant d'ajouter 0.15 ml de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O, 10%) fraîchement préparé. Une seconde incubation de 5 min à une température ambiante est effectuée, suivie de l'ajout de 0.5 ml de NaOH (1M). Le mélange est par la suite ajusté avec de l'eau distillée à un volume final de 2,5 ml. La lecture de l'absorbance a été faite à 510 nm. La gamme étalon est préparée avec de la catéchine à des concentrations croissantes allant de 50 à 500 mg.l<sup>-1</sup>. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC.g<sup>-1</sup> MS).

### 2.4. Détermination des tannins condensés

En présence d'acide sulfurique concentré, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique dont l'intensité mesurée par spectrophotométrie est 500 nm (Sun et al. 1998). Une prise de 50µl de l'extrait convenablement dilué est mélangée avec 3 ml de vanilline (4%), puis additionnées de 1.5 ml de HCl concentré. Après 15 min de repos, l'absorbance est mesurée à 500 nm. La gamme étalon est préparée avec de la catéchine à des concentrations allant de 50 à 600 mg.l<sup>-1</sup>. Les teneurs en tanins condensés sont exprimées comme pour les flavonoïdes en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC.g<sup>-1</sup> MS).

## 2.5. Mesure des activités antioxydantes

### 2.5.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

Une prise d'essai de 1 ml de l'extrait végétal à différentes concentrations (1, 10, 50, 100, 200, 300 µg.ml<sup>-1</sup>) est mise en présence de 250 µl d'une solution de DPPH. (0.2mM dans le méthanol). Le mélange demeure pendant 30 min au repos et à l'obscurité pour incubation, ensuite l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un témoin (sans extrait). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange selon l'équation (1) :

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait} / DO \text{ témoin}) * 100 (1)$$

PI: pourcentage d'inhibition (ou CI50)

DO témoin: absorbance du témoin

DO extrait: absorbance de l'extrait

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI50), la valeur de CI50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

### 2.5.2. Mesure du pouvoir réducteur du fer

Le pouvoir réducteur est déterminé en mélangeant 1 ml de l'extrait à différentes concentrations (0.1 à 1.5 mg.ml<sup>-1</sup>) avec 2.5 ml de tampon phosphate (0.2 mol.l<sup>-1</sup>, pH 6.6) et 2.5 ml de K<sub>3</sub>Fe (CN) 6 (1%). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 min à 50 °C. Après cette incubation, 2.5 ml de TCA (10%) sont additionnés pour arrêter la réaction, suivie d'une centrifugation à 650xg pendant 10 min à la température ambiante. Enfin, 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml FeCl<sub>3</sub> (0.1%) sont additionnés au surnageant (2.5 ml). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm (le blanc est le tampon d'extraction). Le témoin positif est l'acide ascorbique ou le BHA (0.01-1 mg.ml<sup>-1</sup>). Les résultats sont exprimés en concentration efficace (CE<sub>50</sub>, µg. ml<sup>-1</sup>), qui est la concentration de l'extrait correspondant à une absorbance égale à 0,5.

## 2.6. Identification des composés phénoliques par RP-HPLC

Les échantillons sont hydrolysés selon la méthode de Proestos et al. (2006). Pour cela, à 0.5 g de matière sèche on ajoute 40 ml d'acétone et 10 ml d'une solution de HCl 6M. Après agitation vigoureuse, on procède à une sonication pendant 15 min. La solution obtenue est ensuite chauffée à reflux pendant 2 h à 90°C, puis concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif. On procède ensuite à une filtration à l'aide d'une membrane filtrante de 0,45µm avant l'analyse par CLHP-PR. L'analyse et la séparation des composés phénoliques a été faite par chromatographie liquide à haute performance et en phase inverse à l'aide d'un appareil (CLHP-RP) du type Agilent Technologies 1100, muni d'un détecteur UV visible à longueur d'onde variable et équipé d'une colonne du type C18 Hypersil ODS (250 x 4,6 mm, 4 µm), à la température ambiante. La phase mobile est composée comme suit : solvant A : acetonitrile et solvant B: H<sub>2</sub>O à 0,2% acide sulfurique. Le gradient d'élution choisi est comme suit : 15% A/ 85% B 0-12 min, 40% A/ 60% B 12-14min, 60% A/ 40% B 14-18min, 80% A/ 20% B 18-20min, 90% A/ 10% B 20-24min, 100% A 24-28 min. Le débit est maintenu à 0,5 ml/min et le volume d'injection est de 20 µl. L'identification des pics a été réalisée par Co-injection de témoins purs d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans les mêmes conditions analytiques. La quantification des composés phénoliques a été faite en utilisant la routine comme étalon interne.

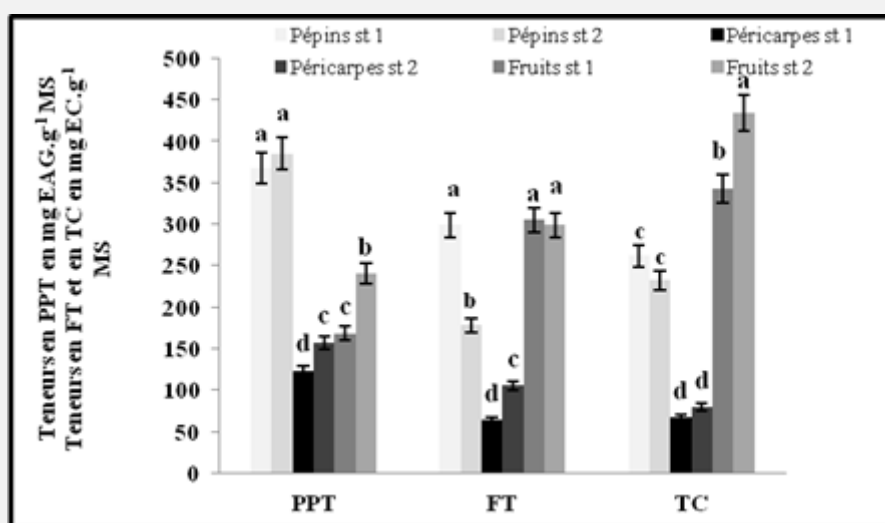
## 2.7. Analyse statistique

Toutes les analyses sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA) utilisant le logiciel STATISTICA (Statsoft, 1998). Le test multirange de Duncan est utilisé au seuil de significativité de 0.05.

### 3. Résultats et Discussion

#### 3.1. Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tannins condensés

Les résultats, présentés dans la Figure 1, montrent que la teneur en polyphénols totaux (PPT) varie significativement selon l'échantillon testé et en fonction du stade de maturation. En effet, les pépins ont montré les teneurs les plus élevées en PPT (367.60 mg EAG.g-1 MS et 384.51 mg EAG.g-1 MS pour les stades 1 et stade 2 respectivement). Concernant les flavonoïdes totaux (FT), les teneurs les plus élevées ont été déterminés chez les fruits (304.71 mg EC.g-1 MS et 298.54 mg EC.g-1 MS pour les stades 1 et 2 respectivement) suivie des pépins (298.78 mg EC.g-1 MS et 178.05 mg EC.g-1 MS pour les stades 1 et 2 respectivement). De même les fruits matures ont été les plus riches en tannins condensés (434 mg EC.g-1 MS) suivis des fruits immatures (342.9 mg EC.g-1 MS), des pépins stade 1 (261.40 mg EC.g-1 MS) et des pépins stade 2 (231.94 mg EC.g-1 MS). Ainsi, les résultats nous ont permis de déduire clairement la variation des teneurs en PPT, FT et tannins condensés (TC) en fonction de l'organe (pépins, péricarpes et fruits).



**Figure 1.** Evolution des teneurs en polyphénols totaux (PPT), en flavonoïdes totaux (FT) et en tannins condensés (TC) des différentes parties de fruits de *Solanum sodomaeum* durant la maturation. Les lettres (a-d) indiquent des différences significatives ( $p < 0.05$ ).

Cette différence est expliquée par la variation des tissus cellulaires des différentes parties de fruits testés. D'après Génard et al. (2010), les flavonoïdes sont majoritairement localisés dans la partie externe du fruit (péricarpe), alors que les acides hydroxycinnamiques sont présents au niveau de la chair et dans les graines et le gel qui les entoure. De même, Ayala-Zavala et al. (2011) ont montré qu'au sein d'un fruit les principaux composés fonctionnels sont localisés dans les tissus des pépins. Ces derniers peuvent être considérés comme la partie responsable de la richesse du fruit *S. sodomaeum* en composés phénoliques. En revanche, la variation des teneurs en PT en fonction de la partie testée du fruit peut également résulter de facteurs génétiques, bien qu'ils soient/pas en corrélation avec les facteurs environnementaux (Adams et al. 2003). Ainsi, la teneur en composés phénoliques varie significativement au sein de la même espèce et d'un organe à un autre (Maisuthsakul et al. 2007). La différence significative entre différentes parties du fruit a été confirmée par Thomas-Barberan et al. (2001), ils ont apporté que cette différence peut être liée à la teneur en anthocyanine qui est responsable à la couleur des tissus épidermiques des fruits. La Figure 1 montre aussi que la composition phénolique de péricarpe est riche en flavonoïdes totaux alors que l'extrait méthanolique des pépins est caractérisé par l'abondance de la classe phénolique des tannins condensés mais il est à noter que ces caractéristiques chimiques sont variables durant la maturation. En effet, au niveau du fruit entier, péricarpe et pépins, les teneurs en PT évoluent parallèlement durant la maturité. Une augmentation significative des teneurs en PT a été enregistrée conduisant respectivement aux valeurs de l'ordre de 168.11 mg EAG.g-1 MS et 240.35 mg EAG.g-1 MS chez les fruits, 123.55 mg EAG.g-1 MS et 157.23 mg EAG.g-1 MS chez les péricarpes et 367.60 mg EAG.g-1 MS et 384.51 mg EAG.g-1 MS chez les pépins. Nos résultats sont également en accord avec Hilton et al. (1973), qui ont montré que le facteur saison peut influencer la composition phénolique des tissus végétaux pendant le

cycle végétatif du fruit. Les teneurs en FT et en TC des péricarpes subissent la même évolution que celles des fruits entiers durant la maturation. Ainsi il y a une augmentation significative des teneurs jusqu'à atteindre environ les valeurs de 105.27 mg EC.g<sup>-1</sup> MS de FT et 79.44 mg EC.g<sup>-1</sup> MS de TC. Au niveau des pépins, les teneurs en FT qui suivent la même évolution de celles des fruits entiers durant la maturité variant respectivement de 298,78 mg EC.g<sup>-1</sup> MS à 178. 05 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS. De même, une diminution des teneurs en TC a été enregistrée chez les pépins au cours de la maturation variant respectivement de 261.40 mg EC/g MS à 231.94 mg EC/g MS. Les résultats des dosages de PT, FT et TC des pépins peuvent être expliqués par l'apparition de nouvelles molécules, autres que les flavonoïdes et les tannins condensés qui sont synthétisés au cours de la maturation et qui participent à l'évolution de la fraction phénolique des fruits de *S. sodomeaum*. Il est à noter qu'aucune étude portant sur le dosage des composés phénoliques des différentes parties du fruit de *Solanum sodomeaum* durant la maturation n'a été conduite ultérieurement. Cependant, plusieurs études ont été portées sur la variation des teneurs en composés phénoliques des fruits d'autres espèces durant la maturation. Chez certains fruits comme l'olive (Brahmi et al. 2013), le grenade (Rebogila et al. 2014) et le pêcher (Legua et al. 2011; Dabbou et al. 2015), il y a une diminution des teneurs en polyphénols durant la maturation au profil de l'accumulation des sucres. De plus Joana et al. (2010) ont noté que les teneurs en flavonoïdes chez la noisette décroît fortement durant la maturation parallèlement à des modifications du degré de polymérisation des procyanidines. Cette diminution peut être liée aussi à l'augmentation de l'activité des enzymes hydrauliques (Brahmi et al. 2013) et de besoins défensifs de la plante pendant la maturation des fruits (Hashiba et al. 2006). En effet, durant la maturation des fruits, les tissus deviennent plus souples et il y a un changement de saveur, de texture et de couleur (Irina et al. 2004). En plus, selon Tahira et al. (2011) les teneurs des acides phénoliques diminuent et celles des anthocyanes augmentent au cours de la maturation. D'autre part, en comparant les teneurs en PT de nos extraits avec celles d'autres espèces de la même famille (Solanaceae), il s'avère qu'elles sont plus importantes que celles de *Solanum lycopersicum* qui ne font que 394,5 mg EAG.g<sup>-1</sup> MF (Ilahy et al. 2011), et moins importantes que celle de *Solanum torvum* avec 777.7 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> MS (Thenmozhi et Mahadeva, 2012) et *Solanum betaceum* avec 684,5 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> MS (Orqued et al. 2016)

### 3.2. Activités antioxydantes des extraits méthanoliques des différentes parties du fruit de *Solanum sodomeaum*

Afin de déterminer les activités antioxydantes des extraits méthanoliques des différentes parties de fruits de *S. sodomeaum*, nous avons utilisés des solutions diluées à différentes concentrations pour tester le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur des ions ferreux. L'activité antioxydante d'un extrait ne peut pas être évaluée au moyen d'un seul test en raison de la complexité chimique des extraits végétaux et de la diversité des mécanismes d'action des composés antioxydants (Dorman et al. 2003). Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des fruits de *S. sodomeaum* (pépins, péricarpe et fruits entier) par la mesure de la capacité antioxydante totale (en mg EAG.g<sup>-1</sup> MS), le pouvoir antiradicalaire (CI<sub>50</sub> en µg.ml<sup>-1</sup>) et le pouvoir réducteur (CE<sub>50</sub> en mg.ml<sup>-1</sup>) sont illustrés dans le Tableau 1. Il est à mentionner que plus la CI<sub>50</sub> et la CE<sub>50</sub> de l'échantillon sont faibles plus l'activité antioxydante est élevée.

**Tableau 1.** Résultats de la mesure de la capacité antioxydante totale (CAT en mg EAG.g<sup>-1</sup> MS), le pouvoir antiradicalaire DPPH (CI<sub>50</sub> en µg.ml<sup>-1</sup>) et le pouvoir réducteur PR (CE<sub>50</sub> en mg.ml<sup>-1</sup>) des pépins, des péricarpes et des fruits entiers de *S. sodomeaum* au stade immature (Stade 1) et mature (Stade 2).

	CAT (mg EAG.g <sup>-1</sup> MS)	DPPH (CI <sub>50</sub> µg.ml <sup>-1</sup> )	PR (CE <sub>50</sub> mg.ml <sup>-1</sup> )
Pépins st 1	370,72	<b>2,74</b>	1,69
Pépins st 2	<b>427,05</b>	3,96	1,81
Pécarpes st 1	212,60	46,20	2,135
Pécarpes st 2	184,28	53,19	2,47
Fruits st 1	257,93	25	<b>0,40</b>
Fruits st 2	411,74	22,50	0,43
BHT		25	
Acide Ascorbique			0.04



### 3.2.1. Mesure de la capacité antioxydante totale

L'analyse des résultats de la mesure de la capacité anti-oxydante totale (CAT) est illustrée dans le Tableau 1. En effet, les fruits de *S. sodomeaum* stade 2 ont une capacité antioxydante plus élevée (411,74 mg EAG.g-1 MS) que celle des fruits stade 1 (257,93 mg EAG.g-1 MS). Elle varie aussi selon l'organe puisque les extraits méthanoliques des pépins stade 2 présentent les meilleures capacités antioxydantes (427,05 mg EAG.g-1 MS) par comparaison à celles des pépins au stade 1 (370,72 mg EAG.g-1 MS), péricarpe stade 1 (212,6 mg EAG.g-1 MS) et péricarpe stade 2 (184,28 mg EAG.g-1 MS). En outre, nos résultats de la mesure de la capacité antioxydante ont été plus importants que ceux trouvés chez d'autres espèces telles que *Solanum fastigiatum* (55.22 mg EAA.100 g-1 MS) (Sabir et Rocha, 2008). D'après nos résultats, les teneurs en polyphénols totaux peuvent être corrélées positivement avec la capacité antioxydante totale ( $r=0.72$ ). Cette capacité ne dépend donc pas seulement de la concentration en flavonoïdes et tannins mais aussi d'autres antioxydants et des interactions moléculaires entre les différents composés antioxydants (Macheïx, 2005).

### 3.2.2. Mesure de l'activité antiradicalaire DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques des différentes parties de fruits de *Solanum sodomeaum* à deux stades de maturation a été évaluée en utilisant le test DPPH. Elle a été exprimée en termes de la  $CI_{50}$  qui est un paramètre définissant l'activité inhibitrice des radicaux libre à 50% (Molyneux, 2004). Il est à mentionner que plus la  $CI_{50}$  de l'échantillon est faible plus l'activité antioxydante est élevée. Comme il est décrit dans le Tableau 1, les extraits méthanoliques des pépins et des fruits de *Solanum* possèdent un pouvoir piègeur des radicaux libres puissant en le comparant avec le BHT ( $25 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) avec des  $CI_{50}$  de  $2,743 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et  $22,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$  respectivement. Les extraits de péricarpes présentent les activités les plus faibles à inhiber le DPPH à  $CI_{50}$  de  $46,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et  $53,19 \mu\text{g.ml}^{-1}$  pour les stades 1 et 2, respectivement. Ces résultats montrent que l'effet de la maturation est moins marqué que celui de la partie de fruit étudié. En effet, les extraits méthanoliques de *Solanum* mûrs et immature possèdent des activités antiradicalaires semblables. La variation de pouvoir antioxydant en fonction de l'organe et de stade de maturation de *Solanum sodomeaum* peut être expliqué par la variation des facteurs génétiques, édaphiques et environnementaux (Lisiewska et al. 2006; Ksouri et al. 2008); Brahmi et al. (2013) ont montré que la variation de l'activité antiradicalaire des fruits et des feuilles d'*Olea europae* est influencée par les facteurs environnementaux durant la maturation.

Les résultats illustrés dans le Tableau 1 montrent que les différents extraits des pépins de *Solanum* sont les plus capables de neutraliser le radical DPPH avec les valeurs de  $CI_{50}$  est de l'ordre de  $2,743 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et  $3,96 \mu\text{g.ml}^{-1}$  pour les stades 1 et 2 respectivement. Les données de la littérature révèlent généralement une corrélation positive entre le contenu en polyphénols d'un extrait et son pouvoir antioxydant (Zainol et al. 2003; Bakkalbasi et al. 2005 et Siddhuraju et Becker, 2007). Ceci pourrait expliquer l'activité antiradicalaire plus faible de l'extrait méthanolique du péricarpe comparée aux autres organes et qui serait liée à un contenu plus faible en flavonoïdes totaux ( $63,279 \text{ mg EC.g}^{-1} \text{ MS}$  et  $105,27 \text{ mg EC.g}^{-1} \text{ MS}$  pour les stades 1 et 2 respectivement) et tannins condensés ( $66,77 \text{ mg EC.g}^{-1} \text{ MS}$  et  $79,44 \text{ mg EC.g}^{-1} \text{ MS}$  pour les stades 1 et 2 respectivement).

### 3.2.3. Mesure du pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur est basé sur la réaction d'oxydoréduction entre les composés d'un extrait et l'ion métallique de transition ( $\text{Fe}^{3+}$ ); les réductones réduisent les ions  $\text{Fe}^{3+}$  fournies par le ferricyanide à la forme ferrique ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Pour cette raison, nous avons déterminé la  $CE_{50}$  correspondant à la concentration de l'extrait à une absorbance égale à 0,5. Les résultats du Tableau 1 montrent une variabilité du pouvoir réducteur selon l'organe. A noter que cette variation est non significative en fonction du stade de maturation du fruit de *Solanum*. En effet, les fruits entiers sont les plus efficaces à réduire les ions  $\text{Fe}^{3+}$  avec la valeur de  $CE_{50}$  la plus faible ( $0,40 \text{ mg.ml}^{-1}$  et  $0,43 \text{ mg.ml}^{-1}$  pour les stades 1 et 2 respectivement). Alors que les extraits des pépins ont une concentration d'efficacité de l'ordre de  $1,69 \text{ mg.ml}^{-1}$  et  $1,81 \text{ mg.ml}^{-1}$  pour les stades immature et mature respectivement). Cependant, les extraits méthanoliques des péricarpes exhibent le pouvoir réducteur le plus bas ( $2,13 \text{ mg.ml}^{-1}$  et  $2,47 \text{ mg.ml}^{-1}$  pour les stades 1 et 2 respectivement). Ces résultats sont comparables à ceux de Mejri et al. (2014) qui ont montré que le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques du fruit de *Solanum elaeagnifolium* varie légèrement durant la maturation dont les valeurs sont de l'ordre de  $0,39 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $0,53 \text{ mg.ml}^{-1}$  et  $0,43 \text{ mg.ml}^{-1}$  respectivement pour les fruits immatures, matures et poste matures. Durant la maturation de *S. sodomeaum* (pépins, péricarpes et fruits), la mesure de la  $CE_{50}$  a révélé un

effet faible des extraits méthanoliques à réduire les ions Fe<sup>3+</sup> par comparaison à celui de l'acide ascorbique (40 µg.ml<sup>-1</sup>). Ces résultats peuvent être expliqués par l'absence des molécules réductrices dans nos extraits. Ceci est bien confirmé par Sousa et al. (2014) qui ont signalé que la diminution du pouvoir réducteur des extraits du fruit d'olive (variant de 0,36 à 0,53 mg.ml<sup>-1</sup>) fait suite au décroissement des teneurs en composés réducteurs durant la maturation. En effet la capacité réductrice d'un extrait dépend de la présence de réductones qui exercent leur activité antioxydante grâce aux réactions de transfert d'électron. Selon Singh et Rajini (2004), les réductones peuvent réduire la formation des peroxydes d'hydrogène ; ceci indique que les différents extraits sont capables d'agir comme donneurs d'électrons stabilisant les radicaux et bloquant par conséquent leur production en chaîne. Comparés aux résultats obtenus précédemment, le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des différentes parties du fruit de *Solanum* est plus faible que son pouvoir d'élimination des radicaux DPPH. L'activité antiradicalaire est liée à la capacité d'un composé à réagir directement avec le radical et à céder un proton et non pas uniquement au potentiel redox (Bounatirou et al. 2007; Sousa et al. 2014). La variabilité du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des trois parties du fruit de *S. sodomeaum* (Tableau 1) peut être expliquée par la différence quantitative et qualitative de leurs composés phénoliques. En effet, les données de la littérature indiquent que les composés phénoliques diffèrent par leurs pouvoirs réducteurs. D'après Soobrattee et al. (2005), qui ont étudié les activités antioxydantes de 32 composés, l'acide gallique et la quercétine sont de puissants agents réducteurs.

### 3.3. Identification des composés phénoliques des extraits méthanoliques des fruits de *Solanum sodomeaum* par HPLC

Les extraits méthanoliques des fruits de *Solanum sodomeaum* obtenus par macération fait l'objet d'un dosage par HPLC. Les résultats sont présentés sous forme de chromatographes dont l'analyse a permis l'identification des différents composés phénoliques. En effet, les résultats de cette analyse sont illustrés dans le Tableau 2.

Tableau 2. Composition phénolique (%) des fruits immatures (stade 1) et fruits mûrs (stade 2) de *Solanum sodomeaum*

Nom	Fruits stade 1	Fruits stade 2
Catechin hydrate	79,34±2,24***	0.00±0.00***
Acide gentisique	10,652±1,01***	48,87±0,43***
Acide carnosoiique	3,917 ± 2,86NS	1,796 ± 1,26NS
Acide gallique	0.00±0.00***	21,217 ± 3,43***
NI	6,091 ± 0,4***	29,015 ± 1,72***
Total	100±6.51	100±6.84

\*composés par ordre d'éluion sur HP-innowax, Les valeurs des pourcentages des composés volatils de l'huile essentielle représentent la moyenne des différentes régions (n=3). Ces valeurs sont significativement différentes à  $P < 0,05$ . \*\*\*: Effet significatif à  $P < 0,001$ . NS : non significative

Concernant les fruits de *Solanum* stade 1, nous avons détecté trois composés phénoliques avec la catéchine hydrate comme composé majeur (79.34%). Alors que pour les fruits de *Solanum* stade 2, le Tableau 2 montre l'identification de trois composés phénoliques avec absence de la catéchine. L'acide gentisique (AG) est représenté comme composé phénolique majeur (48.78%). Ce même composé est présent de l'ordre de 10.65% dans la composition phénolique des fruits immatures. D'où la synthèse de l'acide gentisique augmente avec le développement du fruit. De plus, Saura-Calixto et al. (2010) ont indiqué que l'acide gallique est probablement un produit de la dégradation bactérienne des anthocyanes. De même, Belles et al. (2008) ont signalé que l'AG peut jouer une fonction de signalisation importante dans l'activation des gènes de défense chez la tomate, d'où son accumulation progressive n'a été observé qu'après une infection pathogène. L'acide gallique absent dans les extraits des fruits stade 1, a été détecté avec une teneur importante de l'ordre de 21,217% dans les fruits stade 2. Ceci est accompagné d'une réduction des teneurs de la catéchine hydrate. L'acide carnosique a subit aussi une réduction non

significative de sa synthèse au cours de la maturation des fruits présentant un pourcentage de 3,917% et 1,796% des phénols totaux des extraits des fruits stade 1 et stade 2 respectivement.

L'étude comparative de la composition phénolique des fruits stade 1 et stade 2 a montré que les fruits de *Solanum sodomaeum* au début de la maturation renferment des flavonoïdes ayant une valeur nutritionnelle connue depuis l'antiquité : comme la catéchine. D'autre part, les fruits matures de *Solanum sodomaeum* renferment une quantité importante des acides phénoliques (acide gentisique, acide carnosique et acide gallique) de l'ordre de 71,681%. Les acides phénoliques semblent particulièrement prometteurs, de par leur ubiquité dans le règne végétal, mais également pour les fortes propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antivirales et anticancérigènes qu'ils présentent. Ces composés s'avèrent des agents thérapeutiques (Akinmoladun et al. 2010; Elekofehinti et al. 2013). L'acide gentisique, le composé majeur des extraits méthanoliques des fruits matures, est connu par sa résistance à différents pathogènes chez la tomate (Mandal et al. 2009; Meher et al. 2011) et chez d'autres espèces végétales (Edgar et al. 2006 et Wang et Liu, 2012). Différentes études ont montré que la présence d'antioxydants comme les catéchines hydratées peut limiter certains de ces dommages et retarder l'apparition de certaines de ces maladies (Scalbert et al. 2005; Manach et al. 2005). L'acide gallique, largement utilisé comme additif pour prévenir la dégradation des aliments, est réputé pour ses activités, anti-cancérigène, anti-inflammatoire et antimutagène (Soong et Barlow, 2006).

#### 4. Conclusion

L'étude phytochimique de *Solanum sodomaeum*, montre que la composition phénolique des fruits varie selon le stade de maturation et la nature de l'organe étudié (pépins, péricarpes et fruits entier). L'exploration des activités antioxydantes des extraits méthanoliques des différentes parties du fruit de *Solanum* nous a permis de constater que les pépins exhibent une activité antioxydante importante. D'où, la possibilité de l'utilisation de ces extraits comme substances d'intérêts éventuellement utiles comme additifs dans les aliments pour remplacer ceux synthétiques et/ou comme conservateurs dans les formulations cosmétiques et pharmaceutiques.

#### 5. Références

- Akinmoladun, AC., Obuotor, EM., Farombi, EO (2010)** Evaluation of antioxidant and free radical scavenging capacities of some Nigerian indigenous medicinal plants. *J Med Food* 13: 1-8.
- Ayala-Zavala, JF., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, JA., Md., Siddiqui, W., Dávila-Aviña, JE., González-Aguilar, GA (2011)** Agro-industrial potential of exotic fruit by products as a source of food additives. *Food Res Inter* 44: 1866–1874.
- Bakkalbasi, E., Yemis, O., Aslanova, D (2005)** Major flavan-3-ol composition and antioxidant activity of seeds from different grape varieties grown in Turkey. *Eur Food Res Technol* 221: 792–797.
- Bellés JM, Garro, R., Fayos, J., Navarro, P., Primo, J., Conejero V (1999)** Gentisic acid as a pathogen-inducible signal, additional to salicylic acid for activation of plant defenses in tomato. *Mol Plant-Microbe Interact* 12: 227–235.
- Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, MG., Rejeb, MN., Neffati, M., Costa, MM., Faleiro, L., Figueiredo, AC., Barroso, JG., Pedro, LG (2007)** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. *Food Chem* 105: 146-155.
- Brahmi, F., Mechri, B., Dhibi, M., Hammami M (2013)** Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Ind Crop Prod* 49: 256-264.
- Cham, B (2013)**. Drug therapy: Solamargine and other solasodine rhamnosyl glycosides as anticancer agents. *Modern Chemoth* 2: 33–49.
- Dabbou, S., Dabbou, S., Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G., Chahdoura, H., Gasco, L. Helal, AN (2015)** In vitro antioxidant activities and phenolic content in crop residues of Tunisian globe artichoke. *Sci Hort* 190: 128–136.
- Dorian, QF., Ling, Q., Yunfei, Z., Zhijun, Z., Xugao, C., Leo Aoi, H. Guo-Ping, S (2003)** The Domestication Process and Domestication Rate in Rice: Spikelet Bases from the Lower Yangtze. *Sci* 323: 1607-1610.



- Edgar, CI., Mcgrath, KC., Dombrecht, B., Manners, J.M., Maclean, D.C., Schenk, PM., Kazan, K (2006)** Salicylic acid mediates resistance to the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum* in the model host *Arabidopsis thaliana*. *Australas Plant Pathol* 5: 581–591
- Elekofehinti, O. O., Kamdem, J. P., Bolingon, A. A., Athayde, M. L., Lopes, S. R., Waczuk, E. P., Kade, I. J., Adanlawo, IG., Teixeira Rocha, JB (2013)** African eggplant (*Solanum anguivi* Lam.) fruit with bioactive polyphenolic compounds exerts *in vitro* antioxidant properties and inhibits Ca<sup>2+</sup>-induced mitochondrial swelling. *Asian Pac J Trop Biomed* 3: 757–766.
- Génard, M., Bertin, N., Gautier, H., Lescourret, F., Quilot, B (2010)** Virtual profiling: a new way to analyse phenotypes. *Plant Journal* 62: 344–55.
- Hashiba, K., Iwashina, T. Matsumoto, S (2006)** Variation in the quality and quantity of flavonoids in the leaves of coastal and inland *Campanula punctata*. *Biochem Syst Ecol* 34: 854–861.
- Hilton PJ, Palmer-Jones RW, Ellis, RT (1973)** Effects of season and nitrogen fertilizer upon the flavanol composition and tea making quality of fresh shoots of tea (*Camellia sinensis* L.) in Central Africa. *J Sci Food Agric* 24: 819–826.
- Ilahy, R., Hdider, C., Lenucci, M.S., Tlili, I. Dalessandr, G (2011)** Phytochemical composition and antioxidant activity of high-lycopene tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars grown in Southern Italy. *Sci Hort* 127:255–261.
- Irina, OV., Nicholi V (2004)** Flavonoid composition over fruit development and maturation in American cranberry, *Vaccinium macrocarpon* Ait. *Plant Sci.* 167: 1043-1054.
- Jacobo-Herrera, NJ., Jacobo-Herrera, FE., Zentella-Dehesa, A., Andrade-Cetto, A., Heinrich, M., Pérez-Plasencia, C (2016)** Medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of colorectal cancer. *J Ethnopharmacol* 179: 391-402.
- Joana, SA., Patrícia, V., Paula, BA., Rui, CM., Rosa, MS (2010)** Phenolic composition of hazelnut leaves: Influence of cultivar, geographical origin and ripening stage. *Sci Hort* 126: 306–313.
- Ksouri, R., Megdich, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Abdelly, C (2008)** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C R Biol* 33: 865–873.
- Legua, P., Hernández, F., Díaz-Mula, HM., Valero, D., Serrano, M (2011)** Quality, bioactive compounds, and antioxidant activity of new flat-type peach and nectarine cultivars: a comparative study. *J Food Sci* 76: 729–735.
- Lisiewska, Z., Kmiecik, W., Korus, A (2006)** Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *J Food Comp Anal*, 19: 134-140.
- Macheix, JJ., Fleuriet, A., Billot, J (1990)** Fruit phenolics, *CRC press, Boca Roton*. In: les polyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier V. 2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmanit, R (2007)**. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem* 100: 1409 1418.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy C (2005)** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. *Review of 97 bioavailability studies*1–3. *Amer Soci Clin Nutr* 81: 230S– 42S.
- Mandal, S., Mallicka, N., Mitraa, A (2009)** Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. *Plant Physiol Biochem* 47: 642-649.
- Marchoux, G., Gognalons, P., Sélassié, KG (2008)** Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures. *Edition. Quae, Paris, France*, 846p.
- Meher, HC., Gajbhiye, VT., Ghanendra., S (2011)** Salicylic acid-induced glutathione status in tomato crop and resistance to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *J. Xenobiotics* 1: 5, 22-28.
- Mejri, H., Séverine, D., Jedy, A., Tlili, N., Legault, J., Richomme, P., Limam, F., Saidani-Tounsi M (2014)** Combined anti-ages and antioxidant activities of different solvent extracts of *Solanum elaeagnifolium* Cav (Solanacea) fruits during ripening and related to their phytochemical compositions. *EXCLI J.*, 13: 1029–1042.
- Molyneux, P (2004)**. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol* 26: 211–219.
- Newman, DJ., Cragg, GM (2010)** In: RSC *Biomolecular Sciences* No 18; *Natural Product Chemistry for Drug Discovery*. Buss AD, Butler MS, editors. *Royal Society of Chemistry*; Cambridge, UK: pp. 3–27.

- Orqueda, ME., Rivas, M., Zampini, IC., Alberto, MR., Torres, S., Cuello, S., Sayago, J., Thomas-Valdes, S., Jiménez-Aspee, F., Schmeda-Hirschmann, G. Isla, MI (2016)** Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilito (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. Phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress, Food Chem 08-015.
- Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, GJE, Komaitis, M (2006)** Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chem, 95: 664-671.
- Rebogile, R., Mphahlele, MA., Stander, OAF (2014)** Effect of fruit maturity and growing location on the postharvest contents of flavonoids, phenolic acids, vitamin C and antioxidant activity of pomegranate juice (cv. Wonderful). Sci Hortic 179: 36–45.
- Sabir, JB., Rocha, T (2008)** Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Solanum fastigiatum* (false “Jurubeba”) against paracetamol-induced liver damage in mice S.M. J Ethnopharmacol 120: 226–232.
- Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J., Touriño, S., Serrano, J., Fuguet, E (2010)** Proanthocyanidin metabolites associated with dietary fibre from in vitro colonic fermentation and proanthocyanidin metabolites in human plasma. Molec Nut Food Res 54 (7).
- Scalbert, A (1991)** Antimicrobial properties of tannins. Phytochem 30: 3875-83.
- Sharma, A, Flores-Vallejo, RC., Cardoso-Taket A. Villarreal, ML (2016)** Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. Journal Ethnopharmacol 30: 3875-83
- Siddhuraju, P., Becker, K (2007)** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chem. 101: 10–19.
- Singh, N., Rajini, PS (2004)** Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. Food Chem 85: 611–616.
- Somawathi, KM., Rizliya, V., Wijesinghe, DGNG., Madhujith, WMT (2014)** Antioxidant activity and total phenolic content of different skin coloured brinjal (*Solanum melongena*), Trop Agric Res 26: 152–161.
- Soobrattee, MA., Neergheen, VS., Luximon-Ramma, A., Aruoma, OI. Bahorun, T (2005)** Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. Mut Res 579: 200–213.
- Soong, YY., Barlow, PJ (2006)** Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. Food Chem 97: 524–530.
- Tahir, M., Farooq, A., Ijaz, AB., Tahir I (2013)** Effect of maturity on proximate composition, phenolics and antioxidant attributes of Cherry Fruits. Pak J Bot 45: 909-914.
- Thenmozhi, A., Mahadeva, Rao US (2012)** Comparative free radical scavenging potentials of different parts of *Solanum torvum*. Free Rad Antiox Vol.2 / Issue 2.
- Tomás-Barberán, FA., Gil, MI., Cremin, P., Waterhouse, AL., Hess-Pierce, B., Kader, AA (2001)** HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. J Agric Food Chem 49: 4748-60.
- Yang, L., Yang, C., Li, C., Zhao, Q., Liu, L., Fang Chen, X (2016)** Recent advances in biosynthesis of bioactive compounds in traditional Chinese medicinal plants. Sci Bull 61: 3–1
- Zainol, M. K., Abdul-Hamid, A., Yusof, S. & Muse, R. (2003)** Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) urban. Food Chem 49: 5165-5170.