

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire / Immunologie Approfondie

Thème

Etude de l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique
d'une plante médicinale « *Zygophyllum album* »

Présenté par : CHOUAKRI Chahira
ATAILIA Meriem
BOUTARFA Fethi

Membres de jury :

Présidente : Pr. BENDJEDDOU Dalila	Université de Guelma
Examineur : Mr. HMISSI Ahmed (M.A.A)	Université de Guelma
Examinatrice : Mme. BENBELGASSEM (M.A)	Université de Guelma
Encadreur : Mme BOUKEMARA H (M.A.A)	Université de Guelma

Session Juin 2012

Sommaire

Dédicace	
Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01
Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales	
I. Phytothérapie	02
I-1-Introduction.....	02
I-2- Phytothérapie	02
I-3-L'avenir de la phytothérapie.....	04
II-Les plantes médicinales.....	04
II-1-Principes actifs des plantes.....	05
II-2- L'effets biologiques et pharmacologiques des plantes médicinales.....	08
II-2-1- Activité antimicrobienne, antivirale et antiparasitaire.....	08
II-2-2- Activité antioxydante des plantes médicinale.....	08
III- La plante médicinale choisie.....	10
III-1- Introduction.....	10
III-2- La famille des Zygophyllaceae.....	10
III-2-1- Classification.....	10
III-2-2- Les effets biologiques et pharmacologiques de la famille Zygophyllaceae.....	11
III-2-3- Les métabolites secondaires isolés de la famille Zygophyllaceae.....	12
III-3- Etude de la plante; <i>Zygophyllum album</i>	16
III-3-1- Description morphologique.....	17
III-3-2- Répartition géographique.....	17

III-3-3- Constituants phytochimiques.....	18
III-3-4- Actions pharmacologiques.....	20
III-3-5- Utilisation traditionnelles et locale.....	20

Chapitre II ; Stress oxydant, oxydants et antioxydants

Introduction.....	22
I-Définition du stress oxydant.....	22
II- Espèces oxygénées réactives.....	23
II-1- Les radicaux libres dans les systèmes biologiques.....	24
II-2- Sources des espèces oxygénées réactives.....	25
II-2-1- Sources exogènes.....	26
II-2-2- Sources endogènes.....	27
II-2- Rôle physiologique des ROS.....	30
II-3- Cibles biologiques des ROS.....	31
II-3-1- Oxydation des lipides.....	31
II-3-2- Oxydation des lipoprotéines.....	33
II-3-3- Oxydation des protéines.....	33
II-3-4- Oxydation des acides nucléiques.....	33
III- Les antioxydants	
III-1- Définition.....	34
III-2- Caractéristiques des antioxydants.....	34
III-3- Classification des systèmes antioxydants.....	35
III-3-1- Antioxydants à poids moléculaire élevés.....	35
III-3-1-1- Les antioxydants enzymatiques.....	35
III-3-1-2- Les antioxydants non enzymatiques.....	38
III-3-2- Antioxydants à faible poids moléculaires.....	40

III-3-2-1-Antioxydants synthétiques.....	40
III-3-2-2-Antioxydants naturels.....	40
III-3-2-3-Les antioxydants polyphénoliques.....	44
III-3-Mode d'action des antioxydants.....	46
III-4- Pathologies liées au stress oxydant.....	47
III-5- Evaluation du stress oxydatif.....	48
III-6-Avenir thérapeutique du stress oxydatif.....	50

Partie expérimentale

I-Matériels.....	52
I-1- Matériel végétal.....	52
II- Méthodes de travail.....	52
II-1-Préparation de l'extrait hydroalcoolique de <i>Zygophyllum album</i>	52
II-2- Activité antioxydante <i>in vitro</i>	52
II-3- Analyses statistique.....	53
III-Résultats.....	55
Discussion.....	58
Conclusion et perspectives.....	61
Références bibliographiques	
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Remerciements

Nous adressons l'expression de nos grandes reconnaissances à Mme Boukemara H , pour la confiance qu'elle a investie en acceptant d'encadrer notre travail, pour son aide et pour l'attention et l'écoute qu'elle a bien voulu apporter à notre travail dans ces divers stades d'élaboration.

Nous tenons aussi à remercier tous les membres du jury de nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'ils trouveront ici le témoignage de nos profondes gratitude.

Liste des abréviations

AA : Activité antioxydante

ADN : Acide désoxyribonucléique

RL : Les radicaux libres.

RH : Les acides gras polyinsaturés

ROS: Reactive oxygen species

O₂[•] : Radical superoxyde.

HO₂[•]: Radical hydroperhydroxyle

OH[•]: Radical hydroxyle.

RO₂[•]: Radical peroxyde

RO[•]: Radical alkoxyde.

NO[•]: Monoxyde d'azote

1/2O₂ : Oxygène singulier

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

ONOOH : Nitroperoxyde

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

PAR: Pouvoir anti radicalaire

MDA: Malonyldialdéhyde

4-HNE: 4-hydroxynonanal

SH : Groupements thiols

GSH : Glutathion réduit

H.M.W: Composés à poids moléculaire élevés

L.M.W: Composés à faible poids moléculaire

SOD: Superoxyde dismutase

CAT: La catalase

GPx: La glutathion peroxydase

TRX : La thiorédoxine

LDL : lipoprotéines à base densité

TRAP: Total radical trapping parameter

UV : Ultra violet

DPPH : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl.

GSSG : Glutathion oxydé

I % : Pourcentage d'inhibition

EMZA: Extrait méthanolique de *Zyg. phyllum album*

Produced with ScanTOPDF

Liste des figures

Figure 01 ; Quelques plantes médicinales.....	05
Figure 02 ; Structures chimiques de quelques alcaloïdes isolés de <i>Peganumharmala</i>	13
Figure 03 ; Exemples des triterpènes isolés d'espèces de la famille zygophyllaceae.....	16
Figure 04 ; <i>Zygophyllum album</i> de la région d'Adrar.....	17
Figure 05 ; <i>Zygophyllum album</i> (Répartition géographique).....	18
Figure06 : Déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les ROS in vivo.....	22
Figure 07 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	26
Figure08 : Principales sources cellulaires des espèces oxygénées réactives.....	28
Figure 09 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives.....	31
Figure10 : Mécanisme de la peroxydation lipidique.....	32
Figure 11 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	39
Figure 12 : Les différentes classes des composés phénoliques.....	46
Figure13 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....	48
Figure 14 : Aperçu des méthodologies permettant d'évaluer l'état de stress oxydatif chez l'homme.....	50
Figure 15 : Activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique (E.Met) de <i>Zygophyllum album</i> et de l'antioxydant de référence l'acide gallique vis-à-vis du radical DPPH.....	56

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les bienfaits de quelques plantes médicinales	08
Tableau 02 : Exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-oxydantes	09
Tableau 03 : Les effets biologiques des différentes espèces de la famille Zygophyllaceae....	11
Tableau 04 : Quelques composés flavoniques isolés d'espèces de la famille zygophyllac... 13	
Tableau 05 : Quelques structures des lignanes isolé de l'espèce <i>Larrea Tridentata</i>	15
Tableau 06: La classification botanique de <i>Zygophyllum album</i>	16
Tableau 07: Les études des tests phytochimiques réalisés sur les trois extraits et sur la plante entière	19
Tableau 08 : Nature des différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant...	24
Tableau 09 : Principales sources des RL (endogènes et exogène).....	25
Tableau 10 : Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques.....	38
Tableau 11 : Principaux systèmes antioxydants non enzymatiques protéiques.....	40
Tableau 12 : Propriétés antioxydantes de certains composés à faibles poids moléculaires....	44
Tableau 13 : Quelques activités biologiques des polyphénols.....	47
Tableau 14 : Quelques pathologies associées aux dommages des radicaux libres.....	49
Tableau 15 : Activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique de <i>Zygophyllum album</i>	55

Figure 16: Décoloration du DDPH suite à sa réduction par l'acide gallique.....	57
Figure 17: Décoloration du DDPH suite à sa réduction par l'EMZA.....	57
Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	59

Produced with ScantOPDF

Introduction

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobiques, toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces oxygénées réactives (EOR). Aux doses faibles, les EOR sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que la transduction du signal. Aux doses excessives, les EOR deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme. La surproduction des EOR au delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement.

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé.

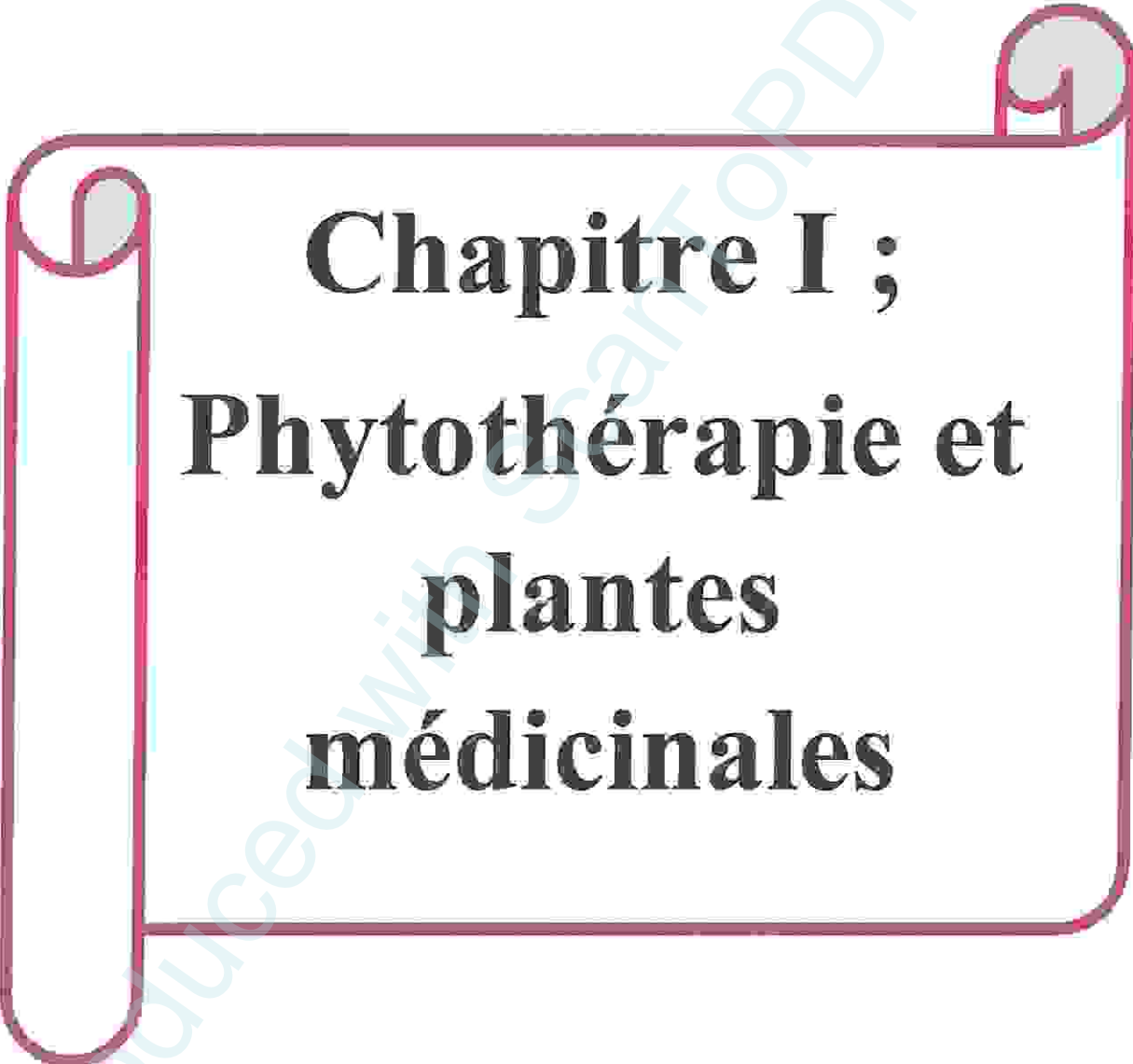
Malgré que le concept du stress oxydant ne date que de quelques dizaines d'années, plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés anti-oxydantes remarquables. Ceci vient du fait que le stress oxydant est impliqué dans un grand nombre de maladies humaines et que l'idée derrière l'utilisation de plusieurs recettes traditionnelles est non le traitement des maladies mais leur prévention ainsi que de faire face au vieillissement.

Les substances naturelles douées d'activité antioxydante présentent un intérêt socioéconomique peut être sans équivoque dans le domaine de la recherche bio pharmacologique. Plusieurs laboratoires à travers le monde se sont orientés vers ce type de recherche des substances bioactives et leur valorisation.

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche dont l'objectif essentiel consiste à vérifier l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de la plante *Zygophyllum album* connue en Algérie sous le nom, Aagaya. Cette plante endémique au Sahara algérien est utilisée traditionnellement pour traiter le diabète.

Dans ce présent travail nous avons fixé les étapes suivantes :

- Préparation de l'extrait hydroalcoolique et aqueux de la partie aérienne de la plante *Zygophyllum album*.
- Evaluation de l'effet scavenger du radical DPPH *in vitro*.



**Chapitre I ;
Phytothérapie et
plantes
médicinales**

I. Phytothérapie :

I-1-Introduction

A travers des siècles passés, l'homme a connu plusieurs maladies. Il a toujours cherché à traiter, à guérir ou à calmer ses douleurs. Sa souffrance lui a poussé à trouver des solutions. Mais quelles solutions ? Ce sont des remèdes naturels, d'origine animale, végétale ou minérale, des thérapies manuelles ou spirituelles. C'est la médecine traditionnelle ou la médecine populaire

Plusieurs horizons s'ouvrent dans ce sens dont la thérapie par les plantes « la Phytothérapie » qui signifie le traitement par des herbes ayant des propriétés thérapeutiques que l'on appelle alors plantes médicinales.

I-2-Phytothérapie:

En étymologie : le terme « phyto » de phytothérapie provient du grec ancien avec le terme plus précis de « phyton » et signifie « végétal » .la phytothérapie est donc la « thérapie par le végétal ou par le monde végétal » aujourd'hui nous considérons davantage la phytothérapie comme la « thérapie par les plantes », qui utilise l'action des plantes médicinales, qu'elles soient encore fraîches, ou volontairement séchées. On les utilise en infusions, décoctions, dans des bains, ou encore macérées dans de les huiles (Eddouks et al, 2007)

Aujourd'hui, l'efficacité prouvée et les bienfaits incontestables de la phytothérapie pour notre santé lui ont permis d'entrer dans nos vies de tous les jours (Gildo, 2006).

En phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches ou, beaucoup plus fréquemment, sèches. C'est en général une partie bien précise de la plante qui est employée, en conformité avec les préconisations des Pharmacopées (racine, feuille, fleurs, etc.), la composition chimique d'une plante étant rarement uniforme. Ces parties de plantes, entières ou finement broyées dans un sachet-dose (*alias* infusette), sont utilisées pour l'obtention d'une tisane que l'on peut préparer par infusion (on verse de l'eau chaude sur la plante), par macération (la plante est laissée plus ou moins longtemps au contact de l'eau froide), ou par décoction (la plante est laissée plus ou moins longtemps au contact de l'eau portée à ébullition (01).

Des procédés plus récents permettent de fabriquer des formes plus « modernes », en particulier des poudres, qu'elles soient obtenues par un broyage classique ou par cryobroyage. Ces poudres totales, qui peuvent ensuite être conditionnées sous la forme de gélule. Cela n'est pas faux, mais cela doit être pris en compte en termes de sécurité : leur composition diffère de celle des tisanes traditionnelles (qui ne comportent en principe que les substances hydrosolubles de la plante), et l'on s'écarte donc de « l'usage traditionnel bien établi ». On ne peut donc pas exclure qu'elles conduisent à l'absorption de substances toxiques (ou à des concentrations trop élevées en actifs). C'est, entre autres, pour cette raison que la réglementation en vigueur en France demande, dans le cas des médicaments à base de plante (*alias* phytomédicaments, ou médicaments de phytothérapie) enregistrés auprès de l'Afssaps, que soit réalisée une expertise toxicologique minimale. (01).

Un autre procédé, l'extraction, permet l'obtention d'une forme pulvérulente (extrait sec, atomisé), pâteuse (extrait mou) ou liquide (extrait fluide, teinture, teinture-mère) concentrée en principes actifs. Après le broyage de la plante, la poudre obtenue est traitée par un solvant, par simple contact ou par lixiviation. On utilise généralement de l'eau ou un alcool, ou un mélange hydro-alcoolique de titre variable, le plus souvent à chaud. Le solvant est choisi en fonction de la solubilité des principes actifs recherchés. Cette extraction permet d'isoler tous les actifs et de conserver leur éventuelle synergie d'action. Le liquide (soluté) ainsi obtenu est ensuite filtré afin d'éliminer le résidu insoluble (Marc, 2002). Puis une phase d'évaporation généralement sous vide pour éviter une élévation trop forte de la température.

- élimine tout ou partie du solvant. La forme ainsi obtenue :

- ° est une forme concentrée en principes actifs ;
- ° peut être ajustée à une teneur fixe en principe actif (pour assurer une reproductibilité de l'action) ;
- ° peut être incorporée dans une forme galénique permettant un usage aisé, y compris en ambulatoire (gélules, comprimés, solutions, etc.) buvables. (01)

On dénombre encore les teintures mères homéopathiques, les macéras glycérolés de bourgeons, les ampoules buvables et les huiles essentielles qui constituent une discipline distincte, l'aromathérapie. (01).

I-3-L'avenir de la phytothérapie

La phytothérapie reste le moyen de se soigner le plus utilisé dans le monde. Ceci pour des raisons culturelles, mais aussi pour une raison plus simple : nombreux sont ceux qui n'ont pas les moyens (notamment financier) de se procurer des médicaments.

On peut compter sur son évolution dans le futur:

- De nouvelles espèces de plantes sont encore à découvrir, actuellement les biologistes ne savent même pas combien d'espèces de plantes existent sur terre.
- De très nombreuses plantes n'ont jamais été analysées ou utilisées.
- Certains principes actifs des plantes n'ont pas encore été synthétisés et sont donc disponibles que par la phytothérapie (02).

II- Les plantes médicinales:

Si l'on ne sait pas précisément ce que nos ancêtres mangeaient au début de l'humanité il y'a 5 à 7 millions d'années, il est certain que les plantes faisaient partie de leur alimentation quotidienne. Ils découvraient très tôt dans leur évolution que ces plantes ne représentaient pas uniquement une source d'alimentation mais pouvaient également soulager voire guérir certaines maladies.

En général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement basé de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicales que nutritives. (Iserin, 2001).

Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (Hans, 2007). Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y'a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon OMS (Organisation Mondiale de la Santé) plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (Farusworth et al., 1986). En effet sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (Millogo et al., 2005), les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie

pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans nombreuses prescriptions contre les rhumes (Iserin et al., 2001).

Donc les plantes sont dites médicinales, lorsqu'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques, pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. On n'utilise généralement qu'une partie de la plante ; la racine, la feuille, la fleur, la graine ..., la plus riche en principe actif. Fraîche ou desséchée cette partie est appelée drogue végétale ou tout simplement drogue (Brunton, 1999). (Figure 01).

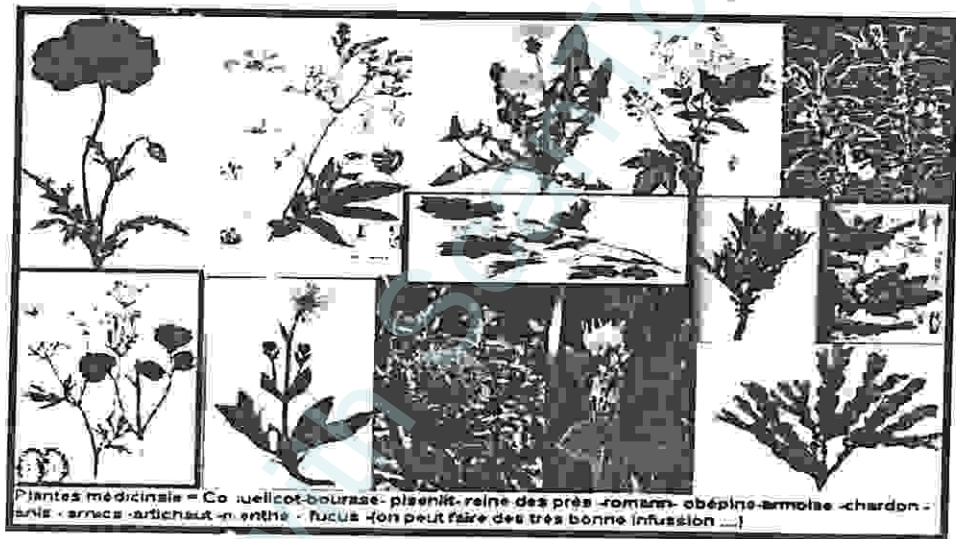


Figure 01 : Quelques plantes médicinales(03).

II-1-Principes actifs des plantes :

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pour-cent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel. De nombreux médicaments renferment des principes actifs extraits des plantes. La coumarine, que l'on retrouve dans le Mélilot, entre dans la composition de nombreux médicaments anticoagulants. Il est donc nécessaire de réaliser une extraction qui va isoler la seule fraction intéressante de la plante et vous dispensera d'absorber les éléments inactifs de celle-ci. Ainsi, on disposera sous un volume très restreint, de l'essentiel du végétal. De plus, libérés de leur support végétal, les principes actifs sont mieux et totalement assimilés par l'organisme. De tous temps d'ailleurs, depuis que l'on utilise les plantes en médecine, on a traditionnellement procédé à l'extraction de leurs principes actifs selon des méthodes très diverses (04).

II-1-1- Les Phénols :

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les phénols sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales et antiseptiques (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

a- les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Ils ont une puissante activité anti-inflammatoires, antivirales et Antioxydante (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

b- les Tanins:

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour «tanner» les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour rendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

II-1-2- Les Huiles essentielles :

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes, se sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique (Iserin, 2001; Bruneton, 1999). Les huiles essentielles ont de multiples propriétés, elles sont largement employées en parfumerie. L'utilisation des huiles essentielles, que ce soit par voie interne ou externe doit se faire avec la plus grande prudence; l'utilisation mal maîtrisée des huiles essentielles peut avoir des effets toxiques extrêmement graves. Certaines huiles essentielles peuvent provoquer des effets allergènes ou irritants (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

II-1-3- Les Saponines:

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (oestrogène, cortisone) (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

II-1-4-Les Polysaccharides :

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages «visqueux» et les graines. Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés, par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse. La meilleure façon de préparer les herbes mucilagineuses comme l'orme rouge (*Ulmus rubra*) et le lin (*Linum usitatissimum*) est de les gorger d'eau froide (de les faire macérer) (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

II-1-5-Les Alcaloïdes

Les Alcaloïdes sont des molécules azotées d'origine naturelle qui peuvent avoir un effet pharmacologique. On trouve des alcaloïdes, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Habituellement les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés. Beaucoup d'alcaloïdes sont toxiques (comme la strychnine ou la conitine). Cependant, certains sont employés dans la médecine pour, par exemple, leurs propriétés analgésiques (comme la morphine ou la codéine) ou dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie) (Perroti et al., 1999).

II-1-6- Les Vitamines :

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte (*Daucus carota*) est riche en β -carotène (provitamine A).

Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*), par exemple, contient des doses considérables de vitamine B1, B2, C et E et de β -carotène tandis que l'argousier (*Hippophae rhamnoides*)

peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral en tant que tel. (Iserin, 2001; Bruneton, 1999).

II-1-7-Les sels minéraux

Certaines plantes contiennent de grandes quantités de sels minéraux. Le pissenlit, par exemple est très riche en potassium; on peut citer notamment les graines de sésame; riches en calcium, le persil; riche en fer, les graines de citrouille; riches en zinc, le cresson; riche en phosphore (2).

II-2-Les effets biologiques et pharmacologiques des plantes médicinales

II-2-1-Activité antimicrobienne, antivirale et antiparasitaire :

Les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques ex: la quinine obtenue à partir du quinquina « *cinchona* », est employée avec succès pour traiter la malaria (Dostidar et al., 2004), le thé (*Moluccuca alternifolia*) est renommé pour ses propriétés antibactériennes, anti-infectieux, antifongiques et antivirales (Amjed, 2005; Lyons et Nanbiar, 2005).

Tableau 01 : Les bienfaits de quelques plantes médicinales (01)

plantes	propriétés
Camomille	Relaxante digestive anti-inflammatoire
Cannelle	carminative réchauffante
Sureau	diaphorétique
Lime	relaxante, digestive, antidépressive
Menthe	relaxante, analgésique
Poivrée	antispasmodique et digestive
Tilleul	expectorante, diaphorétique

II-2-2-Activité antioxydante des plantes médicinales :

Plusieurs plantes médicinales ont des activités antioxydantes puissantes, tels le thé noir, le thé vert et le cacao qui sont riches en composés phénoliques comme la théaflavine (Tableau

02), le resveratrol, le gallate et l'épigallocatechine procyanidine très étudié en raison de leur rôle en tant qu'agent chimopréventifs basés sur leurs capacités antioxydants (Lee et al.,2003). D'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles de romarin, sauge, thym, origan sarriette, clou de girofle gengenlore et curcuma (Cuvelier, 1996).

L'ail contient différents composés antioxydants tels que les flavonoïdes (Miean et Mohamed, 2001) les tocophérols (Gorinstrin et Drzewiecki, 2005) et les composés sulfurés (Lee et Rottana, 2006) la consommation d'ail frais (cru ou cuit) augmenterait l'activité antioxydante chez les rats (Gorinstein et lea, 2006; Cao et al., 1996; Vinson et hao, 1998).

Tableau 02 : Exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-oxydantes. (Moon et Shibamoto, 2009).

Nom scientifique	Nom commun	Méthodes testées	Composés actifs
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Réglisse	TBA, MA / GC	glycyrrhizine
<i>Zingiber officinalis</i>	Gingembre	DPPH	6 - gingerdiols
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomates	FRAP	rutine,acide ascorbique, acide chlorogénique, lycopène
<i>Glycine max</i>	Soja	ACA, MA / GC	eugenol,maltol ,alcool benzylique
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym	TBA, FRAP	thymol, carvacrol, terpinène
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	Diène conjugué	Acide carnosolique
<i>Zanthoxylum piperitum</i>	Poivre noir	TBA, DPPH	arbutine, magnoflorine
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalyptus	MA / GC, ACA	1,8-cineole, benzaldehyde
<i>Syzygium aromaticum</i>	Giroflier	MA/GC, ACA	eugénol, eugenyl acétate
<i>Vitis vinifera</i>	Raisin	S-carotène / acide linoléique	Composés phénoliques

L'activité est confirmée par les tests : acide thiobarbiturique (TBA), dosage de malonaldehyde par Chromatographie en phase gazeuse (MA/GC), 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), pouvoir réducteur du fer / pouvoir antioxydant (FRAP), aldéhyde / acide carboxylique (ACA) et diène conjugué.

III-La plante médicinale choisie

III-1-Introduction :

Il est généralement estimé qu'il y a environ 300.000 espèces de plantes supérieures (Lui, 2004), cependant certains reportent le nombre à 250.000. D'autres estiment que le nombre est aussi élevé que 500.000, cette disparité du nombre est particulièrement liée à la différence de philosophie systématique chez les botanistes et la grande diversité des environnements et les forêts tropicales où on peut rencontrer des espèces nouvelles de plantes, continuellement.

Parmi ces 300.000 espèces de plantes, environ 1% ; soit 3000 ont été utilisés pour nourriture, dont environ 150 ont été commercialement cultivées. 10.000 de ces plantes ont été documentées pour l'usage médicinal (James et al., 2007). Ces 10.000 espèces sont décrites et nommées suivant la nomenclature introduite en 1753 par Karl Von Linné, elles sont regroupées dans 300 familles différentes (Roland, 2005).

La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques (Quezel et Santa, 1963), reste très peu explorée sur le plan phytochimique ainsi que pharmacologique.

Dans notre travail, nous nous allons intéresser à la famille des *Zygophyllaceae*.

III-2-La famille des zygophyllaceae :

Les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes, arbustes, ou arbres, elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes. Les fleurs de 4 à 5 mères, isolées ou inflorescences, la corolle, est également de 4 à 5 mères, et parfois nulle. Généralement, ces plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, à un ou plusieurs ovules par loge. Ses fruits, sont en général, capsulés, loculicides, ou septicides, se dissociant en coques, parfois bacciformes, ou drupacés (Quezel et Santa, 1963).

III-2-1-Classification :

Les zygophyllacées, dans la classification de Sheahan et Chase, constituent une famille avec environ 285 espèces, qui se subdivisent en cinq sous-familles et 27 genres (Sheahan et Chase, 1996). Elles sont largement distribuées dans les régions arides, semi-arides, les terrains salés, et les pâturages désertiques (Sheahan et Chase, 2000).

Les Zygophylloideae, constituent la sous famille la plus large avec 180 espèces, regroupées en quatre genres: *Jugosa* (monotypique), *Tetraena* (monotypique), *Fagonia* (30 espèces), et *Zygophyllum* (150 espèces), de coté de quatre autres sous-familles: Larreoideae, Morkillioideae, Seetzenioideae et Tribuloideae (Takhtajan, 1996).

III-2-2-Les effets biologiques et pharmacologiques de la famille Zygophyllaceae

Beaucoup d'espèces de cette famille ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisés en médecine traditionnelle. Dans le tableau suivant, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance thérapeutique (Tableau 03).

Tableau 03: Les effets biologiques et pharmacologiques des différentes espèces de la famille Zygophyllaceae

Les espèces	Propriétés	Références
<i>Balanites aegyptiaca</i>	<ul style="list-style-type: none"> *Anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-nociceptives. *Antifongiques. *Antiseptiques, anti-malaria, anti-syphiliques et antivirales. *Ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement de la jaunisse et le diabète. 	<p>(Hill, 2002)</p> <p>(Schulz et al, 2003)</p> <p>(Bruneton, 1993)</p>
<i>Larrea divaricata</i>	<ul style="list-style-type: none"> *Traitement des tumeurs : des maladies inflammatoires, des rhumatismes et de la fièvre. 	<p>(Tsao et Coats, 1995)</p> <p>(Murakami et al, 2004)</p> <p>(Han, Y., 2005)</p>

Les espèces	Propriétés	Références
<i>Larrea tridentata</i>	*Soigner l'acné et les psoriasis, *des effets cicatrisants, anti-fongiques anti-viraux, Analgésiques, anti-inflammatoires et anti oxydantes.	(Hill,R.A. ,1993) (Chappell et al, 1995)
<i>Peganum harmala</i> :	traitement de diabète et l'hypertension artérielle.	(Tahraoui et al, 2007)
<i>Zygophyllum eichwaldii</i> :	anti-septiques, anti-eczéma, anti-diabétiques, anti-bactériennes et antifongiques.	(Sasmakov et al, 2001)
<i>Zygophyllum coccineum</i> :	traitement de rhumatisme de la goutte de l'hypertension, et du diabète	(Saber et al, 1960) (Eskander et Won Jun, 1995)
<i>Zygophyllum gaetulum</i> :	*Antidiabétiques, Anti-spasmodique, anti-eczéma et un bon remède pour l'estomac.	(Jaouhari et al, 2000) (Bellakadhar et al, 1981)
<i>Zygophyllum album</i> :	*Traitement des diarrhées *Antidiabétique *Anti-septiques	(Maiza et al, 1993) (Meng et al, 2002) (Atta et Mouneir, 2004)
<i>Zygophyllum geslini</i> :	*Antidiabétique *Activités cytotoxiques	(Smati et al, 1993) (Smati et al, 2004)

III-2-3-Les métabolites secondaires isolés de la famille Zygophyllaceae

III-2-3-1-Les alcaloïdes:

Le terme alcaloïde a été introduit pour la première fois par le pharmacien allemand Meissner (Bruneton, 1999). Les alcaloïdes représentent un groupe très vaste de métabolites secondaires avec structure, distribution et activités biologiques diverses (Milcent et Chau 2003).

Ils sont extraits en majorité (15%-30%) des plantes à fleurs (Kapoor, 1995). En effet, environ 10.000 alcaloïdes de structures différentes ont été isolés à partir de plusieurs plantes regroupés en ~300 familles (Raffauf, 1996), on peut trouver 40 alcaloïdes dans la même plante par exemple : *Viola major* (Pengelly, 2004).

Concernant la famille des zygophyllaceae, la production d'alcaloïdes est signalée chez plusieurs espèces citant comme exemple, l'espèce *Peganumharmala* (Figure 02). (Berrougi et al., 2006).

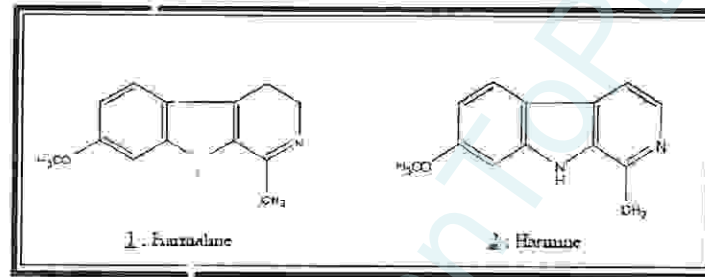


Figure 02: Structures chimiques de quelques alcaloïdes isolés de *Peganumharmala* (Berrougi et al., 2006).

III-2-3-2-Les composés flavoniques :

Ces composés sont largement présents dans les plantes, on y trouve comme des pigments de couleur jaune et blanche (latin Flavus = Jaune). La rutine a été découverte dans l'espèce *Ruta Citravelens* en 1842; elle est ensuite connue comme la vitamine P.

Les flavonoïdes peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de la plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (Pengelly, 2004).

Ces composés phénoliques sont isolés à partir de nombreuses plantes appartenant à la famille des zygophyllaceae (Tableau 04).

Tableau 04 : Quelques composés flavoniques isolés d'espèces de la famille zygophyllaceae

Nom de l'espèce	Nom de produit isolé	Références
<i>Balanites aegyptiaca</i>	Quercetine-3-O-glucoside Quercetine-3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-glucoside Isorhamnetine-3,7-diglucoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-rhamnogalactoside	Maksoud, El Hadidi, 1988.

Nom de l'espèce	Nom de produit isolé	Références
<i>Fagonia arabica</i>	Isorhamnetine-3-O-glucoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside Herbacetine-3-O-rutinoside Herbacetine-3,7-diglucoside Herbacetine-3-O-rutinoside-7-O-glucoside	El-Negoumy et al., 1986.
<i>Fagonia tristis</i>	Kaempferol-3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside 8-méthoxy herbacetine	Ibrahim, L et al., 2008.
<i>Larrea tridentata</i>	3,8,4'-triméthoxy herbacetine 5,7,4'-trihydroxy-3,8,3'-triméthoxyflavone 5,7,4'-trihydroxy-3,8-diméthoxyflavone Apigénine (+)-dihydroisorhamnetine Isokaempferide	Al-Wakeel, S et al., 1987.
<i>Nitraria retusa</i>	Isorhamnetine-3-O-4-rhamgalactosylrobinobioside Isorhamnetine-3-O-robinobioside Isorhamnetine-3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-galactoside Isorhamnetine-3-O-glucoside Isorhamnetine-3-O-xylosyl-robinobioside Isorhamnetine	Abou-Gazar, H et al., 2004.
<i>Peganum harmala</i>	Acacetine-7-O-rhamnoside Acacetine-7-O-[6'-O-glucosyl-2''-O-(3''-acetylrhamnosyl)] glucoside Acacetine-7-O-(2''-O-rhamnosyl-2''-O-glucosyl)glucoside)	Ibrahim, L et al., 2008.
<i>Zygophyllum dumosum</i>	Kaempferol	Ouf, S.A et al., 1994.
<i>Zygophyllum simple:</i>	Isorhamnetine Isorhamnetine-3-O-glucoside Isorhamnetine-6''-(2-E-butenoyl)-3-O-glucoside	Hassanean et Desoky, 1992.

III-2-3-3-Les lignanes :

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936 (Raffaelli et al., 2002). Les lignanes sont les dimères des unités de phenylpropane (C6C4) (Pengelly, 2004). Ils sont isolés à partir de nombreuses plantes médicinales, les travaux phytochimiques effectués sur la famille zygophyllaceae, ont permis l'isolement de ces métabolites essentiellement de l'espèce *Larrea Tridentata* (Lambert et al., 2005). (Tableau 05).

Tableau 05 : Quelques structures des lignanes isolé de l'espèce *Larrea Tridentata*

Nom de l'espèce	Nom du produit isolé	Références	
<i>Larrea tridentata</i>	(7S, 8S, 7'S, 8'S)-3,3',4'-trihydroxy-4-methoxy-7,7'-epoxylignane.	Abou-Gazar et al., 2004.	
	Méso-(rel 7S, 8S, 7'R, 8'R)-3,4,3',4'-tetrahydroxy-7,7'-epoxylignane.		
	(E)-4,4'-dihydroxy-7,7'-dioxolign-8(8')-ene		
		3,4'-dihydroxy-3',4'-dimethoxy-6,7'-cyclo-lignane	Lambert et al., 2005.
		3'-demethoxyisoguaiacine	
		4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxy-6,7'-cyclo-lignane	
		4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxylignane	
		3',4'-dihydroxy-3,4'-dimethoxylignane	
		3,3'-dihydroxy-4,4'-dimethoxylignane	
	3' hydroxy-3,4,4'-trimethoxylignane		

III-2-3-4-Les triterpénoïdes :

Les triterpènes sont des composés dérivés de leur précurseur en C30, le squalène, qui a été isolé initialement du foie de requin (Bruneton, 1995). Ils sont largement distribués dans les deux règnes végétal et animal (Pengelly, 2004). Ces métabolites sont isolés de nombreuses plantes appartenant à la famille zygophyllaceae (Xue et al., 1988).

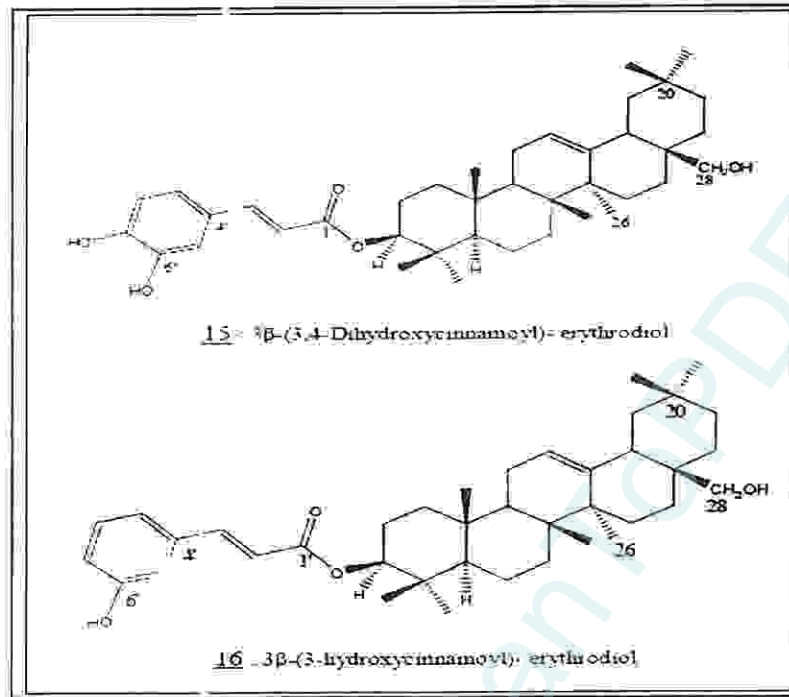


Figure 03 : Exemples des triterpènes isolés d'espèces de la famille zygophyllaceae (Lambert et al., 2005)

III-3-Etude de la plante *Zygodphyllum album*

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant; *Zygodphyllum album* est l'une des plante médicinales utilisée en médecine traditionnelle en Algérie (Tableau 06, figure:04).

Tableau 06:La classification botanique de *Zygodphyllum album* (Rimbau et al., 1999).

Classification	
Règne :	Plante
Division :	Magnoliophyta
Class :	Magnoliopsida
Ordre :	Zygodphyllales
Famille :	Zygodphyllaceae
Genre :	Zygodphyllum
Espèce :	<i>Zygodphyllum album</i>

Le *Zygodphyllum album* est une espèce très répandue dans le Sahara d'Algérie. Plusieurs espèces de même genre partagent avec le *Zygodphyllum album* le nom vernaculaire

de Agaya telles que *Ziconutum* (Baba Aissa, 1999), *Zgaetulum* et *Zwaterlot* (Jouad et al., 2001; Eddouks, 2002).

Cette plante est très utilisée dans la médecine traditionnelle Algérienne et surtout par les diabétiques (Jouhari et al., 2000). Notre travail vise à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique de cette plante.

III-3-1-Description morphologique:

Un arbuste vivace de taille moyenne (50 cm), ramifiés, à rameaux blanchâtres, à petites feuilles charnues et composées de deux folioles charnues (stipules) à la base. Les fleurs sont portées sur un petit pédoncule velu, sont minuscules (5 mm), ovoïde, avec 5 pétales blancs (Figures 04), et le fruit a une base tubulaire s'élargit vers le haut avec cinq lobes et est environ 2 cm de long. Il fleurit habituellement au printemps, mais a été observée en fleur à l'automne (Maire, 1940).

Le pédoncule est fructifère, aussi long que le fruit. La portion libre des carpelles est trois à quatre fois courte que la portion soudée, faisant à peine saillie (Ozenda, 1977).

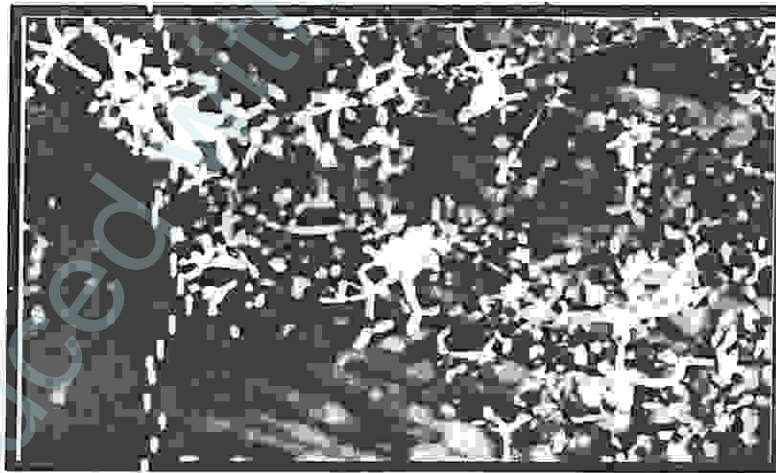


Figure04 : *Zygophyllum album* de la région d'Adrar (Salima Benhouhou, 2003).

III-3-2-Répartition géographique:

La plante *Zygophyllum album* est endémique au sud du Maroc et de la Nord-Ouest du Sahara algérien. Elle pousse sur des sols salins sableux limoneux (figure 05), la plante pousse dans des conditions climatiques sévères avec une pluviométrie moyenne de 100 mm par an.

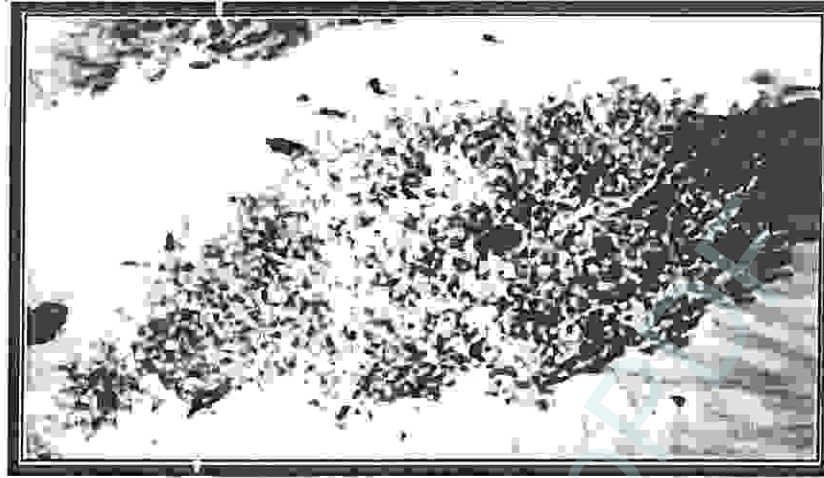


Figure 05 : *Zygophyllum album* (Répartition géographique) (Benhouhou, 2003).

En raison de son être intensément recueillies, il est probable qu'elle est en voie de disparition dans un avenir proche. Des mesures de conservation appropriées pour cette plante sont donc un besoin urgent (Rimbau et al, 1999).

Parties utilisées:

Les feuilles et les fleurs sont récoltées au printemps et automne et peuvent être utilisées sous forme d'infusion, de décoction, ou bien en poudre soi seul soi mélangées avec d'autres plantes. Une décoction des feuilles séchées, ou en poudre, et une perfusion des fleurs sont le principal moyen de préparation. La plante peut être pris par voie orale ou locale (Rimlau et al., 1999).

III-3-3-Constituants chimiques:

L'étude préalable réalisée a montré que l'on disposait que peu d'informations de nature chimique et/ou biologique concernant les espèces zygophyllum. Les composés que pourraient contenir un extrait brut sont des flavonoïdes, des aminoacides, des terpènes, des cires et des tannins.

Les majeurs composés décrits chez les espèces du genre *Zygophyllum* sont le zygophylline, l'acide quinovique, les glycosides, certains isoprénoïdes: les alcaloïdes, les saponosides à génines stéroïdiques et triterpénique, en plus d'autres composés phénoliques comme les flavonoïdes, les tannins et les coumarines (Smatti et al., 20004; Hani et al., 2005; Ahmed et al., 1992; Newman et al., 1974; Markham et al., 1982; Pöllman et al., 1997).

- **Les flavonoïdes:** qui sont testés par quelques gouttes d'HCL concentré et une quantité de tournures de magnésium où la présence des flavone aglycone est confirmés par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (Karumi et al., 2004).
- **Les tanins:** ces éléments sont testés par la solution de FeCl3 à 2% et un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (Karumi et al., 2004).
- **Les saponosides:** le test phytochimique est réalisé par plusieurs réactifs telle que la solution chloroformique, l'acide sulfurique concentré, La formation d'une mousse persistante confirme la présence des saponosides (Karumi et al., 2004)
- **Les polysaccharides:** cette plante contient une quantité Considérable des polysaccharides (Bouhalit, 2011).

En plus de ces éléments *Zygophyllum album* comporte d'autres composants (Tableau 07).

Tableau 07: Les études des tests phytochimiques réalisés sur trois extraits (extrait éthanolique, extrait aqueux, extrait étherique) de *Zygophyllum album* et sur la plante entière (Medjdoub, 2006). *

Composants	Résultats obtenus
Tanins	+ avec l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux
Saponosides	Deux test de détection et de caractérisation de cette famille de composé ont été réalisés révèlent la présence des hétérosides stéroïdiques et triterpénique au niveau des trois extraits
Flavonoïdes	+ avec l'extrait éthanolique.
Composants réducteurs	+ avec l'extrait éthanolique et aqueux. + Anthraquinones: + avec l'extrait éthanolique, + anthocyanosides: - avec l'extrait éthanolique. + Coumarines: +test réalisé sur la plante humide
Alcaloïdes	- avec l'extrait éthanolique + avec l'extrait aqueux? Alcaloïdes sels + avec l'extrait éthanolique? Alcaloïdes

Composants	Résultats obtenus
Amidon	- réalisé sur la plante entière
anthraquinone	- réalisé sur la plante entière
Huiles volatiles	+ réalisé sur l'extrait étherique
Acides gras	+ réalisé sur l'extrait étherique
Emodols	- réalisé sur l'extrait étherique

+ Résultat positif - Résultat négatif

III-3-4 -Actions pharmacologiques:

Zygophyllum album est utilisé en médecine traditionnelle comme remède de différentes affections (Paris et Moyse, 1976-1981). Elle est aussi très utilisée au Maroc contre le diabète sucré. Des études réalisées sur cette plante montrent que l'extrait aqueux peut diminuer la glycémie des rats rendus diabétiques (Jaouhari et al., 2000). Elle est efficace non seulement dans le cas de diabète type I mais aussi dans le cas de diabète type II (Jaouhari et al., 1999). Une autre étude a montré que le *Zygophyllum cornutum*, Aggaya de la Tunisie, est très efficace contre le diabète provoqué chez les lapins (Perez et Paris, 1958).

Rimbau et al., (1999) ont montré qu'el Aggaya a des activités anti-oxxydantes et anti-inflammatoires très intéressantes.

III-3-5-Utilisation traditionnelles et locale:

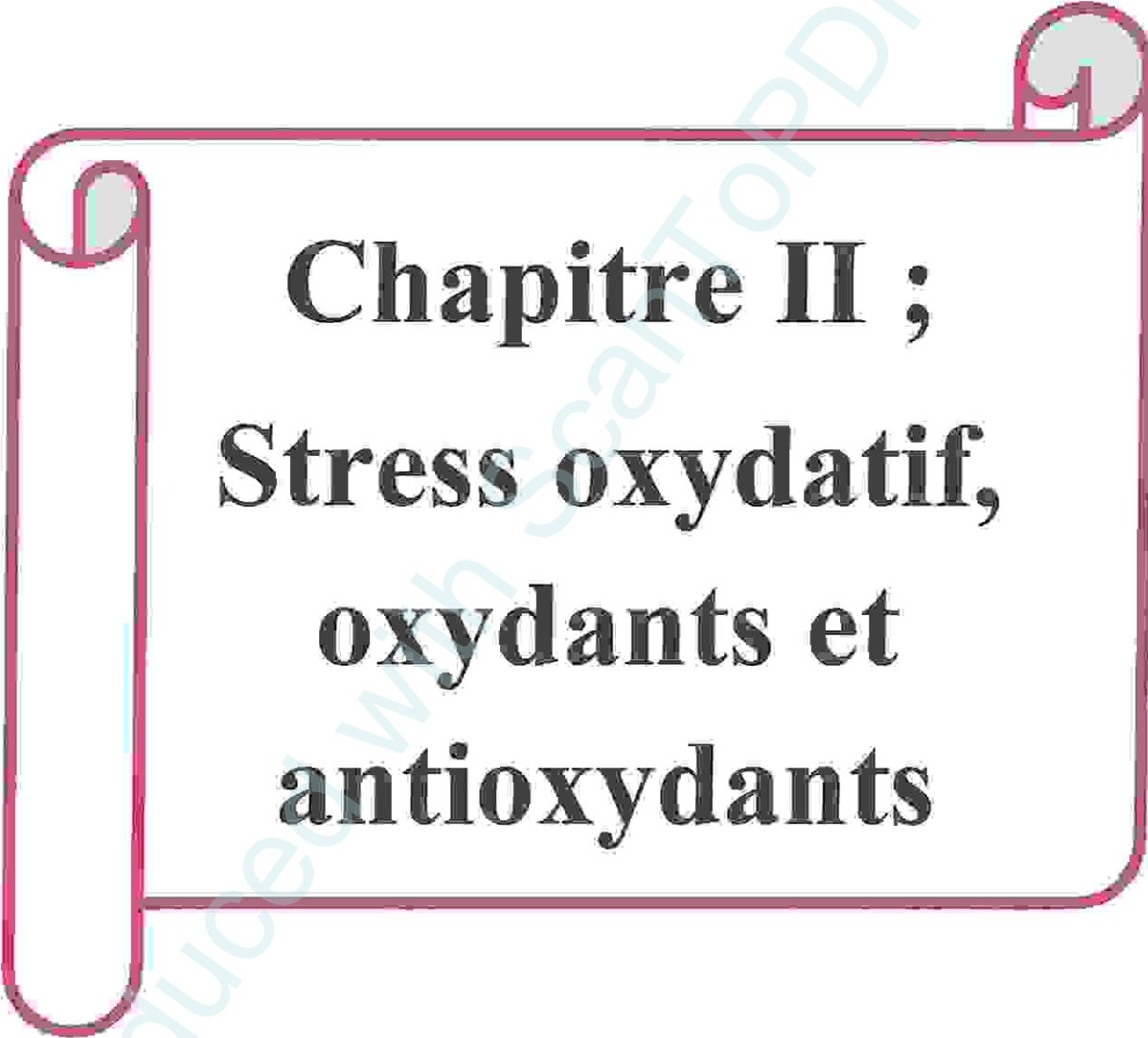
Zygophyllum album est employé pour le diabète, l'eczéma, les douleurs de l'estomac et les problèmes hépatiques. Les têtes des fleurs séchées sont utilisées pour faire une boisson rafraîchissante ou ajoutée au thé (Rimbau et al., 1999).

Dans la région d'Oued Dra et la région de Tarfaya (Sahara occidental) la tisane des feuilles séchées sont utilisées par voie orale pour calmer les douleurs de l'estomac ou en cas du foie gonflés par un excès de bile. Les feuilles broyées finement en poudre sont appliquées localement en cas de blessure, elles agissent comme un hémostatique. Elles sont utilisées par les nomades pour traiter les problèmes d'eczéma et de la peau et pour les rhumés (Rimbau et al., 1999).

En Tissint et Tata (Maroc), des suppositoires sont fabriqués à partir des feuilles de *Zygophyllum album* auxquelles on ajoute l'ail, graines de nigelle, la racine de coloquinte et de la pâte date (Bellakhdar, 1997) pour traiter le diabète.

Dans le Sahara occidental, une infusion de fleurs *Zygophyllum* est utilisée dans les bains des nourrissons comme lotion antiseptique pour l'hygiène et de soins du corps du bébé. La plante est utile aussi pour soulager quelques problèmes de l'oreille (exemple l'otite) et pour la fatigue oculaire (la vue brouillée) (Rimbau et al., 1999).

Produced with ScanTOPDF



**Chapitre II ;
Stress oxydatif,
oxydants et
antioxydants**

Introduction :

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « Stress Oxydatif », que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines. Qu'en est-il exactement ? Est-ce une mode ou une réalité, et dans ce cas, pouvons-nous trouver de nouvelles armes médicamenteuses pour lutter contre ce phénomène ?

I- Définition du stress oxydatif :

Selon les points de vue actuels, le stress oxydatif peut être défini comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants (Baskin et al., 1994; Barouki, 2006; Jenkins et al., 2007), c'est à dire un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (Durackova, 2008) et à des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles (Abuja et al., 2001; Pincemail et al., 1999)» (Figure 06).

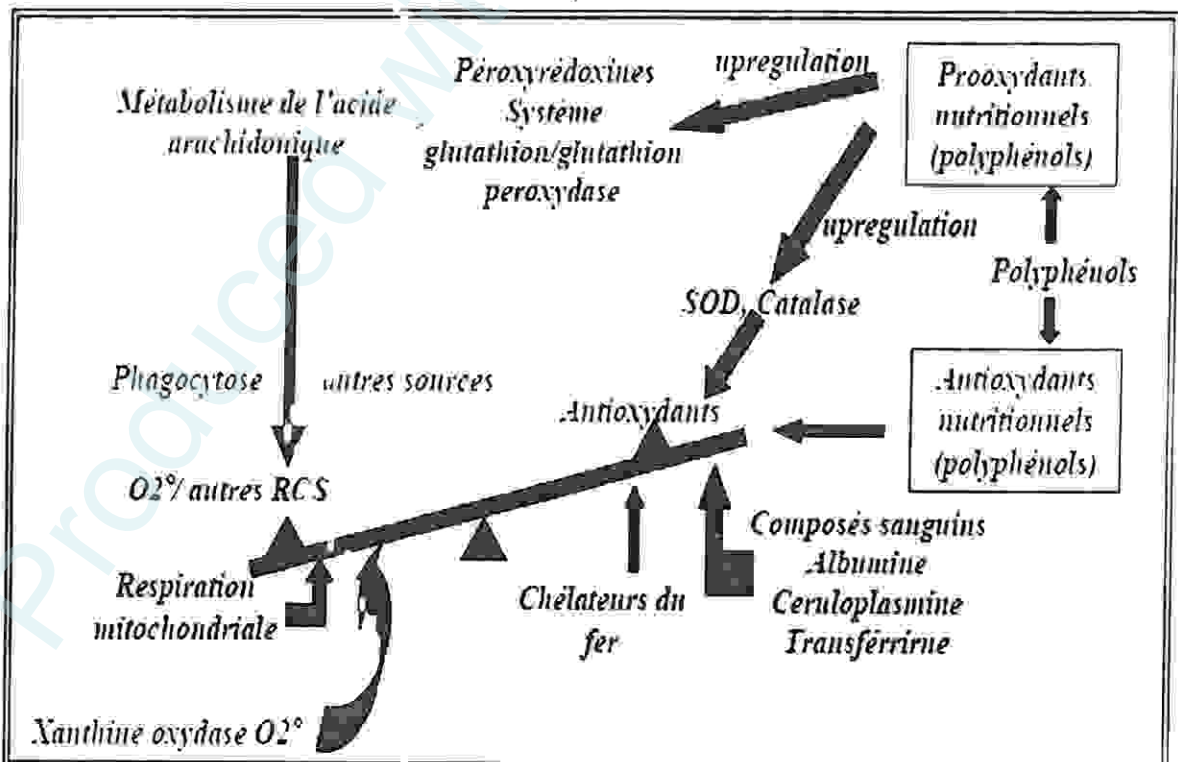


Figure06 : Déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les ROS in vivo (Halliwell, 2009).

II-Espèces oxygénées réactives

L'oxydoréduction est le transfert d'un ou plusieurs électrons d'un atome vers un autre. Un tel processus est nécessaire pour la vie en aérobie et pour notre organisme, puisque l'oxygène est l'accepteur ultime d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire pour former de l'énergie sous forme d'ATP (Durackova, 2008). Plusieurs autres réactions biologiques impliquent l'oxydation de substrats ou l'accepteur d'électrons est l'oxygène moléculaire. Cependant, dans le cas de transfert d'un nombre d'électrons impair, nous assistons à la formation d'espèces toxiques tel que le radical superoxyde, le radical hydroxyle et le monoxyde d'azote, ayant des électrons non appariés (célibataires), ce qui leur confère une réactivité importante (Kocchilin-Ramonatxo, 2006). Ces espèces toxiques sont appelées radicaux libres et font partie de la classe des espèces oxygénées réactives (EOR) ou reactive oxygen species (ROS) selon les anglo-saxons. Cette classe comprend en plus des radicaux libre, certains dérivés réactives non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxynitrite (Bartosz, 2003; Halliwell et Whiteman, 2004; Kehrer, 1993).

En toxicologie, les RL sont ceux qui existent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés de tissus (Kehrer, 1993). Lorsque l'un des systèmes protecteurs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (Durackova, 2008).

Du fait de leur caractère très électrophile, les espèces radicalaires vont tenter de rapatrier leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (Lehucher-Michel et al., 2001). La molécule agressée devient à son tour radicalaire et peut donc agresser d'autres molécules provoquant ainsi une perturbation de l'organisme (Kocchilin-Ramonatxo, 2006).

La toxicité des EOR n'est pas nécessairement corrélée avec leur réactivité. Dans plusieurs cas, des espèces peu réactives peuvent être à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur longue demi-vie qui leur permet de se diffuser et gagner des sites sensibles ou elles peuvent interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production (Kohen et nyska, 2002).

II-1-Les radicaux libres dans les systèmes biologiques

Dans les systèmes biologiques, les produits de la réduction à un, deux et trois électrons sont respectivement : Le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogene et le radical hydroxyle.

Ces trois ROS semblent participer à de nombreuses réactions essentielles pour les organismes aérobies (Kehrer, 1993). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes (Favier, 2003) :

***Les radicaux primaires**, qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\circ -}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . Ils jouent un rôle particulier en physiologie (Darley et al., 1995).

***Les radicaux secondaires**, se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

* **D'autres espèces dérivées de l'oxygène**, dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulier (O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de certains radicaux (Delattre, 2005). Les principaux ROS rencontrés en biologie sont montrés dans le (Tableau08).

Tableau 08 : Nature des différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (Delattre J, 2005).

Radicaux libres primaires	Dérivés oxygénés non radicalaires
$O_2^{\circ -}$ = Radical superoxyde,	$1/2O_2$ = Oxygène singulier
HO_2° = Radicale perhydroxyle	H_2O_2 = Peroxyde d'hydrogène,
$^{\circ}OH$ = Radical hydroxyle	$ONOOH$ = Nitroperoxyde
RO_2° = Radical peroxyde	$ONOO^{\bullet}$ = Peroxynitrite
RO° = Radical alkoxyde.	
NO° = monoxyde d'azote	

II-2-Sources des espèces oxygénées réactives:

Les EOR sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes (Tableau2). Sans vouloir faire du finalisme, nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi de signaux (Halliwell, 2006). (Tableau 09; figure 07).

Tableau 09:Principales sources des EOR (endogènes et exogène) (Halliwell, 2006; Durackova, 2008; Rees et al., 2008).

Sources endogènes	Sources exogènes
-NADPH oxydase.	-Toxines environnementaux.
-Chaîne respiratoire mitochondriale.	-Radiations ionisantes.
-Péroxyosomes.	- Radiations UV.
-Cytochrome P450.	-Champs électriques.
-Xanthine oxydase.	-Xénobiotiques prooxydants.
-Cyclo-oxygénases.	-Cytokines pro inflammatoires.
-Lipo-oxygénases.	-Tabagisme.
- Phagocytes.	-Chémiothérapie.
-Réactions des ions de transition.	-Ozone
-Inflammation	
- Etat d'ischémie-reperfusion	
-Atherogénèse	
-Hémodialyses	
-Exercices intensifs.	

la transcription des NADPH oxydase, NADPH cytochrome réductase et du cytochrome P 450 (Milane, 2004).

Des toxiques tels que le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$) et le dioxyde d'azote ($\text{NO}\cdot_2$), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels... ext.), participent à la genèse de radicaux libres. Ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires. Le $\text{NO}\cdot$ et le $\text{NO}\cdot_2$ peuvent aussi réagir avec l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires pour former de puissant oxydant : le peroxyde nitrite ($\text{ONOO}\cdot$) et le radical $\text{OH}\cdot$ (Pincemail et al., 1998).

Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides et herbicides) et médicaments (antibiotiques et anticarcérogènes) peuvent contribuer à la production des EOR qui se forment comme produits de leur métabolisme *in vivo* (Martinez-Cayuela, 1995).

Une partie des aliments consommés est oxydée et contient différents types d'oxydants tels que les peroxydes, les aldéhydes, les acides gras oxydés et les métaux de transition (Ames, 1986).

II-2-2- Sources endogènes :

Divers types cellulaires et tissus donnent naissance au EOR par des réactions enzymatiques ou par auto-oxydation au cours de leur métabolisme normal et parfois en réponse à un stimulus spécifique (Figure 08).

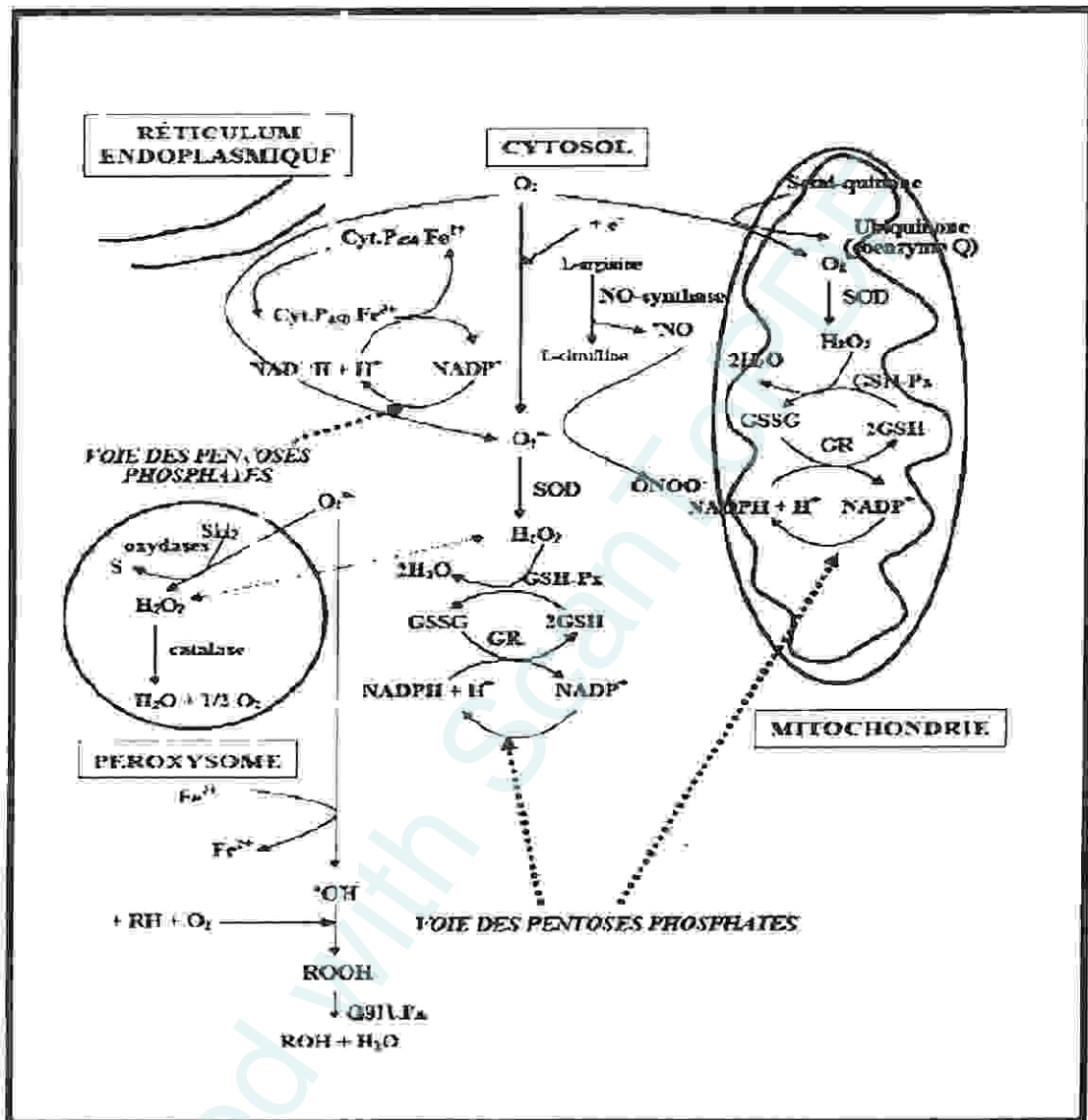


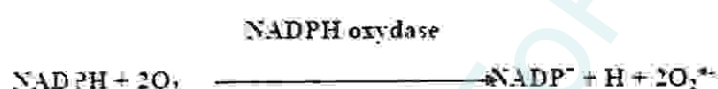
Figure 08 : Principales sources cellulaires des espèces oxygénées réactives (Bonnefont, 2003).

a) Chaîne respiratoire mitochondriale

Au cours du métabolisme normale, la chaîne de transport d'électrons mitochondriale est la source la plus importante de la production des EOR (Chen et al., 2003). Environ 5% de l'oxygène utilise par les mitochondries est partiellement réduit par des électrons qui s'échappent des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire. Une quantité d' $O_2^{\bullet-}$ est alors formée. Celle-ci peut être amplifiée avec l'augmentation du volume de l'oxygène consomme dans certaines situations tel que l'augmentation de l'intensité respiratoire durant l'exercice physique et lors des désordres inflammatoires ou nutritionnels (Bartosz, 2003).

b) Cellules phagocytaires

Les cellules phagocytaires activées au cours de l'inflammation constituent une source importante de radicaux oxygénés. Ces radicaux sont produits directement lors d'un phénomène appelé explosion oxydative qui consiste en l'activation du complexe enzymatique ; NADPH oxydase, capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire (Babior et al., 2002).



Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse car il permet la destruction des bactéries et des corps étrangers phagocytes (Favier, 2003). De même, la myeloperoxydase lysosomale des cellules phagocytaires participe dans ce processus par sa production du HOCl à partir du H₂O₂ et du Cl⁻ (Rodrigues et al., 2002).

c) Xanthine oxydase

La xanthine oxydase est une enzyme qui joue un rôle important dans le catabolisme des purines. Elle génère des EOR lors de l'oxydation de l'hypo xanthine en xanthine, et de la xanthine en acide urique (Harrison, 2002).



La production de EOR par la xanthine oxydase est faible dans les conditions physiologiques normales, mais joue un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion (Granger et al., 1981).

d) Cyclooxygénase et lipoxygénase

L'activation des phospholipases induit la libération de l'acide arachidonique des phospholipides membranaires. L'acide arachidonique est métabolisé par la cyclooxygénase et la lipoxygénase en prostaglandines et leucotriènes. Cette voie implique un transfert d'électrons qui pourrait initier la formation des EOR, principalement de superoxyde (Densiov et Afanas'ev, 2005).

e) Nitrique oxyde synthase

Le monoxyde d'azote (NO^\bullet) est une espèce radicalaire synthétisée à partir de l'arginine par l'enzyme nitrique oxyde synthase. Cette production est physiologique et joue un rôle majeur dans la neurotransmission, la régulation de la pression sanguine, les mécanismes de défense, la relaxation des muscles lisses et la régulation immunitaire (Valko et al., 2007).

Cependant, à une concentration élevée le NO^\bullet devient délétère pour les cellules notamment en réagissant avec le $\text{O}_2^{\bullet-}$ pour former un puissant oxydant, le peroxy-nitrite (ONOO^\bullet). Celui-ci peut se décomposer en d'autres oxydants comme le NO_2 et le OH^\bullet (Densiov et Afanas'ev, 2005).

f) Réticulum endoplasmique

Au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique, la chaîne de transfert d'électron fait intervenir des cytochromes P450 qui peuvent produire des EOR au cours des réactions de détoxification des drogues et d'autres produits métaboliques toxiques. Ces réactions prennent lieu principalement au niveau du foie (Bonnefont et al., 2003).

II-2-Rôle physiologique des ROS

Un paradoxe : les ROS sont-ils indispensables à la vie ?

En effet, ROS remplissent de très nombreuses fonctions utiles qui, à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les RL participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes: phénomène appelé contrôle redox des gènes (Favier A., 2003). Par exemple, le radical monoxyde d'azote NO^\bullet possède une fonction régulatrice, alors que le radical superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ module la signalisation cellulaire et intervient dans les régulations métaboliques, en plus, lorsqu'il est produit par le réticulum endoplasmique lisse avec H_2O_2 , ils interviennent dans la régulation redox de certaines fonctions essentielles de ce compartiment cellulaire telles que l'adressage et la sécrétion des protéines (Valko et al.,

2007). Ce paradoxe peut être, au moins en partie, expliqué par des effets dose-dépendants (Delattre et al., 2005).

Les ROS peuvent agir en tant que molécule de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire (Favier et al., 2005)

II-3-Cibles biologiques des ROS

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ROS ajoute des propriétés toxiques et diversifiées. En effet, toutes les macromolécules cellulaires sont des cibles potentielles des ROS (Barouki, 2006; Valko et al., 2007). (Figure 09).

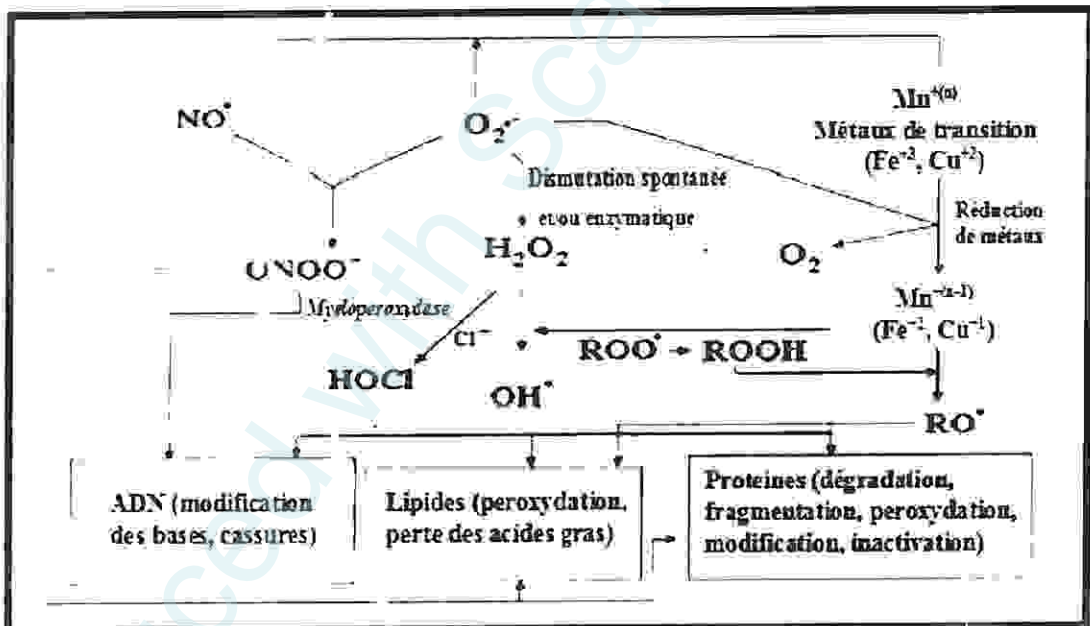


Figure 09 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives (Kohen et Nyska, 2002).

II-3-1-Oxydation des les lipides :

Les acides gras polyinsaturés (RH) comme l'acide linoléique ou l'acide arachidonique sont les cibles privilégiées des ROS en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables (Etsuo et al., 2005; Pincemail, 2006) qui conduisent à la formation des radicaux et des peroxydes lipidiques (Tratner, 2003; Delattre, 2005). Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives: l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell et Gutteridge, 1989).

La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras (R^\bullet) à partir d'un acide gras (RH) par soustraction d'un atome d'hydrogènes provenant d'un groupement méthylène-CH₂-bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $^\bullet\text{OH}$ et le HOO^\bullet . Le radical lipidique R^\bullet subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d'O₂ et former un radical peroxyde (ROO^\bullet) (Esterbauer et al., 1992).

Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical R^\bullet peut être à l'origine d'une certaine de molécules d'hydro peroxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydro peroxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal (4-HNE) (Delattre et al., 2005).

La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre et al., 2005). La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde(MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Delattre et al., 2005).(Figure 10).

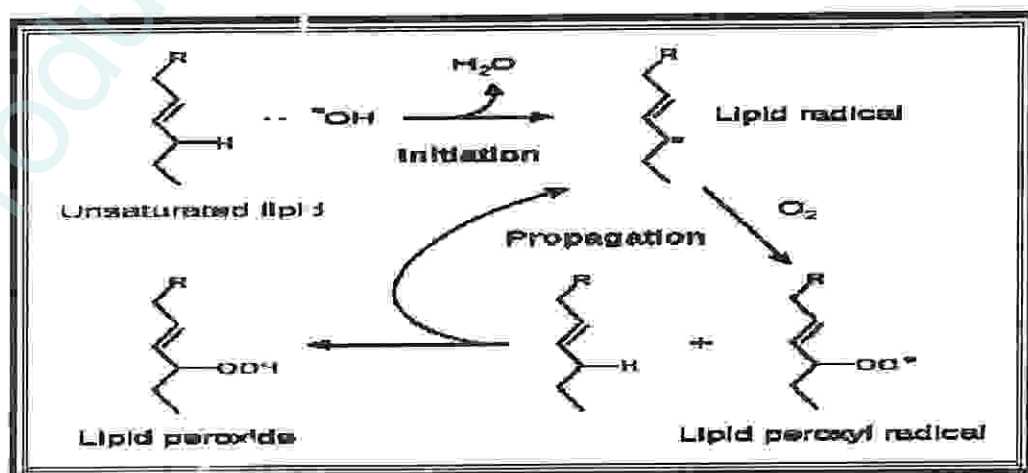


Figure 10: Mécanisme de la peroxydation lipidique (Tim, 2009).

II-3-2- Oxydation des lipoprotéines :

Les lipoprotéines de faible densité sont susceptibles d'être oxydés par les ROS qui provoquent un changement dans leur structure conduisant à la formation des aldéhydes (MDA et HNE) (Nicolosis, 1999 ; Pincemail, 2006).

II-3-3- Oxydation des protéines :

Les protéines sont aussi des cibles pour les ROS en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine (Tratner, 2003). La modification des structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par les ROS est à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés (Pincemail, 2006) et la perte de groupes sulfhydryl critiques (Kehrer, 1993).

Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Fe^{2+} ou le Cu^{2+} . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories; d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2000) et deviennent généralement plus sensible à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzyme, protéines structurales) (Delattre et al., 2005).

II-3-4- Oxydation des acides nucléiques :

Les bases nucléiques sont susceptibles d'être directement oxydées par les ROS, conduisant à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques (Barouki, 2006) pouvant conduire au développement du cancer (Beckman, 1997). Encore, Les aldéhydes issus de la peroxydation lipidique (4- HNE et l'MDA) sont des agents carcinogènes via la formation des adduits avec les bases nucléiques (Feng et al., 2004).

L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre

la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirectes peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases des l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés (Cadet et al., 2002).

III-Les antioxydants :

III-1-Définition

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant».

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (Abuja et Albertini, 2001), et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire (Duiackova, 2008).

III-2-Caractéristiques des antioxydants:

Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes (Ursini, 1999; Duiackova, 2008):

- il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.
- Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.
- L'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante.
- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

Les antioxydants peuvent jouer leur rôle à différents niveaux du processus oxydatif (Baskin et al., 1994), en :

- neutralisant les radicaux initiateurs ;
- Liant les ions métalliques ;
- Neutralisant les radicaux peroxydes ;

- Éliminant les biomolécules endommagées par oxydation, ainsi que d'autres types de réactions.

III-3-Classification des systèmes antioxydants :

Les systèmes antioxydants sont de deux types, soit des molécules qui captent rapidement les ROS (antioxydants proprement dits), soit des systèmes enzymatiques catalysant la conversion des molécules prooxydantes (Salvayre et al., 2005). Selon leurs structures variées, et la taille de leurs molécules antioxydantes, ils peuvent être classés en :

a) Composés à poids moléculaire élevés (H.M.W) comme les enzymes antioxydants (SOD, CAT, GPx, ...), ou bien les antioxydants non enzymatiques (transferrine albumine).

b) Composés à faible poids moléculaire (L.M.W)) incluant : la vitamine hydrophylque C, le glutathion, l'acide urique, et les antioxydants lipophiles comme la vitamine E et le coenzyme Q. les antioxydants naturels qui incluent les composés polyphénoliques principalement les flavonoïdes (catéchine et quercétine) (Ürsini, 1999).

III-3-1- Antioxydants à poids moléculaire élevés (H.M.W) :

Ce sont des antioxydants endogènes, classés à leur tour en deux catégories : des antioxydants enzymatiques et des antioxydants non enzymatiques (Pincemail et al., 2002).

III-3-1-1- Les antioxydants enzymatiques :

Les enzymes antioxydants (Tableau10) ont une signification négligeable dans l'espace extracellulaire alors qu'ils jouent un rôle très significatif dans l'espace intracellulaire (Durackova, 2008). On note principalement :

- Les enzymes responsables de la dismutation de l'ion superoxyde, ce sont les superoxydes dismutases.
- Les enzymes agissant sur les peroxydes, c'est la catalase, et les glutathion peroxydases.
- Les enzymes intervenant dans la protection des protéines à fonction thiol, c'est la thioredoxine (Goudable et Favier, 1997) (Figure 11).

a) Superoxyde dismutase (SOD):

Le superoxyde dismutase est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (Barry et John, 1999).

Elle est présentée dans presque tous les organismes aérobies. Une des rares exceptions est *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus* apparentés, qui n'en possèdent pas et utilisent un mécanisme de défense différent (Barry et John, 1999).

b) Les catalases (CAT):

La catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) (Chelikani et al., 2004):



Elle est formé de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés, comportant chacune un hème. Des hèmes et leur environnement protéique sont les sites actifs de cette enzyme. Pour catalyser la réaction, l'atome de fer d'hème de la catalase réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène, créant de ce fait une molécule d'eau et un groupement Fe(IV)=O hautement oxydant ; ce dernier peut ensuite oxyder une autre molécule de peroxyde d'hydrogène pour donner du dioxygène (Haudiere, 1983).

Ce processus est illustré plus spécifiquement par les équations suivantes :



c) La glutathion peroxydase (GPX):

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de quatre sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine (dans laquelle l'oxygène du groupement hydroxyle de la sérine est remplacé par le sélénium).

La glutathion peroxydase est présente dans les lipides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. Elle 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 (Barry et John, 1999). (Tableau 10; figure 11).

Tableau 10 : Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques (Beaudeau et al., 2000).

Antioxydants enzymatiques	Caractéristiques et réaction catalysée
<p>Superoxyde dismutase SOD: Cu, Zn SOD1 - Mn SOD2 - Cu, Zn SOD3</p>	<p>Appartient à la famille des métalloenzymes, possède trois isoenzymes: SOD1, SOD2 intracellulaire et SOD3 extracellulaire, catalyse la dismutation de l'ion superoxyde.</p> $\text{O}_2^{\cdot-} + \text{O}_2^{\cdot-} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
<p>La catalase</p>	<p>C'est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.</p> $2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
<p>Les glutathion peroxydases: -GPx sélénium- indépendant (GST): -GPx sélénium- dépendant</p>	<p>- La GST catalyse les réactions de détoxifications des xénobiotiques. -présente sous forme de 5 isoenzymes tétramériques, agissent sur les peroxydes d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques par l'intermédiaire de GSH.</p>
<p>La thiorédoxine TRX</p>	<p>-Sélonoprotéine à activité oxydoréductase, protectrice des protéines à fonction thiol:</p> $\text{Trx} - \text{S}_2 + \text{NADPH}_2\text{H}^+ \longrightarrow \text{Trx}(\text{SH})_2 + \text{NADP}^+$ $\text{Protéine} - \text{S}_2 + \text{Trx}(\text{SH})_2 \longrightarrow \text{Protéine} - \text{SH}_2 + \text{Trx} - \text{S}$

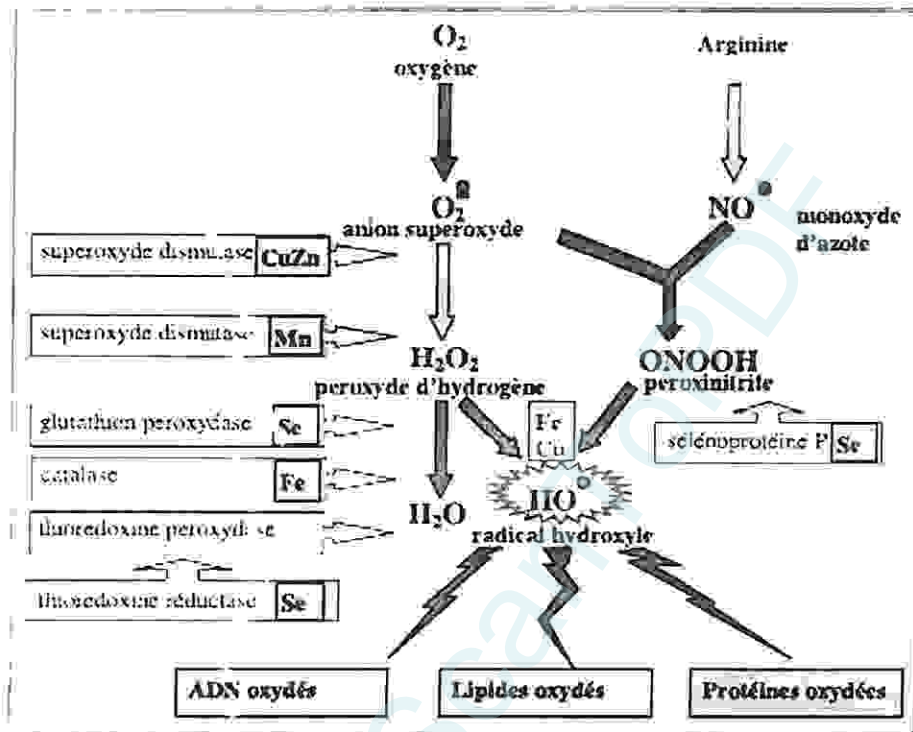


Figure 11 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Nicolosis, 1999).

III-3-1-2-Les antioxydants non enzymatiques:

Ce groupe de systèmes anti-oxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoiique. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) (Favier, 2003). La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Neuzil et Stocker, 1993).

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^{+} permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (Martínez-Cayuela, 1995).

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables (Pincemil et al., 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006). La vitamine piégeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. A titre d'exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, elle-même régénérée par les ascorbates réductases (Pincemil et al., 2002). Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les phytates, huiles essentielles (Bruneton, 1999). Flavonoïdes (Pietta, 2000 ; Cotelle, 2001) apportés également par l'alimentation, jouent un rôle similaire de pièges de radicaux libres (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Tableau 1 : Principaux systèmes antioxydants non enzymatiques protéiques (Durackova, 2008).

Antioxydants non enzymatiques	Rôle antioxydant
<u>La transferrine</u>	Capte les ions Fe^{3+} et bloque les réactions de la peroxydation lipidique.
<u>L'opotransferrine</u>	Capte les ions Fe^{3+} et inhibe la formation du radical HO^{\bullet} et les réactions de la peroxydation lipidique.
<u>Le ceruloplasmine</u>	Capte les ions Cu^{2+} et prévient leur effet prooxydant.
<u>L'albumine</u>	Intégration des ions Cu^{2+} à l'hème en évitant les dommages oxydatifs des autres molécules de la matrice extracellulaire.

III-3-2- Antioxydants à faible poids moléculaires (L.M.W) ou exogènes :

III-3-2-1-Antioxydants synthétiques:

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés anti-oxydantes (Favier, 2003).

III-3-2-2-Antioxydants naturels:

Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

a) La vitamine E (ou α -tocophérol):

La vitamine E est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines (Vertuani et al., 2004).

Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ROS, soit en régulant à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la glutathion peroxydase, la catalase du foie, la glutathion-transférase et la NADPH réductase (Vertuani et al., 2004).

La vitamine E interrompt la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés (Burton et al., 1982). Elle n'est pas biosynthétisée et présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. On la trouve aussi en moindre quantité dans les céréales, les légumes verts, les beurres, la margarine, les poissons gras (Burton G et al., 1982).

b) La vitamine C (ou acide ascorbique):

La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires (compartiments hydrophiles). Ses activités biologiques

viennent de son puissant potentiel réducteur. Cependant, un effet prooxydant a été constaté en présence de Fe (III). Elle est aussi capable de recycler l' α -tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique (Vertuani et al., 2004).

c) Les polysaccharides:

Les polysaccharides représentent le groupe le plus important des substances du fruit et légumes. Ils ont une propriété antioxydante et anti-âge: ils combattent les effets du stress oxydatif, inhibent la peroxydation lipidique, contrebalancent les dommages oxydatifs faits aux muscles par une activité physique intense (Li, 2007) et compensent la diminution de la capacité antioxydante de l'organisme due à l'âge, par exemple pour la fabrication des enzymes superoxyde-dismutase (SOD) et glutathion peroxydase (GSH) (Niu et al., 2008)

d) Caroténoïdes:

Les caroténoïdes constituent une des principales catégories de phytonutriments capables de procurer de nombreux bienfaits à la santé. Les caroténoïdes renforcent la protection antioxydante des membranes cellulaires et protègent la peau contre les effets nocifs des rayons ultraviolets. Les principaux caroténoïdes sont la bêta-carotène, la lycopène, la lutéine et l'alpha-carotène (Favier, 2003).

e) Le β -carotène:

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités: il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Goudable et Favier, 1997).

f) Les oligoéléments:

Les oligoéléments: le sélénium, le cuivre, le manganèse, ou encore le zinc. Ils ont une valeur hautement protectrice du fait de leur présence dans de nombreuses metallo-enzymes à action antiradicalaire (Delattre et al., 2005). Parmi les antioxydants d'origine naturelle, on remarque que les tocophérols présentent une faible efficacité pour un coût de production élevé. Quant à l'acide ascorbique, il peut se comporter comme une substance pro-oxydante à forte concentration (Delattre et al., 2005).

*Le cuivre:

Cet oligo-élément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Toutefois, au même titre que le fer, il joue, en tant que métal dit de transition, un rôle important dans le déclenchement des réactions conduisant à la formation d'espèces oxygénées activées. Une concentration trop élevée en cuivre pourra donc refléter la présence d'un stress oxydant. Plusieurs études ont montré une augmentation du taux sérique en cuivre au cours du processus de vieillissement (Del et al., 2000).

Le cuivre participe à l'activité de nombreux enzymes et de réactions chimiques. Il intervient dans l'oxydation du glucose: il est ainsi essentiel au bon fonctionnement du myocarde, muscle du cœur qui en est très gourmand. Le cuivre contrôle la minéralisation de l'os et la qualité des cartilages. Il enrayerait le processus inflammatoire de l'arthrose. Le cuivre intervient aussi dans le processus immunitaire, le métabolisme du fer. C'est également un antioxydant aussi son métabolisme génère en même temps des radicaux libres (Delattre et al., 2005).

* Le sélénium:

Cet oligo-élément n'est pas en tant que tel un antioxydant mais il participe au processus de défense contre les EOA comme co-facteur de la glutathion peroxydase. Plusieurs grandes études ont montré que des concentrations sériques en sélénium inférieures à 45 – 50 µg/ L, sont associées avec l'apparition de pathologies coronariennes (Salonen et al., 1982; Pucheu et al., 1995; Cenac et al., 1996).

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases sélénodépendentes, et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénoprotéines (Burk, 2002).

*Le zinc:

Cet oligo-élément est un des co-facteurs essentiels de la SOD (joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD). Cependant, au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (Powell, 2000).

Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de Fenton. Il protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires. L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (Delattre et al., 2005).

Un déficit en zinc résulte généralement en une sensibilité plus accrue au stress oxydant. Une étude récente a montré que les personnes âgées atteintes de maladies dégénératives ont un rapport cuivre /zinc plus élevé que des personnes âgées en bonne santé (Costantini et al., 1998).

Tableau 12 : Propriétés antioxydantes de certains composés à faibles poids moléculaires.

Antioxydant	Activité antioxydante
La vitamine E :	Prévention de l'oxydation des LDL (Nicolosis, 1999), l'athérosclérose et d'autres maladies cardiovasculaires (Thomas et al., 1999; Vivekananthan, 2003).
La vitamine C :	Recyclage de la vitamine E et le glutathion (Baskin et Salem, 1994).
L'acide lipoïque:	Inhibiteur de la glycooxydation (Cillard et al., 2006), prévention de la lipodystrophie et la neuropathie diabétique par les ROS (Schmitt et al., 2006).
L'acide urique :	Piégeur puissant des radicaux (Durackova, 2008): $O_2^{\circ -}$, $^{\circ}OH$, RO_2°
Le sélénium:	Nécessaire à l'activité de nombreuses sélénoenzymes antioxydantes : GPx, TRX...etc (Baskin, 1994).
Co enzyme Q :	Piégeur puissant des radicaux superoxyde et inhibiteur de la peroxydation lipidique (Kehrer, 1993).
Le glutathion :	Participant à l'activité des enzymes antioxydantes. Capture des espèces radicalaires (Durackova, 2008; Beaudoux, 2005). $GSH + R^{\circ} \rightarrow GS^{\circ} + RH$
Le zinc:	La prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres est primordiale. Le maintien de la SOD qui est un piégeur capital des ions superoxydes (Baskin, 1994).
La bilirubine :	Protection des acides gras libres et de l'albumine contre l'attaque radicalaire. (Beaudoux, 2005).
B-carotènes:	Contrôlent efficacement la génération de radicaux libres notamment en captant l'oxygène singulier. (Beaudoux, 2005) : $O_2 + B\text{-carotènes} \rightarrow B\text{-carotènes} + O_2$

III-3-2-3-Les antioxydants polyphénoliques:

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures différentes connues (Bahrun, 1997), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, ces composés montrent des activités antioxydantes (Gomez et al., 2006).

III-3-2-3-1-Les antioxydant phénoliques naturels

Les antioxydants présents dans le raisin, le thé ou les fruits sont souvent de types phénoliques. Les composés phénoliques présents dans le vin peuvent être séparés entre les flavonoïdes et les non flavonoïdes.

a) Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes expriment les propriétés antioxydantes par: Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ROS), La suppression de la formation des ROS par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

b) Les non- flavonoïdes:

Les composés non- flavonoïdes (Ils ne possèdent pas de squelette flavone) regroupement les acides phénoliques et les stilbènes :

*Les acides phénoliques :

Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique , l'acide caféique qui a très largement démontré son activité antioxydante, l'acide férulique et l'acide sinapique. L'acide gallique est aussi un piègeur de radicaux libres. Il accélère l'oxydation du désoxyribose induite par des radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$ (produits par $\text{Fe}^{3+} - \text{H}_2\text{O}_2$). Au delà de cette

concentration, l'acide gallique se comporte en antioxydant capable de réduire les dommages du désoxyribose occasionnés par $Fe^{3+}-H_2O_2$. On observe aussi l'aptitude de l'acide gallique à générer des radicaux hydroxyles en présence de cuivre Cu(II). (Gülçin et Toxicolog, 2006).

L'acide gallique est soluble dans le méthanol, l'éthanol, l'eau et l'acétate d'éthyle. Il existe en faible quantité dans les noix de galle mais peut être tiré facilement des tanins. Il s'obtient par hydrolyse des gallotanins avec de l'acide sulfurique. Ces gallotanins (ou tanins galliques) sont formés autour d'un sucre (glucose ou polyol) comportant plusieurs liaisons esters avec des acides galliques ou leurs dérivés (Goetz et al., 1999).

*Les stilbènes:

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, formant un système conjugué. Les stilbènes sont connus par leurs propriétés antioxydantes vis-à-vis des lipoprotéines à base densité LDL. Ils pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires (Frankel et al., 1993).

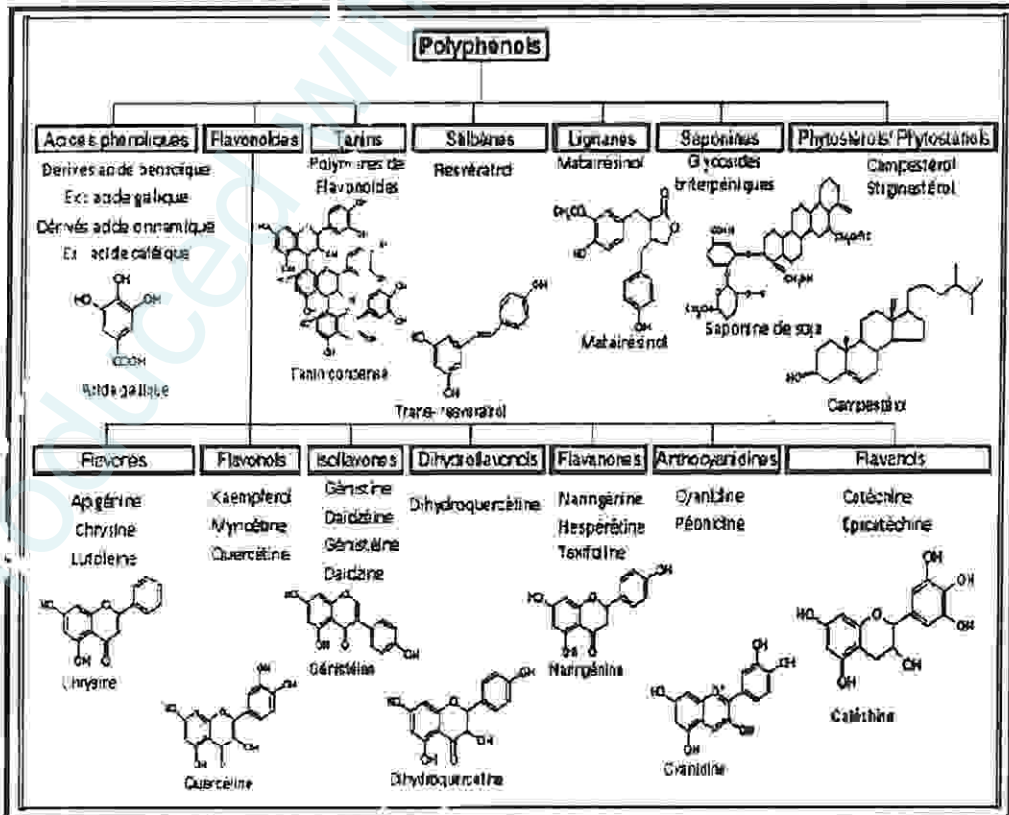


Figure 12 : Les différentes classes des composés phénoliques (Macheix et al., 2005).

Tableau13 : Quelques activités biologiques des polyphénols.

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes	(Didry et al., 1982) (Ravn et al., 1984) (Hayase et Kato, 1984)
Coumarines	Protectrices vasculaires et Antioclémateuses	(Mabry et Ulubelen, 1980)
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes antivirales, anti-allergiques	(Stavric et Matula, 1992) (Das et al., 1994) (Bidet et al., 1987) (Bruneton, 1993) (Aruoma et al., 1995) (Middleton et Kardasnam, 1993)
Anthocyanes	Protectrice veineux	(Capillaro Bruneton., 1993)
Proanthocyanidines	Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	(Bahorun, 1997) (De Oliveira et al., 1972) (Brownlee et al., 1992) (Kreofsky et al., 1992)
Tannins galliques et Catéchiques	Antioxydantes Antimicrobien	(Okuda et al., 1983) (Okamura et al., 1993) (Milal et al., 1996)

III-3-Mode d'action des antioxydants:

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux: en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Gardès, 2003).

Les antioxydants préventifs ont une action stabilisatrice en décomposant par exemple les peroxydes en des produits stables de terminaison ce qui empêche directement la formation des radicaux libres. Ils peuvent aussi chélater les catalyseurs des réactions d'oxydation tels que les ions métalliques ou bien réagir avec l'oxygène. Le premier par libération d'un atome d'hydrogène, souvent par une structure aromatique (cas des dérivés du phénol: tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...), le deuxième par libération d'un électron.

La combinaison de ces antioxydants préventifs et piègeurs peut générer des effets synergiques (Huang et al., 2005).

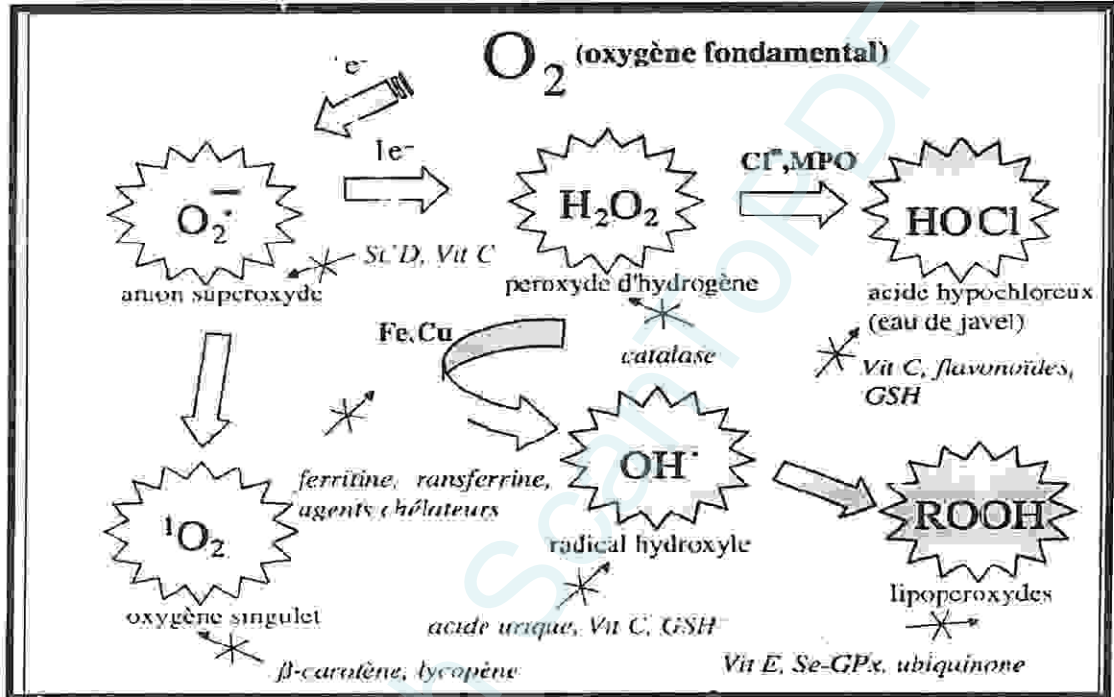


Figure 13 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail et al., 2002).

III-4- Pathologies liées au stress oxydant :

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à l'évolution des complications. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu.

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (Ferrari, 2001). En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataract, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré, maladie d'Alzheimer (Favier, 2006).

Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des facteurs athérogènes: augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs prooxydants (cytokine, superoxyde, NO...etc) (Montagnier et al., 1998). De nombreuses affections humaines ou animales incluent donc un stress oxydant, local ou général, dans leur pathogenèse au même titre que l'inflammation à laquelle il est souvent associé. Dans plusieurs maladies graves, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel.

Tableau 14 : Quelques pathologies associées aux dommages des radicaux libres

Pathologies	Références
Lésions de reperfusion post-ischémique	(Zweier et Talukder, 2006)
Maladies auto-immunes	(Halliwell et guetteridge, 1990)
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan et al., 2003)
Maladies inflammatoires	(Densiov et Afanas'ev, 2005)
Athérosclérose	(Harrison et al., 2003)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Sorg, 2004)
Emphysème	(Lechuer-Michel et al., 2001)
Diabète sucré	(Pal Yu, 1994)
Certains cancers	(Valko et al., 2007)
Anémie drépanocytaire	(Martinez-Cayucla, 1995)

III-5- Evaluation du stress oxydatif :

Comment mettre en évidence un stress oxydant chez un malade ? Un grand nombre de techniques actuellement utilisables pour évaluer le stress oxydant ont fait l'objet d'ouvrages ou de revues. Toutefois, ce domaine de la biologie n'a pas encore été étudié avec la rigueur et le souci de standardisation et d'optimisation des méthodes habituelles en biologie clinique.

Par ailleurs, il existe des difficultés inhérentes à cette exploration, liées à la rapide fugacité des espèces radicalaires, à l'oxydabilité des paramètres redox, ainsi qu'à la localisation de ce stress dans un type donné et d'un nombre réduit de cellules dans un tissu sain. La plupart des études mettant en évidence le stress oxydant comme l'un des facteurs étiologique de certaines pathologies ou d'exposition à un facteur environnemental (alcool, tabac, ...) ou évaluant l'efficacité de micronutriments dans la prévention de ce stress oxydant ont utilisé les marqueurs biologique suivants (Pincemail, 1999 ; Hininger-Favier, 2002) :

***Les Marqueurs du statut :**

L'évaluation d'un état nutritionnel peut être faite par l'analyse du statut plasmatique, érythrocytaire, leucocytaire (plus délicat) pour les micronutriments antioxydants (vitamine E, C, caroténoïdes, Zn, Se). Etant donné que certains micronutriments sont des facteurs co-enzymatiques des enzymes appartenant aux systèmes de défense, l'activité enzymatique de la GPx, de la SOD Cu-Zn, peuvent renseigner sur le statut antioxydant. La mesure du rapport GSH/GSSG est un bon reflet de l'état redox. La mesure du pouvoir antioxydant total du plasma (TRAP : « total radical trapping parameter) peut se révéler un marqueur du stress oxydant.

Cependant cet essai doit être interprété avec précaution car des augmentations des concentrations plasmatiques de l'albumine, de l'acide urique et de la bilirubine pourraient masquer le déficit en d'autres antioxydants.

***Les lésions dues au stress oxydant :**

Ils peuvent être évaluées : tant au niveau des protéines par le dosage des groupements thiols (SH : marqueur d'une non oxydation) ou des groupements carbonyles (C=O ; marqueurs d'une oxydation) qu'au niveau des lipides par le dosage des produits de dégradation des lipides oxydés (HNE ; MDA ; TBARS, isoprostanes) ; qu'au niveau de l'ADN par le dosage des bases oxydées ou des cassures des brins (Figure 14).

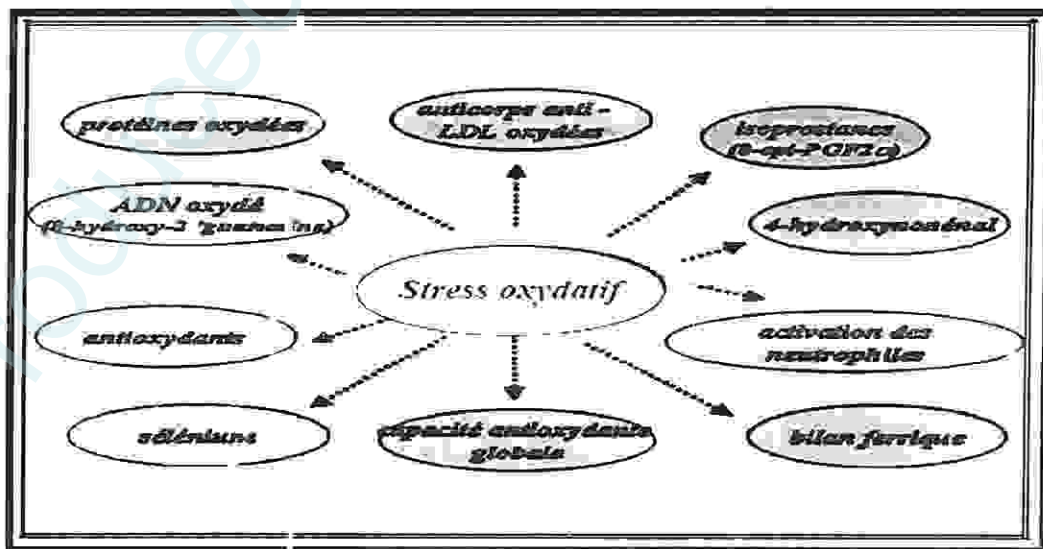


Figure 14 : Aperçu des méthodologies permettant d'évaluer l'état de stress oxydatif chez l'homme (Pincemail, 1999).

III-6-Avenir thérapeutique du stress oxydatif

Le stress oxydant est devenu une notion incontournable en biologie médicale et porteuse d'espoir thérapeutique, mais une notion plus complexe et plus riche que ce que nous en percevons initialement. De nombreuses lacunes demeurent dans l'arsenal thérapeutique contre le stress oxydant. Nous ne disposons d'antioxydants efficaces et utilisables en médecine que contre les radicaux superoxydes (peu toxique) ou hydroxyles (difficiles à atteindre car réagissant instantanément) (Favier, 2003).

Il est donc capital de trouver de nouvelles molécules efficaces pour neutraliser le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulier, le monoxyde d'azote et surtout le peroxynitrite. Toutefois, l'idéal serait d'aboutir à des médicaments ciblés à un tissu et permettant un contrôle de l'état redox des cellules ou la prévention du stress, plutôt qu'à un effet global antioxydant qui ferait perdre à la cellule le bénéfice potentiel qu'elle tire paradoxalement des radicaux libres de l'oxygène (Favier, 2003).

Pour cela, les chimistes pourraient fabriquer des molécules modulant l'expression des gènes antioxydants. L'industrie cosmétologique développe ainsi beaucoup de recherches sur les inducteurs de ces protéines au niveau cutané. Un autre abord est la synthèse de mimétiques d'enzymes autorégulés par le niveau redox de la cellule. Mais l'industrie chimique peut aussi chercher, comme notre organisme, à utiliser les radicaux libres pour activer par voie redox des prodrogues, permettant une action ciblée aux cellules activées produisant ces radicaux, soit pour réduire l'inflammation, soit pour stopper l'infection virale, soit pour déclencher l'apoptose des cellules cancéreuses (Favier, 2003).



**Partie
expérimentale**

Matériels et méthodes

I-Matériels

I-1-Matériel végétal :

La plante *Zygophyllum album*, appelée communément « Aaggaya ou Baraya », a été récoltée dans la région de Biskra, porte du Sahara algérien. La partie aérienne a été nettoyée, séchée à l'ombre et à température ambiante, broyée jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de couleur jaune claire puis stockées à l'abri de la lumière.

II-Méthodes de travail:

II-1-Préparation de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum album* (EMZA):

Le *Zygophyllum* étudié dans cette approche provient du Sahara Algérien (Wilaya de Biskra). Après récolte, le matériel végétal est séché à l'aire libre et à l'abri de la lumière.

Après avoir éliminé les composés non polaires et semi polaires en utilisant l'hexane et l'éthyle acétate, les composés polaires sont extraits en suivant les étapes suivantes: la partie aérienne de *Zygophyllum album* est mise à macérer dans un mélange méthanol/eau (50 : 50 V/V) à un rapport de 50 g/250 ml sous agitation douce à température ambiante trois fois, les deux premières macérations durent une heure de temps alors que la dernière prend toute une nuit. L'extrait hydroalcoolique est récupéré à chaque fois après filtration du mélange. Le méthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un Rota évaporateur.

II-2- Activité antioxydante in vitro :

II-2-1-Effet scavenger du radical DPPH

L'activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique de *Zygophyllum album* a été évaluée vis-à-vis du Diphényle picryl-hydrasyl (DPPH) comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par Mansouri et al (2005). La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Un volume de 50 µl des solutions d'extraits et de l'antioxydant de référence, l'acide gallique sont ajoutés à 1250 µl de

DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

Ou :

% : pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

$$AA \% = (AE / AC) \times 100$$

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC₅₀) de l'EMZA a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg/ml et comparée avec celle de l'aide gallique.

Deux autres paramètres sont introduits pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, la concentration effective à 50% (EC₅₀) et le pouvoir antiradicalaire (APR) :

-L'EC₅₀ prend en considération la concentration de DPPH présente dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, EC₅₀ = (IC₅₀/mg de DPPH/ml)]

-APR est inversement proportionnel à l'EC₅₀ (APR = 1/EC₅₀) (P rakash et al., 2007). Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont comprises entre 190 et 3800 µg/ml pour l'extrait hydroalcoolique et entre 38 et 1140 µg/ml pour l'antioxydant de référence (Acide gallique).

II-3- Analyses statistique

Les résultats des tests effectués in vitro sont exprimés en moyenne ± SD et moyenne ± SEM respectivement. Les valeurs IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f(Concentration)].

III-Résultats

1- Préparation de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de *Zygodphyllum album*

Le rendement de l'extraction hydroalcoolique est de 21.04 % (10.50g).

1- Effet scavenger du radical DPPH de *Zygodphyllum album*:

L'activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique a été évaluée dans la présente étude. Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les deux extraits étudiés possèdent une activité antiradicalaire concentration dépendante (Figure 15).

Une inhibition maximale de 94.62% du radical DPPH est obtenue avec la concentration de 1,14 mg/ml de l'acide gallique. Alors que l'extrait hydroalcoolique exerce une inhibition maximale de 68,31% avec la concentration 3,8 mg/ml.

Le tableau ci-dessous montre les concentrations inhibitrices à 50% (IC50) de l'extrait hydroalcoolique de *Zygodphyllum album* et de l'acide gallique, ainsi que la concentration effective à 50%, (EC50) et le pouvoir antiradicalaire (PAR).

Tableau 10. Activité antiradicalaire des extraits de la partie aérienne de *Zygodphyllum album*.

	IC50 (µg /ml)	EC50 (µg /ml DPPH)	PAR
Acide gallique (Témoin)	58.42	2.48	0.40
Extrait hydroalcoolique	60.59	2.57	0.38

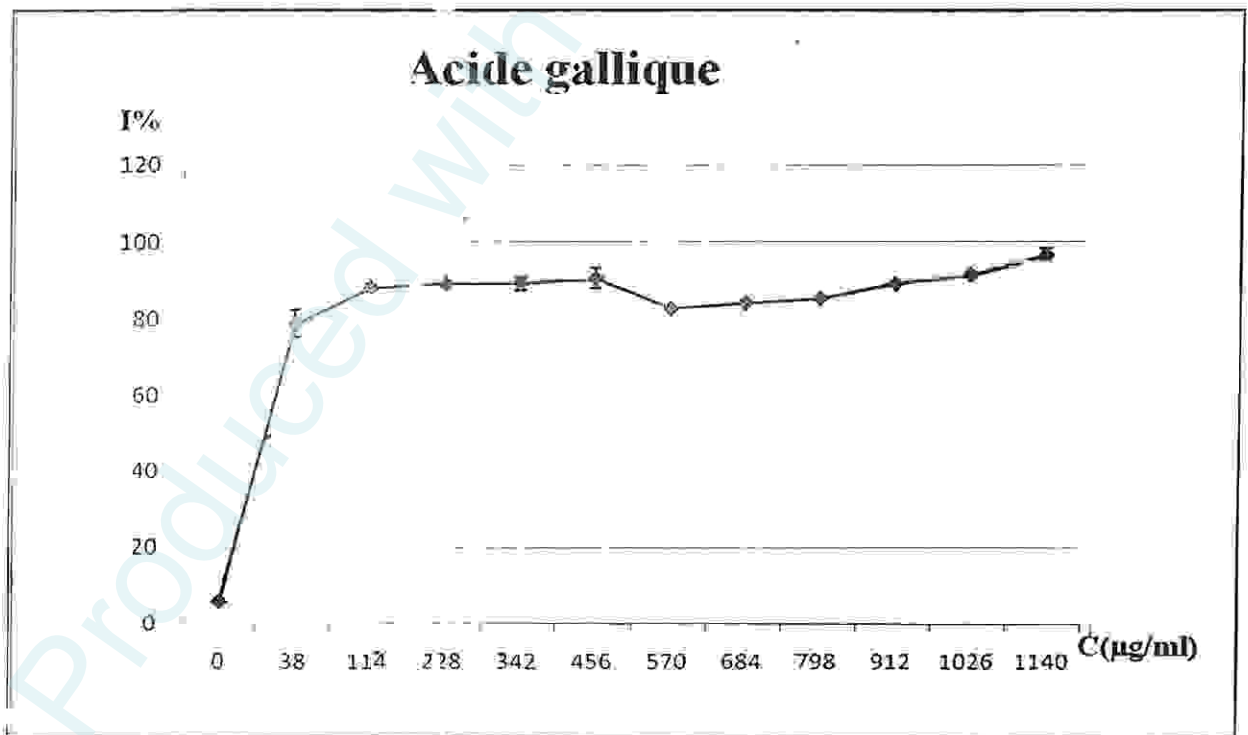
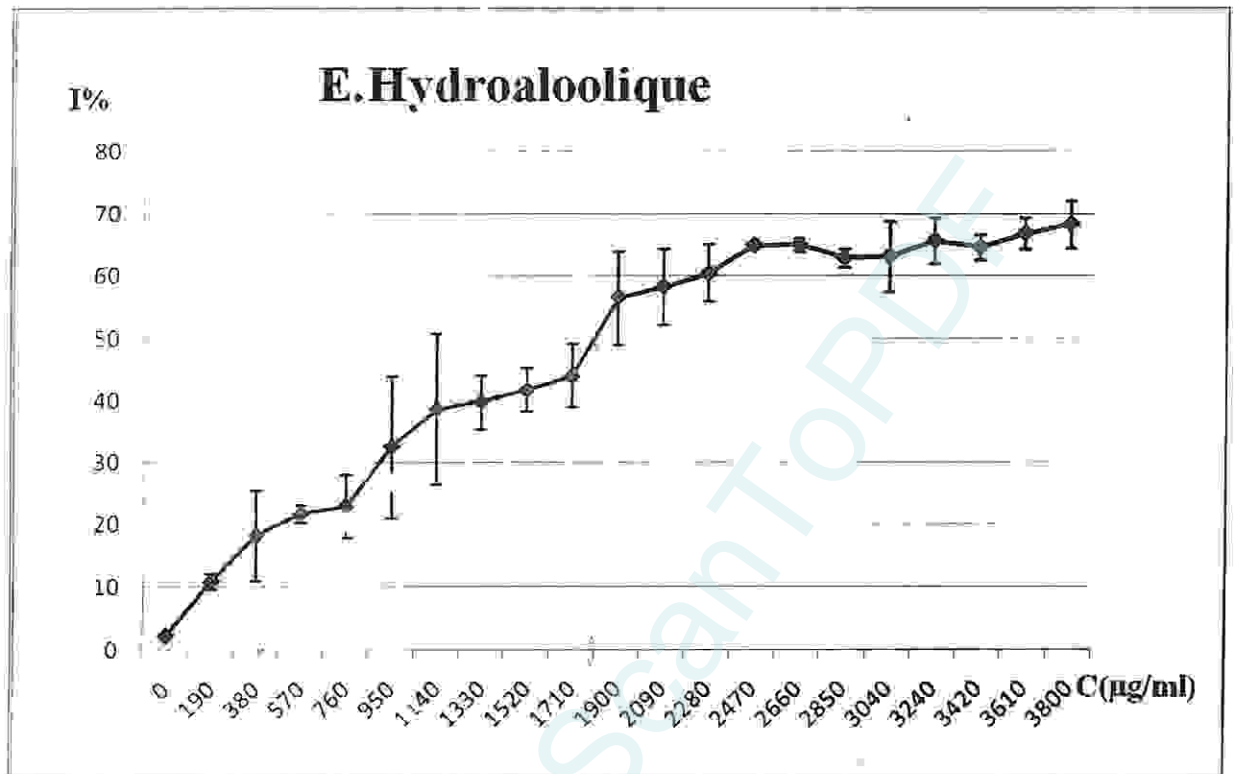


Figure 15: Activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique de *Zygophyllum album* et de l'antioxydant de référence l'acide gallique vis-à-vis du radical DPPH. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD. C : concentration en $\mu\text{g/ml}$, I% : pourcentage d'inhibition.

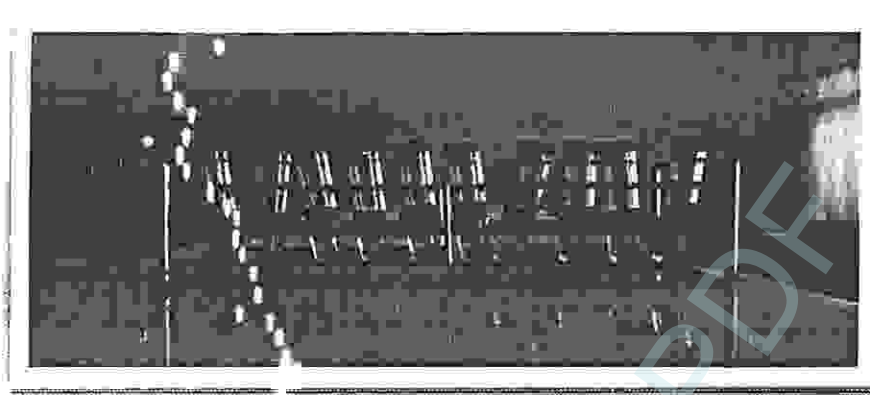


Figure 16: Décoloration du DDPH suite à sa réduction par l'acide gallique

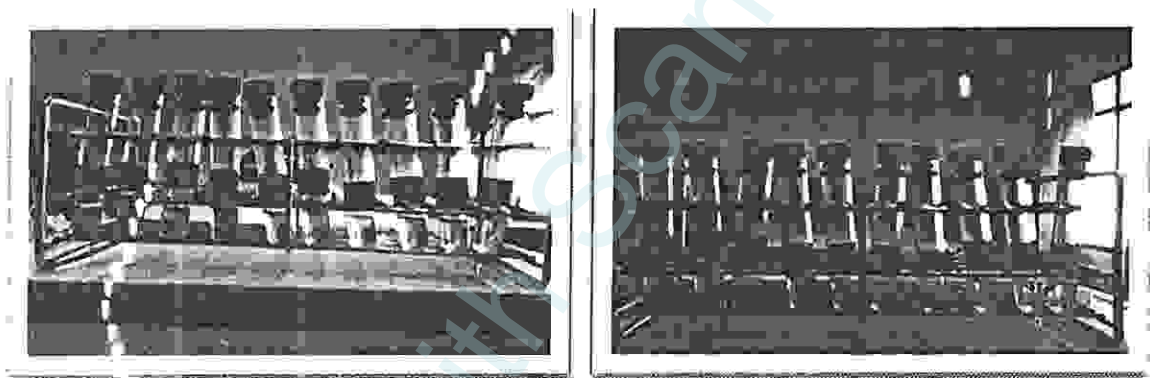


Figure 17: Décoloration du DDPH suite à sa réduction par l'EMZA

Discussion ;

Le stress oxydant cause des dommages sur les molécules biologiques (ADN, lipides, protéines ...). L'accumulation de ces dégâts est à l'origine de pathologies telles les maladies cardiovasculaires, le vieillissement, le cancer, l'inflammation, les maladies neurodégénératives. L'organisme dispose de divers moyens de défense contre le stress oxydant. L'une des voies de lutte contre le stress oxydant est la consommation adéquate d'aliments riches en antioxydants. Les meilleurs antioxydants exogènes sont les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. De ce fait, les chercheurs se sont intéressés ces dernières années, à des antioxydants naturels, notamment ceux issus des plantes.

Ce travail s'est donc fixé pour objectif d'étudier les activités antioxydantes et antiradicalaires de l'extrait hydroalcoolique de *Zygophyllum album*; une plante du Sahara Algérienne. Cette plante est très utilisée traditionnellement dans le sud algérien pour traiter l'eczéma, les douleurs de l'estomac, les problèmes hépatiques et principalement antidiabétique.

1. Préparation de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne *Zygophyllum album*

L'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne *Zygophyllum album* a été préparé dans la présente étude par macération de la poudre de feuilles dans le mélange méthanol/eau. L'utilisation de ce mélange hydroalcoolique a pour bute d'extraire les composés polaires, les composés de moyenne et de faible polarité ont été éliminés en utilisant l'hexane et l'éthyle acétate. L'aptitude du méthanol d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires facilite l'extraction d'un plus grand nombre de composés (Seidel, 2005). L'utilisation du méthanol permet également de prévenir la croissance microbienne au cours de la macération (Seidel, 2005). De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Le rendement de l'extracteur hydroalcoolique (21.04 %), est relativement supérieur à celui (13.16 %) obtenu par l'extracteur méthanolique de *Zygophyllum cornutum* Cass (Boumaza, 2009). Et à celui (17%) obtenu par l'extracteur des feuilles de *Malva parviflora* (Meziti, 2008).

2. Activité anti-oxydante de l'extracteur hydroalcoolique de *Zygophyllum album* in vitro

Un test a été utilisé pour évaluer l'effet antioxydant de l'extracteur hydroalcoolique de la partie aérienne de *Zygophyllum album*:

L'effet piègeur a été évalué en utilisant le test de DPPH qui est un radical libre stable caractérisé par une couleur violette en solution dans le méthanol. Il présente une forte bande d'absorption à 517 nm. L'addition d'un composé donneur de proton (antioxydant) dans une solution de DPPH, conduit à la réduction de ce dernier et à sa décoloration en un composé jaune (Figure 18). Cette décoloration sera directement proportionnelle au nombre de protons captés et peut être suivie par la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel à 517 nm (Mosquera et al., 2007) Elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH et fournit donc un moyen pratique pour mesurer le pouvoir antioxydant de l'extracteur étudié.

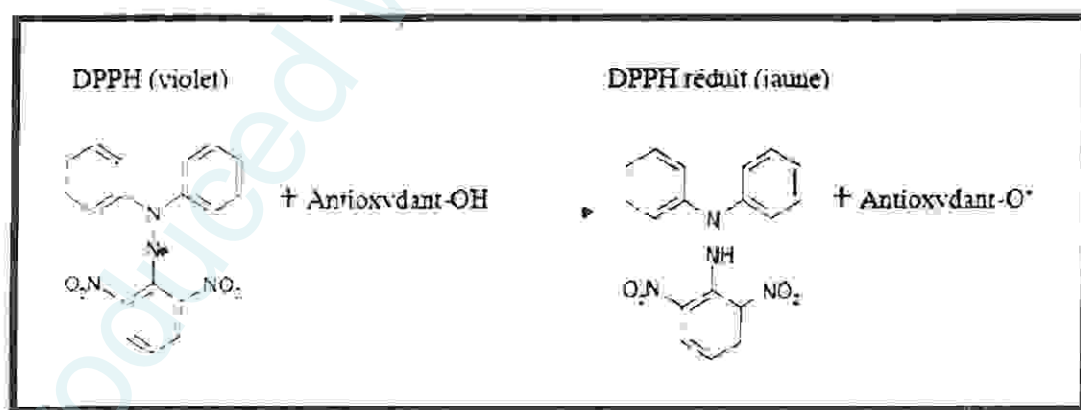


Figure 18 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Les résultats de la présente étude montrent que l'extracteur hydroalcoolique de *Zygophyllum album* possède un effet piègeur remarquable vis-à-vis du radical DPPH. En effet, cet extracteur possède un très puissant pouvoir antiradicalaire puisque il a donné une IC50 très faibles de l'ordre de 60.54 µg/ml, une valeur presque comparable à celle de l'antioxydant

de référence (IC₅₀= 58,42 µg/ml). Une étude pareille réalisée sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Zygophyllum cornutum* Coss a donné une IC₅₀ de 870.05 ± 7.26 µg/ml contre 32.92 ± 0.62 µg/ml pour le BHT (Boumaza, 2009).

L'activité des extraits de l'extrait hydroalcoolique de *Zygophyllum album* est fort probablement attribuée à la présence des composés phénoliques qui sont connus comme des substances antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Mansouri et al., 2005; Beta et al., 2005; Samaniego-Sánchez et al., 2007). Les composés phénoliques sont capables de donner des atomes d'hydrogènes pour inhiber la peroxydation lipidique (Amić et al., 2003). La présence et le nombre de groupements OH libres sont des facteurs déterminants de l'activité antioxydante des polyphénols (Sharififar et al., 2008).

Concernant les constituants phytochimiques, le zygophylline, l'acide quinovique et les glycosides sont les majeurs composés décrits chez les espèces de *Zygophyllum* (Smati D et al., 2004). D'autres études ont montré la présence des triterpènes saponines dans certaines espèces du genre « *Zygophyllum* » (Hani A.M et al., 1995 ; Ahmad V.U et al., 1992). L'étude phytochimique de la plante a permis de détecter la présence de certains types de composés qui semblent avoir, en plus l'activité antihyperglycémiant, une activité antioxydante comme les polyphénols, les β carotènes, les saponines, les tanins et les flavonoïdes. Il est admis que ces composés notamment les flavonoïdes présentent une activité antioxydante importante (Boumaza, 2009).

Sharififar et al (2008) ont montré que l'extrait méthanolique de *Hieracium cappadocicum* et de *Verbascum viedemannianum* inhibe l'oxydation de l'acide linoléique. Selon cette étude, ces plantes sont jugées efficaces. En comparant cette étude, on peut conclure que l'extrait méthanolique de *Zygophyllum album* a un pouvoir antioxydant plus puissant que celui des extraits méthanoliques des deux plantes *Hieracium cappadocicum* et *Verbascum viedemannianum*.

Bien que le test au DPPH est largement utilisé comme une méthode d'évaluation de l'activité antioxydante, ce test n'est pas autant standardisé, ce qui explique la divergence des résultats obtenus d'un travail à l'autre et minimise la fiabilité de toute comparaison (Scherer et Godos, 2008).

Notre étude a montré que l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* a une activité anti-oxydante *in vitro* considérable, de là, il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antioxydant *in vivo*.

Produced with ScanTOPDF

Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, nous avons évalué l'effet anti-oxydant de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de *Zygodium album*.

Cet extrait possède une activité antioxydante importante *in vitro*. Ils montrent une inhibition vis-à-vis du radical DPPH₁ qui est liée directement à la diversité quantitative et/ou qualitative des composés présents dans l'extrait de la plante.

L'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de *Zygodium album* montre que cette plante possède un fort pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses maladies et spécialement le diabète.

Les résultats obtenus dans cette étude sur le effet antioxydants de l'extrait de *Zygodium album* est intéressant, mais des études complémentaires approfondies sont nécessaires pour comprendre ses mécanismes moléculaire et cellulaires. Ces études doivent être focalisées sur la recherche des composés bioactifs dans les extraits de *Zygodium album* et d'identifier les enzymes impliquées dans la production des espèces oxygénées réactives.

Références bibliographiques

- Abou-Gazar H., Bedir E., Takamatsu S., Ferreira D and Khan A. (2004). Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*. **65**, 2499–2505.
- Abuja P M and Albertini R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*. **306**, 1-17.
- Ahmad V U., Shafi U G and Shaiq A M. (1992). Saponins from *zygophyllum propinquum*. *Phytochemistry* **33**(2), 453-455.
- Ahsan H., Ali A and Ali R. (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and experimental immunology*. **131**, 398-404.
- Al-Wakeel S M., El-Negomy S I., El Hadidi M N and Saleh N M. (1987). Flavonoids patterns in *Fagonia mollis-Complex*. *Biochemical Systematics and Ecology* **15**, 459-460.
- Amjed Hossain M. (2005). Neem Seed Oil, Bangladesh Examples Of The Development Of Pharmaceutical Products From Medicinal Plants. *Bangladesh Council Of Scientific And Industrial Research (BCSIR)* **10**, 59-63.
- Anesini C., Genaro A., Cremaschi G., Sterin B L and Borda E. (1999). Antimitogenic effect of *Larrea divaricata* Cav. Participation in arachidonate metabolism. *Comp Biochem Physiol C* **122**, 245–52.
- Anesini C., Genaro A., Cremaschi G., Sterin B L., Cazaux C and Borda E. (1996). Immunomodulatory activity of *Larrea divaricata* Cav. *Fitoterapia*. **67**, 329–33.
- Aruoma OI., Spencer J E., Butler J and Halliwell B. (1995). commüentary reaction of plant derived and syntetic antioxidants whith trichloromethylperoxy radicals. *Free rad. Res.* **22**, 187-190.
- Atta A and Mounair M. (2004). Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. **92**, 303–309.
- Baba Aissa F. (1999). *Encyclopédie des plantes et utiles. Flore d'Algerie et du Magheb*. Ed; librairie Modrene-Rouiba (1999). Alger.
- Babior., B M., Lambeth J D and Nauseef W. (2002). The neutrophil NADPH Oxidase. *Arch Biochem Biophys* **397**, 342-344.
- Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences n°3*. vol. **22**, 266-72.
- Bartosz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. **9**, 5-21.

- Baskin S I and Salen. H. (1994). Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. Academic press Inc. 363, 25-62.
- Beani J C. (1995). Actions biologiques du rayonnement solaire sur la peau. Revue Internationale de Pédiatrie. 259, 2-7.
- Beaudeau J L and Dominique B R. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. internationales p: 550.
- Beckman K and Ames B N. (1997). Oxidative decay of DNA. J Biol Chem. 272, 19633-19636.
- Bellakadhar J., Claisse R., Fleurotin J and Younos C. (1981). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. Journal of Ethnopharmacology. 35, 123-143.
- Bellakhdar J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Appuyez sur IBIS. 764p.
- Benborhou S S and Saadoun N. (1986). Contribution à l'Etude de la flore de la région de Béni-Abbés. Premier cycle de thèse. Université d'Alger. 241p.
- Berrouji H., Martin-Cordero C., Khalil A., Hmamouchi M., Ettaib A., Marhuenda and Dolores H M. (2006). Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum Harmala* L. seed's isolated rat aorta. Pharmacological Research. 54, 150-157.
- Beta T., Nam S., Dexter J E and Sapirstein H D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. Cereal chemistry. 82, 390-393.
- Bhutani S P., Chibber S S and Seshadri T R. (1969). Flavonoids of the fruits and leaves of *Tribulus terrestris*: Constitution of tribuloside. Phytochemistry. 8, 299-303.
- Bidet D., Gagnault J., Girard P and Trotin F. (1987). Inflammation, allergie douleurs et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: les flavonoides. L'actualité chimique. 89-97.
- Bishnu P C., Zeev W and Leah T. (Lahkim). (2007). *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. Industrial Crops and Products. 26, 109-115.
- Bonnefont-Rousselot D., Therond P and Delattre J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In : Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. Delattre J, Durand, G, Jardillier J C. Eds, Flammarion (Paris). pp: 59-81.
- Bouhalit M. (2011). Les effets antioxydants des polysaccharides de *Tatraena gaetula*. Mémoire de master. Université de Guelma. p15.

- Brent J. (1999).** Three new herbal hepatotoxic syndromes. *Journal of Toxicology and Clinical Toxicology* **37**, 715-719.
- Brownlee H., Hedjer J and Scott I. (1992).** Effects of a range of procyanidins on the cocoa pathogen *Crinipellis pernicioso*. *Phys. Mol. Plant pathol.* **40**, 227-232.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. 278-279.
- Bruneton J. (1995).** Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants, Lavoisier Pubs, Paris.
- Bruneton J. (1999).** Flavonoïdes. In : Pharmacognosie, Phytochimie: Plantes médicinales, 3ème édition, Technique et Documentation (Paris), pp: 310-353.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 3 Edition, Editeur technique et documentation, Paris.
- Cae G., Sofic T and Prior RL. (1996).** Antioxidant Capacity Of Tea And Common Vegetables, *J Agric. Food Chem* **44**, 426-31.
- Chen Q., Vazquez E. J., Moghaddas S and Hoppel C L. (2003).** Production of reactive oxygen species by mitochondria. Central role of complex III. *The Journal of biological chemistry.* **278**, 36027-36031.
- Cotelle N. (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry.* **1**: 569-596.
- Cuvelier M.E., Richard H and Berset C. (1996).** Antioxydative Activity And Phenolic Composition Of Pilot Plant And Commercial Extracts Of Sage And Rosmary *Jam. Oil. Chem.* **73**, 645.652.
- Darley-Usmar V., Wiseman H and Halliwell B. (1995).** Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Letters.* **369**, 131-135.
- Das H., Wong J and Lien E. (1994).** Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity-relationship (SSAR) analysis.
- Dastidar S G., Manna Kumar K A., Mazumdar K., Dutta N K., Chaktary A N Motohshi N and Shiratakiy. (2004).** Studies On The Antibacterial Potentiality Of Isoflavones *International Journal Of Antimicrobial Agents.* **23**, 99-102.
- De Oliveira M., Sampaio M., Simon F., Gibert B et Mors W. (1972).** Antitumor activity of condensed flavonols. *An. Acad. Brazil.* **79**, 41-44.
- Delature J. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris -new york p:620.
- Densiov E T and Afanas'ev I B. (2005).** IN: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A). Pp: 703-861.

- Didry N., Pinkas M and Torck M. (1982).** La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *gaidelia*. *PI med. Phytother.* XVIII, 7-15.
- Dinchev D., Janda B., Evstafieva L., Oleszek W., Aslani M R and Kostova I. (2008).** Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions.
- Duke J.A. (1983).** Medicinal Plants in the Bible. Trado-Medic Books, New York, pp 28,27.
- Durackova Z., Djrolo E., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N and Avimadj M. (2008).** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdiakova A (ed). P: 19-43.
- Eddouks M., Ouhidi M L., Farid O., Moufid A., Khalidi. and Lemhadri A. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* 5, p 194-203.
- Elqaj M., Ahami A and Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- Eskander E F and Won Jun H. (1995).** Hypoglycemic and hyperinsulinic effects of some Egyptian herbs used for the treatment of diabetes mellitus (type II) in rats. *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 36, 331-342.
- Etsuo N., Yasukazu Y., Yasuhiro S and Noriko N. (2005).** Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects.
- Farnsworth N R., Akerele O., Bingel A S., Soejarto D and Guo Z. (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.* 64 (2): 159-164
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* pp 108-115.
- Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* 64 (6), 390-396.
- Feng Z., Hu W and Tang M s. (2004).** Trans-4-hydroxy-2-nonenal inhibits nucleotide excision repair in human cells: A possible mechanism for lipid peroxidation-induced carcinogenesis. 8598-8602_PNAS. 101 (23), 8598-860.

- Ferrari C K B. (2001). Oxidative stress pathophysiology: searching for an effective antioxidant protection. *International Medical Journal*. **98**,175-184.
- GildoPastor. (septembre 2006). Précis De Phytothérapie, Edition Alpen, p 3,4.
- Gorinstrinet S and Drzyewiecki J. (2005). Comparative Of The Bioactive Compounds And Antioxydants Potentials Of Fresh And Cooked Polish.Ukranian And Israeli Garlic J Agric. Food Chem **53** (7), 2726_32.
- Gorintein S and Leartonucy H. (2006). Raw And Boiled Gralic Enhances Plasma Antioxydant Activity And Improves Plasma Lipid Metabolism In The Cholesterol_Fed.Life Sci.2. **78**(6), 955-63.
- Goudable J and Favier A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol*. **11**, 115-20.
- Granger D N., Rutili G and McCord J M. (1981). Role of superoxide in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*. **81**, 22-29.
- Halliwell B. (2006). Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *TRENDS in biochemical sciences*. **31**(9), 509-15.
- Halliwell B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free radical biology & Medicine*. **46**, 531-542.
- Halliwell B and Whiteman M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*. **142**, 31-2.
- Halliwell, A and Gutteridge C. (1990). The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*. **280**, 1-8.
- Hani A E., Shaker K H., Pollmann k and Seifert K. (1995). Triterpenoid saponins from *Zygophyllum* species. *Phytochemistry*. **4**, 1233-1236.
- Hans W K. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.
- Harrison D., Griendling K K., Landmesser U., Hornig B and Drexler H. (2003). Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. **91**, 7-11.
- Hassanean H A and Desoky E K. (1992). An acylated isorhamnetine glucoside from *Zygophyllum Simplex*. *Phytochemistry*. **31**, 3293-3294.
- Hayase F and Kato M. (1984). Antioxydant compounds of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. vitaminol*. **30**, 37-46.
- Hennebelle T., Sahpaz S and Bailleul F (2004). Polyphenols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **1**, 3-6.
- Hininger-Favier I. (2002). Le Stress oxydant. INRA SO Press. **270**, 18-23.

- Ibrahim L.F., Kawashty S.A., El-Hagrassy A.M., Nassar, M.I and Mabry T.J. (2008). A new kaempferol triglycoside from *Fagonia taekholmiana*: cytotoxic activity of its extracts. *Carbohydrate Research*. **343**,155-158.
- Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle -Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J and Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
- James D.M., Sylesh K and John H. (2007). Plant natural products: Back to the future or into extinction? *Phytochemistry*. **68**, 2015-2022.
- Jaoubari, J.T., Lazrek H.B and Jana M. (2000). The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **69**, 17-20.
- Jouad H., Haloui M., Rhiouani H., El Hilaly J et Eddouks M. (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the north centre region of morocco(Fez-Boulemane). *J of Ethnopharmacology*. **77**, 175-182.
- Kamel M.S. (1991). Studies on *Balanites aegyptiaca* fruits, an antidiabetic Egyptian folk medicine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **39**,1229-1233.
- Kapoor L.D. (1995). *Opium Poppy :Botany,Chemistry&Pharmacology*, Food Product Press, New York.
- Karumi Y., Onyeyili P.A and Ögugbunja V.O. (2004). Identification of active principes of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract *J Med Sci*. **4** (3), 179-182.
- Kay M. (1996). *Healing with Plants in the American and Mexican West*. University of Arizona Press, Tucson, pp178-181.
- Kehrer J.P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical review in toxicology*. **23** (1), 21-48.
- Koechlin-Ramouatxo C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. **20**, 165-177.
- Kohen R and Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*. **30**, 620-650.)
- Kokwano J.O. (1976). *Medicinal plants of East Africa*. East Africa Literature Bureau. Dar er Salaam, Kampala, Nairobi, Chapter 34. **74**, 198-204

- Kreofsky T., Scalager C., Vuk-Pavlovic Z., Abraham R and Rohrabach M. (1992).** Condensed tannins promotes the release of arachidonic acid from rabbit residents alveolar macrophages. *Am J. Resir. Cell. Mol. Boil.* **7**, 172-181.
- Lambert J D., Sang S., Dougherty A., Caldwell C G., Meyers R O., Dorr R T and Timmermann B N. (2005).** Cytotoxic lignans from *larrea tridentata*. *Phytochemistry*. **66**, 811-815.
- Lawrence G. (1951).** The taxonomy of Vascular Plants. The Macmillan Company, New York.
- Lee K W., Kim Y J., Lee F J and Lee C Y. (2003).** Cocoa Has More Phénolic Phytochemicals And A Higher Antioxydant Capacity Than Teas And Red Wine *J. Agric. Food. Chem.* **51**, 7292-7295.
- Lee Larungrayub N and Rottana panone V. (2006).** Quantitative Evaluation Of The Antioxydant Properties Of Garlic And Shallot Preparations *Nutrition*. **22(3)** 266-74.
- Lehucher-Michel., Lesgards F., Delubac, O., Stocker P., Durand P and Prost M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale.* **30**, 1076-1081.
- Liu J and Nakanishi K. (1982).** The structures of balanitins, potent molluscicides isolated from *Balanites aegyptiaca*. *Tetrahedron*. **38**, 513-519.
- Lyons I and Kambiar D. (2005).** Un Guide Pratique Des Plantes Médicinales Pour Les Personnes Vivants Avec Les VIH *CATIE* 60p.
- Mabry T and Ulubelen A. (1980).** Chemistry and utilization of phenylpropanoïdes including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* **28**, 188-196.
- Macheix J J., Fleurlet A and Jay Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux ISBN2 -88074-625-6.
- Maged Younes. (1999).** Free Radicals and Reactive Oxygen Species. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland. Academic Press. p114-117.
- Maire R. (1940).** Etudes sur la flore et la végétation du sahara central. *Mem. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord. Alger* **3**, 1-433.
- Maiza K., Hammiche V., Brac de la Perrière R A. (1993).** Traditional saharian pharmacopoeia. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), *ISHS Acta Horticulturae 332: WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference*. Maastricht, Netherlands (CR-rom).
- Maksoud S A and El Hadidi M N. (1988)** The flavonoids of *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae) from Egypt. *Plant Systematics and Evolution*. **160**, 153-158.

- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E and Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*; **89**, 411-420.
- Martínez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. **77**, 147-161.
- Meddleton E and Kardasnamí J C. (1993).** The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London, 617-652.
- Meng X L., Riordan N H., Casciari J J., Zhu Y., Zhong J., Gonzalez M J., Miranda-Massari, J R and Riordan H D. (2002).** Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis. *PR Health Science Journal*. **21**, 323-328.
- Meziti Hicham. (2008).** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. Mémoire pour l'obtention du diplôme de MAGISTER en biochimie et physiologie expérimentale. P 95.
- Miean K H and Mohamed S. (2001).** Flavonoid Myricetin Quercetin, Kaempferol, Luteolin, And Apigenin Content Of Edible Tropicale Plants *J Agric Food Chem*. **49**(6), 3106-12.
- Mital., Scalbert A and Expert D. (1996).** Iron with-holding by plant polyphénols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*. **42**, 1551-1555.
- Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules a caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur. 155 p.
- Milcent R and Chau,F. (2003).** Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentales, chimie et biochimie des principaux composés naturels,EDP sciences.
- Millogo H., Guisson I P., Nacoulma O. and Traore A S. (2005).** Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.
- Montagnier L., Olivier R and Pasquier C. (1998).** Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative diseases. *Marcel Dekker, New-York*.
- Moon J K and Shibamoto T. (2009).** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of agricultural and food chemistry*. **57**, 1655-1666.
- Mosquera O M., Correa Y M., Buitrago D C and Nino J. (2007).** Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. **102**, 631- 634.
- Neuzil, J and Stocker R. (1993).** Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*. **331**, 281-284.

- Nicolosis R J., Lawton C W and wilson T A (1999). Vitamin E reduced plasma LDL-C, LDL oxidation, and early aortic atherosclerosis compared with black tea in hypercholesterolemic Hansters. *Nutrition research*, **19** (8), 1201-1214.
- Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M and Takahara Y. (1993). Antioxydant activity of tannins and flavonoids in eucaliptus rostarata. *Phytochimie*, **33**, 557-561.
- Okuda T., Kimura Y., Yoshida T., Hatano T., Okuda H and Arichi S. (1983). Studies on the activitis of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inhibitory effects of lipid peroxydation in mitochondria and microsome of lever. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 1625- 1631.
- Ouf S A., Abdel Hady F K., El Gamal M H and Shaker K H. (1994).Isolation of antifungal coumpounds from some *Zygophyllum* spices and their bioassay against two soil-borne plant pathogens.*Folia Microbiologica*. **39**, 215-221.
- Pal Yu B. (1994). Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiopathological Reviews*. **74**, 139-155.
- Paris R R and Moyse H. (1976-1981).Matière médicale .3 tomes, Paris, Ed. Masson, **420**, 518-506 p.
- Pengelly A. (2004).The constituents of Medicinal Plants : An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine.CABI publishing.
- Perez CMM and Paris. R. (1968).Sur une nouvelle plante hypoglycémiante, le *Zygophyllum cornutum* Gosson. Mémoire présenté à l'Académie de Pharmacie .Paris.
- Perroti C., Caraffa N and Aili S. (1999). Se soigner par les plantes, Edition Berti, pp: 1-90.
- Pettit G R., Doubek, D., Herald L., Numata A., Takahasi C., Fujiki R and Miyamoto J. (1991). Isolation and structure of cytostatic saponins from the African medicinal plant *Balanites aegyptica*. *Journal of Natural Products*. **54**, 1491–1502.
- Pietta P G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. **63**, 1035-1042.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K and Defraigne J O. (2002). Mécanismes physiologiques de la defense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*. **16**, 233–239.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R and Defraigne J O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*. **4(5)**, 78-93.
- Priyadarsini K I. (2005). Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. *Founder's Day Special Issue*.**39**, 1-6.

- Quezel P and Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tom. I, C.N.R.S.Paris.
- Raffaelli B A., Hoikkala A B and Wahala K. (2002). *Chromatography* 77, 29-43.
- Raffauf R E (1996). *Plant alkaloids*, Food Product Press, New York.
- Rees M D., Kennett E C., Whitelock J M and Davies M J. (2008). Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free radical biology & Medicine*. 44, 1973-2001.
- Rimbau V., Cerdan C., Vila R and Iglesias J. (1999). L'activité anti-inflammation de certains extraits à partir de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle de pays nord africains(2). *phytother Res*. 13 (2), 128-23.
- Rodrigues M R., Rodriguez D., Russo M and Campa A. (2002). Macrophage activation includes high intracellular myeloperoxidase activity. *Biochemical and biophysical research communications*. 292, 869-873.
- Roland D. (2005). Les plantes supérieures : divines et / ou diaboliques, Les débats scientifiques du 21eme siècle, Conférences et débats.
- Saber A H and El-Moghazy Shoaib A M. (1960). *Zygophyllum coccineum*. V. Chemistry of leaf and stem. *Journal of Pharmaceutical Science of the U.A.R.* 1, 1-6.
- Salvayre A N and Salvayre R. (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*. 12 (5) 433-438.
- Samaniego-Sanchez C., Gonzalez A M T., Garcia-Parrilla M C., Granados J J Q., Serrana H L and Martinez M C L. (2007). Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Chimica Acta*. 593, 103-107.
- Sasmakov, S A., Putieva Zh., Saïtov Z., Kachala V V and Shashkov A S. (2001). Triterpene glycosides of *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M. *Chemistry of Natural Compounds*. 37, 91-92.
- Schmitt B., Ferry C., Daniel N., Weill P., Kerhoas N and Legand P. (2006). Effet d'un régime riche en acides gras $\omega 3$ et en CLA9-cis, 11 trans sur l'insulinorésistance et les paramètres du diabète de type 2. *OCL*. 13 (1), 70-75.
- Seidel V (2005). Initial and Bulk Extraction. In: natural products isolation. Sarker S D, Latif Z, Gray A I. Eds, Humana Press (Totowa), p 27-37.
- Sharaf M., El-Ansari M A., Matin S A and Saleh M. (1997). Four flavonoids.
- Sheahan M C and Chase M W. (1996). A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae based on morphological, anatomical and DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc.* 122, 279-300.

- Sheahan M C and Chase M W. (2000). Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. *Syst. Bot.* **25**, 371–384.
- Smati D., Hammiche V., Nehari H., Alamir B and Merad R. (1993). Zygophyllum geslini coss.: chemical investigation of hypoglycemic activity. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), ISHS Acta Horticulturae, 29 332:WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference. Maastricht, Netherlands (CD-rom).
- Smati D., Longeon A and Guyot M. (2004). 3β-(3, 4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara. *Journal of Ethnopharmacology*. **95**, 405-407.
- Sorg O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*. **327**, 649-662.
- Speroni E., Cervellati R., Innocenti G., Costa S., Guerra M C., Dall'Acqua S and Govoni P. (2005). Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Journal of Ethnopharmacology*. **98**, 117–125.
- Stavric B and Matula T. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. 274-294.
- Tahraoui A., El-Hilaly .., Israïli Z H and Lyoussi B. (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*. **110**, 105–117.
- Takhtajan A. (1996). Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Thomas S.R and Stoelker R. (1999). Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implication for atherosclerosis. *Free radical biology & medicine*. **28**, 1795-1805.
- Tim V. (2009). Radical chain reaction mechanism of lipid peroxidation. *J Am Med Inform Assoc*. **16**(4), 471-9.
- Tratner I. (2003). Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux. *Médecine/Sciences*. **19** (12), 1291-1292.
- Ursini F., Tubaro F., Rong J and Sevanian A. (1999). Optimization of nutrition: Polyphenols and vascular protection. *Nutrition reviews*. **57** (8), 241-249.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M D., Mazur M and Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. **39**, 44–84.

- Van, Auken, O W. (2000).** Shrub invasions of North American semiarid grasslands. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **31**, 197–215.
- Vivekananthan D P., Penn M S., Sapp S K., Hsu A and Topol E J. (2003).** Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *The lancet*. **36**, 2017-2023.
- Whitford W.G., Nielson K and De Soyza A. (2001).** Establishment and effects of creosote bush, *Larrea tridentata*, on a Chihuahuan Desert watershed. *Journal of Arid Environments*. **47**, 1–10.
- Xue Z H., Lu Z Z., Konno C., Soejarto D D., Cordell G A and Fong H H S and Hodgson W. (1988).** 3 β -(3, 4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol and 3 β -(4-Dihydroxycinnamoyl) - erythrodiol from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*. **27**, 233-235.

Produced with ScanTOPDF

Webgraphie

(01):Anonyme;17 avril2012;<http://fr.wikipedia.org/wiki/Phytoth%C3%A9rapie>

(02):Anonyme;<http://www.eutraco.com/sante/lesplantes/princactifs.htm>).

(03): Anonyme;<http://mesplantes.m.e.pic.centerblog.net/o/59341027.jpg>

(04):Anonyme, 14 décembre2007;<http://www.cosmetic-bio.com/b/index.php/huiles-plantes-composants/Les-elements-actifs-des-plantes.html>

Produced with ScanTOPDF

Résumé :

Les espèces oxygénées réactives (EOR) ont une grande capacité d'endommager presque tous les types de constituants cellulaires dans l'organisme, ce qui explique leur implication dans l'induction et/ou l'amplification de plusieurs pathologies. La supplémentation de l'organisme par des antioxydants exogènes s'avère très utile pour lutter contre ces espèces nocives.

Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer in vitro l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique préparé à partir de la plante *Zygophyllum album*, espèce endémique, répandue dans le Sahara algérien et connue sous le nom de «Agaya». L'activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique de *Zygophyllum album* a été évaluée vis-à-vis du Diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par Mansouri et al (2005).

Une inhibition maximale de 94,62% du radical DPPH est obtenue avec la concentration de 1,14 mg/ml de l'acide gallique. Alors que l'extrait hydroalcoolique exerce une inhibition maximale de 68,31% à une concentration de 3,8 mg/ml.

Les résultats du test au DPPH ont révélé que l'extrait hydroalcoolique de *Zygophyllum album* présente des activités anti radicalaires très importantes concentration dépendante.

Mots clés; Radicaux libres oxygénés, Stress oxydatif, *Zygophyllum album*, Activité antioxydante, DPPH.

Abstract:

Reactive oxygen species (ROS) are compounds with high potential to damage almost all types of cellular constituents, which explains their involvement in the induction and/or amplification of a number of human pathologies. The supplementation of the body by exogenous antioxidants seems to be very helpful to fight these harmful species.

In this context we have attempted to assess *in vitro* antioxidant activity of hydroalcoholic extract prepared from the plant *Zygophyllum album*, endemic species, widespread in the Algerian Sahara and known as the "Agaya". The antiradical activity of the hydroalcoholic extract of *Zygophyllum album* was evaluated via the Diphenyl picryl-hydrazyl (DPPH) free radical as a relatively stable following the protocol described by Mansouri et al (2005).

Maximum inhibition of 94,62% of DPPH radical is obtained with a concentration of 1,14 mg/ml of gallic acid. While the hydroalcoholic extract exerts maximum inhibition of 68,31% at a concentration of 3,8 mg/ml.

The test results showed that the DPPH hydroalcoholic extract *Zygophyllum album* exhibit antiradical activities very significant concentration-dependent.

Key-words; Oxygenated free radicals, Oxidative stress, *Zygophyllum album*, Antioxidant activity, DPPH

Produced with ScanTopDF