



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie cellulaire et
Moléculaire

قسم: البيوكيمياء والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Erodium atlanticum Extraction et étude théorique

Présenté et soutenu

Le 24/09/2020

Par

BITAT Rania

&

BOUNAAS Jihane

Jury d'évaluation :

Président : Mr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Mr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).

Examineurs : Mr BENSOUICI Chawki (MRB- CRBT Constantine).

Année universitaire
2019 – 2020

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre directeur de mémoire Mr KITOUNI RACHID maitre de conférences à l'université Frères Mentouri Constantine, de nous avoir encadré, orienté, aidé lors de la rédaction de ce mémoire, aussi pour sa patience et sa disponibilité

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr BENSOUICI CHAWKI responsable de laboratoire de biochimie au centre de recherche en biotechnologie, merci pour le temps que vous nous avez consacré durant la période de notre travail, et pour toute l'aide que vous avez apporté au cours de notre pratique.

Merci à Mr BOUANIMBA NOUR maitre de conférences à l'université Frères Mentouri Constantine et à Mr BENSOUICI CHAWKI d'avoir accepté d'évaluer notre travail au sein du jury de soutenance.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel du centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine qui nous ont fourni les outils nécessaires pour avoir assuré la partie pratique de notre projet.

Sans oublier de remercier toute l'équipe pédagogique de la faculté de la science de la nature et de la vie et les intervenants professionnels responsables de notre formation pour nous avoir transmis leur savoir et leur passion tout au long de ces cinq années.

Je dédie ce travail

À mes chers parents qui ont toujours cru en moi. Merci pour tout.

À mes frères et ma chère sœur

*À mon binôme et ma meilleure amie RANIA, l'amie sur qui je peux toujours
compter*

À ma meilleure amie d'enfance RIMA

*À tous mes amis, que j'ai croisés. Une mention particulière pour KAOUTHER
NOURHENE et ROMAÏSSA avec qui j'ai partagé d'agréables moments.*

*À tous Les collègues de la promotion 2019-2020 pour les sympathiques moments
qu'on a passés ensemble.*

JIHANE

Je dédie ce modeste travail

*À mes très chers parents qui m'ont toujours soutenue et encouragée tout au long de
ma vie et que je remercie chaleureusement*

À mon cher frère

À mes adorables sœurs

*À JIHANE, ma meilleure amie et mon binôme, pour son aide précieuse et
chaleureuse et son inestimable collaboration*

*À l'ensemble de mes amis proches et mes collègues d'études pour leur aide et leur
soutien plus que précieux*

RANIA

Table des matières

Introduction générale	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : <i>Erodium atlanticum</i>, aspect botanique	
I. Position systématique	3
II. Famille des Geraniaceae	3
III. Genre <i>Erodium</i>	5
1. Étymologie	5
2. Origine et Historique.....	6
3. Habitat et répartition géographique.....	6
4. Description botanique	6
5. Principales espèces de l' <i>Erodium</i>	8
6. Composition biochimique de l' <i>Erodium</i>	8
7. Données pharmacologiques.....	10
8. Culture de l' <i>Erodium</i>	11
IV. <i>Erodium atlanticum</i>	11
1. Description morphologique.....	11
2. Distribution.....	12
3. Comparaison entre l' <i>Erodium atlanticum</i> et l' <i>Erodium cossonii</i>	12

Chapitre II : Métabolites secondaires

I. Composés phénoliques	15
1. Définition	15
2. Biosynthèse	16
3. Classes des polyphénols.....	17
3.1. Acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3 ; non flavonoïde)	17
3.1.1. Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)	17
3.1.2. Acides hydroxycinnamiques (C6-C3).....	19
3.2. Flavonoïdes (C6-C3-C6).....	21
3.2.1. Chalcone	23
3.2.2. Aurones.....	24
3.2.3. Flavanones	24
3.2.4. Flavones	25
3.2.5. Flavanonol (dihydroflavonol).....	25
3.2.6. Flavonol	25
3.2.7. Anthocyanidine.....	26
3.2.8. Isoflavone.....	26
3.2.9. Flavan-3-ol (Flavanol)	26
3.3. Tanins	30
3.3.1. Tanins hydrolysables	31
3.3.2. Tanins condensés (Proanthocyanidol ou Catéchique)	33
3.4. Lignanes (C6-C3) ₂	35
3.5. Stilbéoïdes (C6-C2-C6)	36
3.5.1. Stilbènes.....	36
3.5.2. Bibenzyls.....	37
3.5.3. Phénanthrènes.....	37
3.6. Coumarines (C6-C3).....	38
4. Intérêts pharmacologiques des polyphénols	39
II. Alcaloïdes.....	41
1. Généralités.....	41
2. Biosynthèse des alcaloïdes	41

3. Structures et classification des alcaloïdes	42
3.1. Selon l'origine biosynthétique	42
3.2. Selon la structure moléculaire et leur composition chimique	42
3.3. Activités pharmacologiques et emplois	43
 III. Terpenoïdes	45
1. Définition et structure générale	45
2. Biosynthèse	45
3. Classification.....	47
3.1. Hémiterpènes.....	47
3.2. Monoterpènes.....	47
3.3. Diterpènes	48
3.4. Triterpènes	49
3.5. Tétraterpènes	50
3.6. Polyterpènes.....	51
4. Huiles essentielles	51
4.1. Définition.....	51
4.2. Caractéristiques des huiles essentielles.....	52
4.3. Effets pharmacologiques.....	52
5. Intérêts des terpenoïdes.....	52

Chapitre III : Système oxydant, système antioxydant et stress antioxydant

I. Espèces réactives de l'oxygène.....	54
1. Généralités.....	54
2. Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote	55
2.1. Espèces réactives radicalaires	56
2.1.1. Anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$	56
2.1.2. Radical hydroperoxyde HO_2^{\bullet}	57
2.1.3. Radical hydroxyle HO^{\bullet}	58
2.1.4. Monoxyde d'azote NO^{\bullet}	59

2.1.5.	Radicaux alkoxyloxy RO• et peroxyloxy ROO•	60
2.2.	Espèces réactives non radicalaires	61
2.2.1.	Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂	61
2.2.2.	Acide hypochloreux HOCl	61
2.2.3.	Oxygène singulet ¹ O ₂	62
3.	Autres espèces oxydantes	63
4.	Sources des radicaux libres	63
4.1.	Sources endogènes	63
4.2.	Sources exogènes	65
5.	Rôles physiologiques des ROS et RNS	66
II.	Systèmes antioxydants	66
1.	Systèmes de défenses enzymatiques	67
1.1.	Superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	67
1.2.	Glutathion peroxydase (GPx)	68
1.2.1.	GPx dépendante du sélénium	68
1.2.2.	GPx indépendante du sélénium	69
1.3.	Catalase (EC 1.11.1.6)	69
1.4.	Complexe thiorédoxine/thiorédoxine réductase	70
1.4.1.	Thiorédoxine (Trx)	70
1.4.2.	Thiorédoxine réductase (TrxR)	70
1.5.	Peroxyrédoxine (Prx EC 1.11.1.15)	71
2.	Systèmes de défenses non enzymatiques	72
2.1.	Systèmes antioxydants endogènes	72
2.1.1.	Glutathion	72
2.1.2.	Acide urique	72
2.1.3.	Bilirubine	73
2.2.	Systèmes antioxydants exogènes	73
2.2.1.	Vitamines	73
2.2.2.	Oligoéléments	75
2.2.3.	Caroténoïdes	75
2.2.4.	Composés phénoliques	75
3.	Antioxydants synthétiques	75

III. Stress oxydant.....	77
1. Définition	77
2. Conséquences du stress oxydant	77
2.1. Stress oxydant à l'échelle cellulaire	77
2.2. Stress oxydant et pathologies	79
2.3. Stress oxydant et le phénomène de vieillissement.....	80

DEUXIEME PARTIE : SECTION EXPERIMENTALE

I. Matériels	82
1. Matériel végétal	82
2. Appareils et produits chimiques	83
II. Méthodes.....	83
1. Préparation des extraits d'<i>Erodium atlanticum</i>.....	83
1.1. Extraction solide-liquide (macération)	83
1.2. Extraction liquide-liquide	84
2. Tests d'activités antioxydantes.....	89
2.1. Activité antiradicalaire au DPPH	89
2.2. Cupric ion reducing antioxidant capacity « CUPRAC »	91
2.3. Activité de blanchissement du β -carotène	92
2.4. Activité antiradicalaire par piégeage de l'ABTS.....	92
2.5. Test de pouvoir réducteur (FRAP)	93
2.6. Test de chélation des ions métalliques.....	94
3. Expressions des résultats.....	95

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Rendement d'extraction.....	96
---------------------------------------	-----------

Conclusion générale	98
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Listes des figures

Figure 1 : Carte de répartition des Géraniacées.	4
Figure 2 : Cinq genres de la Geraniaceae.	4
Figure 3 : A (fleur), B (fruit) du genre <i>Geranium</i>	5
Figure 4 : Différentes parties de quelques espèces du genre <i>Erodium</i>	7
Figure 5 : (a) <i>Erodium gruinum</i> . (b) Fleur et fruit en forme de bec. (c) Le « bec » du fruit.	7
Figure 6 : Principales espèces du genre <i>Erodium</i>	8
Figure 7 : Structures de certains composés chimiques présents dans le genre <i>Erodium</i>	9
Figure 8 : Photo de la plante <i>Erodium atlanticum</i>	11
Figure 9 : Répartition de l'espèce <i>Erodium atlanticum</i> (Maroc, Algérie).	12
Figure 10 : <i>Erodium atlanticum</i> localisée sur les rochers calcaires.	13
Figure 11 : Photo de la plante <i>Erodium cossonii</i>	13
Figure 12 : Comparaison entre les feuilles d' <i>Erodium cossonii</i> (1) et d' <i>Erodium atlanticum</i> (2).	14
Figure 13 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques.	17
Figure 14 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques.	19
Figure 15 : Squelette de base des flavonoïdes (benzo- γ -pyrone).	21
Figure 16 : Voie générale de biosynthèse des flavonoïdes.	22
Figure 17 : Structures des principales classes des flavonoïdes.	23
Figure 18 : Biosynthèse des chalcones.	24
Figure 19 : Numérotation des positions des chalcones et des aurones.	24
Figure 20 : Formation de l'anthocyanidine et du flavonol.	25
Figure 21 : Structure de l'acide gallique.	31
Figure 22 : Structure de l'acide ellagique.	31
Figure 23 : Penta-O-galloyl-D-glucose	32
Figure 24 : Structure de l'acide hexahydroxydiphénique (couplage oxydant entre deux galloyles).	33
Figure 25 : Structure d'une casuarictine.	33
Figure 26 : Structures des flavan-3-ols présentes dans les tanins condensés.	34
Figure 27 : Procyanidine (B-1) : épicatechine-(4 \rightarrow 8)-catéchine (liaison de type B).	34
Figure 28 : Proanthocyanidine de type A (liaison C4 \rightarrow C8 et C2 \rightarrow O \rightarrow C7).	35
Figure 29 : (A) : Structure de phénylpropane, (B) : Structure de base des lignanes, (C) : Structure de trois espèces monolignols.	35

Figure 30 : Structure d'un secoisolariciresinol (SECO).....	36
Figure 31 : Structure générale des stilbènes	36
Figure 32 : Structure d'un trans-resvératrol.....	37
Figure 33 : Structure d'un bibenzyl.....	37
Figure 34 : Structure d'un phénanthrène.	37
Figure 35 : Structure de base des Coumarines.....	38
Figure 36 : Structure d'un fraxétol (coumarines simples subit une modification d'hydroxylation et o-méthylations).	38
Figure 37 : Structure d'un cichoriine (coumarines simples à structure hétérosidique).....	39
Figure 38 : Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes. Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire.	44
Figure 39 : Structure de base de l'isoprène.....	45
Figure 40 : Aperçu de la voie de l'acide mévalonique et biosynthèse du squelette terpenoïde.	46
Figure 41 : Structure de quelques monoterpènes.	48
Figure 42 : Quelques exemples de différents types de diterpènes.	49
Figure 43 : Structure du squalène et du 2,3-époxy-squalène.	49
Figure 44 : Structure de quelques triterpènes.	50
Figure 45 : Noyau stérane.....	50
Figure 46 : Quelques structures de caroténoïdes.....	51
Figure 47 : Représentation schématique d'une partie de la chaîne respiratoire mitochondriale.	54
Figure 48 : Cascade d'événements conduisant à la production de différents ROS à partir de l'anion superoxyde.	57
Figure 49 : Sources cellulaires de production de ROS.....	63
Figure 50 : Génération de l'anion superoxyde lors de la biosynthèse des prostaglandines. ...	64
Figure 51 : Génération des radicaux libre lors de l'auto-oxydation des catécholamines lors du phénomène d'ischémie-reperfusion.....	64
Figure 52 : Fonctionnement de la Trx et de la TrxR.	71
Figure 53 : Structure de la vitamine E.....	73
Figure 54 : Relation entre les vitamines E et C dans d'élimination des radicaux peroxydes. .	74
Figure 55 : Structure chimique du BHA et BHT	76
Figure 56 : Interactions du BHT avec des dérivés réactifs de l'oxygène.....	76

Figure 57 : Étapes intervenant dans la peroxydation des AGPI.	79
Figure 58 : Principe d'hormesis et les conséquences de stress chronique.....	81
Figure 59 : Boutaleb, wilaya de Sétif	82
Figure 60 : Procédé de concentration de filtrat méthanique.	84
Figure 61 : Phase aqueuse.....	84
Figure 62 : Extraction par le chloroforme.	85
Figure 63 : Extraction par l'acétate d'éthyle.....	86
Figure 64 : Extraction par le n-butanol.....	87
Figure 65 : Différents extraits de <i>Erodium atlanticum</i>	87
Figure 66 : Opérations d'extractions d' <i>Erodium atlanticum</i>	88
Figure 67 : Réduction de DPPH par un antioxydant.	89
Figure 68 : Coloration du DPPH avant et après l'addition d'un antioxydant.	90
Figure 69 : Réduction de $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{+2}$ en $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$ par un antioxydant.	91
Figure 70 : Formation du radical cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ à partir de l'ABTS.....	93

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales activités du genre <i>Erodium</i>	10
Tableau 2 : Acides phénols de la série hydroxybenzoïques	18
Tableau 3 : Acides phénols de la série hydroxycinnamique.	20
Tableau 4 : Quelques exemples de différentes classes des flavonoïdes.	27
Tableau 5 : Effets pharmacologiques des polyphénols.	39
Tableau 6 : Classification des terpenoïdes	47
Tableau 7 : Poids et rendement de chaque extrait.....	96

Liste des abréviations

-A-

ABTS	Acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ADP	Adénosine Diphosphate
AGPI	Acide Gras Polyinsaturé
AKT	Protéine kinase B
ANR	Anthocyanidine Réductase
ANS	Anthocyanidine Synthase
ATP	Adénosine Triphosphate

-B-

BHA	Hydroxyanisol butylé
BHT	Butylhydroxytoluène

-C-

4CL	4-Coumarate CoA Ligase
C4H	Cinnamate 4-Hydroxylase
CHCl₃	Chloroforme
CHI	Chalcone Isomérase
CHKR	Polycétide Réductase de Chalcone
CHS	Chalcone Synthase
CuCl₂	Chlorure de cuivre (II)
CUPRAC	Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity

-D-

DFR	Dihydroflavonol 4-Réductase
DMAPP	Diméthylallyl Pyrophosphate (2-isopentyl Pyrophosphate)
DPPH	1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl

-E-

EDTA	Ethylènediaminetétraacétique
EGF-R	Epidermal Growth Factor Receptor
ERK1/2	Extracellular Signal-Regulated Kinase ½
ERN	Espèces Réactives de l'azote
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
EtOAc	Ethyle d'acétate

-F-

FAD	Flavine Adenine Dinucleotide
FeCl₂	Chlorure Ferreux
FGT	Flavonoïde Glycosyltransférane
FHT	Flavanone 3-b-Hydroxylase
FMN	Flavine Mononucleotide
FNS II/ I	Flavone Synthase II / I
FPP	Farnésyl Pyrophosphate
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power

-G-

GGPP	Diphosphate de Géranylgeranyle
GPP	Diphosphate de Géranyle

GPx Glutathion Peroxydase

GS• Radical thyle

GSH Glutathion réduit

GSSG Glutathion oxide

-H-

H₂O₂ Peroxyde d'hydrogène

HO• Radical Hydroxyle

HO₂• Radical Hydroperoxyle

HOCL Acide Hypochloreux

-I-

IFD Isoflavone Déshydratase

IFS Isoflavone Synthase

IPP Isopentényl Pyrophosphate

-K-

K₂S₂O₈ Persulfate de potassium

K₃Fe(CN)₆ Ferricyanure de potassium

-L-

L• Radical alkyle

LAR Leucoanthocyanidin Réductase

LO• Radical alkoxye

LOO•- Radical peroxye

LOOH Hydroperoxyde Lipidique

-M-

MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MeOH	Méthanol
MPO	Myéloperoxydase
MVA	Acide Mévalonique
MVAP	Mévalonate Phosphate
MVAPP	Mévalonate Diphosphate

-N-

NAD(P)H	Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate) Hydrogéné
n-BuOH	n-Butanol
NC	Néocuproïne
NH₄AC	Acétate d'ammonium
NO•	Monoxyde d'azote
NOS	Nitric Oxide Synthase
NOX	NAD(P)H Oxydase

-O-

¹O₂	Oxygène singulet
O₂•⁻	Anion Superoxyde
ONOO⁻	Peroxynitrite

-P-

PN	Polynucléaire Neutrophile
PRx	Peroxyrédoxine

-R-

R(%)	Rendement
Redox	Oxydation-Réduction
RNI	Reactive Nitrogen Intermedites
RNS	Reactive Nitrogen Species
RO•	Radical alkoxye
ROO•	Radical peroxye
ROS	Reactive Oxygen Species

-S-

SOD	Superoxyde Dismutase
------------	----------------------

-T-

TCA	Acide trichloracétique
Trx	Thiorédoxine
TrxR	Thiorédoxine Réductase

Introduction générale



Depuis les temps, les plus reculés, l'Homme chercha à varier les moyens d'assouvir sa faim. Il a trouvé dans la végétation, des aliments nourrissants, mais aussi les seuls remèdes dont il pouvait disposer. Depuis, les médicaments à base de plantes et substances végétales, ont occupé une place primordiale en médecine, pendant des siècles (**Chabrier, 2010**).

La phytothérapie est définie comme les soins par des plantes médicinales, procurant des drogues végétales, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Kechar & Hellal, 2017**). La phytothérapie est une "médecine douce". Le terme "douce" s'apparente à "sans danger". Ceci est impropre car la phytothérapie peut être dangereuse et cela dépend des plantes utilisées, des doses administrées ou par ailleurs, d'une mauvaise utilisation (**Martin, 2001**). Ceci dit, des personnes ont été accidentellement empoisonnées par usage de plantes, et d'autres ont été intentionnellement empoisonnées, par des personnes malveillantes, utilisant des produits végétaux, comme relaté dans l'Histoire. Pour exemple, le philosophe grec Socrate a été condamné à mort et exécuté par ingestion d'un extrait de ciguë (*Conium maculatum*) contenant de la coniine. Cette substance bloque les récepteurs de nicotine au niveau de la jonction neuromusculaire, provoquant la paralysie des membres inférieurs puis de l'appareil respiratoire pour enfin causer la mort (**Raven et al., 2017**). Il est donc indispensable d'identifier les principes actifs des plantes médicinales afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action et bien entendu leurs effets secondaires sur la santé.

En effet, les plantes détiennent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines, ...). Les principes actifs peuvent être utilisés en pharmacie, après isolation, par des techniques chimiques (extraction, distillation, etc.) (**Bougandoura, 2011**). Les métabolites secondaires polyphénols, sont une famille de composés chimiques d'origine naturelle. Cette famille présente une très grande diversité de structures chimiques ainsi qu'un très large éventail d'activités biologiques (**Kechar & Hellal, 2017**). Ces composés sont largement répandus dans le règne végétal. Ils possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques, dont des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes (**Muanda, 2010**).

Les polyphénols aident à lutter efficacement contre le stress oxydant et les pathologies associées (le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires, etc.) (**Bidie et al., 2011**). Ils aident à piéger les espèces réactives de

l'oxygène (ROS) telles que le superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'acide hypochlorique (HOCl), pouvant être très délétères, en endommageant les lipides, les protéines et l'ADN (Curin & Andriantsitohaina, 2005).

L'objectif de cette étude est l'évaluation, in vitro, de l'activité anti-oxydante de l'espèce *Erodium atlanticum*. Les principales parties de ce travail se résument comme suit :

Une première partie exposant essentiellement des données bibliographiques :

- Le premier chapitre aborde la présentation botanique de la famille des Geraniaceae, le genre *Erodium* et ses activités, ainsi que la description de l'espèce *Erodium atlanticum*.
- Le deuxième chapitre développe différentes classes de métabolites secondaires à savoir : les polyphénols, les alcaloïdes et les terpenoïdes, ainsi que les sous classes et leurs structures, et d'autre part, les rôles et les principaux effets pharmacologiques de ces métabolites.
- Le troisième chapitre décrit des généralités sur les radicaux libres, les antioxydants et le stress oxydatif. Dans cette partie nous nous sommes focalisés sur les différentes formes de radicaux libres, leurs sources, leurs effets sur la santé, et la réaction de l'organisme vis à vis ces espèces radicalaires.

Une deuxième partie exposant la section expérimentale répartie sur trois sections :

- Préparation d'extraits de l'espèce *Erodium atlanticum*.
- Évaluation de la teneur des différents extraits en polyphénols totaux et en flavonoïdes.
- Étude du pouvoir antioxydant des différents extraits.

Une troisième et dernière partie discutant les résultats obtenus in vitro.

PREMIERE PARTIE



Synthèse bibliographique



CHAPITRE I

Erodium atlanticum, aspect botanique

L'*Erodium atlanticum* est une plante vivace couvre-sol où il forme un coussin de fleurs. Il appartient d'ailleurs au genre botanique *Erodium* auquel le nom vernaculaire de becs-de-grue ou de héron est donné et qui regroupe diverses plantes de la famille des Geraniaceae.

I. Position systématique

La classification systématique d'*Erodium atlanticum* selon (Jeiter, Cole, et Hilger 2017) :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Geraniales
Famille	Geraniaceae
Genre	<i>Erodium</i>
Espèce	<i>Erodium atlanticum</i>
Nom vernaculaire	Aucun nom

II. Famille des Geraniaceae

Famille appartenant à l'ordre de plantes dicotylédones, Geraniales qui regroupe selon Cronquist : les Balsaminaceae, les Limnanthace les Tropaeolacea et les Oxalidaceae (Price et Palmer 1993).

La Geraniaceae est une famille mondiale, répandue principalement dans les régions tempérées et subtropicales (Figure 1) (Perveen et Qaiser 1999). Elle appartient au grand groupe des angiospermes (plantes à fleurs) (Fiz et al. 2006), et elle comprend de nombreuses plantes prometteuses du point de vue médicinal (Okuda, Mori, et Hatano 1980).

Cette famille comprend environ 830 espèces réparties essentiellement en cinq genres (Figure 2) : *Erodium*, *Geranium*, *Monsonia*, *Sarcocaulon* et *Pelargonium* (Jeiter et al. 2017).

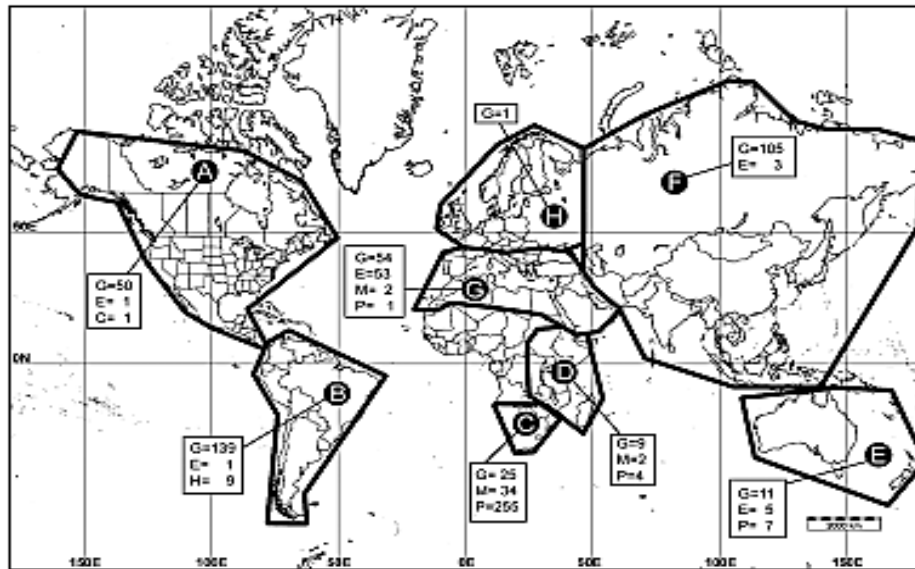


Figure 1 : Carte de répartition des Géraniacées (E : *Erodium*, G : *Géranium*, H : *Hypseocharis*, M : *Monsonia*, P : *Pelargonium*, C : *Californie*) (Fiz et al. 2008).



Figure 2 : Cinq genres de la Geraniaceae.

La famille des Geraniaceae est divisée en deux tribus (Verhoeven et Venter 1992) :

- ✓ Les Geranieae comprennent l'*Erodium*, *Geranium*, *Monsonia* et *Sarcocaulon*, dont les fleurs sont toutes essentiellement actinomorphes.
- ✓ Les Pelargonieae comprennent les *Pelargoniums*, avec des fleurs zygomorphes.

Cependant, il existe de nombreuses espèces d'*Erodium* à fleurs zygomorphes, et certaines espèces de *Pelargonium* à fleurs actinomorphes.

Les cinq genres de Geraniaceae ont des caractéristiques communes, dont l'une des principales est le fruit schizocarpique (Verhoeven et Venter 1992). Une autre caractéristique est qu'ils ont des fleurs qui récompensent le nectar (Jeiter et al. 2017).

Les plantes de cette famille présentent des tiges noduleuses alternes ou opposées, des feuilles palmées, lobées ou composées. La fleur (Figure 3 (A)) est régulière, pentamère (c'est-à-dire elle se compose de cinq sépales et cinq pétales), solitaire ou groupée en inflorescence. (Benelli et Mehlhorn 2018). Le fruit schizocarpique (Figure 3 (B)) est formé à partir de cinq carpelles accolés et attachés à la capsule enveloppant la graine à la base du fruit. À maturité, les carpelles se séparent de manière élastique autour d'un axe central (nommé le bec) (Abraham et Elbaum 2013).

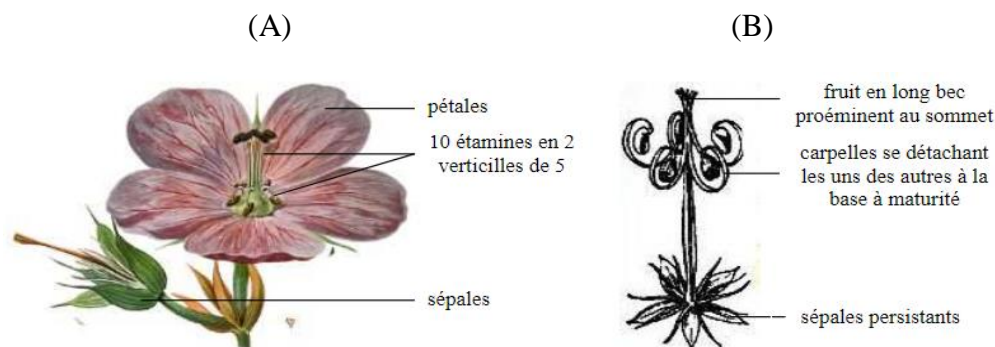


Figure 3 : A (fleur), B (fruit) du genre *Geranium*.

III. Genre *Erodium*

1. Étymologie

L'*Erodium* a été connu comme Heron's bill (bec de héron). Le nom *Erodium* vient du mot grec *erodios*, signifiant héron allusion à son fruit comparable au long bec érigé d'où l'origine du nom Heron's bill (Kokwaro 1971).

2. Origine et Historique

Le genre *Erodium* a été décrit en 1789 par Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Auparavant les espèces du genre *Erodium* étaient incluses dans la section du *Geranium*, dès 1788, L'Héritier proposa de séparer le genre *Geranium* de Carl Von Linné en trois genres :

- *Pelargonium* : regroupe les espèces possédant une corolle irrégulière.
- *Erodium* : regroupe les espèces dont les filets des capsules sont barbus et en spirale.
- *Geranium* : regroupe les espèces à corolle régulière.

La proposition de L'Héritier a été acceptée grâce aux travaux de Karl Ludwig Willdenow et d'Augustin Pyrame de Candolle (**G. G. Guittonneau 1972**).

3. Habitat et répartition géographique

Ce genre cosmopolite compte plus de 74 espèces. À l'exception de l'Antarctique, il est réparti sur tous les continents. Un centre majeur de diversité est observé dans la région du bassin méditerranéen (environ 63 espèces) où il pousse dans des endroits montagneux et perturbés, tandis que d'autres régions n'abritent que quelques espèces indigènes : une en Amérique du Nord, une en Amérique du Sud, cinq en Australie et quatre en Asie (**Fiz-Palacios et al. 2010; Fiz et al. 2008**).

4. Description botanique

Les plantes d'*Erodium* peuvent être des herbes annuelles ou vivaces. En effet, ce genre a des feuilles alternes ou opposées, pennées ou pennées lobées, parfois non divisées. Inflorescence est généralement ombellée, pédonculée, bractée. La taille et la forme de ses feuilles peuvent varier considérablement entre les populations et également au sein des populations (**Sharawy 2008; Venter et Verhoeven 1990**).

Les fleurs de ce genre sont actinomorphes ou légèrement zygomorphes ; avec cinq étamines fertiles antisepalous et cinq staminodes qui alternent avec les fertiles. L'*Erodium* a également cinq glandes nectarifères situées à la base extérieure des étamines fertiles. Il

contient un ovaire de cinq carpelles attaché à la colonne centrale de la fleur (Figure 4) (Sharawy 2008; Venter et Verhoeven 1990).

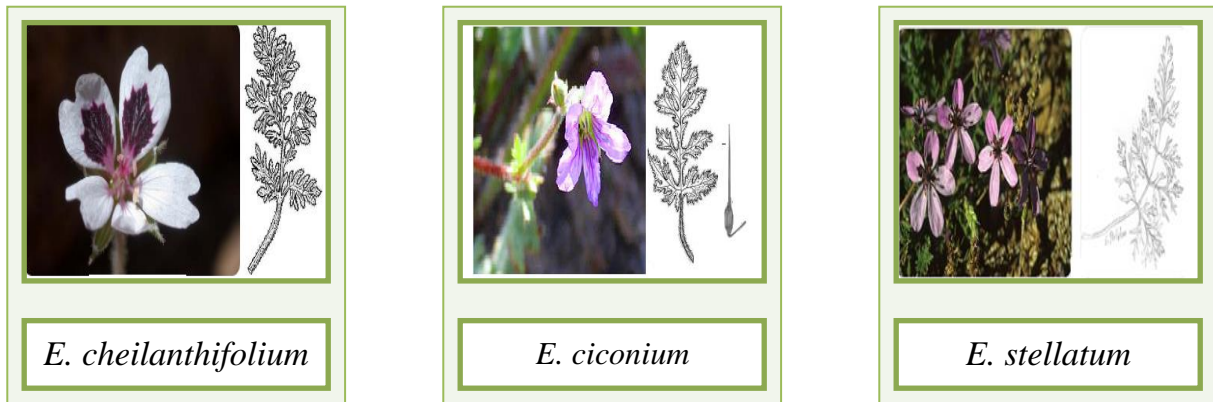


Figure 4 : Différentes parties de quelques espèces du genre *Erodium* (feuille, fleur...).

Ses fruits sont schizocarpes, chaque méricarpe a une graine qui se déhiscente par la division de la tribune, dont les segments se tordent en spirale et restent attachés à l'apex. Les Graines sont exalbumineuses, généralement lisses et radicule située entre les cotylédons feuillus, incurvée ou pliée (Kokwaro 1971).

Au fur et à mesure que le fruit mûrit, les arêtes se déshydratent et induisent une déformation par torsion du « bec » du fruit (Figure 5) (Abraham et Elbaum 2013).



Figure 5 : (a) *Erodium gruinum*. (b) Fleur et fruit en forme de bec. (c) Le « bec » du fruit : La flèche bleue pointe vers les arêtes formant un bec, tandis que la flèche orange pointe vers les capsules de graines.

Les membres de l'*Erodium* fleurissent généralement au printemps, bien que certaines espèces (de nombreuses plantes vivaces hermaphrodites) fleurissent également à la fin de l'été-automne. Les espèces vivaces qui fleurissent du printemps à l'automne ont souvent des fleurs plus petites pendant cette dernière période (Alarcón, Roquet, et Aldasoro 2011).

5. Principales espèces de l'*Erodium*

Plus de soixante-dix espèces d'*Erodium* sont distinguées dont les principales étant représentées sur la Figure 6.



Figure 6 : Principales espèces du genre *Erodium* (Munekata et al. 2019).

6. Composition biochimique de l'*Erodium*

L'*Erodium* est un genre de plantes à fleurs qui a été utilisé depuis l'Antiquité en médecine traditionnelle en raison de leurs propriétés sanitaires. Certaines de ces propriétés bénéfiques ont été liées à leur teneur élevée en ingrédients actifs antioxydants (Barba et al. 2020). Des investigations phytochimiques réalisées sur les espèces d'*Erodium* ont également indiqué la présence de nombreux composants tels que :

- Les alcaloïdes ont été détectés chez : l'*E.glaucophyllum* et l'*E.malacoide*. Des traces de caféine et de choline avaient précédemment été trouvées dans la partie aérienne d'*Erodium cicutarium* (Lis-Balchin 2002).
- Fecka et Cisowski ont élucidé la structure des principaux composés phénoliques présents dans l'*Erodium* comme : l'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide ellagique, la corilagine, la géraniin, l'isoquercetin, le méthyl gallate 3-O-β-D-glucopyranoside, et le rutoside (Figure 7) par la combinaison de deux méthodes analytiques, la spectrométrie de masse et la résonance magnétique nucléaire. Cependant, les composés phénoliques prédominants varient selon les espèces. Il est également mentionné que l'*Erodium* contient des huiles essentielles (Munekata et al. 2019).
- Les tanins, les catéchines, les sucres (glucose, galactose, fructose), les acides aminés (glycine, alanine, proline, histidine, tryptophane, tyrosine, acide glutamique) et les vitamines K et C (Figure 7) ont été identifiés dans les extraits de certaines espèces d'*Erodium* (*E.cicutarium*...) (Sroka, Bodalska, et Mazol 1994; Abdelkebir et al. 2019).

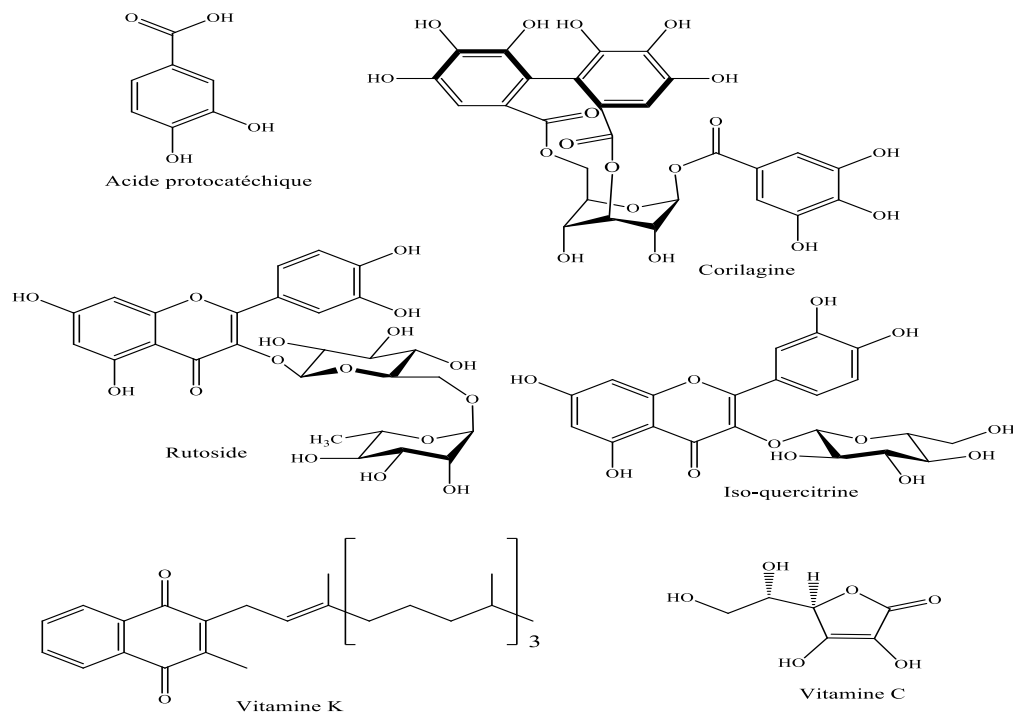


Figure 7 : Structures de certains composés chimiques présents dans le genre *Erodium*.

7. Données pharmacologiques

Ce genre est utilisé en médecine populaire pour traiter de nombreuses maladies telles que l'hémorragie, les troubles dermatologiques, l'indigestion et les maladies inflammatoires. À part l'activité anti-oxydante, il existe d'autres activités qui sont mentionnées dans ce tableau (Munekata et al. 2019) :

Tableau 1 : Principales activités du genre *Erodium*.

Activités	Mode d'action
Anti inflammatoire	Les composés phénoliques présents dans l' <i>Erodium</i> peuvent inhiber le processus inflammatoire par l'inhibition de la formation de 5-lipoxygénase (qui transforme les acides gras en leucotriènes ce qui favorisent à leur tour le signal inflammatoire).
Anti microbienne	Le potentiel antimicrobien varie selon les espèces d' <i>Erodium</i> et les solvants d'extractions. Ils ont exploré l'impact de l'huile essentielle obtenue à partir de trois espèces d' <i>Erodium</i> (<i>E. absinthoide</i> , <i>E. ciconium</i> et <i>E. cicutarium</i>) contre le développement : de bactéries Gram négatives <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et les bactéries Gram positives <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium perfringens</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> .
Anti virale	Le potentiel antiviral d'extraits d' <i>E. Stephanianum</i> contre le VIH de type 1 a été observé, en induisant l'expression des CD4 et des corécepteurs des chimiokines. Ils ont indiqué que les extraits aqueux et méthanoliques d' <i>E. Cicutarium</i> sur les myxovirus, l'herpès virus de type 1 et la stomatite vésiculeuse avaient une activité antivirale contre tous ces virus testés. Une activité antivirale de l'extrait méthanolique d' <i>E. cicutarium</i> contre le virus de la maladie de Newcastle et le virus de la grippe A chez la souris a été observé, en induisant la production d'interféron.
Autres activités	Dans une étude récente, Ils ont mentionné que l'extrait d' <i>E. Cicutarium</i> a inhibé l'activité de certaines enzymes, comme les enzymes liées à la maladie d'Alzheimer (acétyl cholinestérase et butyryl cholinestérase) et au diabète (α -amylase et α -glucosidase).

8. Culture de l'*Erodium*

L'*Erodium* est facile à cultiver. Rustiques, toutes les espèces apprécient une situation ensoleillée et s'épanouissent en région chaude et sèche. Le sol doit être bien drainé mais pas trop fertile même pierreux, secs, calcaires ou ordinaires. Multiplier par bouturage en été, ou par semis de graines arrivées à maturité.

IV. *Erodium atlanticum*

1. Description morphologique

L'*Erodium atlanticum* est une espèce de plante à fleurs. C'est une plante vivace à racine pivotante ligneuse dure (Fiz et al. 2006) qui possède :

- Des petites feuilles arrondies, profondément lobées, vert moyen sur de longues tiges.
- Des fleurs rose pâle à nervures violettes et des taches rose brunâtre sur les pétales supérieurs.
- Fruit : Méricarpe 5-6 mm à fovéoles à glandes capitée, avec ou sans sillon. Bec 2-3,5 cm.



Figure 8 : Photo de la plante *Erodium atlanticum*.

2. Distribution

Cette espèce est principalement distribuée dans le nord-ouest de l'Afrique (Maroc, Haut Atlas, ...) essentiellement en montagnes et cailloux sur calcaire, 1000–2000 mètres (Fiz et al. 2006).



Figure 9 : Répartition de l'espèce *Erodium atlanticum* (Maroc, Algérie).

3. Comparaison entre l'*Erodium atlanticum* et l'*Erodium cossonii*

À part le botaniste Cosson presque tous les botanistes ont confondu l'*Erodium cossonii* avec l'*Erodium atlanticum*. Ces deux espèces sont très proche morphologiquement et ont de nombreux caractères communs : le type biologique et le port ; les feuilles à limbe simple et peu incisés ; les deux pétales supérieurs maculés ; la fovéole glanduleuse, etc. En effet on peut les différencier par ces caractères suivants (G. Guittonneau et Mathez 1968) :

Concernant l'*Erodium atlanticum*

- Ses méricarpes avec ou sans sillons infrafovéolaires et à glandes fovéolaires très brièvement pédicellées, subsessiles.
- Les pétales se recouvrant par leurs bords au moment de l'anthèse et rose vif sur le frais.
- Souche abondamment pourvue de fibres de 2-8 cm entre les vieilles stipules (stipules légèrement adnées).
- Elle semble exclusivement localisée sur des rochers calcaires (Figure 10).



Figure 10 : *Erodium atlanticum* localisée sur les rochers calcaires.

Pour l'*Erodium cossonii*

- Plante plus fréquente sur des rochers siliceux ; vivace ; chaméphyte ; racine pivotante ; ligneuse ; tiges courtes (atteignant une dizaine de centimètres) ; plus ou moins enfouies à la base ; étalée ascendante et plus ou moins ramifiée au niveau de la surface du sol ; à entrenœud très courts ; rosettes de feuilles et hampes florifères émises annuellement à l'extrémité des tiges, qui sont revêtues dans toute leur partie basale de vieilles (Figure 11).



Figure 11 : Photo de la plante *Erodium cossonii*.

- Méricarpes pourvus de sillons infrafovéolaires et à glandes fovéolaires nettement pédicellées.

- Les pétales se recouvrant au moment de l'anthèse et rose pâle sur le frais.
- Souche dépourvue de fibres entre les vieilles stipules.

L'*Erodium cossonii* se distingue de l'*Erodium atlanticum* par des feuilles plus étroitement ovales à incision plus profondes à sinus pétiolaire plus largement ouverts (Figure 12) (G. Guittonneau et Mathez 1968).

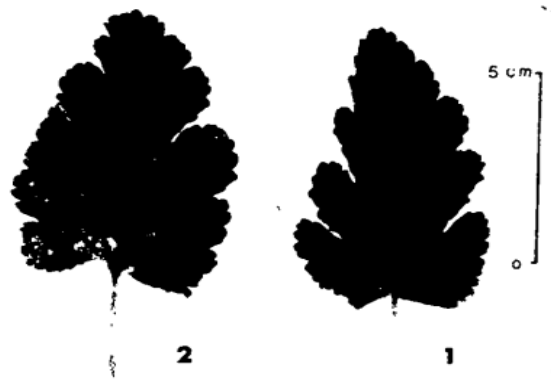


Figure 12 : Comparaison entre les feuilles d'*Erodium cossonii* (1) et d'*Erodium atlanticum* (2).



CHAPITRE II

Métabolites

Secondaires

La plus grande partie du carbone et de l'énergie se retrouve dans les protéines, les acides nucléiques, les lipides et d'autres molécules qui sont nécessaires au fonctionnement des cellules. Mais chez de nombreuses plantes une partie importante du carbone est prélevée afin de synthétiser des molécules organiques, ces molécules sont appelées métabolites secondaires **(Hopkins, 2003)**.

Les métabolites secondaires sont naturellement biosynthétisés par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal. Ils possèdent des propriétés thérapeutiques qui sont utilisées en médecine humaine, ils peuvent être utilisés comme des matières premières pour les industries chimiques, etc. **(Guillaume & Charrouf, 2005; Hopkins, 2003)**.

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et les composés azotés dont les plus abondants sont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine **(Krief, 2003)**.

I. Composés phénoliques

1. Définition

Le terme « polyphénol » désigne l'ensemble des composés phénoliques des végétaux, qui concernent à la fois les mono-, di-, et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques **(Macheix et al., 2005)**.

Les polyphénols sont des micronutriments abondants dans notre régime alimentaire et sont des constituants dans plusieurs fruits, légumes secs et boissons comme le thé. Ils sont essentiels à la physiologie des plantes, car ils sont impliqués dans diverses fonctions importantes (croissance, structure, défense, pigmentation, lignifications, etc.). Ces molécules sont classées dans plusieurs groupes en fonction du nombre d'anneaux phénoliques : les acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes et lignane, etc. **(Valavanidis & Vlachogianni, 2013; Yoon et al., 2013)**.

2. Biosynthèse

La majorité des polyphénols est synthétisée par la voie phénylpropanoïdes, qui est responsable de la biosynthèse d'un grand nombre de composés chimiques avec une diversité structurelle considérable (**Valavanidis & Vlachogianni, 2013**).

Tout d'abord la biosynthèse se fait par deux voies principales qui sont : la voie de l'acide shikimique (la cyclogénèse) et la voie de l'acide malonique (acétate).

Noter bien qu'il y a des substances synthétisées par la voie shikimique, d'autres par la voie malonique, comme il y'a des substances d'origine mixte entre la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate.

A. Voie de l'acide shikimique

Cette voie commence d'abord par la condensation de l'acide phospho-énol-pyruvique (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former après plusieurs étapes l'acide chorismique. Ce dernier est considéré comme un précurseur pour les acides aminés aromatiques tels que :

- La phénylalanine qui est le substrat de la première enzyme de la voie des phénylpropanoïdes.
- La tyrosine qui est la base de la synthèse de certains alcaloïdes.
- Le tryptophane qui est le précurseur de nombreux composés (auxines, alcaloïdes indoliques, camalexines...).

La phénylalanine sous l'action de la Phénylalanine Ammonia-Lyase (PAL) va former le premier phénylpropane qui est l'acide t-cinnamique. Deux étapes enzymatiques supplémentaires, catalysées par la Cinnamate 4-Hydroxylase (C4H) et la 4-coumarate CoA Ligase (4CL), permettent la biosynthèse du p-coumaroyl CoA, un composé central à partir duquel vont être synthétisées différentes familles de composés phénoliques (**Amelot, 2010; Macheix et al., 2005**).

B. Voie de l'acide malonique

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques obtenues par condensation de groupements acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA sous l'action de l'acétyl-CoA carboxylase (Akroum, 2011).

3. Classes des polyphénols

3.1. Acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3 ; non flavonoïde)

Ils sont incolores et rares dans la nature. Deux classes d'acides phénoliques peuvent être distinguées : celles qui dérivent de l'acide benzoïque qui se trouvent sous forme libres que combinées, à l'état d'esters ou d'hétérosides et celles dérivant de l'acide cinnamique qui sont souvent estérifiées (Akroum, 2011; Yoon et al., 2013).

Les fruits rouges, les radis noirs, les oignons et le thé sont des sources importantes d'acide hydroxy-benzoïque, et peuvent avoir des concentrations de plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de poids frais. Les myrtilles, les kiwis, les prunes, les cerises et les pommes contiennent 0,5 à 2 g d'acide hydroxycinnamique / kg de poids frais (Manach et al., 2004).

3.1.1. Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

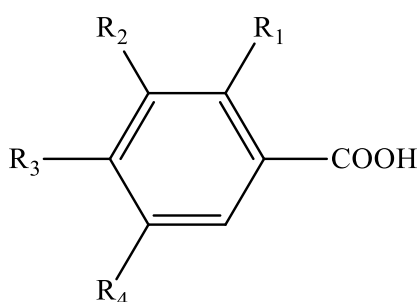
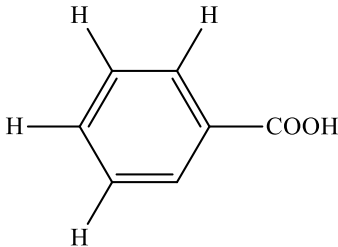
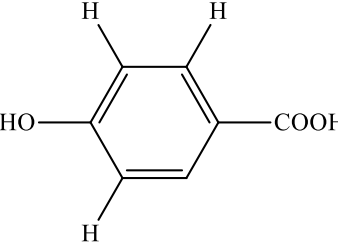
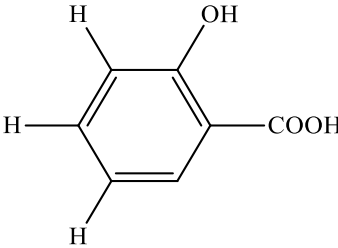
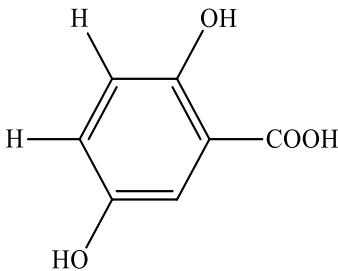
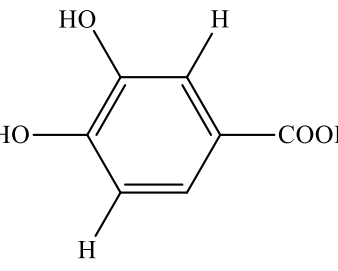
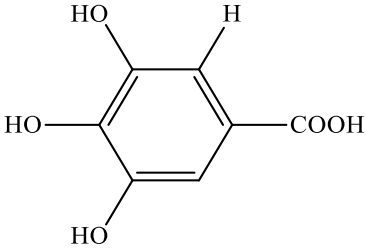
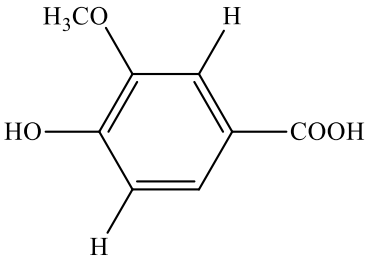
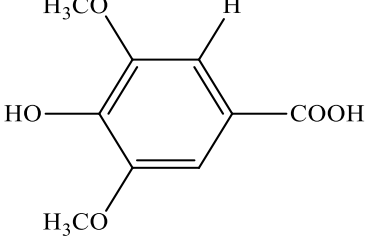


Figure 13 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques.

Tableau 2 : Acides phénols de la série hydroxybenzoïques (Macheix et al., 2005).

Molécules	Structures
Acide benzoïque	 <chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>
Acide p-hydroxybenzoïque	 <chem>O=C(O)c1ccc(O)cc1</chem>
Acide salicylique	 <chem>O=C(O)c1ccccc1O</chem>
Acide gentistique	 <chem>O=C(O)c1c(O)cc(O)cc1</chem>
Acide protocatéchique	 <chem>O=C(O)c1cc(O)c(O)cc1</chem>

Acide gallique	
Acide vanillique	
Acide syringique	

3.1.2. Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

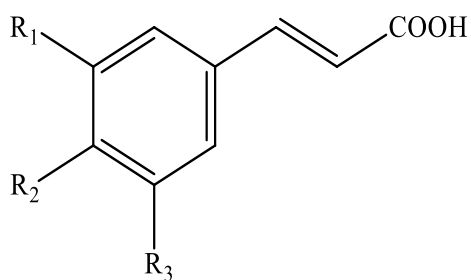
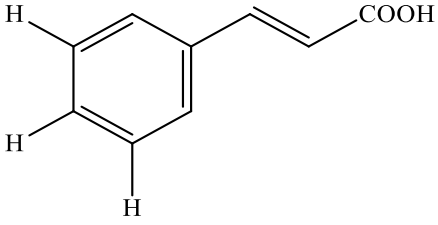
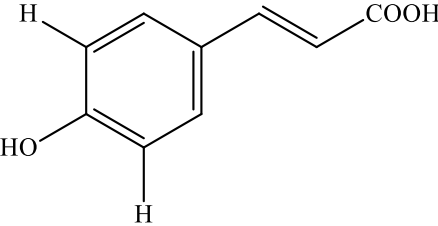
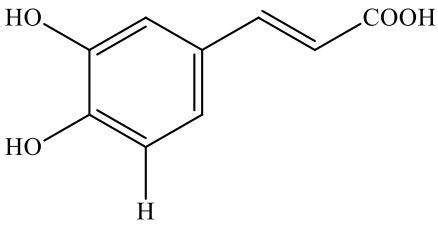
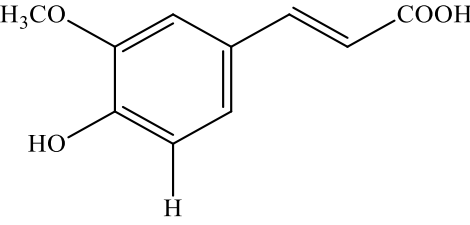
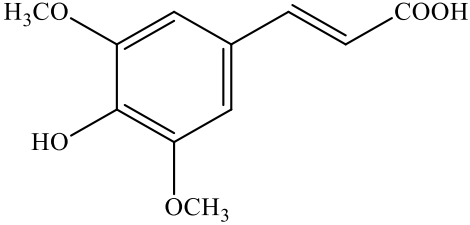


Figure 14 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques.

Tableau 3 : Acides phénols de la série hydroxycinnamique (Macheix et al., 2005).

Molécules	Structures
Acide cinnamique	
Acide p-coumarique	
Acide caféique	
Acide férulique	
Acide sinapique	

3.2. Flavonoïdes (C6-C3-C6)

Le terme flavonoïde rassemble de nombreux composés naturels répartis en plusieurs familles dont les plus importantes sont les flavones et les isoflavones. Ce sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes. La coloration leur permet d'attirer les insectes afin que ceux-ci se chargent de pollen. Ainsi, la reproduction de la plante sera assurée. Chez l'homme les propriétés des flavonoïdes assurent plusieurs activités biologiques, notamment : l'activité anti-oxydante, antivirale, anti-inflammatoire et anticancéreuse (**Causse, 2004**). Ils sont aussi capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires (**Ghedira, 2005**).

La structure des flavonoïdes (Figure 15) comprend un squelette composé de deux cycles aromatiques (le noyau A vient de la condensation de trois motifs acétate via la voie de l'acide malonique, alors que le noyau B constituant une unité phénylpropanoïde synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide shikimique), ces deux cycles sont porteurs de plusieurs fonctions phénol et réunis par une chaîne de trois atomes de carbone (provient de la voie de l'acide shikimique), ces derniers étant le plus souvent engagés dans un hétérocycle avec un atome d'oxygène (**Chira et al., 2008; Stoclet & Schini-Kerth, 2011**).

Les flavonoïdes peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone (**Ghedira, 2005**).

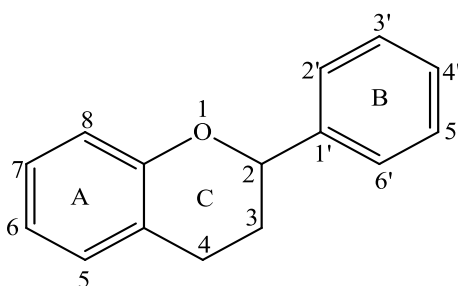


Figure 15 : Squelette de base des flavonoïdes (benzo- γ -pyrone).

Et donc tous les flavonoïdes tirent leur squelette de 15 atomes de carbone de deux métabolites de base, le malonyl-CoA (la voie de l'acide malonique) et le p-coumaroyl-CoA (la voie de l'acide shikimique) (Figure 16).

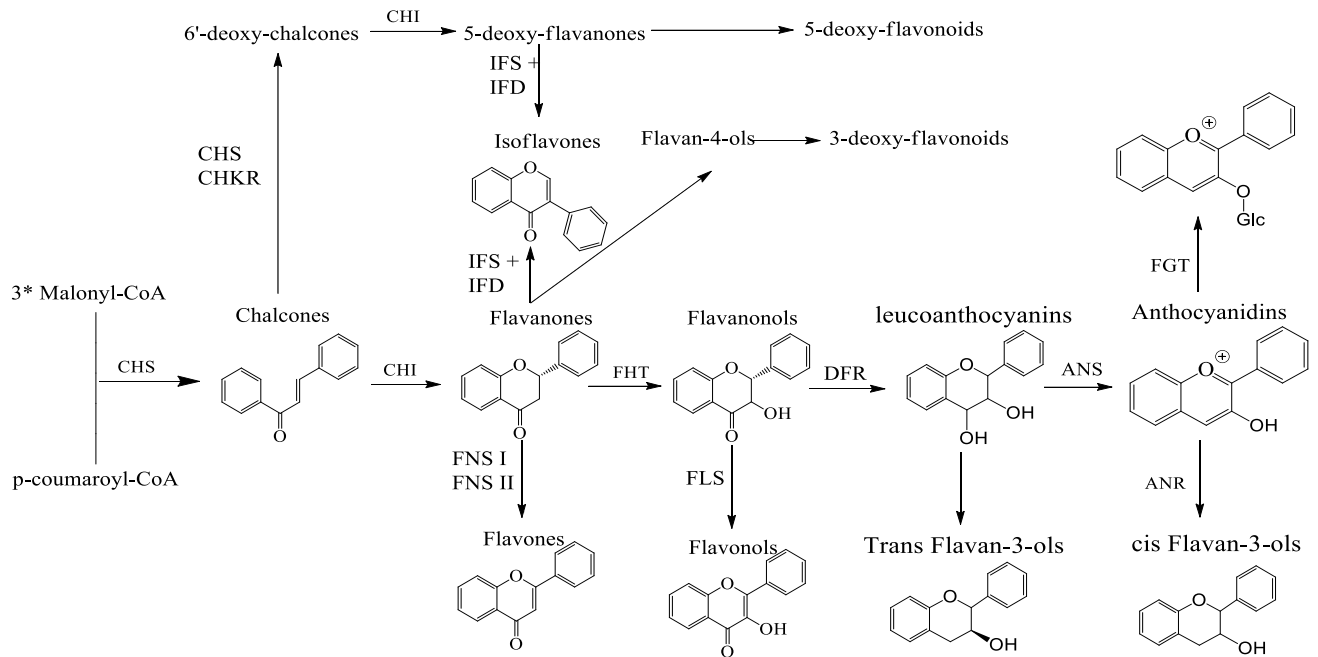
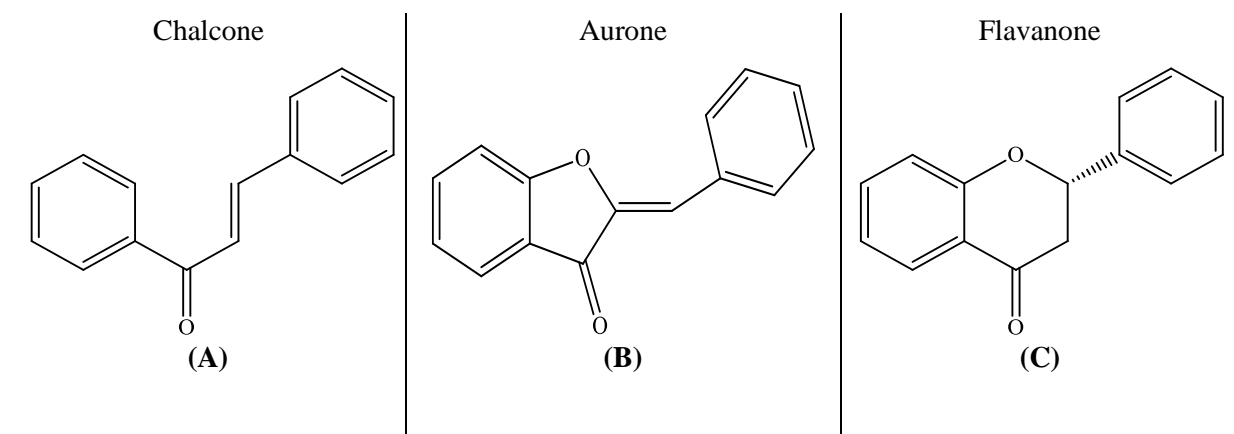


Figure 16 : Voie générale de biosynthèse des flavonoïdes.

Les enzymes montrées dans la figure 16 sont abrégées comme suit: CHS, chalcone synthase ; CHKR, polycétide réductase de chalcone ; CHI, chalcone isomérase ; FHT, flavanone 3-b-hydroxylase ; DFR, dihydroflavonol 4-réductase ; ANS, anthocyanidine synthase ; FGT, flavonoïde glycosyltransférase ; FNS, flavone synthase ; FLS, flavonol synthase ; LAR, leucoanthocyanidin réductase ; ANR, anthocyanidine réductase ; IFS, isoflavone synthase ; IFD, isoflavone déshydratase (Martens & Mithöfer, 2005).

Les principales classes des flavonoïdes :



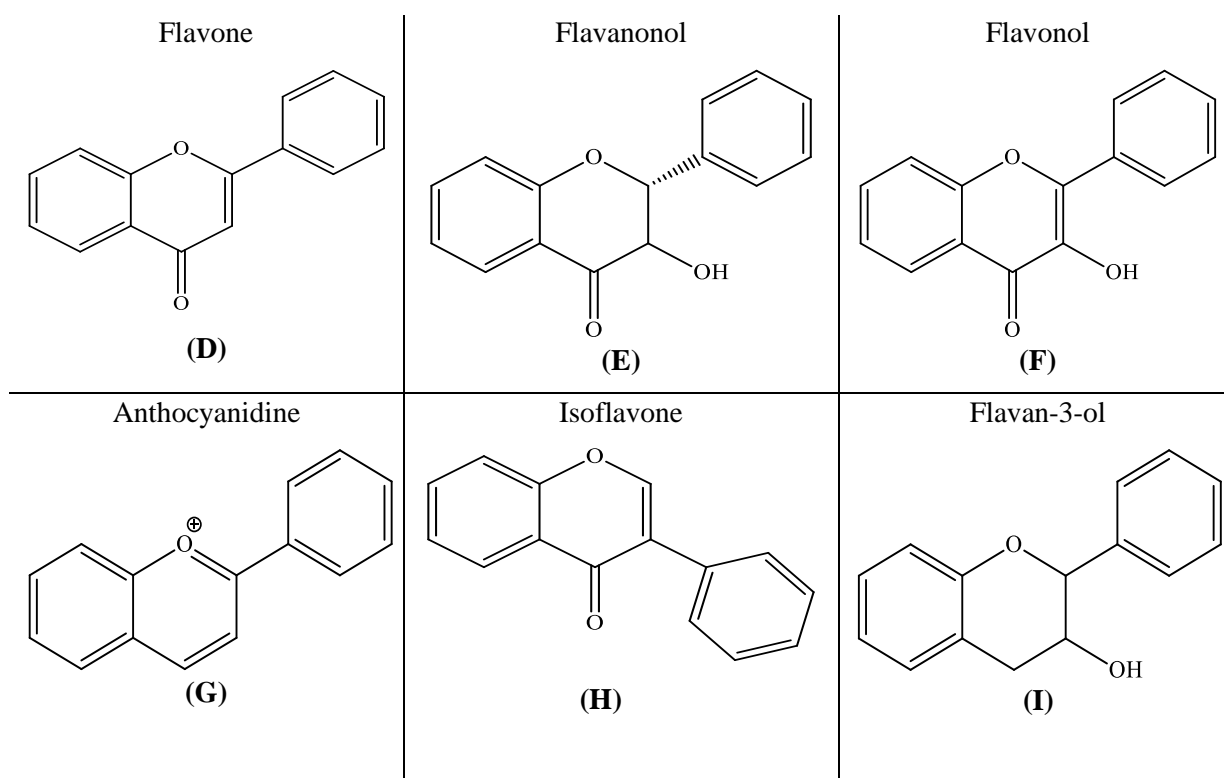


Figure 17 : Structures des principales classes des flavonoïdes.

3.2.1. Chalcone

Chalcone est dérivée du mot grec «chalcos», qui signifie «bronze», c'est la couleur de la plupart des chalcones naturelles (Zhuang et al., 2017).

C'est une énone, constituée de deux cycles aromatiques (A et B) attachés par un système carbonyle α , β -insaturés (Figure 17 (A)). Elle est considérée comme un précurseur clé des flavonoïdes (Raut et al., 2016).

La chalcone est naturellement synthétisée par un grand nombre de plantes suivant la voie métabolique des phénylpropanoïdes. La phénylalanine est d'abord transformée en acide cinnamique, lui-même transformé en acide paracoumarique. Ce dernier réagit avec le coenzyme A pour former le 4-coumaroyl-CoA. La condensation du 4-coumaroyl-CoA avec trois molécules de malonylcoenzyme A forme un second groupe phényle, c'est la formation du chalcone (Figure 18) (Dridi, 2015). La chalcone peut ensuite être transformée par cyclisation interne en flavonoïde (Figure 16).

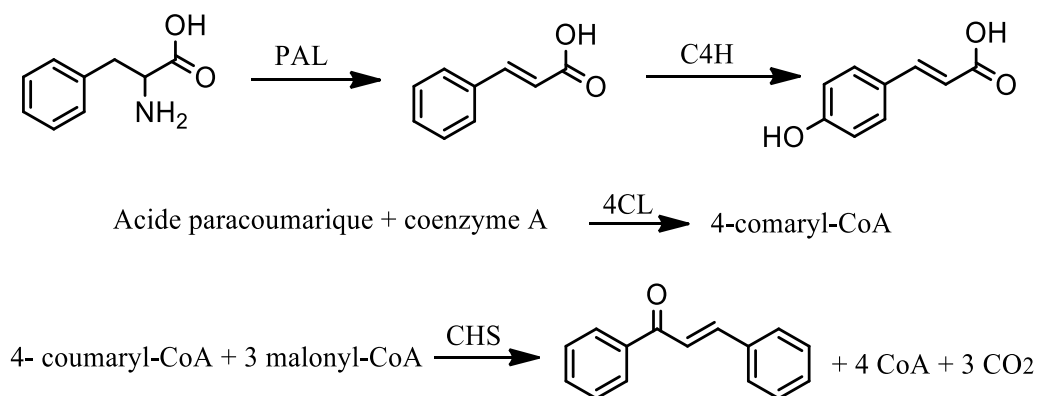


Figure 18 : Biosynthèse des chalcones.

3.2.2. Aurones

Les aurones (du latin Aurum = or), ou benzalcoumaranones, sont des échafaudages qui confèrent la couleur dorée à certaines fleurs ornementales telles que les tournesols (**Alsayari et al., 2019**).

Elles sont des flavonoïdes tricycliques comprenant un noyau benzofuranone et un groupe phényle liés par une double liaison carbone-carbone exocyclique (Figure 17 (B)) (**Boucherle et al., 2017**).

Pour les chalcones et les aurones, la numérotation des positions (Figure 19) est différente des autres flavonoïdes (Figure 15) (**Nkhili, 2009**).

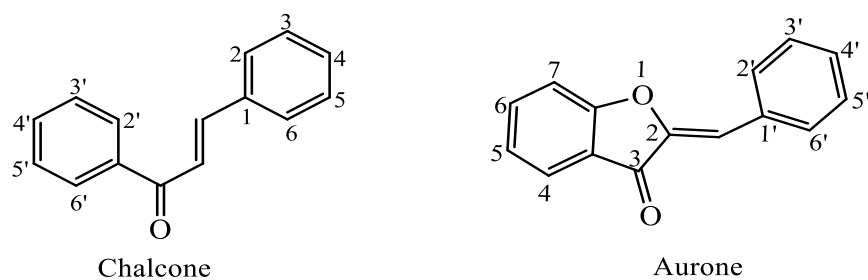


Figure 19 : Numérotation des positions des chalcones et des aurones.

3.2.3. Flavanones

Les flavanones sont les premiers produits de la voie de synthèse des flavonoïdes. Elles sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 (Figure 17 (C)). La structure des flavanones est très réactive et donne

lieu à des réactions d'hydroxylations, d'O-méthylations et de glycosylations (**Chira et al., 2008**).

3.2.4. Flavones

Les flavones sont synthétisées à partir des flavanones, à savoir l'introduction d'une double liaison entre C2 et C3 par abstraction de deux atomes d'hydrogène (Figure 17 (D)). Cette réaction est catalysée par les FNS II/ I, qui appartiennent à la superfamille des protéines du cytochrome P450 végétal, exactement à la sous-famille CYP93B (**Martens & Mithöfer, 2005**).

3.2.5. Flavanonol (dihydroflavonol)

Le FHT catalyse la transformation du flavanone en flavanonol (Figure 16), ce dernier (Figure 17 (E)), est un intermédiaire important, dans la biosynthèse du flavonol et de l'anthocyanine (Figure 20) (**Hinderer & Seitz, 1988**).

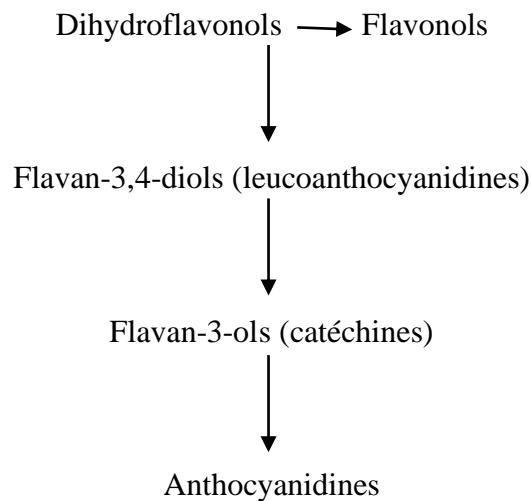


Figure 20 : Formation de l'anthocyanidine et du flavonol.

3.2.6. Flavonol

Les flavonols (Figure 17 (F)) sont des Co-pigments importants dans la couleur des fleurs et sont également essentiels à la croissance du tube pollinique. Le FLS catalyse la transformation de dihydroflavonol (ou flavanonol) en flavonol (Figure 20). Pour catalyser cette réaction le FLS nécessite le 2-oxoglutarate, l'ascorbat et les ions Fe^{2+} comme cofacteur (**Holton et al., 1993**).

Ces composés constituent le groupe le plus hydroxylé de la famille des flavonoïdes. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides (notamment avec les aldoses) (Nkhili, 2009).

3.2.7. Anthocyanidine

Les anthocyanidines comme tous les flavonoïdes ont deux cycles A et B, et un hétérocycle C ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement (Figure 17 (G)) (Akroum, 2011).

Ils sont synthétisés à partir des flavanonol (Figure 20). Ils sont responsables des couleurs rouges, bleues et violettes en fonction du pH du milieu. Ils sont largement présents dans le règne végétal, principalement sous formes de glycosides, Les anthocyanidines les plus courantes sont la pelargonidine, la cyanidine, la delphinidine, la péonidine et la malvidine, mais ces composés ne sont présents que sous forme de conjugués glycosylés, en appelant les anthocyanines (les hétérosides d'anthocyanidines) (Chira et al., 2008).

3.2.8. Isoflavone

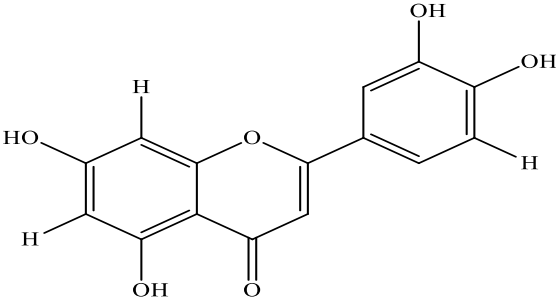
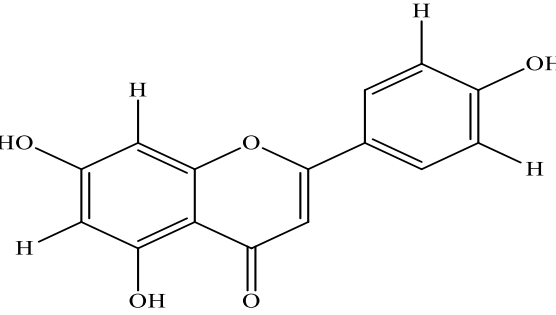
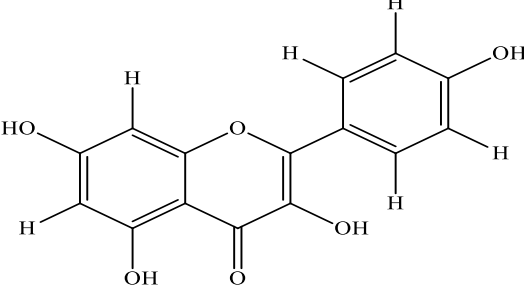
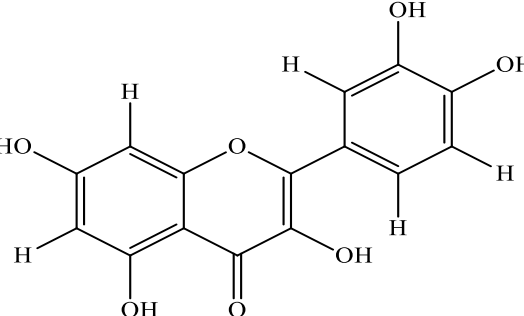
Les isoflavones diffèrent des flavones par la position du cycle benzyle B qui est lié à la position 3 au lieu de la position 2 (Figure 17 (H)) (H. Wang & Murphy, 2002).

Les principales isoflavones qui existent sont la génistéine, la daïdzéine et la glycitéine. D'autre part, les isoflavones de l'alimentation existent sous quatre formes chimiques différentes : les aglycones, les glucosides, les acétylglucosides, les malonylglucosides (Vergne, 2007).

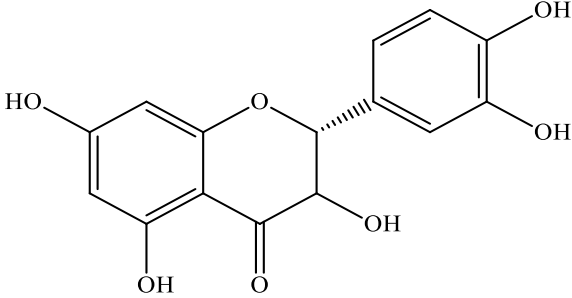
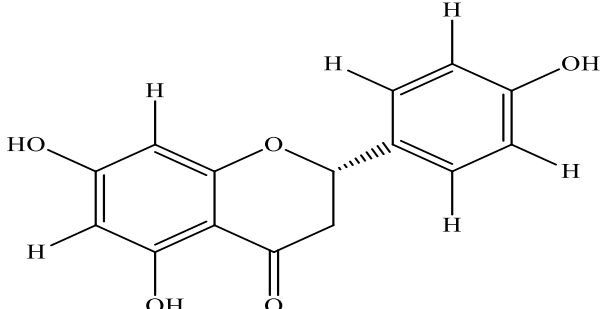
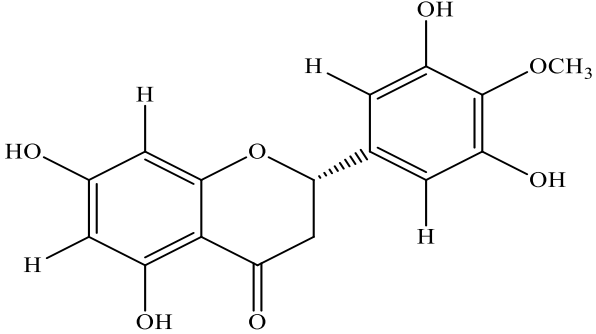
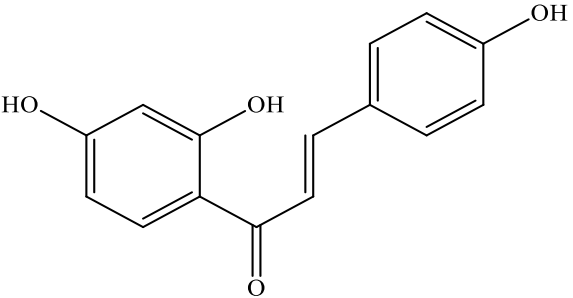
3.2.9. Flavan-3-ol (Flavanol)

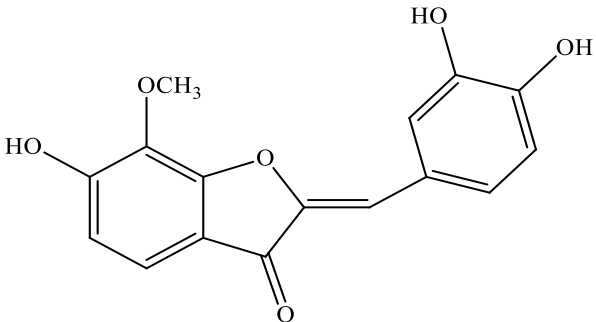
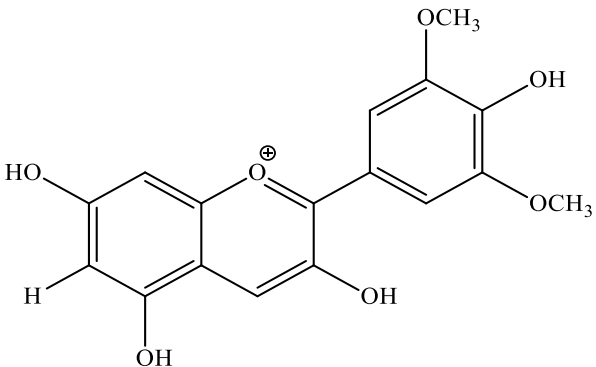
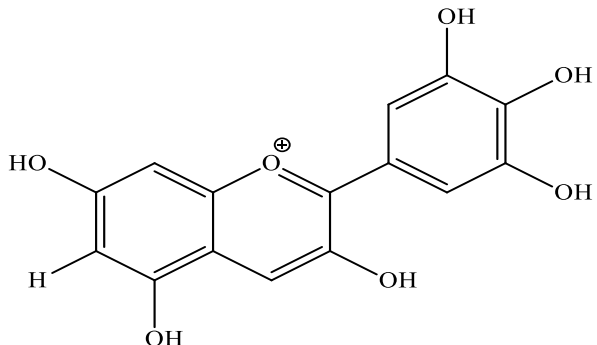
Les flavan-3-ols possèdent deux atomes asymétriques en C2 et C3 (Figure 17 (I)), à cause de ça il existe quatre stéréo-isomères : (+)-catéchine, (+)-épicatéchine, (-)-catéchine, (-)-épicatéchine. Le Premier et le quatrième sont les formes les plus répandues (CHELGHOUM, 2015), d'autre flavan-3-ol : Afzelechin, Fisetinidol, Robinetinidol, etc.

Tableau 4 : Quelques exemples de différentes classes des flavonoïdes.

Classes		Exemples	Formules	Sources alimentaires
Flavones	Lutéoline $R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{3'}=OH, R^{4'}=OH,$ $R^{5'}=H$ (Seelinger et al., 2008).		Thym, Persil, Épinard, Fleurs séchées de camomille, Cerises, Thé, Olives, etc.	
	Apigénine $R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{3'}=H, R^{4'}=OH,$ $R^{5'}=H$ (Lefort & Blay, 2013).			
Flavonols	Kaempférol $R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{2'}=H, R^{3'}=H,$ $R^{4'}=OH, R^{5'}=H,$ $R^{6'}=H$ (Li et al., 2020).		Thé, Brocoli, Chou, Oignons, Myrtilles, etc.	
	Quercétine $R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{2'}=H, R^{3'}=OH,$ $R^{4'}=OH, R^{5'}=H,$ $R^{6'}=H$ (D'Andrea, 2015).			

Isoflavones	<p>Daidzéine</p> <p>$R^5=H, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{3'}=H, R^{4'}=OH,$ $R^{5'}=H$ (Vergne, 2007).</p>		Soja et ses dérivés (Tofu, Miso...).
	<p>Génistéine</p> <p>$R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{3'}=H, R^{4'}=OH,$ $R^{5'}=H$ (Vergne, 2007).</p>		
Flavan-3-ols	<p>(-)-Epicatéchine</p> <p>$R^5=OH, R^7=OH,$ $R^{3'}=OH, R^{4'}=OH$ (Terao et al., 1994).</p>		Cacao, Pomme, Thé...
	<p>(+)-Catéchine</p> <p>$R^5=OH, R^7=OH,$ $R^{3'}=OH, R^{4'}=OH$ (Ghedira, 2005).</p>		

Flavanols	<p>Taxifoline</p> <p>$R^5=OH, R^7=OH,$ $R^{4'}=OH, R^{5'}=OH$</p> <p>(Topal et al., 2016).</p>		<p>Agrumes, Oignon...</p>
Flavanones	<p>Naringinine</p> <p>$R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{2'}=H, R^{3'}=H,$ $R^{4'}=OH, R^{5'}=H,$ $R^{6'}=H$ (GRAIT, 2015).</p>		<p>Fruits du genre citrus (Agrume)</p>
	<p>Hespérétine</p> <p>$R^5=OH, R^6=H,$ $R^7=OH, R^8=H,$ $R^{2'}=H, R^{3'}=OH,$ $R^{4'}=OCH_3,$ $R^{5'}=OH, R^{6'}=H$</p> <p>(Roy & Ghosh, 2016).</p>		
Chalcones	<p>Isoliquiritigénine</p> <p>$R^{2'}=OH, R^{4'}=OH,$ $R^4=OH$ (Dridi, 2015).</p>		<p>Réglisse, Houblon.</p>

Aurones	<p>Leptosidin</p> <p>$R^6=OH$, $R^7=OCH_3$, $R^{3'}=OH$, $R^{4'}=OH$</p> <p>(Haudecoeur, 2011).</p>		Légume
	Anthocyanidines	<p>Malvidin</p> <p>$R^3=OH$, $R^5=OH$, $R^6=H$, $R^7=OH$, $R^{3'}=OCH_3$, $R^{4'}=OH$, $R^{5'}=OCH_3$</p> <p>(Stoclet & Schini-Kerth, 2011).</p>	
<p>Delphinidine</p> <p>$R^3=OH$, $R^5=OH$, $R^6=H$, $R^7=OH$, $R^{3'}=OH$, $R^{4'}=OH$, $R^{5'}=OH$ (Stoclet & Schini-Kerth, 2011).</p>			

3.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques présents dans la nature sous forme polymérisée, ils sont solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont localisés dans les différents organes : tige, feuilles, fruit ou grain et au niveau des épidermes donc ils sont facilement libérés. Il existe plusieurs catégories de tanins les principales catégories et les plus connus sont : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Doat, 1978; Zimmer & Cordesse, 1996).

3.3.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de sucre simple (glucose) et d'acide phénolique. L'hydrolyse de ce dernier soit par la voie chimique (alcaline, acide) ou enzymatique (tannase) permet de libérer soit l'acide gallique (Figure 21) soit l'acide ellagique (Figure 22), divisant alors les tanins hydrolysables en deux sous classes : les gallotanins et les ellagitanins (Zimmer & Cordesse, 1996).

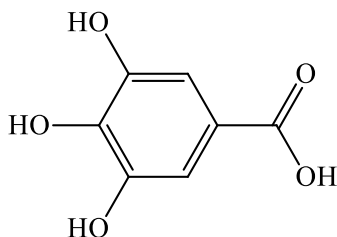


Figure 21 : Structure de l'acide gallique.

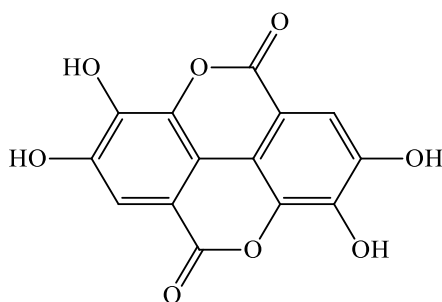


Figure 22 : Structure de l'acide ellagique.

A. Gallotanins

Les gallotanins sont ceux dans lesquels les unités galloyles ou leurs dérivés sont liées (liaisons esters) à diverses unités polyol (dérivé du D-glucose) (exemple : Figure 23), catéchine ou triterpénoïde. Lors de l'hydrolyse par des acides, des bases ou certaines enzymes, les gallotanins donnent du glucose et de l'acide gallique (Mingshu et al., 2006). Les gallotanins se trouvent dans de nombreuses plantes telles que les gousses de tara (*Caesalpinia spinosa*), le bois de chêne et de châtaignier (Y. Cao et al., 2014).

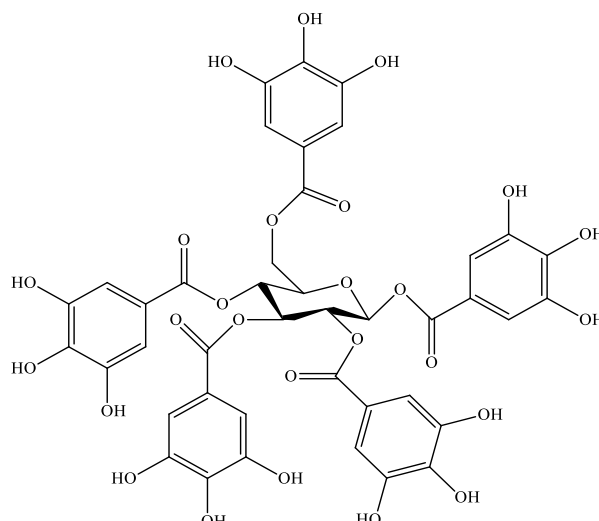


Figure 23 : Penta-O-galloyl-D-glucose (un galloitanins et l'un des précurseurs clés de la biosynthèse de nombreux tanins hydrolysables (**Y. Cao et al., 2014**)).

B. Ellagitanins

Ce sont des esters de l'acide hexahydroxydiphénique (HHPD ; Figure 24) et le sucre (glucose) (**Rira, 2019**).

Autre définition : Les ellagitanins sont ceux dans lesquels au moins deux unités galloyles sont couplées C–C l'une à l'autre formant l'acide hexahydroxydiphénique, qui se fixe sur le noyau polyol (dérivé du glucose) (**MALIK, 2009**).

Lors de l'hydrolyse, le résidu hydroxydiphényle subit une lactonisation pour produire de l'acide ellagique, qui ne s'hydrolyse pas facilement en raison du couplage C–C supplémentaire du résidu polyphénolique avec l'unité polyol. Il faut donc mentionner que les ellagitanins ne sont pas hydrolysables mais sont néanmoins classés pour des raisons historiques comme des tanins hydrolysables (**Mingshu et al., 2006**).

Les ellagitanins sont très répandus dans la famille des angiospermes dicotylédones et plus particulièrement dans les familles des Hamamelidaceae, Dilleniaceae et Rosaceae (**MALIK, 2009**).

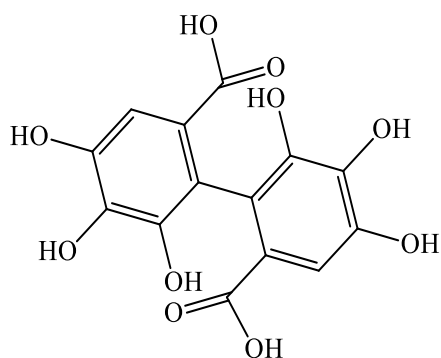


Figure 24 : Structure de l'acide hexahydroxydiphénique (couplage oxydant entre deux galloyles).

Exemple d'un ellagitanins (Figure 25) :

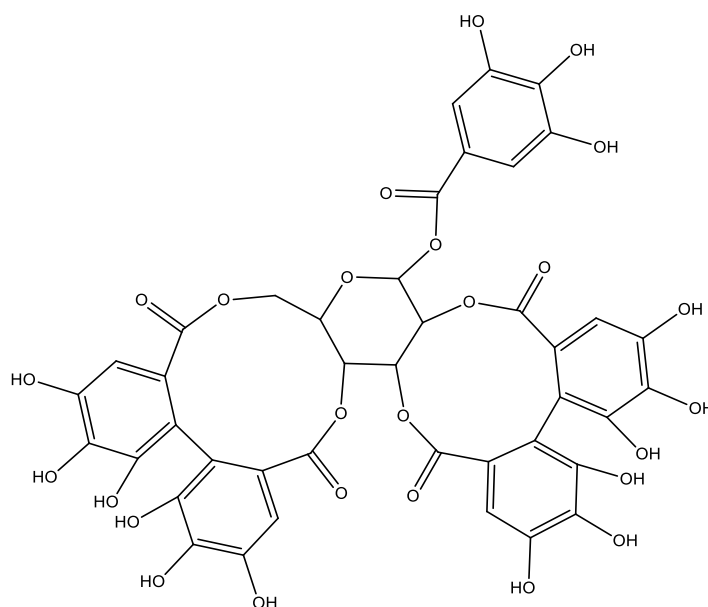


Figure 25 : Structure d'une casuarictine.

3.3.2. Tanins condensés (Proanthocyanidol ou Catéchique)

Les tanins condensés résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (Figure 26) (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol –3,4) en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères) (Sereme et al., 2011).

La variation structurelle des tanins condensés est due aux différentes unités, aux positions, orientations et types des liaisons inter-flavanoïde (Rira, 2019).

Le mode de liaison peut être de deux types selon (Boutefnouchet et al., 2020) :

- ✓ Le type A : qui implique une liaison interflavanique double C-4→C-8 et C-2→O→C-7 (Figure 28).
- ✓ Le type B : qui implique une liaison simple C-4→C-8 ou C-4→C-6 (Figure 27).

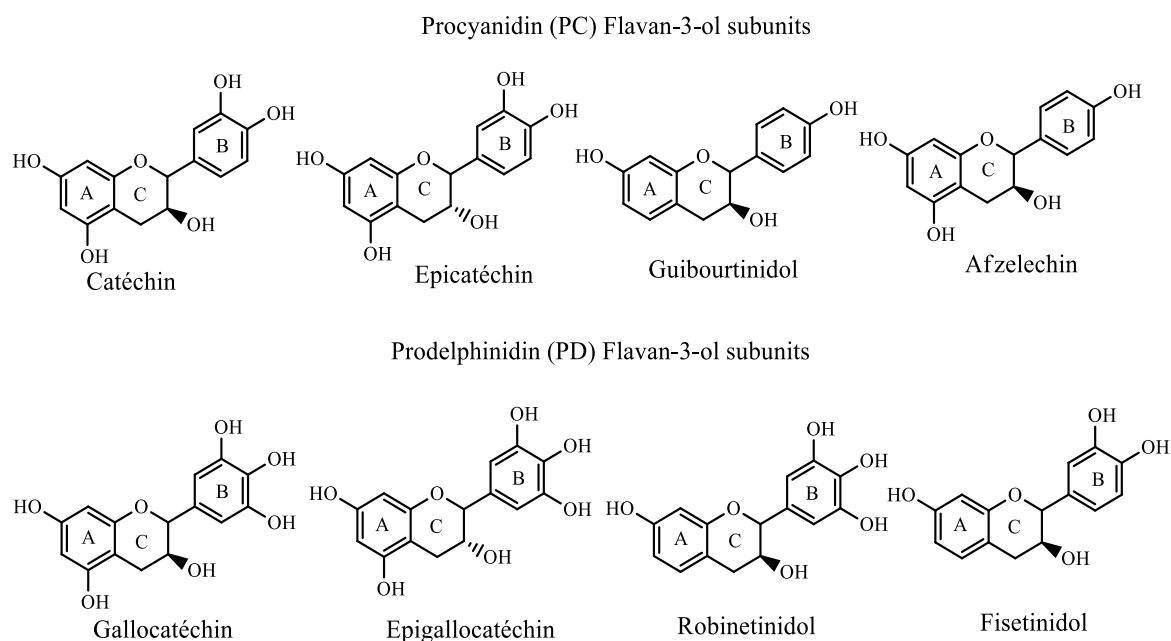


Figure 26 : Structures des flavan-3-ols présentes dans les tanins condensés (Naumann et al., 2017).

Exemples des tanins condensés (Figure 27 et 28) :

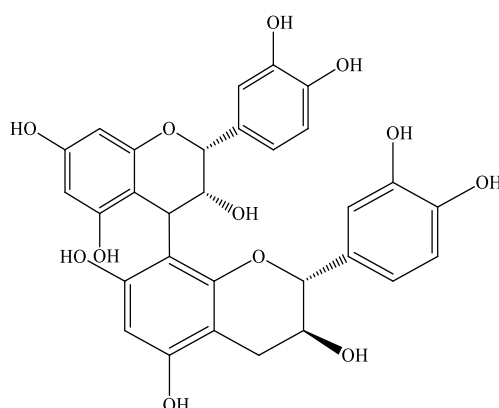


Figure 27 : Procyanidine (B-1) : épicatechine-(4→8)-catéchine (liaison de type B) (MALIK, 2009).

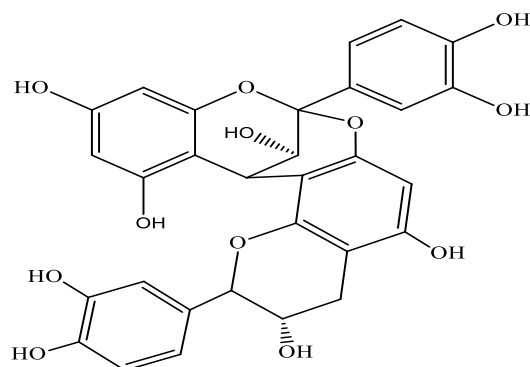


Figure 28 : Proanthocyanidine de type A (liaison C4→C8 et C2→O→C7) (Rira, 2019).

3.4. Lignanes (C6-C3)₂

Les lignanes ont été définis pour la première fois en 1936 comme dimères de phénylpropanoïdes où deux unités phénylpropanes (Figure 29 (A)) sont liées par leur carbone 8 (liaison β-β' ou 8-8' ; Figure 29 (B)). Les unités phénylpropanes les plus fréquentes constitutives des lignanes, souvent appelés unités monolignols qui sont : les alcools p-coumaryliques, coniféryliques et sinapyliques (Figure 29 (C)). Ces trois phénylpropanoïdes ne varient que par des méthyloxylation sur leur cycle aromatique (Sainvitu et al., 2012).

Les lignanes se trouvent dans de nombreuses plantes supérieures et s'accumulent dans les tissus ligneux, les graines et les racines (Lamblin et al., 2008).

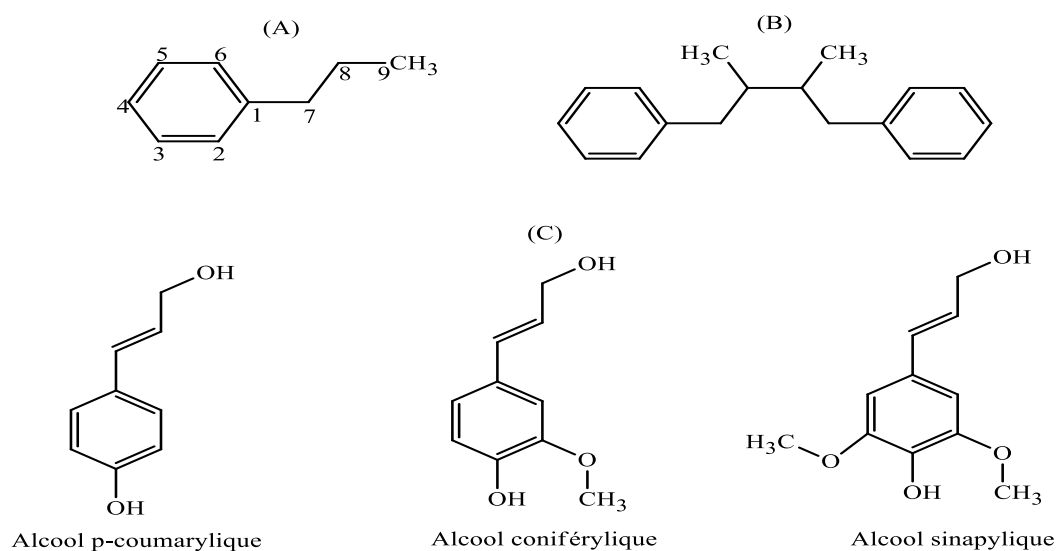


Figure 29 : (A) : Structure de phénylpropane, (B) : Structure de base des lignanes, (C) : Structure de trois espèces monolignols.

Exemple d'un lignane (Figure 30) :

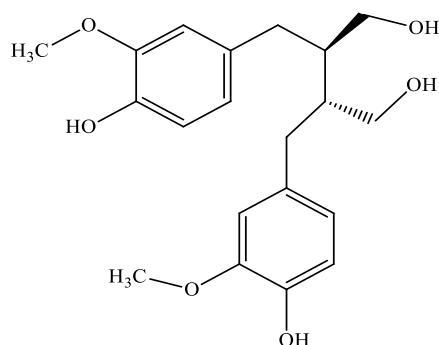


Figure 30 : Structure d'un secoisolariciresinol (SECO).

3.5. Stilbénoides (C6-C2-C6)

Les stilbénoides regroupent les composés qui possèdent deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane de deux carbones. Il y'a trois classes de stilbénoides : les stilbènes, les bibenzyls et les phénanthrènes (Sahli, 2017).

3.5.1. Stilbènes

La structure de base des stilbènes (C6-C2-C6) donne naissance à un grand nombre de composés qui vont différer par le nombre et les positions des fonctions hydroxyles sur les cycles phénoliques, la conjugaison avec des sucres et des groupements fonctionnels divers (méthyles, méthoxyles, etc.). les stilbènes sont présents dans diverses sources alimentaires comme les raisins, les fruits rouges, les cacahouètes ou les rhubarbes (Richard et al., 2014).

Les stilbènes existent sous deux formes (Figure 31) : cis 1,2-diphényléthylène, et trans 1,2-diphényléthylène.

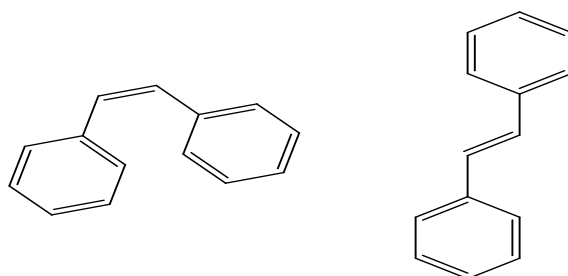


Figure 31 : Structure générale des stilbènes sous leurs formes cis (Z) à gauche et trans (E) à droite (Bisson, 2012).

Le stilbène le plus reconnu dans le monde est le resvératrol (Figure 32) (Richard et al., 2014).

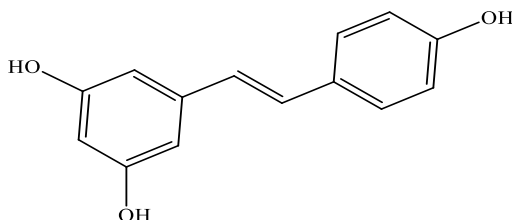


Figure 32 : Structure d'un trans-resvératrol.

3.5.2. Bibenzyls

Les bibenzyls (Figure 33), rares chez les végétaux, sont caractéristiques des Hépatiques ou marchantiophytes (*Marchantia*, *Plagiochila*, etc.) (BRUNETON Jean, 2009).

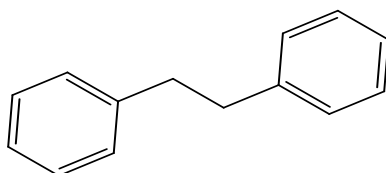


Figure 33 : Structure d'un bibenzyl.

3.5.3. Phénanthrènes

Les phénanthrènes sont formés par trois cycles benzéniques (Figure 34). Ils existent sous forme, monomérique, dimérique et trimérique. Ils se trouvent principalement dans la famille des Orchidaceae (dans les espèces *Dendrobium*, *Bulbophyllum*, *Eria*, etc.), quelques phénanthrènes ont été trouvés dans le genre *Hépatica*, et dans les familles : Dioscoreaceae et Combretaceae, etc. (Kovács et al., 2008).

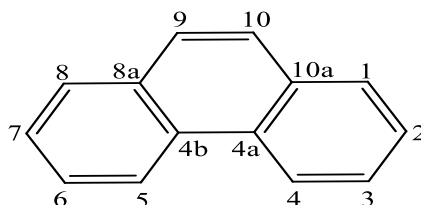


Figure 34 : Structure d'un phénanthrène.

3.6. Coumarines (C6-C3)

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipreryx odorata*) d'où fut isolées en 1822 par Voleg. Elles sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérée en première approximation comme étant des lactones de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique (Jean, 2009).

Les coumarines constituent un groupe de lactones, issues de la lactonisation de l'acide hydroxycinnamique (Hopkins, 2003).

La structure des coumarines est composée d'un groupe phényle fusionné avec un cycle pyrone carbonylé en position numéro deux (Figure 35) (D. Cao et al., 2019).

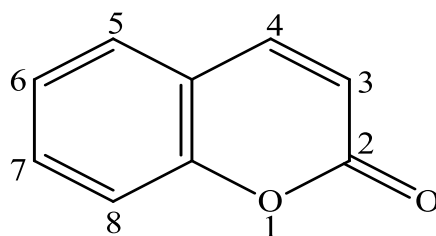


Figure 35 : Structure de base des Coumarines.

Les coumarines existent souvent sous la forme d'un complexe inodore conjugué aux sucres et aux acides (Egan et al., 1990). Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin lorsqu'elles trouvent à l'état libre (Cowan, 1999).

Elles se trouvent dans de nombreuses plantes et huiles essentielles, notamment les haricots tonka, le mélilot, le truffe des bois, l'huile de cassia et la lavande (Egan et al., 1990).

Exemples (Figure 36 et 37) :

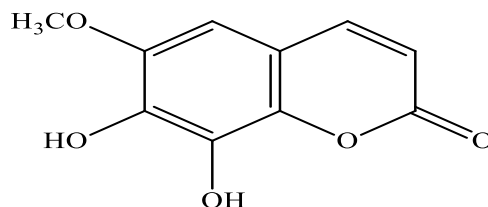


Figure 36 : Structure d'un fraxétol (coumarines simples subit une modification d'hydroxylation et o-méthylations).

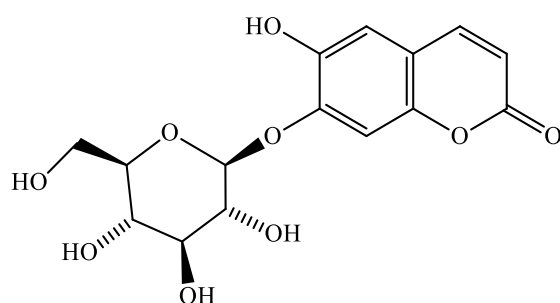


Figure 37 : Structure d'un cichoriine (coumarines simples à structure hétérosidique).

4. Intérêts pharmacologiques des polyphénols

Tableau 5 : Effets pharmacologiques des polyphénols.

Polyphénol	Intérêts
Flavonoïdes	<p>Activité antioxydante : la présence de plusieurs fonctions phénols confère aux flavonoïdes des propriétés antioxydantes (Stoclet & Schini-Kerth, 2011).</p> <p>Ces phénols leur permettent de piéger et d'empêcher la fixation des radicaux libres sur l'ADN, par l'activation du système de détoxication et par la protection des parois capillaires (Lahouel et al., 2004).</p> <p>Ils permettent aussi d'inhiber les enzymes oxydantes et la chélation des ions métalliques responsables de la production des ROS (Halliwell, 1994).</p> $\text{Flavonoïde (OH)} + \text{R}^\bullet \rightarrow \text{flavonoïde (O}^\bullet) + \text{RH.}$ <p>Anti inflammatoire : certains flavonoïdes comme les catéchines et les kaempferols peuvent inhiber l'expression des gènes inflammatoires (Stoclet & Schini-Kerth, 2011) ;</p> <p>Anti-ulcérogène : les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes (Ghedira, 2005).</p>
Acides phénoliques	<p>Activité antioxydante : ils sont capable de piéger les radicaux libre (Khalil et al., 2011) ;</p> <p>Activité antibactérienne (Svensson et al., 2010).</p>

Tanins	<p>Les tanins ont la propriété de se complexer aux protéines. Ceci peut conduire à l'insolubilisation de protéines alimentaires et à l'inhibition d'enzymes digestives (Zimmer & Cordesse, 1996).</p> <p>Ils présentent des propriétés astringentes, antidiarrhéiques, antibactériennes et antifongiques (Jean-Marie & Anne-Marie, 2013).</p> <p>les tanins hydrolysables sont efficaces pour abaisser la glycémie chez les patients diabétiques (Y. Cao et al., 2014).</p>
Lignanes	<p>Les lignanes possèdent une action protectrice et préventive vis-à-vis de certains cancers, notamment les cancers hormono-dépendants à cause de ses propriétés phyto-œstrogène. Donc ils agissent comme modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (Lamblin et al., 2008).</p>
Stilbénoides	<p>Activité neuroprotectrice en réduisant le taux de peptide amyloïde libre dans le cerveau et en inhibant son agrégation (Lim et al., 2001).</p> <p>Activité antioxydante : par l'activation des enzymes antioxydants (Losa, 2003).</p> <p>Activité anticarcinogénèse : les stilbénoides et surtout le resvératrol (stilbène) supprime les phases finales de la carcinogénèse telles que l'angiogénèse et les métastases (Delmas et al., 2006).</p>
Coumarines	<p>Selon COWAN (Cowan, 1999) :</p> <p>Les coumarines stimulent les macrophages, ce qui pourrait avoir un effet négatif indirect sur les infections.</p> <p>Les phytoalexines, qui sont des dérivés hydroxylés des coumarines, sont produites dans les carottes en réponse à une infection fongique, donc les coumarines peuvent être avoir une activité antifongique.</p>

II. Alcaloïdes

1. Généralités

Au début du 19^{ème} siècle, W. Meisner a introduit le terme alcaloïde pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, rappelant les alcalins. Ce terme tire son origine de l'arabe al kaly, et du grec eidos signifiant respectivement soude et aspect **(Bruneton, 2009)**.

Les alcaloïdes sont définis comme un groupe de composés organiques naturels le plus souvent d'origine végétale (ils sont rares dans le règne animal), de distribution restreinte, contenant un ou plusieurs atomes d'azote dans leur structure chimique avec un caractère basique de degré plus ou moins fort et forment du sel avec des acides **(Bribi, 2018; Hesse, 2002)**.

La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces. Dans une plante donnée, la concentration d'alcaloïdes peut varier considérablement d'une partie à l'autre, et certaines parties peuvent n'en contenir aucun **(Bribi, 2018)**.

2. Biosynthèse des alcaloïdes

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, de nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques uniques et sont principalement dérivés d'acides aminés entre autres : la lysine, l'ornithine, la tyrosine, la phénylalanine, le tryptophane, etc. (Figure 38) **(Ziegler & Facchini, 2008)**. La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole **(Krief, 2003)**.

La biosynthèse des alcaloïdes dans une plante est variable. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Ils gagnent ensuite des lieux différents et lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Prenant l'exemple de la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est déméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines **(Krief, 2003)**.

3. Structures et classification des alcaloïdes

Les alcaloïdes présentent une grande diversité structurale, plus de dix mille alcaloïdes différents ont été détectés (Hesse, 2002). Afin de les classer, diverses signatures sont utilisées telles que la structure moléculaire, la taxonomie, les sources naturelles ou la nature chimique (Bribi, 2018).

3.1. Selon l'origine biosynthétique

En général, les alcaloïdes peuvent se diviser en trois types selon leur précurseur biosynthétique :

✓ **Les alcaloïdes vrais**

Ce groupe représente la majorité des alcaloïdes. Biosynthétiquement, ils dérivent d'acides aminés et leur azote inclus dans un système hétérocyclique. Ces alcaloïdes sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (Badiaga, 2011).

✓ **Les pseudo-alcaloïdes**

Ne sont pas des dérivés des acides aminés, mais ce type d'alcaloïdes présente le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais. Ils s'agit dans la majorité des cas d'isprénoïdes (Bruneton, 2009).

✓ **Les proto-alcaloïdes**

Ils sont souvent appelés « amines biologiques ». Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle (il est extra-cycle), ils ont un caractère basique et sont élaborés à partir d'acide aminé (Bruneton, 2009).

3.2. Selon la structure moléculaire et leur composition chimique

En fonction de la position des atomes d'azote (N) dans les principaux éléments structurels, M. Hesse dans son livre a classé les alcaloïdes en cinq grandes classes, dont chacune est divisée en plusieurs sous familles (Hesse, 2002) :

- Les alcaloïdes hétérocycliques.

- Les alcaloïdes portant un atome d'azote exocyclique.
- Les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine.
- Les alcaloïdes peptidiques.
- Les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens.

La classe des alcaloïdes hétérocycliques représente la grande majorité des alcaloïdes. Celle-ci est divisée en plusieurs familles suivant le motif hétérocyclique qui la compose (pyrrolidine, indole, pipéridine, tropane, quinoléines, imidazole, isoquinoline, etc.) (Figure 40) et elle est divisée de nouveau suivant leur origine végétale ou animale (**Hesse, 2002**).

3.3. Activités pharmacologiques et emplois

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes du point de vue biologique car certains sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisées comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (**Roberts, 2013**).

Du point de vue pharmacologique, ils exercent en générale de puissantes actions (**CHENNI, 2010**) :

- Sur le système nerveux central comme antidépresseurs (morphine, ...).
- Sur le système nerveux autonome excitant du sympathique (éphédrine, ...).
- Sur les vaisseaux hypertenseurs.
- Sur la circulation sanguine.

Les activités antibiotiques sont courantes pour les alcaloïdes. Ils ont de nombreuses autres activités pharmacologiques, y compris des effets anti-arythmiques, antiseptiques, antihypertenseurs et des actions anticancéreuses (**Roberts, 2013**).

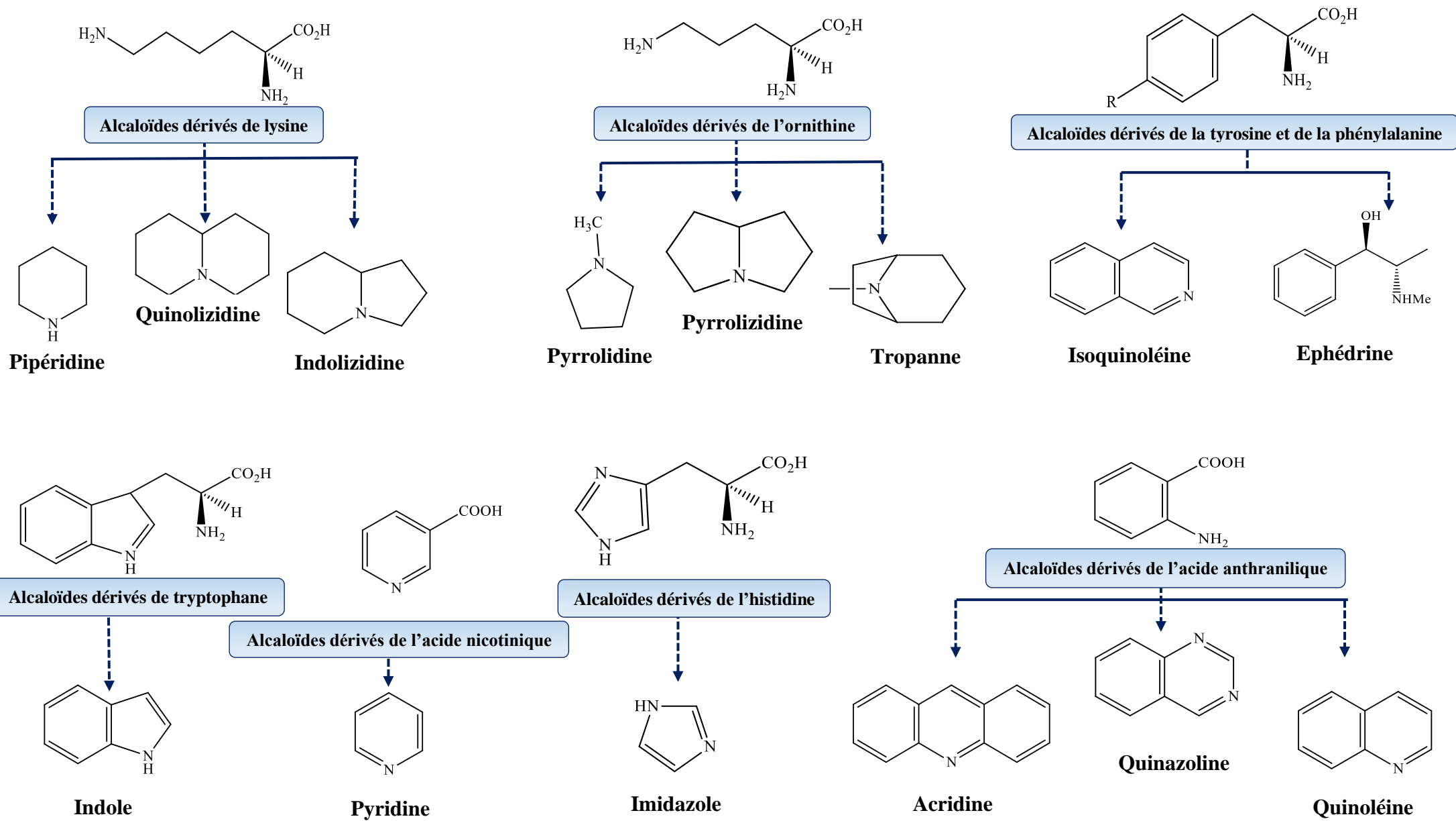


Figure 38 : Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes. Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (Badiaga, 2011).

III. Terpenoïdes

1. Définition et structure générale

Les terpenoïdes, parfois désignés sous le nom d'isoprénoïdes, constituent la famille de produits naturels la plus vaste et la plus diversifiée sur le plan structurel et fonctionnel, englobe plus de 40 000 structures, dont beaucoup sont d'origine végétale (**Bohlmann & Keeling, 2008**).

Le terme terpenoïde est attribué à un ensemble de substances présentant le squelette carboné des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques contenant de l'oxygène (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (**Malecky, 2008**).

En effet, les terpènes sont des substances généralement lipophiles. Ce sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte, dérivés d'une simple entité à cinq atomes de carbone (C_5H_8), communément appelée isoprène (Figure 39). Cependant, la formule brute des terpènes est $(C_5H_8)_n$ dont le n est le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (**Hopkins, 2003; Paduch et al., 2007**).

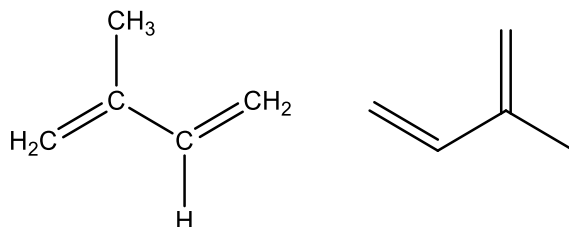


Figure 39 : Structure de base de l'isoprène.

2. Biosynthèse

La biosynthèse des terpènes suit la voie de l'acide mévalonique (MVA) à partir de l'acétyl CoA. Le MVA est activé par une phosphorylation sous l'action d'une enzyme spécifique. Ensuite, il subit une déshydratation interne et une décarboxylation afin d'obtenir un dérivé à cinq atomes de carbone, l'isopentényl pyrophosphate (IPP) ou isoprène actif qui peut s'isomériser pour fournir une molécule très réactive, le diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) grâce à une enzyme, l'IPP isomérase. Ces deux entités chimiques constituent les deux précurseurs communs pour tous les isoprénoïdes (**Lamarti et al., 1994**).

La condensation d'une molécule d'IPP avec son isomère le DMAPP formant une unité en C10 : diphosphate de géranyle (GPP), un précurseur de tous les monoterpènes. Le couplage de GPP avec une nouvelle molécule d'IPP conduit au farnésyl pyrophosphate (FPP, C15), qui est un précurseur des sesquiterpènes et des triterpènes. Le FPP peut agir avec une autre entité d'IPP pour former le diphosphate de géranylgeranyle (GGPP, C20), précurseur des diterpènes et des tétraterpènes (**Hopkins, 2003**).

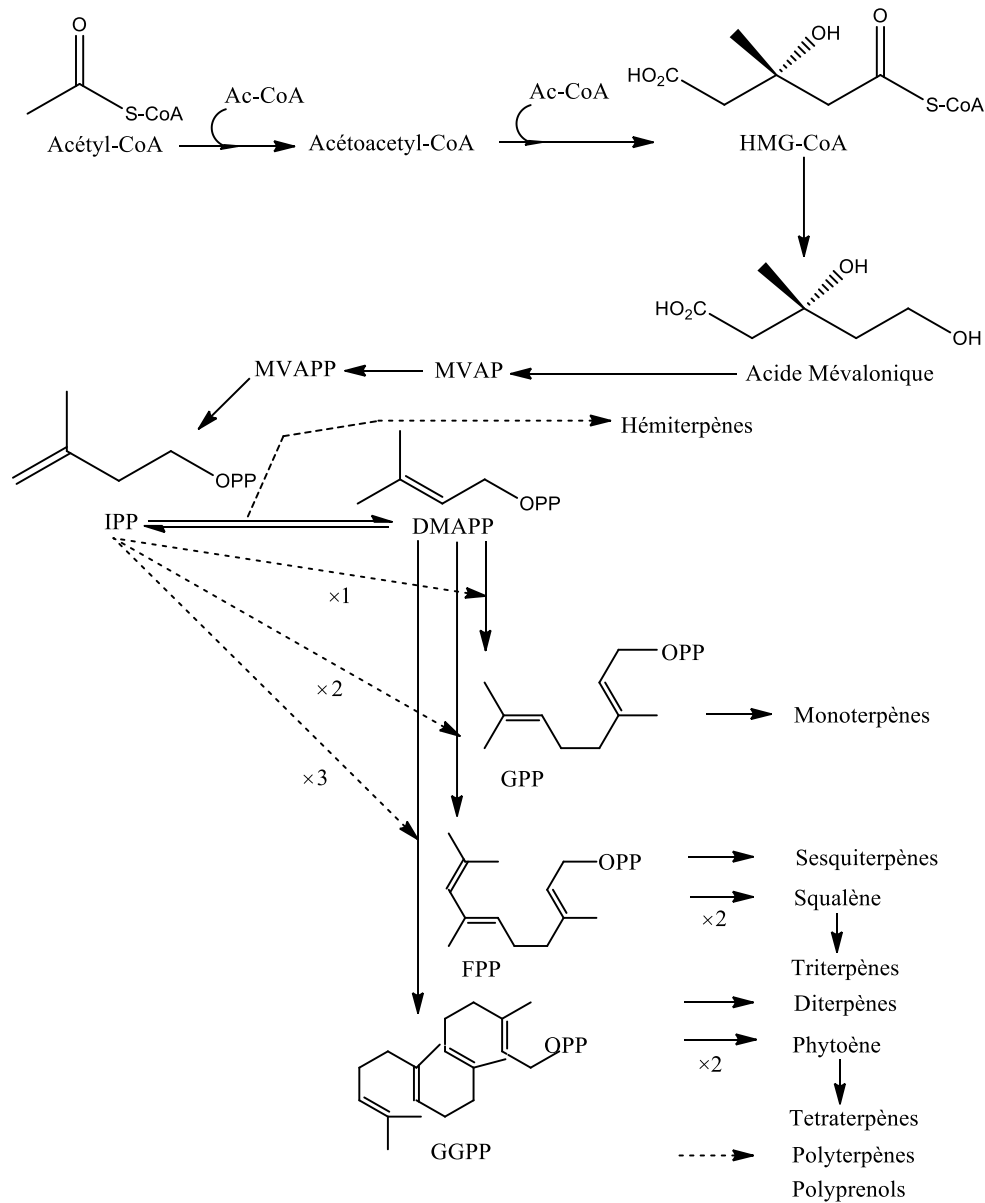


Figure 40 : Aperçu de la voie de l'acide mévalonique et biosynthèse du squelette terpenoïde (**McGarvey & Croteau, 1995**).

3. Classification

Selon le nombre d'unités isoprénique (n) (Figure 39) qu'ils contiennent, les terpènes sont distingués dans des différentes classes (McGarvey & Croteau, 1995), illustrés dans le tableau 6 où le n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100.

Les terpenoïdes peuvent également être classés selon le nombre de structures cycliques qu'ils contiennent (cyclique, monocyclique, bicyclique) et l'arrangement des cycles (Benabdelkader, 2012).

Tableau 6 : Classification des terpenoïdes

Classe	N° d'isoprène	Formule brute
Hémiterpènes	1	C ₅ H ₈
Monoterpènes	2	C ₁₀ H ₁₆
Sesquiterpènes	3	C ₁₅ H ₂₄
Diterpènes	4	C ₂₀ H ₃₂
Sesterpènes	5	C ₂₅ H ₄₀
Triterpènes	6	C ₃₀ H ₄₈
Tétraterpènes	8	C ₄₀ H ₆₄
Polyterpènes	>8	(C ₅ H ₈) _n

3.1. Hémiterpènes

Dans la nature, il existe relativement peu de composés ayant une formule ramifiée C₅. Certains des composés naturels trouvés chez les plantes peuvent être considérés comme des hémiterpènes et la plupart d'entre eux ne sont probablement pas biogénétiquement isoprénoides, seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Loomis & Croteau, 1980).

3.2. Monoterpènes

Les monoterpènes sont des composés C₁₀ et sont les plus simples constituants des terpènes. Ils proviennent de l'association de deux unités isoprènes. La majorité de ces composés est rencontrée dans les huiles essentielles où ils contribuent pour 90 % de leurs

compositions totales. Ils sont principalement inclus dans trois catégories structurales (Figure 41) : les monoterpènes linéaires (acyclique) (linalool), monocycliques (menthol) et bicycliques (α -pinène) (De Padua et al., 1999; Guimarães et al., 2013).

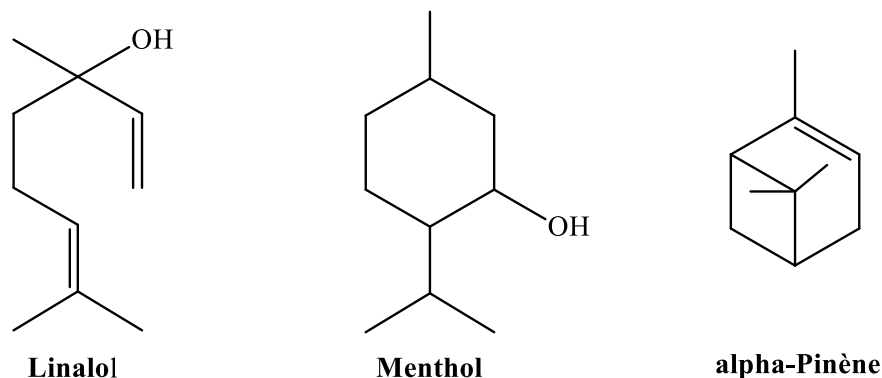


Figure 41 : Structure de quelques monoterpènes.

3.3. Diterpènes

Les diterpénoïdes sont l'une des classes de composés les plus riches en termes de structures chimiques et des propriétés très diverses. Ils sont surtout répandus chez les végétaux mais ils sont aussi présents chez certains champignons, organismes marins et insectes (Kataev et al., 2011).

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C₂₀) biosynthétisés à la suite du couplage de quatre unités isoprène à partir de leur précurseur, le géranylgeranylpyrophosphate (GGPP) (Loomis & Croteau, 1980).

En se basant sur le degré de cyclisation du squelette hydrocarboné, les composés diterpéniques peuvent être subdivisés en diterpénoïdes acycliques (phytol), bicycliques (labdanes), tricycliques (taxol) et tétracycliques (gibbérélines) (Figure 42) (Devappa et al., 2011).

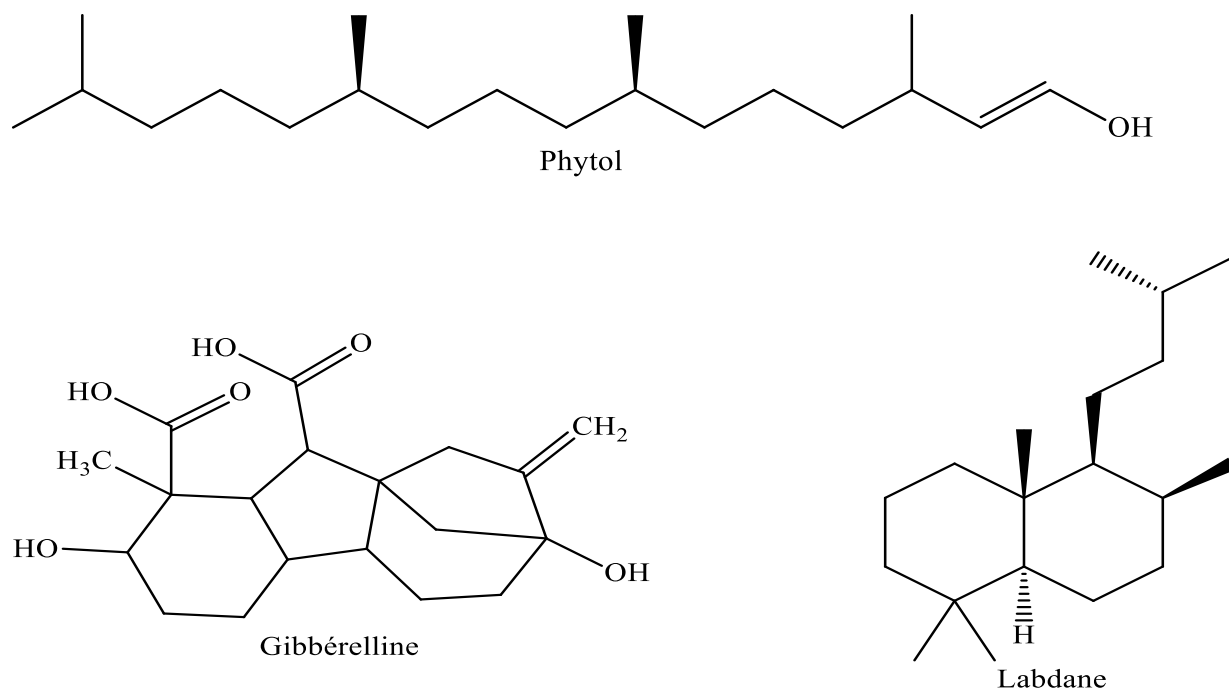


Figure 42 : Quelques exemples de différents types de diterpènes.

3.4. Triterpènes

Les triterpénoïdes en C₃₀ sont construits à partir de six unités d'isoprène et sont issus d'une variété de cyclisations du 2,3-époxy-squalène ou du squalène lui-même (Figure 43) (Z. Wang et al., 2011), ce dernier représente le seul important triterpène acyclique. En plus, la majorité de ces composés est sous forme pentacyclique (germanicol) et le groupe suivant en importance est celui des triterpènes tétracycliques (Figure 44) (Loomis & Croteau, 1980) par son homogénéité et surtout par ses rapports étroits avec les stéroïdes (Ayad, 2008).

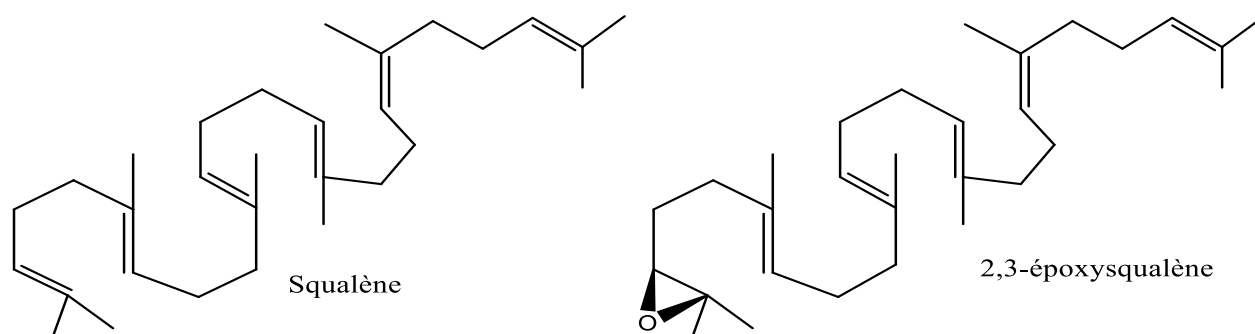


Figure 43: Structure du squalène et du 2,3-époxy-squalène.

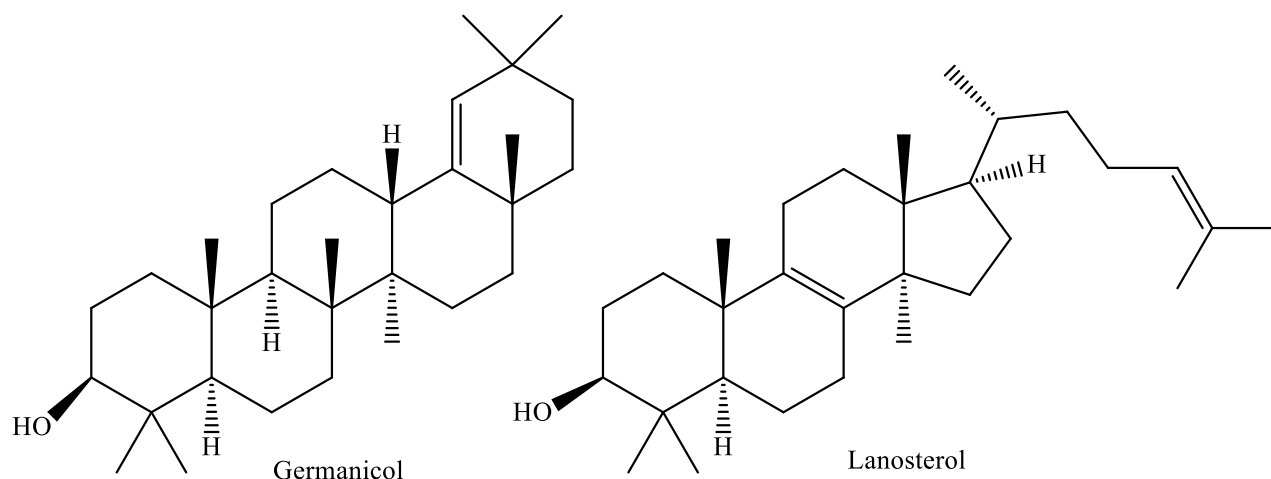


Figure 44 : Structure de quelques triterpènes.

Les stéroïdes sont un groupe de triterpènes tétracycliques plus ou moins modifiés métaboliquement (perdant au moins trois méthyles) et dérivés du squalène (Figure 43) mais ayant en commun la structure du stérane, hydrocarbure tétracyclique saturé (Figure 45) (Claude, 2010; Krief, 2003).

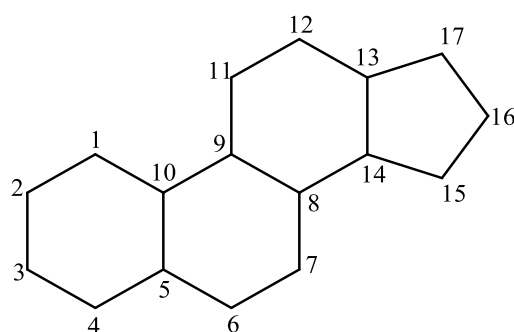


Figure 45 : Noyau stérane.

3.5. Tétraterpènes

Ces substances contiennent une longue chaîne de 40 carbones (l'enchaînement de 8 unités isopréniques), à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles. Les caroténoïdes sont les tétraterpènes les mieux connus, le lycopène (pigment rouge de la tomate mûre) et le β -carotène sont des exemples des caroténoïdes acycliques et cycliques respectivement (Figure 46) (Ayad, 2008).

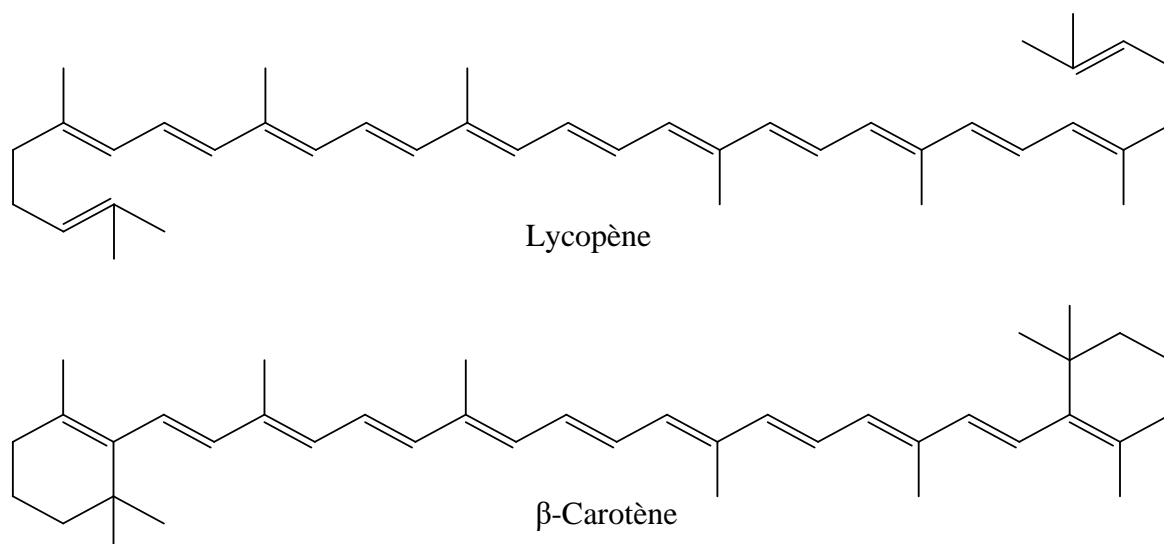


Figure 46 : Quelques structures de caroténoïdes.

3.6. Polyterpènes

Les polyterpènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène (> C₄₀), présentant une structure linéaire. Les polyterpènes hautement polymérisés (500 à 5 000 unités isoprénoïdes) sont les composants du latex se trouvent souvent sous deux formes isomériques, cis- et trans.

Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc, alors que le polyisoprène-trans se trouve dans la gutta-percha (Merghem, 2009).

4. Huiles essentielles

Les terpenoïdes sont les constituants principaux des huiles essentielles, des résines ou des cires de nombreuses plantes et leur exploitation s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) (Benabdelkader, 2012; Malecky, 2008).

4.1. Définition

Une huile essentielle (HE), appelée communément essence végétale. Le terme « essentiel » dérive de « essence », qui signifie odeur ou goût donc une huile essentielle est la fraction odorante volatile extraite des végétaux. C'est le parfum concrétisé de la plante, un véritable concentré (Calsamiglia et al., 2007; RIOTTE, 2015).

Elle se forme dans la cellule végétale (réservoirs à essence) et s'accumulent dans les divers organes de la plante : péricarpe des fruits, feuilles, pétales des fleurs d'où elles sont extraites par expression à froid ou par distillation (**Huet, 1991**).

4.2. Caractéristiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides, elles ne sont pas grasses. Chaque huile essentielle est unique, possède son odeur et ses caractéristiques spécifiques. En général elles sont de couleur jaune, mais certaines sont bleues comme les HEs de camomille allemande, celle de sarriette sont rouges, ...

Ces huiles sont des mélanges de métabolites secondaires dont les terpenoïdes (surtout des monoterpènes et des sesquiterpènes) et les composés aromatiques du phénylpropanoïdes sont les principaux composants (**Calsamiglia et al., 2007**). Elles sont également caractérisées par la présence de plus de deux-cent substances actives telles que les alcools, les éthers, les acétates et les cétones, etc. (**RIOTTE, 2015**).

4.3. Effets pharmacologiques

Les huiles essentielles ont une grande variété d'effets sur la santé, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme (les bactéries endocanaliaires...) et d'origine fongique (les dermatophytes...). Elles ont également des effets positifs sur les maladies cardiovasculaires, certaines tumeurs, les processus inflammatoires et, en général, les maladies dans lesquelles la prolifération incontrôlée des radicaux libres est très dommageable (**Calsamiglia et al., 2007; De Billerbeck, 2007**).

5. Intérêts des terpenoïdes

Un large éventail de propriétés biologiques des terpenoïdes est décrit, y compris des activités anti-oxydantes, antiallergènes, antispasmodiques, antihyperglycémiques, antiinflammatoires, antinéoplastiques, immunomodulatrices, antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antivirales (**Paduch et al., 2007**).

Beaucoup de terpenoïdes ont plusieurs usages dans différents secteurs. Ils fournissent une gamme de produits commercialement utiles pour l'homme comme, par exemple, des

arômes ou saveurs, matières industrielles, compléments alimentaires sous forme de vitamines ou pesticides (**Benabdelkader, 2012**).

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans les domaines pharmacologiques, agroalimentaires, etc.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (les alcaloïdes, les terpènes et les polyphénols...) qui sont caractérisés par une répartition très inégale selon les végétaux, quelquefois entre des espèces très voisines ou même entre sous espèces.

Ils présentent une énorme valeur économique en particulier pour l'industrie pharmaceutique et en cosmétique.



CHAPITRE III

*Systeme oxydant,
systeme antioxydant
et stress oxydant*

Dans le corps humain les mitochondries se trouvent dans toutes les cellules, un organe dont le rôle physiologique primordial est de fournir à la cellule une source d'énergie importante en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP en ATP (Figure 47) (Haleng et al., 2007).

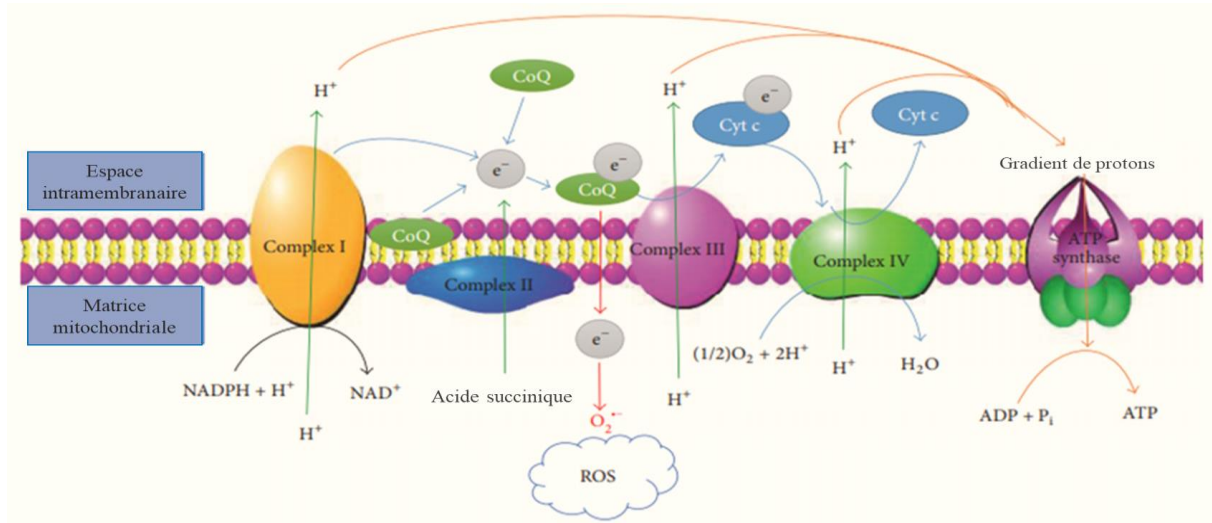
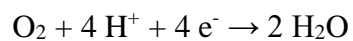


Figure 47 : Représentation schématique d'une partie de la chaîne respiratoire mitochondriale (C. Li et al., 2017).

Lors de la respiration mitochondriale, l'oxygène comme tous les comburants a sa propre toxicité. En effet, le métabolisme de l'oxygène, lorsqu'il est dérégulé lors de réactions radicalaires (Réaction 1), peut entraîner ce qu'on appelle « le stress oxydant », donc il va se provoquer des effets dommageables dans l'organisme via la formation des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Afin de maintenir leur niveau constant dans l'organisme vivant, l'ERO sont équilibrées avec des systèmes antioxydants (J. Li et al., 2013).



(Réaction 1)

I. Espèces réactives de l'oxygène

1. Généralités

La « free radical theory » et la toxicité de l'oxygène ont été évoquées au milieu des années cinquante par le chercheur américain D. Hartman, afin d'expliquer que le

vieillesse est le résultat cumulatif des dommages oxydatifs provoqués par les radicaux libres centrés sur l'oxygène (**Harman & D, 1956**).

En effet, un radical libre est par définition une entité chimique, (simple atome, fragment d'une molécule ou molécule), possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique. Cet état leur confère une instabilité ce qui le rend fortement réactive. Généralement, ce radical libre a un temps de demi-vie extrêmement court (de l'ordre de la milliseconde voire de la nanoseconde) (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Cet électron non apparié va naturellement arracher les électrons d'une molécule qui était stable (**Goudable & Favier, 1997**), le radical libre se stabilise et perd sa toxicité tandis que l'autre molécule se transforme en radical libre, le phénomène se propage c'est-à-dire que cette dernière va chercher à son tour dans leur entourage un électron qui lui manque (**Fontaine, 2007**).

Dans les systèmes vivants les ERO et les espèces réactives de l'azote (RNS, ERN) parfois RNI (reactive nitrogen intermediates), sont les plus grandes classes d'espèces radicalaires générées. Plus récemment, les RNS ont été définies comme un sous-groupe des ERO puisque elles contiennent toutes un ou plusieurs atomes d'oxygène (**Sertejn, Mouithys-Mickalad, et al., 2002**).

En outre, de récents chercheurs dans ce domaine explorent le point de vue selon lequel les espèces réactives d'oxygène exercent non seulement des effets nuisibles mais également des effets bénéfiques (**Liochev, 2013**).

2. Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

Les espèces réactives de l'oxygène, ERO ou « ROS » (en anglais pour reactive oxygen species), cette appellation n'est pas restrictive car elle inclut l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs. Il convient donc de distinguer (**Alain Favier, 2003; Monique Gardès-Albert et al., 2003**) :

- Les dérivés radicalaires caractérisés par un électron célibataire et qui dérivent directement de l'O₂ par une réaction de réduction : anion superoxyde (O₂^{•-}), radical hydroxyle (HO[•]), monoxyde d'azote (NO[•]) et le radical peroxyde (RO₂^{•-}), etc.

- Les dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite (ONOO^-), etc. ne possédant pas d'électron non apparié mais qui peuvent être des précurseurs de radicaux libres.

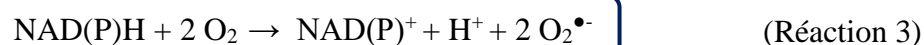
2.1. Espèces réactives radicalaires

2.1.1. Anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$

L'espèce la plus répandue et la plus importante, un radical primaire chargé négativement provenant de la réduction mono-électrique de dioxygène, il est donc une molécule d' O_2 avec un électron de plus.



Cette réaction de transfert d'électron se fait soit par respiration mitochondriale, soit par catalyse enzymatique dans la mitochondrie, sous l'action de peroxydases et d'autres oxydases comme NAD(P)H-oxydase (Réaction 3) (**Thannickal & Fanburg, 2000**).



Un autre site de production est les cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) celles-ci utilisent le superoxyde et d'autres ROS pour détruire les virus, les bactéries ou les composés chimiques étrangers présents dans les tissus (**Halliwell & Gutteridge, 2015**).

L'anion superoxyde joue un rôle clé dans l'inflammation par : l'agression des cellules endothéliales, l'augmentation de la perméabilité microvasculaire, et le recrutement des polynucléaires neutrophiles (PN) sur les sites inflammatoires (**Afonso et al., 2007**).

Bien que le radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ semble moins réactif vis-à-vis des molécules biologiques, il est un précurseur d'autres espèces radicalaires très nocives en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le monoxyde d'azote (NO^\bullet) (Figure 48) (**Buetler et al., 2004**).

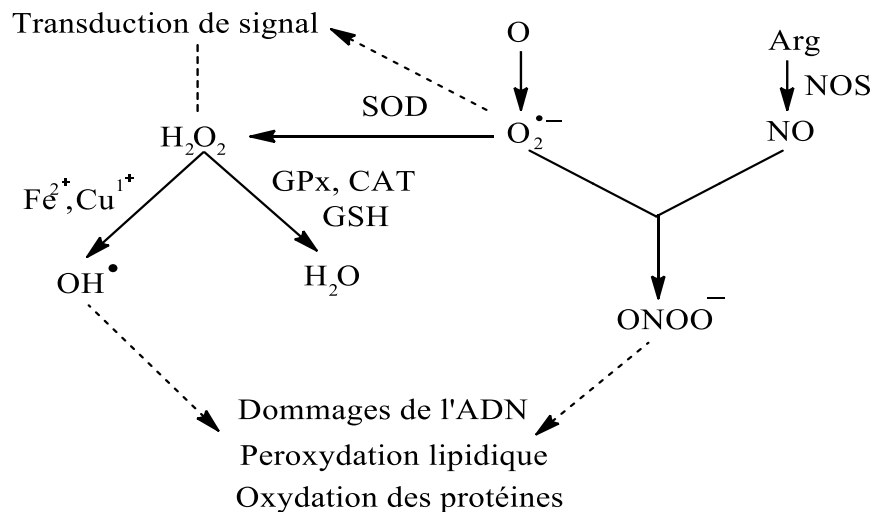


Figure 48 : Cascade d'événements conduisant à la production de différents ROS à partir de l'anion superoxyde.

Cet anion est stable dans les solvants organiques et instables dans les milieux aqueux à cause de sa dismutation rapide en H_2O_2 (Thannickal & Fanburg, 2000).

La durée de vie d' $O_2^{\bullet-}$ est plutôt longue (jusqu'à quelques dizaines de secondes) comparée aux autres ROS, il va pouvoir de se déplacer assez loin de son lieu de production pour atteindre ses cibles telles que l'acide ascorbique, le cytochrome C (Fe^{3+}) (Monique Gardès-Albert et al., 2003), et surtout la superoxyde dismutase (SOD) qui assure sa régulation dans l'organisme (Ferradini, 1986).

2.1.2. Radical hydroperoxyde HO_2^{\bullet}

Le radical hydroperoxyde, également appelé le radical perhydroxyle, il s'agit de l'acide conjugué de l'anion superoxyde obtenu après protonation de ce dernier (M Gardès-Albert, 2006).



Il est plus réactif que le précédent, en l'absence de SOD, l' HO_2^{\bullet} participe à la dismutation non catalysée d' $O_2^{\bullet-}$ (Migdal & Serres, 2011). En outre l' HO_2^{\bullet} initie la peroxydation des acides gras par deux voies parallèles :

- L'une est indépendante de l'hydroperoxyde d'acide gras (ROOH).

- L'autre est dépendante de ROOH : un transfert direct ou indirect d'atomes d'hydrogène entre ROOH et HO₂[•] pour produire des ROO[•] qui propagent la peroxydation (**Aikens & Dix, 1991**).

2.1.3. Radical hydroxyle HO[•]

Le plus redouté des ROS est le radical hydroxyle HO[•] qui représente la forme neutre de l'ion hydroxyde (**M. Valko et al., 2006**).

En présence de cations métalliques tels que le fer ou le cuivre, le peroxyde d'hydrogène est susceptible de se décomposer via la réaction de Fenton (Réaction 5), une réaction permettant de former à la fois un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO[•] (**Sorg, 2004**).



Fait intéressant, la majeure partie du fer de l'organisme est liée à des protéines ce qui limite la concentration en fer libre. Ainsi, afin de convertir complètement l'H₂O₂ en HO[•], une réduction du fer ferrique par l'O₂^{•-} en ion ferreux est nécessaire à partir de molécules contenant du fer de la manière suivante (**Klebanoff, 2005**) :



En revanche, ce radical peut également être généré grâce aux anions superoxydes O₂^{•-} lors de la réduction de l'H₂O₂ selon la réaction d'Haber-Weiss (Réaction 7) qui résulte d'une combinaison des deux réactions précédentes (Réaction 5 et 6) (**Radák, 2000; M. Valko et al., 2006**).



Au cours de l'inflammation, autres voies alternatives peuvent générer l'hydroxyle à travers des interactions entre l'anion superoxyde et l'acide hypochloreux (Réaction 16), entre le peroxyde d'hydrogène et le monoxyde d'azote, ou entre l'acide hypochloreux et les ions ferreux (**Kruidenier & Verspaget, 2002**).

À l'inverse du radical superoxyde O₂^{•-}, l'hydroxyle présente une durée de vie limitée à quelques nanosecondes et une capacité à diffuser restreinte, il s'agit alors d'un radical qui

réagit quasiment sur le lieu de production. Pour cette raison, aucun système enzymatique ne peut l'utiliser comme substrat, il ne peut pas donc être éliminé par une réaction enzymatique. Par conséquent, son activité est minimisée en éliminant l'H₂O₂ et les métaux de transition (Hrycay & Bandiera, 2015).

Par ailleurs, l'HO• est la plus réactive des radicaux libres, ce qui en fait un radical très dangereux, capable de réagir rapidement avec la plupart des molécules biologiques selon Pasquier et Therond (Pasquier, 1995; Therond, 2006) :

- Les membranes cellulaires et les lipides sont les cibles majeures d'HO•, il attaque leurs acides gras polyinsaturés au niveau des doubles liaisons.
- L'ADN, où ce radical est responsable de son oxydation, ce qui conduit à la mutagenèse, la carcinogenèse et la mort cellulaire.
- Les protéines sont aussi sensibles à son action, il réagit et s'additionner sur les acides aminés aromatiques et celui ayant un noyau imidazole. Il réagit aussi sur les acides aminés contenant un atome de soufre, provoquant une agrégation de la protéine par la formation des ponts disulfures.
- Il est capable de couper les molécules de sucre et provoquer des épaissements membranaires par la formation des liaisons entre les protéines et les sucres.

2.1.4. Monoxyde d'azote NO•

Le NO• est une molécule gazeuse hautement diffusible, présente dans tous les types de cellules notamment dans les cellules endothéliales, les phagocytes et certaines cellules du cerveau. Il est produit par l'enzyme NOS selon la réaction suivante (Massion et al., 2002) :



Le NO• peut interagir soit avec l'O₂•⁻ pour former : le dérivé non radicalaire ONOO⁻, l'anion nitroxyl (NO⁻) et le dioxyde d'azote (NO₂) ; soit avec O₂ pour former N₂O₄ (Massion et al., 2002). Ces espèces réactives sont capables de réagir directement avec l'ADN formant des dérivés nucléosidiques nitrés, le plus abondant c'est le 8-nitro-désoxyguanosine (8-nitro-dG); qui est instable et sa liaison glycosidique est hydrolysée pour former un site abasique (Therond, 2006).

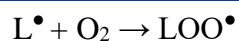
Parmi les effets du NO[•] (Crépel & Lemaire, 1995; Pasquier, 1995) :

- Il a un rôle vasodilatateur qui a un effet neurotransmetteur important.
- Est un second messenger de courte vie.
- Il est très important pour la lyse des bactéries et des parasites intracellulaires.
- Il peut réguler l'activité de certaines enzymes.

2.1.5. Radicaux alkoyle RO[•] et peroxylo ROO[•]

Ce sont des formes radicalaires dites secondaires formées par l'action oxydante des radicaux primaires (O₂^{•-}, H₂O₂, ...) sur les composés biochimiques cellulaires tels que les acides gras polyinsaturés, les glucides, les protéines, etc. Ces radicaux sont moins réactifs mais ils sont à l'origine des processus de réactions radicalaires en chaîne et, en particulier la peroxydation des membranes cellulaires (Lacolley et al., 2008).

L'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI, LH) par les ERO génère un radical alkyle (L[•]). Ce dernier ajoute rapidement l'oxygène pour former le radical peroxylo LOO[•] (Réaction 9). Les radicaux peroxylo peuvent oxyder d'autres molécules d'AGPI (Réaction 10), produisant des hydroperoxydes lipidiques (LOOH) qui peuvent se décomposer en espèces encore plus radicalaires notamment : les aldéhydes, les alkoxylo (LO[•]) (Réaction 11) et les peroxylo (Réaction 12) (Cheeseman & Slater, 1993).

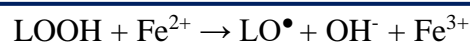


(Réaction 9)

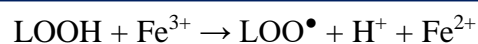


(Réaction 10)

Réaction de Fenton (Logan et al., 2015) :



(Réaction 11)



(Réaction 12)

LO[•] subisse une scission catalysée notamment en présence de fer ionisé générant des composés volatils (Durand et al., 2013).

2.2. Espèces réactives non radicalaires

2.2.1. Peroxyde d'hydrogène H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de dihydrogène ou encore l'eau oxygénée, ce n'est pas une espèce radicalaire proprement dit mais est une molécule (**Monique Gardès-Albert et al., 2003**).

L'O₂^{•-} libéré par le PN réagit sur lui-même par une réaction de dismutation catalysée par des ions métalliques ou par les SOD pour former l'H₂O₂ (Réaction 13), oxydant puissant capable d'accepter deux électrons supplémentaires, et plus stable que les radicaux superoxydes, et comme il est stable il diffuse facilement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule (**Goudable & Favier, 1997**).



L'H₂O₂ est surtout réputé pour sa toxicité relative qui provient de sa capacité à générer d'autres espèces radicalaires dont la plus réactive est l'HO[•]. Il peut également être transformé en acide hypochloreux par la réaction de la myéloperoxydase (Réaction 14) (**Migdal & Serres, 2011**). Pour cette raison, le niveau d'H₂O₂ est régulé par des enzymes notamment la catalase et autres peroxydases comme la glutathion peroxydase (**Helmut Sies, 2014**).

L'H₂O₂ est capable d'induire des modifications fonctionnelles de multiples protéines impliquées dans l'homéostasie vasculaire, incluant des tyrosine-kinases telles les EGF-R, les MAPKs telles les ERK1/2 et les c-jun kinases (JNK), importantes pour la croissance et la prolifération cellulaire, et des enzymes impliquées dans la survie cellulaire comme Akt ou dans l'apoptose comme les caspases (**Bonnefont-Rousselot et al., 2002**).

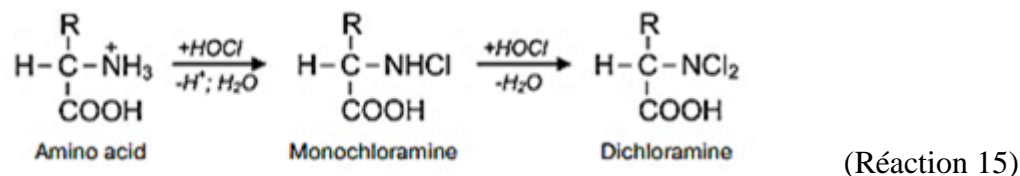
2.2.2. Acide hypochloreux HOCl

L'un des précurseurs moléculaires les plus importants des radicaux libres dans l'organisme. C'est un oxydant fort de courte durée. Il est produit dans le corps humain par la famille des peroxydases de l'hème mammifère, principalement par la myéloperoxydase (MPO) qui est sécrétée par les neutrophiles et les monocytes au cours de l'inflammation.

La MPO catalyse la transformation de l'H₂O₂ et d'ion chlorure en HOCl et l'eau selon la réaction suivante (Réaction 14) :



Il réagit à la fois avec certains groupes fonctionnels dans les chaînes latérales des acides aminés et avec le groupement α amine formant la monochloramine et la dichloramine :



Une autre réaction importante conduisant à la formation du radical HO^\bullet impliquant la présence de l' HOCl et l' $\text{O}_2^{\bullet-}$:

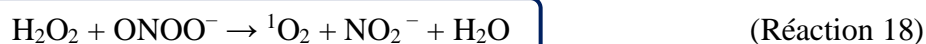


L' HOCl est aussi responsable à l'activation des pro-enzymes comme la matrilysine (métalloprotéinase matricielle MMP-7), la procollagénase et la pro-élastase (**Panasenko et al., 2013; Serteyn, Grulke, et al., 2002**).

2.2.3. Oxygène singulet $^1\text{O}_2$

C'est une forme « excitée » d'oxygène moléculaire, très instable, extrêmement réactif, avec une durée de vie très limitée (**Démarchez, 2012**).

Il est un agent majeur généré à partir de plusieurs sources et par de nombreux types de cellules, en particulier par les granulocytes et les neutrophiles. La NADPH-oxydase membranaire génère des anions superoxydes qui se transforment en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier peut réagir avec ClO^- (Réaction 17) ou Peroxynitrite (Réaction 18) pour former le $^1\text{O}_2$ non radicalaire (**Sorg, 2004; Stief, 2003**).



La photo production traditionnelle utilisée dans le cadre de la photo thérapie dynamique (PDT) c'est une méthode qui consiste à utiliser des molécules photosensibles (photos agents) pour produire le $^1\text{O}_2$. Une autre source dite photo production directe permet

d'exciter directement le dioxygène dans son état singulet sans l'utilisation des photos agents (Frochot et al., 2019).

3. Autres espèces oxydantes

Les métaux de transition (Fe^{++} , Cu^{++} ...) doivent être considérés comme des espèces pro-oxydantes par le biais de leur forme oxydée, mais aussi par celui de leur forme réduite, qui peut réduire une espèce oxydante en espèce beaucoup plus réactive (Vamecq et al., 2004).

4. Sources des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires sont omniprésents dans notre vie et dans notre métabolisme. Ils ont plusieurs origines et leur formation est due à un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes.

4.1. Sources endogènes

Dans les organismes vivants, les ROS sont générées dans plusieurs systèmes cellulaires localisés sur la membrane plasmique, dans le cytosol, dans les peroxysomes et sur les membranes des mitochondries et du réticulum endoplasmique (Figure 49) (Di Meo et al., 2016).

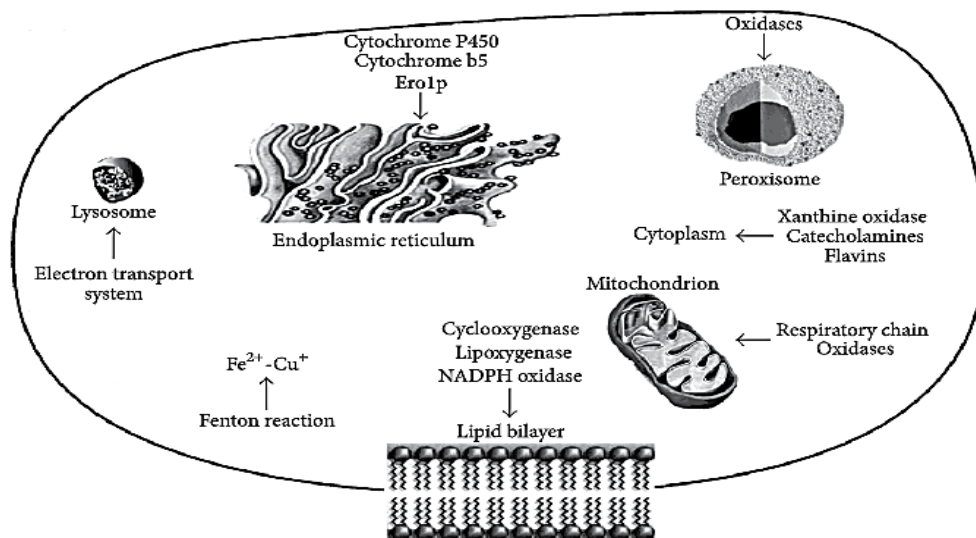


Figure 49 : Sources cellulaires de production de ROS.

La mitochondrie représente la principale source des radicaux superoxydes et hydroxyles. La majeure partie de l'oxygène subit une réduction tétravalente par le cytochrome oxydase (Réaction 1), ce dernier joue un rôle très important, car il retient les formes toxiques proviennent de l'oxygène (Cadenas & Davies, 2000). Une faible proportion de ces formes toxiques vont réussir à fuir à l'extérieur de la mitochondrie, le dysfonctionnement du métabolisme de l'oxygène sont également à l'origine de la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (Monique Gardès-Albert et al., 2003; Reimund, 2002).

L'activation de l'acide arachidonique, peut réduire l'oxygène moléculaire en superoxyde lors de la biosynthèse des prostaglandines (Figure 50) (Betteridge, 2000; J Pincemail, 2001).

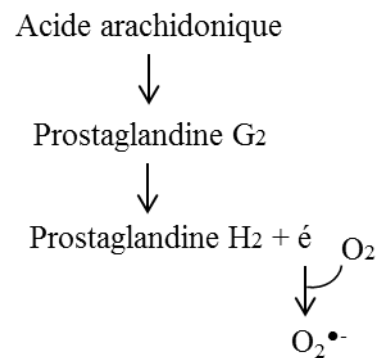


Figure 50 : Génération de l'anion superoxyde lors de la biosynthèse des prostaglandines.

L'auto-oxydation des neuromédiateurs (catécholamine, dopamine, adrénaline, etc.) (Figure 51), des flavines réduites (FMN et FAD) et des molécules contenant des thiols (cystéine), représente aussi une source des radicaux libres (Messner & Imlay, 1999).

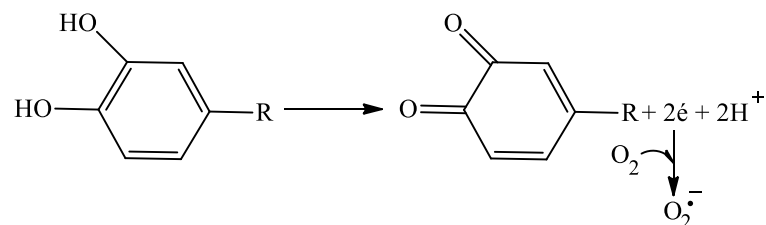


Figure 51 : Génération des radicaux libre lors de l'auto-oxydation des catécholamines lors du phénomène d'ischémie-reperfusion (Betteridge, 2000).

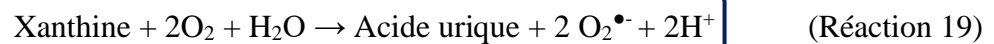
Les NOS catalysent les deux étapes permettant la synthèse de NO^\bullet à partir d'arginine (Réaction 8) : la conversion de l'arginine en ω -hydroxyarginine et l'oxydation de cette dernière en citrulline et NO^\bullet (Descamps, 2006).

La myéloperoxydase responsable de la production de l'acide hypochloreux (Réaction 14) (Serteyn, Grulke, et al., 2002).

La stimulation excessive de NAD(P)H oxydase (NOX) lors de la phagocytose génère l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ (Réaction 3) en utilisant NADH ou NADPH comme substrat (Filaire & Toumi, 2012).

Les cytochromes P450 assurent l'oxydation des acides gras insaturés et réduisent l'oxygène moléculaire pour former l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ et/ou l' H_2O_2 (Migdal & Serres, 2011).

La xanthine oxydase catalyse l'oxydation de la xanthine en acide urique (Réaction 19), notamment lors d'ischémie-reperfusion ou d'hypoxie, entraînant la formation d' $\text{O}_2^{\bullet-}$. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron (Garait, 2006).



4.2. Sources exogènes

L'environnement et le mode de vie sont à l'origine de la création des ROS et de leur accumulation. Ceux-ci incluent :

- L'Exposition au soleil (UV, rayon γ ou chaleur) : provoque la dissociation thermique des hydroperoxydes lipidiques pour donner LO^\bullet et HO^\bullet (Cillard & Pierre, 2006).



- L'exercice physique trop intensif et prolongé ou mal géré (Powers & Jackson, 2008) ou encore le stress psychosocial.
- La fumée de cigarette (Valavanidis et al., 2009) et la consommation excessive d'alcool (Sergent et al., 2001).
- Pollution, ozone, alimentation, etc. (J Pincemail, 2001).

- Les métaux lourds (chrome, Cadmium, etc.) sont connus pour leurs propriétés redox. Ainsi la présence de ces métaux toxique dans le sol ou dans les aliments est à l'origine d'une formation élevée de radicaux libres (Nies, 1999).

5. Rôles physiologiques des ROS et RNS

Malgré leur mauvaise réputation, les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote à des basses concentrations sont impliquées dans la régulation et la signalisation cellulaire, elles peuvent physiologiquement induire l'apoptose qui est un mécanisme essentiel dans l'homéostasie cellulaire, ou encore dans la réponse inflammatoire/immunitaire (Liochev, 2013; Vamecq et al., 2004).

De nombreux ligands comme les cytokines se fixent à leurs récepteurs et induisent des ERO qui participent alors à la transduction et à l'amplification du signal (Migdal & Serres, 2011).

Toutes les ERO/ERA interagissent les unes avec les autres afin de détruire le pathogène : après la phagocytose du pathogène, les phagocytes augmentent considérablement leur consommation d'oxygène. L'oxygène est réduit par la NOX2 phagocytaire en $O_2^{\bullet-}$ qui est lui même bactéricide, et par formation d'autres espèces comme le H_2O_2 et en présence de métaux de transition, peut donner naissance au puissant radical hydroxyle (HO^{\bullet}). En parallèle, les MPO, en milieu acide, catalysent l'oxydation des ions halogénures par H_2O_2 pour former HOCl. Et enfin, les iNOS (NO synthases inductibles) forment des ERA et notamment le NO^{\bullet} qui réagit avec l' $O_2^{\bullet-}$ et donne naissance au peroxinitrite $ONOO^-$ (Migdal & Serres, 2011).

II. Systèmes antioxydants

Les réactions d'oxydoréduction qui transfèrent les électrons d'une substance vers un agent oxydant sont nécessaires à la vie, mais peuvent produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les anti-oxydants peuvent stopper ces réactions en chaîne en se combinant aux radicaux libres et en inhibant ainsi leur action (Tanguy & Begué-Simon, 2009).

Les systèmes de défense anti-oxydants comprennent :

- ✓ Des substances non enzymatiques de petite taille (caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone, etc.) et des protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine) qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif (Joël Pincemail et al., 2002).
- ✓ Des enzymes ayant une activité catalytique et qui sont reconnus comme étant les plus performants (superoxyde dismutases, catalase, glutathion peroxydases, couple thiorédoxine/thiorédoxine réductase, hème oxygénase, peroxyrédoxine...) (Joël Pincemail et al., 2002).
- ✓ Des substances synthétiques qui sont généralement des composés phénoliques d'origine pétrochimique.

1. Systèmes de défenses enzymatiques

1.1. Superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

Le premier et l'un des principaux maillons du processus de défense contre les radicaux libres. La superoxyde dismutase inactive l'ion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène (Réaction 13). L' H_2O_2 qui vient d'être formé par la SOD est catabolisé par deux enzymes : la catalase et la glutathion peroxydases (Menvielle-bourg, 2005).

Trois membres connus de la famille des enzymes SOD (SOD1, SOD2, SOD3) humaines basés sur les ions métalliques, selon Scandalios (Scandalios, 1993) :

- Deux SODs qui contiennent du cuivre et du zinc (CuZn-SOD) : Le premier type (SOD1) est une protéine dimérique se trouve dans le cytoplasme et la matrice mitochondriale, sa masse moléculaire est d'environ 32 000 Da. Le deuxième type (SOD3) est une protéine extracellulaire tétramérique de poids moléculaire 135 000 Da.
- SOD qui contient du manganèse (MnSOD, SOD2), existe sous forme d'homotétramère, elle est uniquement mitochondriale, sa masse moléculaire est de 23 000 Da. La SOD2 joue un rôle majeur dans la promotion de la différenciation cellulaire et dans la protection contre la toxicité pulmonaire induite par l'hyperoxie.

La SOD qui contient du fer (FeSOD) se trouve généralement chez les procaryotes. Un MnSOD a été signalé dans les chloroplastes de certaines plantes. Il n'a pas été observé de SOD extracellulaire végétale.

1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

Une enzyme tétramérique qui a au niveau de son site catalytique une sélénocystéine. Elle catalyse non seulement la réduction du peroxyde d'hydrogène (Réaction 21) mais aussi le peroxyde lipidique (Réaction 22), en utilisant le GSH comme donneur d'électrons (**Marín-García, 2014; Smeitink, 2004**).



Il existe deux formes de GPx (**Katiyar et al., 2001**) :

- ✓ La GPx dépendante du sélénium : GPx1, GPx2, GPx3 et GPx4.
- ✓ La GPx indépendante du sélénium (l'absence de sélénium au niveau de leur site actif) : GPx5 et GPx6.

1.2.1. GPx dépendante du sélénium

- GPx1 (EC 1.11.1.9) : Un tétramère présente dans tous les cellules (les érythrocytes, les reins, le foie...) (**Lei, 2001**). C'est la GPx la plus abondante située sur le chromosome numéro trois. Elle élimine l' H_2O_2 (Réaction 21) et protège l'ADN. La surexpression de la GPx1, protégera les cellules cancéreuses contre la destruction par apoptose entraînée par H_2O_2 (**Brigelius-Flohé & Flohé, 2019**). Elle peut également agir comme une peroxydase réductase (**Lubos et al., 2011**).
- GPx2 : Enzyme tétramérique cytosolique, joue un rôle dans l'auto-renouvellement continu de l'épithélium intestinal et, par conséquent, dans l'homéostasie muqueuse (**Brigelius-Flohé & Maiorino, 2013**).
- GPx3 : Est principalement extracellulaire tétramérique et présente des sites de glycosylation. Son activité enzymatique permet de réduire le peroxyde d'hydrogène mais également les acides gras peroxydés (**Chabory, 2009**).

Les GPx 2 et 3 sont mal détectées dans la plupart des tissus, à l'exception du tractus gastro-intestinal (GPx2) et du rein (GPx3) (**de Haan et al., 1998**).

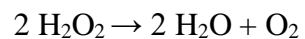
- GPx4 : Ou phospholipid hydroperoxide GPx (phGpx) n'est pas un tétramère, mais plutôt un monomère, elle est la seule enzyme GPx qui réduit les hydroperoxy des phospholipidiques (**Lei et al., 2007**). Elle est fortement exprimée dans les cellules épithéliales rénales et les testicules (**de Haan et al., 1998**). Trois formes de GPx4 sont produites à partir d'un seul gène : la forme cytosolique (cGPx4) et mitochondriale (mGPx4) ont la même séquence et ne diffèrent que par leur localisation subcellulaire, et une forme nucléaire (nGPx4) qui est une protéine un peu plus grande. La GPx4 est importante dans le développement embryonnaire, la spermatogenèse et la protection contre le stress oxydatif (**Burk & Hill, 2010**).

1.2.2. GPx indépendante du sélénium

- GPx5 : C'est un homotetramer, protéine de type GPx épидидymaire. Elle est sécrétée dans la lumière de l'épididyme, et s'associe à la tête du sperme. Il a été suggéré qu'elle empêche la réaction acrosomique (**Burk & Hill, 2010**).
- GPx6 : L'activité de cette enzyme est plus faible que celle des GPxs sélénio dépendantes. Elle est capable de protéger les membranes cellulaires par réduction des phospholipides hydro peroxydés (**Chabory, 2009**).

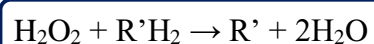
1.3. Catalase (EC 1.11.1.6)

La catalase catalyse la conversion du H₂O₂ en eau et en oxygène en utilisant le fer ou le manganèse comme cofacteurs, elle est localisée à l'intérieur des peroxysomes, ce qui limite leur action par rapport aux d'autres enzymes cytoplasmiques (**Lacolley et al., 2008**).



(Réaction 23)

Elle a également une fonction de détoxification de différents substrats, comme les phénols et les alcools, via la réduction du peroxyde d'hydrogène (**Nordberg & Arnér, 2001**).



(Réaction 24)

1.4. Complexe thiorédoxine/thiorédoxine réductase

Ce complexe assure la réduction des groupements thiols protéiques, il participerait aussi à l'élimination de l'anion superoxyde (Césarini, 2004).

1.4.1. Thiorédoxine (Trx)

Trois Trx humaine codées par des gènes séparés ont été identifiées selon (Nordberg & Arnér, 2001) :

- Le plus étudié est le gène de la thiorédoxine classique (Trx-1) de 12 KDa.
- L'isoenzyme Trx-2 est située dans les mitochondries et comprend un signal de translocation mitochondriale N-terminal de 60 acides aminés.
- Le troisième, SpTrx, qui est fortement exprimée dans les spermatozoïdes.

La Trx contient un site actif (-Cys-Gly-Pro-Cys-) conservé, les deux résidus cystéine étant impliqués dans la formation de pont disulfure. La Trx intervient dans la réduction d'agents antioxydants oxydés et celle de ponts disulfures intra- ou interpeptidiques tout en étant elle-même oxydée (Figure 52) (Vamecq et al., 2004).

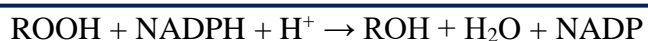
La thiorédoxine réduite permet la réduction de la peroxyrédoxine (Prx) oxydées en peroxyrédoxines réduites (Figure 52).

1.4.2. Thiorédoxine réductase (TrxR)

La TrxR catalyse la réduction de la Trx-S₂ (oxydée) en TRX- (SH)₂ (réduite) à partir de la NADPH, H⁺ (Figure 52) (Nishinaka et al., 2001).

Elle est Caractérisée par la présence d'un groupe thiol dans son site actif, elle est aussi un élément clé dans la régulation des facteurs de transcription (Joël Pincemail et al., 2002).

L'élimination des peroxydes (Réaction 25) peut être catalysée directement par les thiorédoxines réductases qui, comme les glutathions peroxydases, contiennent du sélénium sous forme de sélénocystéine (Vamecq et al., 2004).



(Réaction 25)

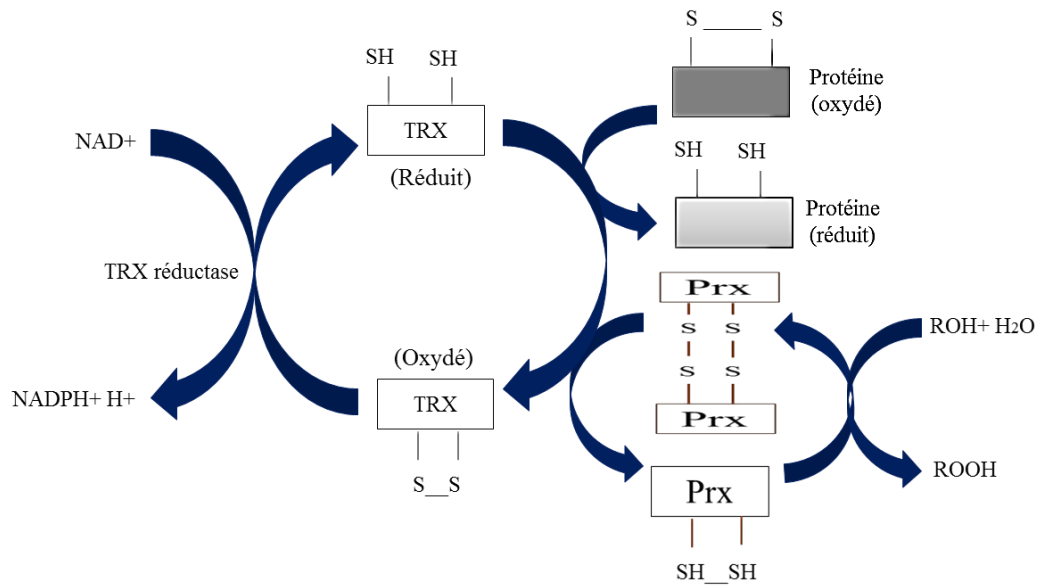
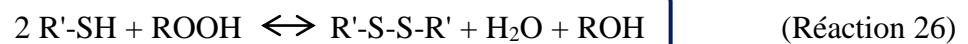


Figure 52 : Fonctionnement de la Trx et de la TrxR.

1.5. Peroxyrédoxine (Prx EC 1.11.1.15)

C'est une peroxydase à base de cystéine qui non seulement protège les cellules contre les dommages oxydatifs par les peroxydes, mais joue également un rôle important dans la signalisation cellulaire médiée par H₂O₂ chez les eucaryotes (**Parsonage et al., 2005**).

Elle subit des cycles d'oxydations peroxydodépendantes et de réductions thiolodépendantes au cours de leur activité catalytique (Réaction 26) (**Monteiro et al., 2007**) :



Les cellules de mammifères expriment six isoformes Prx (Prx I – VI), qui peuvent être divisées en trois sous-groupes selon (**Rhee et al., 2005**) :

- ✓ Prx 2-Cys typique, qui contient à la fois les résidus Cys conservés N et C-terminaux et nécessite les deux pour la fonction catalytique .
- ✓ Prx 2-Cys atypique, qui ne contient que la Cys N-terminale, mais elle nécessite un résidu Cys supplémentaire non conservé pour l'activité catalytique.
- ✓ Prx 1-Cys, qui ne contient que la Cys N-terminal et ne nécessite que celle conservée pour la fonction catalytique.

2. Systèmes de défenses non enzymatiques

2.1. Systèmes antioxydants endogènes

Ce groupe de systèmes anti-oxydants renferme de nombreuses substances endogènes fabriquées par les cellules parmi lesquelles :

2.1.1. Glutathion

Nombreux thiols sont inclus dans ces systèmes endogènes dont le plus abondant est le glutathion, un tripeptide ubiquitaire omniprésent dans différent compartiment cellulaires.

Sous sa forme réduite (GSH), le glutathion représente la grande majorité du glutathion total, il peut directement piéger les radicaux libres mais il est capable de participer à l'activité enzymatique (Réaction 21 et 22) où il agit comme Co-substrat de nombreuses enzymes détoxifiantes contre le stress oxydatif et forme du glutathion oxydé (GSSG) (**Masella et al., 2005**).

Outre la défense anti-oxydante, le glutathion est également capable de régénérer les anti-oxydants les plus importants, l'acide ascorbique et la vitamine E pour les ramener à leurs formes actives (**M. Valko et al., 2006**).

2.1.2. Acide urique

Il s'agit d'un déchet résultant du catabolisme des purines. Une seule enzyme, la xanthine oxydoréductase, est capable de le produire. Cet acide aux PH sanguins est sous forme anionique, urate (**Becker, 1993**). Grâce à sa concentration élevée dans le sang, ce dernier représente à lui seul 60 % de la capacité antioxydante totale du plasma (**Johnson et al., 2009**).

L'acide urique est un antioxydant hydrosoluble fonctionne en inhibant l'oxydation catalysée par le fer de l'acide ascorbique en formant des complexes avec le fer et en piégeant les ROS tels que l'acide hypochloreux et les radicaux hydroxyles (**Deaton & Marlin, 2003**).

2.1.3. Bilirubine

La bilirubine est un pigment biliaire, un produit terminal de dégradation de l'hème. Généralement elle est considérée comme un déchet liposoluble potentiellement cytotoxique qui doit être excrété (Stocker et al., 1987).

Concernant sa fonction antioxydante, ce composé est capable de piéger l'oxygène singulet et les radicaux peroxytes. Ainsi elle est le principal protecteur de l'albumine et des acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Neužil & Stocker, 1993).

2.2. Systèmes antioxydants exogènes

Cette partie présente les principaux antioxydants fournis par l'alimentation, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

2.2.1. Vitamines

- Vitamine E

Les tocophérols et les tocotriénols sont regroupés sous un terme générique, vitamine E (Figure 53) dont l' α -tocophérol (α -TocH) est la forme la plus bioactive.

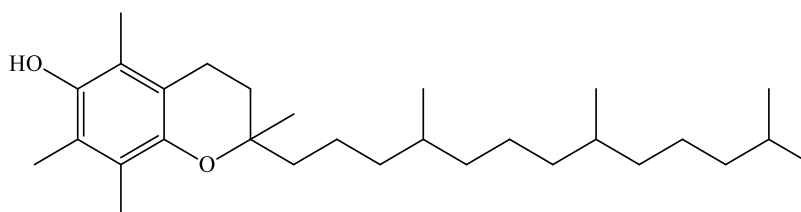
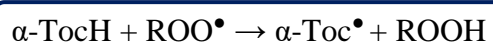


Figure 53 : Structure de la vitamine E.

Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant des membranes cellulaires, de nature liposoluble. Son principal effet est de réagir avec les radicaux peroxytes (Réaction 27) ce qui conduit à son oxydation en radical tocophéryle (α -Toc \bullet), empêchant ainsi la propagation des réactions des radicaux libres lors de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (Herrera & Barbas, 2001).



(Réaction 27)

La vitamine E agit également par au moins deux façons différentes, soit en captant directement les ROS, soit en régulant les enzymes anti-oxydantes telles que la GPx, la catalase du foie, la SOD et la NAD(P)H réductase (Vertuani et al., 2004).

De plus, il faut noter que la régénération de l' α -tocophérol s'effectue selon deux voies ; soit via la vitamine C qui est capable de réduire le radical tocophéryle (Figure 54) soit en mettant en jeu une enzyme spécifique, glutathion dépendante, la tocophéryl réductase, est capable de réduire le radical tocophéryle en α -tocophérol (Bouldjadj, 2009).

▪ Vitamine C

La vitamine C est notamment connue sous le nom d'acide ascorbique (Asc). Il s'agit d'une vitamine hydrosoluble, elle est le plus important anti-oxydant présent dans les compartiments hydrophiles. Cette vitamine agit principalement en piégeant directement les ROS, majoritairement le superoxyde et le peroxydant (Vertuani et al., 2004).

En outre, comme évoqué précédemment, elle est capable de recycler l' α -tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique (Sailaja Rao et al., 2011). Parallèlement, le glutathion à l'état réduit (GSH) est oxydé en glutathion oxydé (GSSG).

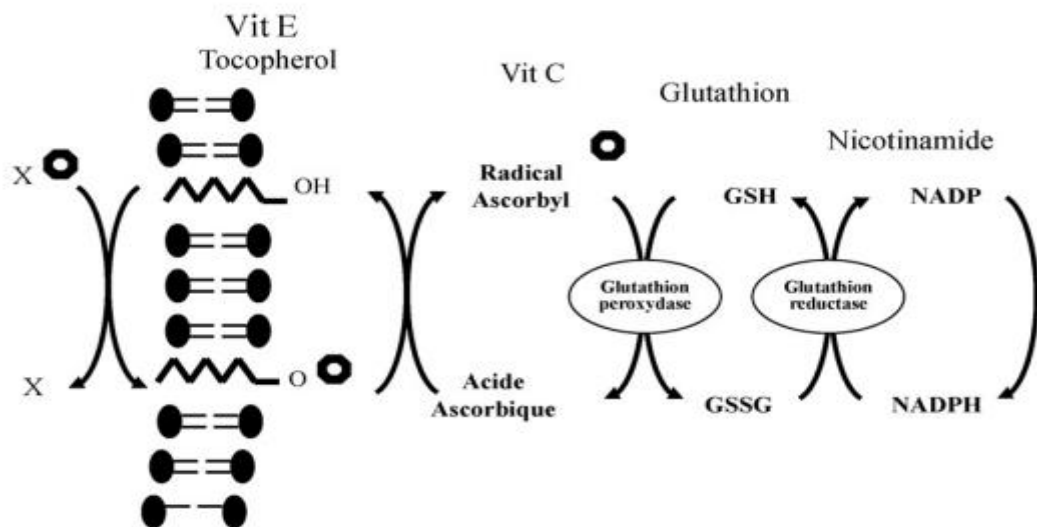


Figure 54 : Relation entre les vitamines E et C dans d'élimination des radicaux peroxydes (Leverve 2009).

2.2.2. Oligoéléments

les oligoéléments ou les nutriments anti-oxydants (sélénium, le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse, etc.), agissent comme des cofacteurs enzymatiques. Ces éléments n'ont aucune action anti-oxydante en soi mais ils sont requis pour l'activité de certaines enzymes anti-oxydante (glutathion peroxydase, thioredoxine réductase...) (**Higuchi, 2014**).

2.2.3. Caroténoïdes

C'est un large groupe de pigments naturels colorés jaunes à rouge issus des plantes, des algues, et différents microorganismes. Parmi les 600 caroténoïdes identifiés, seule une cinquantaine d'entre eux sont reconnus pour être des précurseurs de la vitamine A (des provitamines A) (**Richard, 2013**).

Ils sont majoritairement représentés par le β -carotène (Figure 46). Ce dernier est doué de plusieurs capacités : c'est le meilleur extincteur d'oxygène singulet 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 & Favier, 1997**).

2.2.4. Composés phénoliques

Les polyphénols sont un vaste groupe de molécules organiques hydrosolubles ayant au moins un cycle aromatique portant deux ou plusieurs fonctions OH. Les composés phénoliques, et entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins, sont des métabolites secondaires des plantes (*cf.* section I de chapitre 2) présentent une activité anti-oxydante importante (**Stevenson & Hurst, 2007**). En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, notamment H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$ et 1O_2 (**Vertuani et al., 2004**).

3. Antioxydants synthétiques

Le butylhydroxyanisole (BHA, monophénolique, blanc, solide), le butylhydroxytoluène (BHT, monophénolique, blanc, cristalline), les esters de l'acide gallique sont des anti-oxydants synthétiques liposolubles (**Akoh & Min, 2008**).

Le BHA et le BHT (Figure 55) sont les plus fréquemment utilisés, ils sont généralement considérés comme des additifs confiants pour les produits alimentaires (**Ito et al., 1983**).

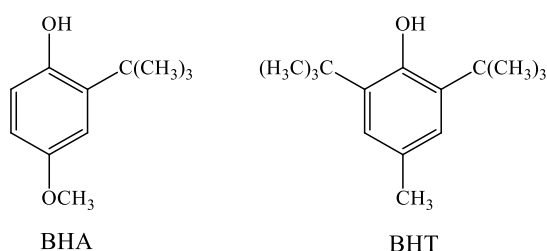


Figure 55 : Structure chimique du BHA et BHT (Freitas & Fatibello-Filho, 2010).

Le BHA est connu comme un co-antioxydant (CoAH) par la régénération d'autres anti-oxydants tels que le BHT et l'a-tocophérol (α -TOH). Le BHT a été modifié pour préparer une série de nouveaux anti-oxydants (Yehye et al., 2015).

Comme il montre la figure 56 et selon Black (Black, 2002) :

La réaction du BHT avec l' HO^\bullet consiste à ajouter un groupement OH qui est ensuite éliminé pour donner le radical phénoxy. Pour inhiber les réactions en chaîne radicalaires, le BHT réagit avec deux radicaux peroxydes (ROO^\bullet) et pour cela deux étapes sont impliquées : la première est réversible consiste à produire un complexe (radical peroxyde-BHT), la deuxième réaction est irréversible consiste à réduire le second radical peroxyde par le complexe via un transfert d'hydrogène. Concernant la dernière réaction le BHT réagit avec l'oxygène singulet pour former un complexe réversible.

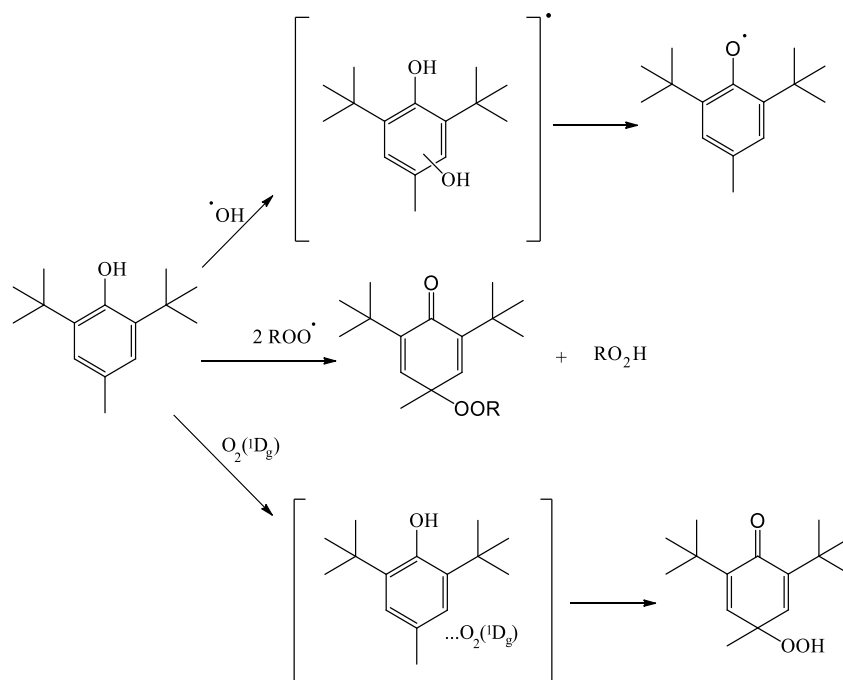


Figure 56 : Interactions du BHT avec des dérivés réactifs de l'oxygène.

III. Stress oxydant

1. Définition

Afin de maîtriser l'action des espèces réactive, l'organisme met en place un système de défense antioxydants. En situation normale la balance pro-oxydants/antioxydants (balance redox) est en équilibre (**H. Sies, 1991**). Pour des raisons propres ou étrangères au métabolisme, il peut toutefois arriver, que la production de ROS / RNS soit excessive et dépasse de loin la capacité antioxydante de la cellule (**Rahal et al., 2014**), créant ainsi un déséquilibre de la balance pro-oxydants/antioxydants en faveur des oxydants. Cette circonstance anormale de l'excès de ces radicaux qui favorise les lésions cellulaires et les dommages tissulaires est appelée le stress oxydant ou bien le stress oxydatif (**Betteridge, 2000**).

2. Conséquences du stress oxydant

2.1. Stress oxydant à l'échelle cellulaire

Étant donné que les radicaux libres sont hautement réactifs, ils ont été considérés comme des agents cytotoxiques en raison des dommages oxydatifs qu'ils peuvent provoquer à la cellule lorsqu'ils réagissent avec des classes importantes de molécules biologiques, y compris les acides nucléiques, les protéines, les lipides et les glucides.

➤ Oxydation de l'ADN

Les ROS entraînent la formation de 8-hydroxyguanine et 8-hydroxy-2-désoxyguanosine, provoquant une rupture de l'ADN. Des perturbations sur la multiplication, la transmission ou la réplication sont notées. L'accumulation des dommages moléculaires et cellulaires serait responsable du vieillissement. Sur le long terme, ces ruptures peuvent provoquer le développement d'un cancer (**Jadot, 1994; Pasquier, 1995**).

➤ Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par les ROS consiste à introduire un groupe carbonyle dans la protéine. Cette réaction est influencée par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , conduisant un casement des liaisons peptidiques, ce qui entraîne une modification de la

chaîne protéique et donc un changement structurelle des protéines dont les conséquences sont majeures : la perte de la fonction catalytique (protéine non fonctionnelle), l'inactivation des enzymes (alcool déshydrogénase, pyruvate kinase, ...), l'altération des récepteurs et des transporteurs, l'oxydation accrue des protéines provoque une diminution de la protéolyse cytosolique et plus particulièrement de l'activité des protéasomes (**Garait, 2006; Sergent et al., 2001**).

➤ **Peroxydation lipidique**

Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI, LH) sont très sensibles à l'oxydation par les ROS en raison de leur degré élevé d'insaturation. L'oxydation des lipides comportent trois phases : l'initiation, la propagation et la terminaison (Figure 57) afin de modifier la fluidité, et la perméabilité membranaire selon (**Durand et al., 2013**) :

- ✓ L'initiation : Les ERO arrachent un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène (-CH₂-) porté par un AGPI, et aboutit à la formation d'un radical alkyle (L•) ce dernier va induire des remaniements électroniques conduisant à la formation d'un radical diényl caractérisé par la présence de deux doubles liaisons conjuguées.
- ✓ La propagation : Le radical diényl se combine avec l'oxygène pour former un radical peroxyde (LOO•) (Réaction 9). Ce dernier est capable de réagir avec une molécule lipidique voisine entraînant la formation d'un hydroperoxyde (LOOH) (Réaction 10) et d'un nouveau radical alkyle (L•) qui assure la propagation de la réaction. La présence des métaux de transition permet aux LOOH de se décomposer spontanément, aboutissant à la formation de radicaux alkoxydes (LO•) (Réaction 11), peroxydes (LOO•) (Réaction 12) et aussi les aldéhydes.
- ✓ La terminaison : Après avoir atteint une vitesse maximale d'oxydation, le radical (L•) réagit avec un autre radical libre (LOO•) ou (L•) permettant la neutralisation des radicaux libres, aboutissant ainsi à la terminaison de la chaîne de lipoperoxydation.

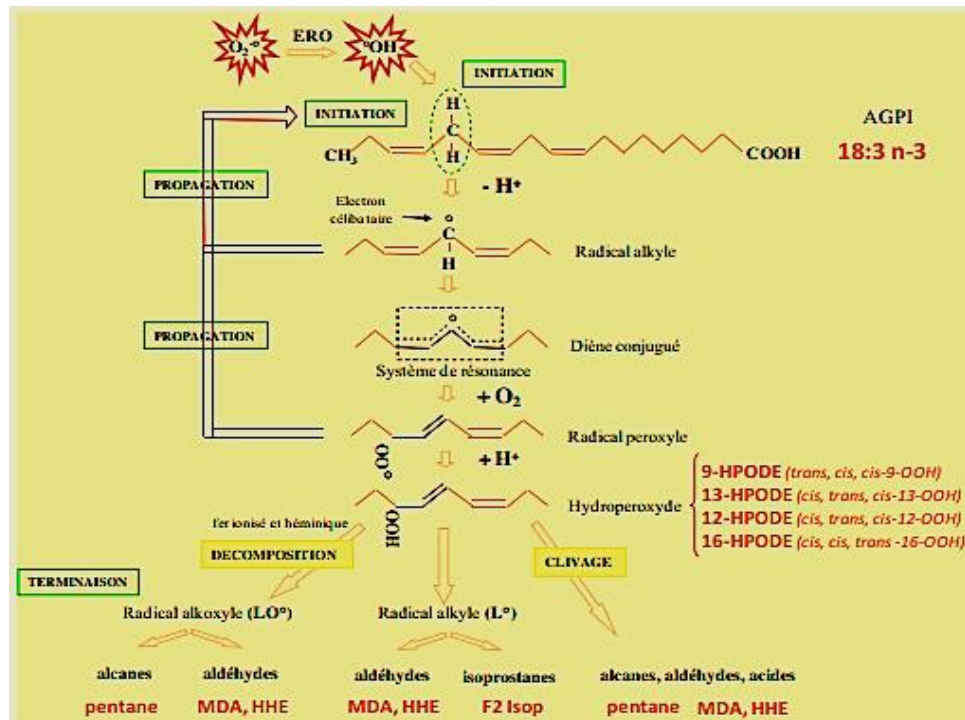


Figure 57 : Étapes intervenant dans la peroxydation des AGPI.

➤ Oxydation des glucides

Les radicaux libres ($\text{HO}^\bullet \dots$) sont capables de couper les molécules de sucres et de susciter ainsi des liaisons entre sucres et protéines provoquant des épaissements membranaires. Les radicaux libres de l'oxygène provoquent aussi une fragmentation des polymères de glucides (Pasquier, 1995).

2.2. Stress oxydant et pathologies

Maintes maladies humaines ont été liées au stress oxydant, ce dernier est pour certaines la ou l'une des causes, pour d'autres une des conséquences (Alain Favier, 2003). Il affecte particulièrement des organes ou systèmes spécialisés, comme le système nerveux, le système cardiovasculaire, le système pulmonaire, le foie et le rein (Palipoch & Koomhin, 2015).

Une série de troubles tels que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique sont les plus fréquents et la piste oxydante dans ces maladies neurodégénératives est évoquée depuis plusieurs années. La sclérose latérale amyotrophique

est l'exemple le plus démonstratif, puisque cette maladie génétique est due à un défaut sur le gène de l'enzyme antioxydante, la superoxyde dismutase (**Desport & Couratier, 2002**).

Les ROS sont impliquées aussi dans les maladies rhumatismales (**Afonso et al., 2007**) et dans un grand nombre de maladies cardiovasculaires et les mécanismes de causalité sont complexes, telles que l'athérosclérose, l'ischémie myocardique, l'insuffisance cardiaque et l'hypertension (**Marian Valko et al., 2007**).

Par ailleurs, le stress oxydant participe à des complications immunitaires ou vasculaires. C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, ou l'insuffisance rénale (**A. Favier, 2006**).

2.3. Stress oxydant et le phénomène de vieillissement

Le principe d'hormesis consiste à préparer les cellules face à un stress ultérieur, par la stimulation des mécanismes de réparation et de défenses cellulaires, par l'augmentation de l'expression de gènes codant pour les enzymes antioxydantes et les molécules de détoxification, afin de maintenir un niveau physiologique de stress oxydant. Le vieillissement ou bien la sénescence, dépendent non seulement de l'intensité et de la durée du stress, mais aussi de l'efficacité et de la rapidité des mécanismes de défense, de réparation et d'élimination (Figure 58) (**Thorin-Trescases et al., 2010**).

Cependant l'augmentation progressive du stress oxydant se traduit par l'hyperproduction mitochondriale d'espèces réactives de l'oxygène et une baisse des défenses anti-oxydantes, ce qui entraîne des dommages irréversibles et donc au vieillissement des cellules (la sénescence) et finalement à la mort cellulaire (**Roussel & Ferry, 2002**).

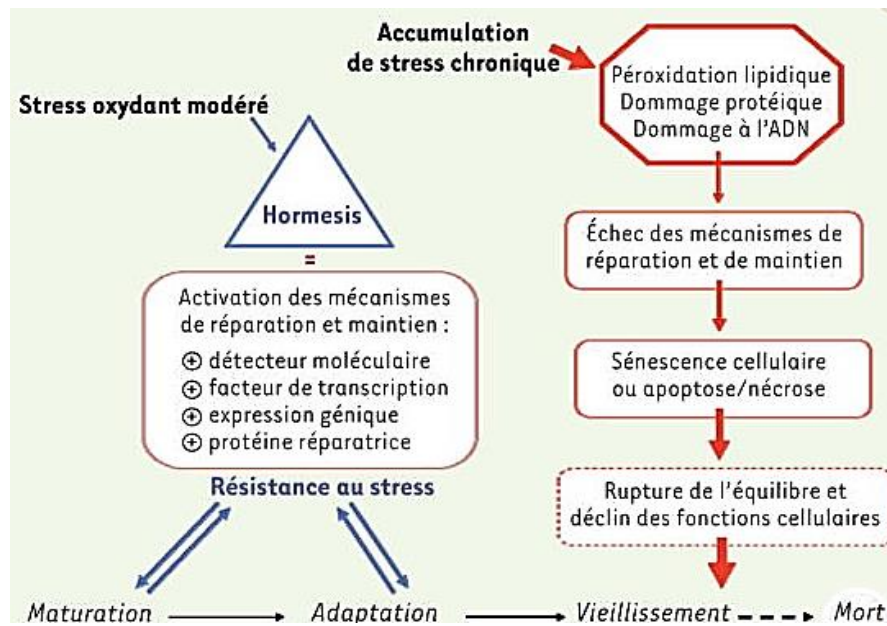


Figure 58 : Principe d'hormesis et les conséquences de stress chronique.

Les espèces réactives de l'oxygène sont des molécules hautement réactives produites au cours de processus cellulaires normaux impliquant l'oxygène.

Ces oxydants puissants ont le potentiel de créer des situations de stress oxydatif dans les cellules en réagissant avec les macromolécules et en causant des dommages tels que des mutations dans l'ADN, la destruction de la fonction et de la structure des protéines, et la peroxydation des lipides jusqu'à la mort de la cellule.

La nature a mis dans notre disposition des antidotes de ces intermédiaires réactifs nocifs, les anti-oxydants.

Les anti-oxydants comprennent : les enzymes anti-oxydantes, à savoir les superoxydes dismutases, les glutathion peroxydases, etc. Les anti-oxydants non enzymatiques comme les vitamines et les oligoéléments, ainsi les anti-oxydants synthétiques.

Ces systèmes de défense permettent de réguler la production des EOA ou de neutraliser les oxydants.

DEUXIEME PARTIE



Section expérimentale

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de biochimie (labo 02) au niveau du centre de recherche en biotechnologie (CRBt) - Constantine.

I. Matériels

1. Matériel végétal

Notre étude concerne des extraits de la plante *Erodium atlanticum*, récoltée, au mois d'avril 2018, dans la région de Boutaleb, une commune de la wilaya de Sétif en Algérie.

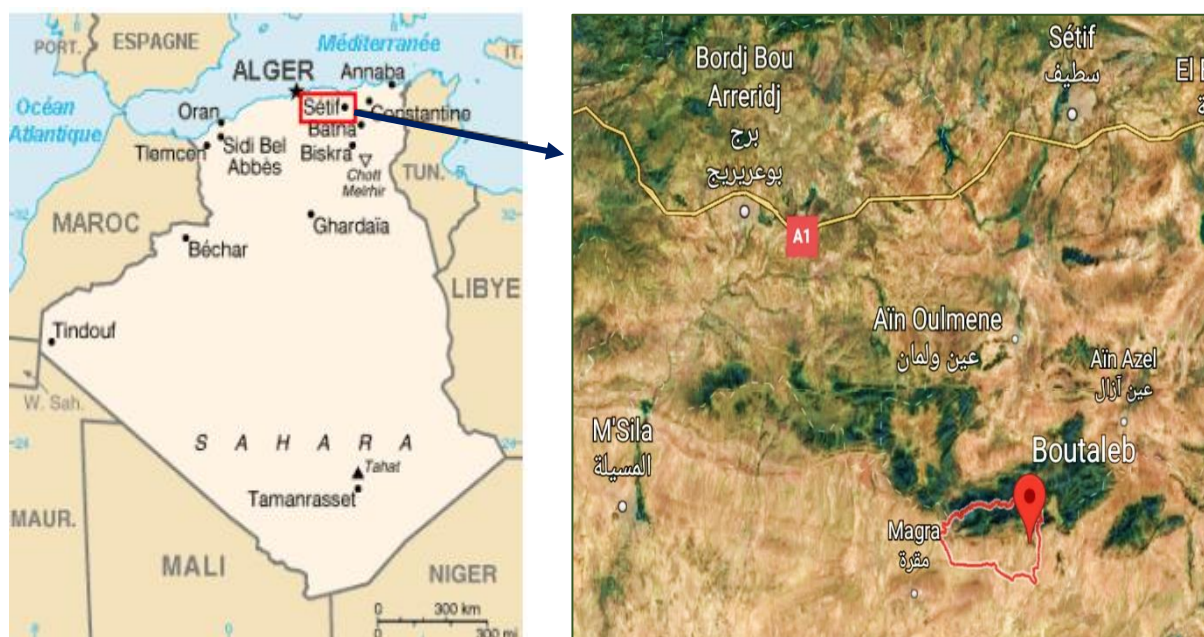


Figure 59 : Boutaleb, wilaya de Sétif (Google Earth. 2020).

L'identification taxonomique du matériel végétal a été confirmée par le Dr. Khellaf Rebbas au Département de Biologie, Université de M'sila, se basant sur la référence « Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales » (Quezel et Santa 1962). Un spécimen d'herbier a été archivé à l'Université de M'sila.

Les différents essais ont été effectués sur la partie aérienne de la plante (tiges, feuilles, fleurs). Celle-ci a été bien nettoyée avec de l'eau et débarrassée des impuretés, puis séchée à l'abri de la lumière du soleil, dans un endroit sec, aéré et à température ambiante. La plante sèche a été ensuite broyée mécaniquement. Une matière végétale de 72 g a été obtenue.

2. Appareils et produits chimiques

Les appareils et les produits chimiques utilisés dans ce travail dont l'objectif est l'évaluation des activités antioxydantes de l'extrait de l'*Erodium atlanticum* sont reportés dans l'annexe.

II. Méthodes

1. Préparation des extraits d'*Erodium atlanticum*

L'extraction solide - liquide et l'extraction liquide-liquide sont les procédures utilisées afin d'aboutir aux extraits organiques, pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante :

1.1. Extraction solide-liquide (macération)

La matière végétale a séjourné pendant 72 heures, à température ambiante, dans un mélange (méthanol /eau ; 70 / 30 ; V/V), dans le but d'extraire le maximum de composés bioactifs.

Après macération, un mélange hétérogène (le macérât) a été obtenu. Ce dernier a été filtré sur du coton dans un entonnoir, afin de récupérer le filtrat. Ce dernier a été ensuite entreposé dans un ballon à fond rond et placé dans un évaporateur rotatif, réglé à 45°C (Figure 60), dans le but :

- ✓ D'éliminer le solvant (eau/ méthanol) sous pression.
- ✓ De concentrer la solution à sec → extrait brut concentré.

Cette étape a été répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'extrait méthanoïque obtenu a été pesé, puis servi à la préparation de différents extraits organiques.

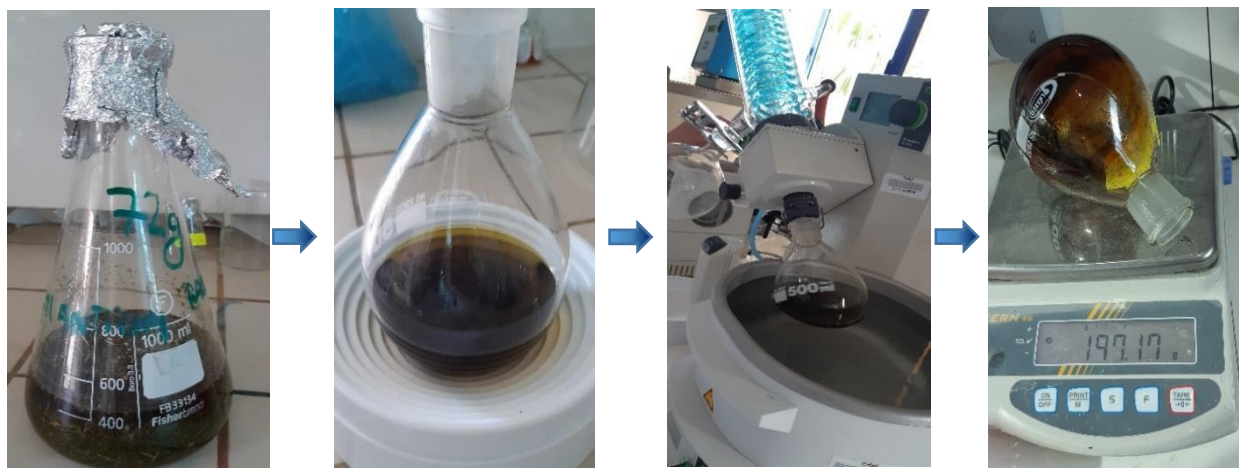


Figure 60 : Procédé de concentration de filtrat méthanoïque.

1.2. Extraction liquide-liquide

Cette étape se base sur un principe permettant le transfert d'un soluté, initialement dissout dans une phase liquide vers une autre phase liquide non-miscible avec la première.

Plusieurs extracteurs ont été utilisés avec densité décroissante : le chloroforme (CHCl_3), l'éthyle acétate (EtOAc) et le n-butanol (n-BuOH). Ces trois solvants organiques ont été mis en contact avec la phase aqueuse. Pour ce, une ampoule à décanter a été utilisée. Les deux phases séparées ont été récupérées.

✓ Préparation de la phase aqueuse

100 ml d'eau distillée a été ajoutée à l'extrait brut. Après 24 heures de repos, l'ensemble a été rigoureusement agité à l'aide d'un agitateur magnétique, puis filtré pour la récupération de la phase aqueuse (Figure 61).



Figure 61 : Phase aqueuse.

✓ **Extrait chloroformique**

La phase aqueuse et 100 ml de CHCl_3 (le solvant d'extraction) ont été introduits dans une ampoule. Après avoir été bien fermée, celle-ci a subi une agitation énergique (sept à dix fois) avec dégazage régulier afin de libérer l'excès de pression. Le bouchon a été ensuite enlevé et l'émulsion laissée au repos pour décantation et séparation du mélange (atteindre l'équilibre de partage).

Les deux phases ont été ensuite récupérées séparément : la phase aqueuse se situe dans la partie supérieure de l'ampoule, et la phase organique (chloroformique), de densité plus haute, se situe dans la partie inférieure (Figure 62).

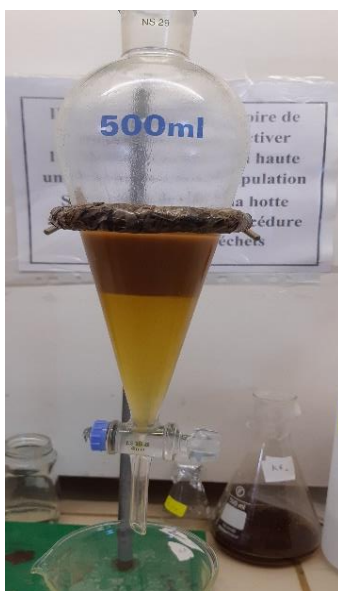


Figure 62 : Extraction par le chloroforme.

L'extraction de la phase aqueuse, avec une nouvelle fraction de phase organique, ainsi que les opérations de décantation, ont été répétées trois fois, en ajoutant 100 ml de solvant à chaque fois.

Après décantation, les phases chloroformiques ont été réunies et concentrée par un rot à vapeur, à 45°C .

✓ **Extrait d'acétate d'éthyle**

Une quantité de 100 ml d'EtOAc, un solvant de polarité supérieur à celle du solvant précédent, a été introduite dans une ampoule, ajoutée à la phase aqueuse résultante de la préparation précédente. L'ampoule a été bien agitée, le mélange laissé décanter.

Après que les deux couches ont été nettement définies (Figure 63), les deux phases ont été récupérées séparément. La phase aqueuse a été récupérée en premier lieu, car elle présente une densité plus haute que celle de l'éthyle d'acétate.



Figure 63 : Extraction par l'acétate d'éthyle.

La procédure a été répétée trois fois (3×100 ml). Les phases organiques ont été réunies pour séchage à 45°C .

✓ **Extrait n-butanolique**

Cette fois-ci, la phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase d'acétate d'éthyle.

La manipulation a été effectuée selon le même protocole précédent (la phase aqueuse + 50 ml de n-butanol). Comme les deux solvants ne sont miscibles, ils vont donc se séparer (Figure 64).

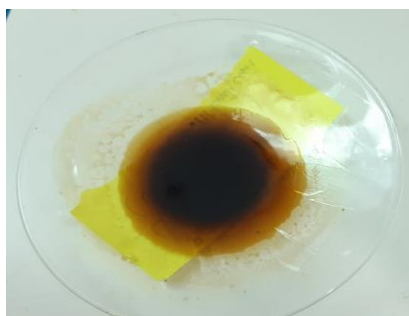


Figure 64 : Extraction par le n-butanol.

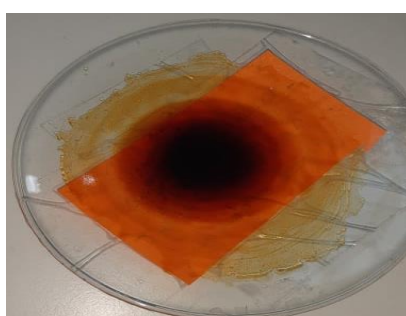
L'opération a été répétée trois fois, en ajoutant 50 ml de solvant pour une bonne extraction. Une fois l'extraction terminée, les deux solvants ont été récupérés. La phase organique a été concentrée également au rot à vapeur, réglé à 63°C.

- Une fois l'extraction terminée, toutes les phases organiques ont été récupérées avec quelques gouttes de méthanol et mis dans un verre de montre. Les extraits obtenus ont été rassemblés pour séchage à l'air libre (Figure 65), pesés pour déterminer le rendement, ensuite conservés, à température ambiante, jusqu'aux différentes utilisations.

Extrait chloroformique



Extrait acétate d'éthyle



Extrait butanolique

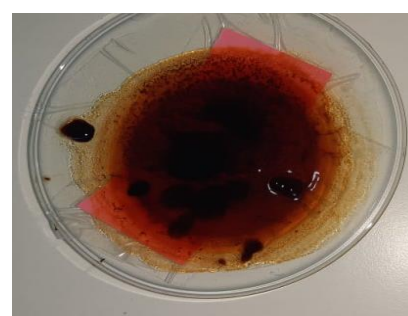


Figure 65 : Différents extraits de *Erodium atlanticum*.

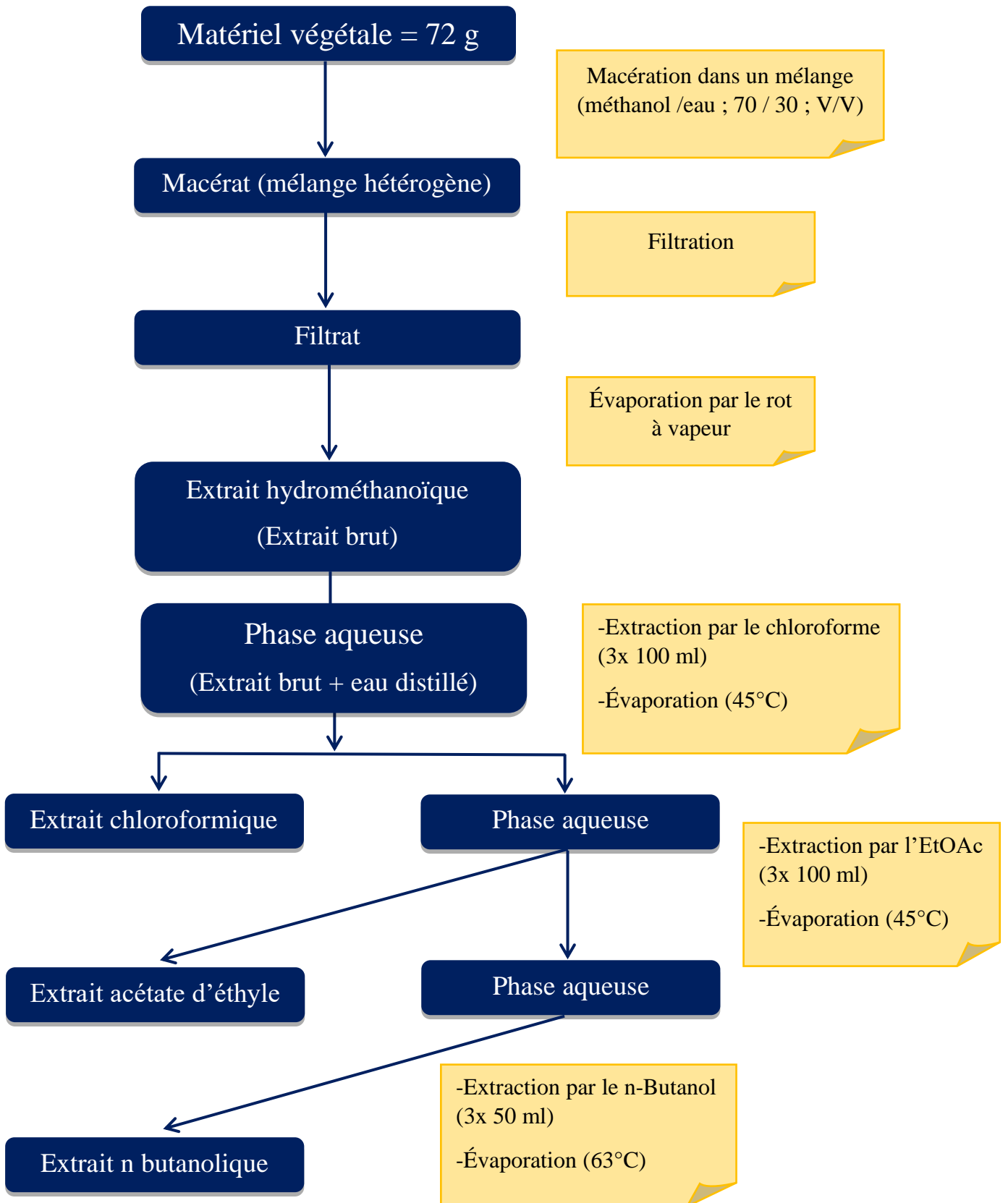


Figure 66 : Opérations d'extractions d'*Erodium atlanticum*.

2. Tests d'activités antioxydantes

Ce deuxième volet est consacré à l'étude de l'activité anti-oxydante, in vitro, de différents extraits d'*Erodium atlanticum*, en utilisant le piégeage de radicaux DPPH, la décoloration des radicaux cationiques ABTS, CUPRAC, FRAP, le test de chélation des ions métalliques et les tests de blanchiment β -carotène.

En raison de l'épidémie de coronavirus, qui se propage dans le monde, cette partie n'a pas été mise en œuvre dans la pratique, mais une brève explication du principe de certains tests est fournie, afin de poursuivre le thème principal de ce mémoire.

Avant d'entamer les tests, les échantillons doivent être préparés : une quantité de 1 ml de méthanol est ajoutée à 4 mg de l'extrait chloroformique, acétate d'éthyle et n butanolique, pour dissolution.

2.1. Activité antiradicalaire au DPPH

A. Principe du test

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable qui donne une coloration violette foncée de la solution, caractérisée par une bande d'absorption de 515 nm - 517 nm. C'est un dosage antioxydant basé sur le transfert d'électrons. la forme réduite (DPPH-H) est obtenue lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène (AH) (Figure 67) avec la décoloration de la solution (le DPPH, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle) (Molyneux, 2004).

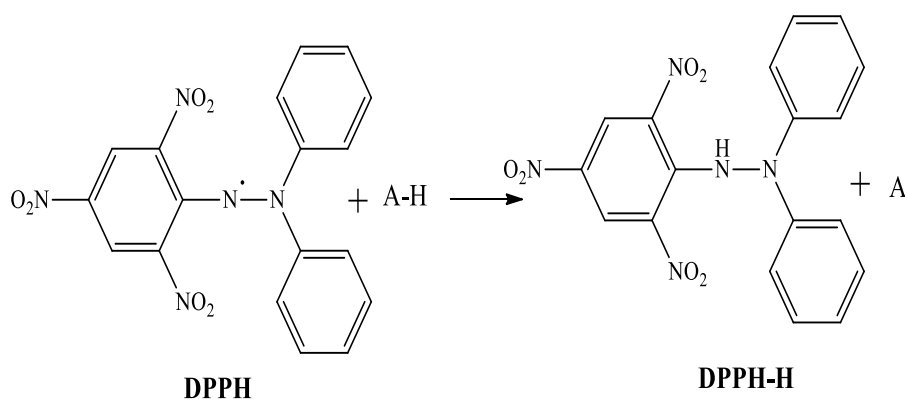


Figure 67 : Réduction de DPPH par un antioxydant.

Plus la substance est anti-oxydante, plus la coloration violette initiale va disparaître.



La coloration initiale



La coloration finale.

Figure 68 : Coloration du DPPH avant et après l'addition d'un antioxydant.

B. Mode opératoire

Le DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour évaluer directement et rapidement l'activité anti-oxydante, en raison de sa stabilité en forme radicale libre, ainsi que la simplicité de l'analyse. Le protocole expérimental observé pour l'étude de l'activité du piégeage du radical libre DPPH est celui décrit par SANCHEZ Moreno et al (**Sánchez Moreno et al., 1998**) :

La solution DPPH est préparé en mélangeant la poudre DPPH avec du méthanol ou de l'éthanol. Le mélange est ensuite laissé au repos, à l'abri de la lumière.

L'extrait, à différentes concentrations, est entreposé avec la solution aqueuse de DPPH, sur une microplaque multi puits. La microplaque est ensuite incubée à l'obscurité, à température ambiante. La réduction du radical libre DPPH, par un antioxydant, peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, à 517 nm.

C. Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon l'équation suivante (**Khoudali et al., 2014**) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A(\text{contrôle}) - A(\text{extrait})}{A(\text{contrôle})} \times 100$$

- A (contrôle) est l'absorbance de la réaction sans extrait.
- A (extrait) est l'absorbance de la réaction après avoir ajouté l'extrait.

2.2. Cupric ion reducing antioxidant capacity « CUPRAC »

A. Principe du test

Cette méthode est basée sur la mesure de l'absorbance du chélate de Cu (I) - néocuproïne (Nc), formé suite à la réaction redox d'antioxydants (AO) avec le réactif oxydant CUPRAC, Cu (II) -Nc (Figure 69). L'absorbance est mesurée à 450 nm, utilisant un spectromètre UV- Visible. il s'agit d'une méthode basée sur le transfert d'électrons (**Özyürek et al., 2011**).

Les groupes (Ar=OH) des antioxydants sont oxydés en quinone (Ar=O) et le Cu (II) - Nc est réduit par les antioxydants en Cu (Nc)₂⁺, de couleur jaune-orangé, selon la réaction suivante (**Apak et al., 2007**) :

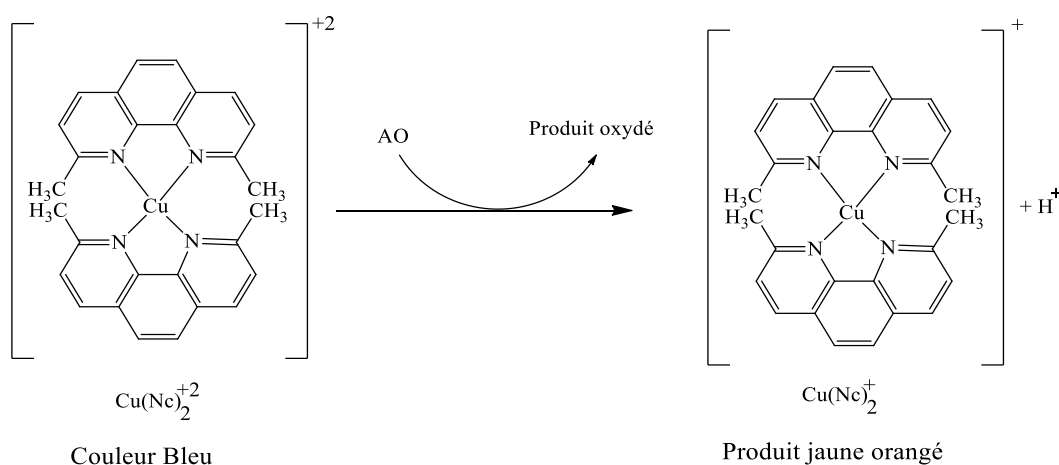


Figure 69 : Réduction de Cu(Nc)₂²⁺ en Cu(Nc)₂⁺ par un antioxydant.

B. Mode opérateur

Selon le protocole décrit par d'APAK et al (**Apak et al., 2004**). La solution anti-oxydante est mélangée avec une solution de chlorure de cuivre (II), une solution alcoolique de néocuproïne et un tampon aqueux d'acétate d'ammonium, à ph 7. L'absorbance est mesurée à 450 nm.

Une solution de chlorure de cuivre (II) (CuCl₂) est préparée en ajoutant le (CuCl₂,2H₂O) au H₂O. Ce mélange est dilué avec de l'eau.

Un tampon d'acétate d'ammonium (NH₄Ac) à pH 7,0 est préparé en dissolvant le NH₄Ac dans l'eau et en le diluant.

Une solution de néocuproïne (Nc) est préparée en dissolvant le NC dans l'éthanol (EtOH).

L'extrait testé et ses concentrations, ainsi que le tampon d'acétate d'ammonium, et un volume de néocuproïne, sont déposés dans chaque puits de la microplaque. Une solution aqueuse de chlorure de cuivre (II) est ajoutée par la suite. La microplaque est ensuite mise à l'abri de la lumière pendant un certain temps. La lecture peut être suivie à 450 nm.

2.3. Activité de blanchissement du β -carotène

A. Principe du test

L'évaluation de l'activité anti-oxydante par le test de blanchissement du β -carotène, repose sur la mesure d'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène, par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Kartal et al., 2007).

B. Mode opérateur

Selon la méthode décrite par MILLER (Miller, 1971) :

Le β -carotène est dissout dans du chloroforme. La solution obtenue est introduite dans un ballon contenant l'acide linoléique et le Tween 80 (ou bien Tween 40).

Après évaporation du chloroforme, de l'eau saturée en oxygène (H₂O₂) est ajoutée, avec agitation vigoureuse.

La solution précédente est introduite dans des tubes spectrométriques contenant différentes concentrations d'extrait. La lecture se fait à 470 nm.

2.4. Activité antiradicalaire par piégeage de l'ABTS

A. Principe du test

Dans ce test, l'activité anti-oxydante est déduite de la capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}. Ce dernier est un radical cationique obtenu par oxydation de l'ABTS (acide 2,2'-

azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) incolore, avec du persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) (Figure 70) donnant lieu à une solution colorée en vert-bleue. L'addition d'un composé anti-oxydant engendre la réduction du radical $ABTS^{\bullet+}$ en $ABTS^+$, entraînant une décoloration et une diminution de l'absorption à 734 nm (Re et al., 1999).

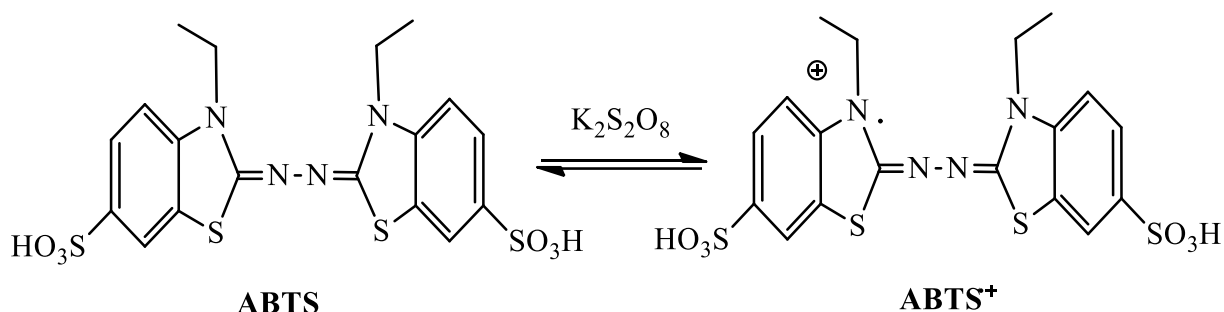


Figure 70 : Formation du radical cation $ABTS^{\bullet+}$ à partir de l'ABTS (Sarr et al., 2015).

B. Protocole

Le procédé suivi pour la mesure l'activité anti-oxydante par le test ABTS, est celui décrit par (Re et al., 1999). Ceci est réalisé en faisant réagir la solution aqueuse d'ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium (2,45 mM), afin de générer le cation radicalaire $ABTS^{\bullet+}$, en laissant le mélange au repos dans l'obscurité, à température ambiante, pendant 12 à 16 h avant usage. La solution obtenue est par la suite diluée de l'éthanol, de l'eau ou du méthanol, afin d'obtenir une absorbance de l'ordre de $0,7 \pm 0,020$ à 734 nm.

L'activité anti-oxydante est mesurée en additionnant la solution d'extrait testé, à différentes concentrations, à la solution d' $ABTS^{\bullet+}$. 10 minutes plus tard, la lecture de l'absorbance est faite, à l'aide d'une lecture de microplaque à 734nm.

2.5. Test de pouvoir réducteur (FRAP)

A. Principe du test

Le FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power) est un essai simple dont le principe consiste à évaluer l'aptitude des antioxydants à réduire le fer ferrique Fe^{3+} , présent dans le complexe ferricyanide, en fer ferreux Fe^{2+} , suite à transfert d'électrons. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu (bleu de Prusse) dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002).

B. Protocole

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode décrite par **(Oyaizu, 1986)**. L'extrait à différentes concentrations est mélangé avec un tampon phosphate et une solution de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$]. Après incubation de l'ensemble au bain-marie à 50 °C pendant 20 à 30 minutes, un volume d'acide trichloracétique (TCA) est ajouté pour stopper la réaction **(Bougandoura & Bendimerad, 2013)**.

Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un aliquote de surnageant est obtenu. Ce dernier est combiné avec de l'eau distillée et d'une solution aqueuse de $FeCl_3$. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée **(Bougandoura & Bendimerad, 2013)**.

2.6. Test de chélation des ions métalliques

A. Principe du test

Les ions ferreux et les ions cuivriques sont des métaux de transition essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques, notamment lors de la production des radicaux libres via la réaction de fenton **(Sorg, 2004)**. Par la chélation de ces métaux, les polyphénols (flavonoïdes) contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres **(Heim et al., 2002)**.

B. Protocole

L'activité chélatrice des extraits est mesurée comme suit : le mélange réactionnel, contenant l'échantillon à différentes concentrations, du chlorure ferreux ($FeCl_2$) et de la ferrozine, est agité et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. Après incubation, l'absorbance du mélange est mesurée à 562 nm contre un blanc. L'EDTA est utilisé comme contrôle positif **(Su et al., 2008)**.

3. Expressions des résultats

BHA, α -tocophérol, BHT, acide ascorbique et acide tannique sont utilisés comme des antioxydants standards pour la comparaison de l'activité. Les résultats sont donnés en concentration d'inhibition de 50% (CI₅₀) (**Bensouici et al., 2020**).

La valeur CI₅₀ est définie comme la concentration de l'extrait testé qui inhibe 50 % du radical. Cette valeur est calculée graphiquement par la modélisation du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de différentes concentrations d'extraits testés (**Bouyahya et al., 2018**).

Les pourcentages d'inhibition sont déterminés grâce à la formule suivante :

$$I\% = [(A (\text{contrôle}) - A (\text{extrait})/A (\text{contrôle})] \times 100$$

A (contrôle) : Absorbance du contrôle.

A (extrait) : Absorbance de la réaction après avoir ajouté l'extrait.

La CI₅₀ est obtenue en utilisant des logiciels tels que : Graph Pad Prism, Sigma-plot, etc.

La valeur CI₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité anti-oxydante d'un composé. Plus la valeur de CI₅₀ est petite, plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant (**Ghedadba et al., 2015**).

TROISIEME PARTIE



Résultats et discussion

I. Rendement d'extraction

Dans la première partie de cette étude, l'extraction de la plante *Erodium atlanticum* a été réalisée par macération dans un mélange (méthanol /eau ; 70 / 30 ; V/V). Trois solvants de polarité croissante ont été utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir d'*Erodium atlanticum*, à savoir le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n butanol. L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Les extraits obtenus après l'évaporation sont pesés pour déterminer le rendement (Tableau 7).

Le rendement d'une extraction « R » est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait et celle de la plante sèche. Le pourcentage de rendement pour chaque extrait est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

Où :

R (%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

Remarque : Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

Tableau 7 : Poids et rendement de chaque extrait.

Matière végétale	Extrait	Poids de l'extrait (g)	Rendement (%)
72 g	Brut	15.18	21.083
	Chloroformique	0.72	1
	Acétate d'éthyle	0.45	0.625
	Butanolique	1.28	1.777

En observant les rendements d'extraction résumés dans le tableau ci-dessus, on constate une valeur comprise entre 0.625-1.777 %. Aussi, le meilleur rendement d'extraction est celui l'extrait butanolique (une moyenne de 1.777 %), alors que l'extrait d'acétate d'éthyle présente le plus faible rendement (0.625 % en moyenne).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie. Le rendement n'est que relatif. Ces valeur varient en fonction du végétal étudié (la composition de l'échantillon) et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, y compris la nature et les caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés, la température, le pH, le temps d'extraction (**Vuong et al., 2013**).

Conclusion générale



Les travaux de ce mémoire avaient pour objectifs :

- ✓ De faire un dosage pour connaître le contenu de notre échantillon en polyphénols et en flavonoïdes.
- ✓ D'évaluer l'activité anti-oxydante de l'*Erodium atlanticum* par les méthodes citées dans la partie pratique, afin d'obtenir des résultats qui nous permettront de déduire l'extrait le plus puissant c'est-à-dire l'extrait qui a une activité anti-oxydante la plus élevée.

Malheureusement nous n'avons pas eu la chance d'atteindre ces objectifs à cause de l'épidémie de coronavirus qu'était un obstacle et pour cette raison, les travaux détaillés dans ce manuscrit se sont focalisés sur une riche étude bibliographique.

Dans un premier temps un aperçu a été présenté sur une plante algérienne du genre *Erodium*, appartenant à la famille des Geraniaceae, qui sont des plantes subcosmopolites. Elle comporte environ 800 espèces réparties en 5 à 11 genres selon les classifications. Les mieux connus sont *Erodium*, *Geranium* et *Perlargonium*. Les espèces du genre *Erodium* sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour les activités antiallergiques, anti-inflammatoires, antitumorales et anti-oxydantes.

Le deuxième point, sur lequel on s'est intéressé, est la présence des métabolites secondaires dans les plantes qui suscitent un intérêt accru ces dernières années, du fait de leurs effets biologiques multiples, telle leur propriété anti-oxydante. Sur ce, les plantes médicinales ont prouvé leur importance pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, les Geraniaceae font partie de ces plantes.

La dernière section concerne les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN), radicalaires ou non radicalaires, qui sont produites en permanence par les cellules. La production de ces radicaux libres est assurée par différents systèmes enzymatiques, dont les plus importants semblent être les NAD(P)H oxydases, les NO synthases et la chaîne respiratoire mitochondriale. L'équilibre entre la production de ces espèces réactives et leur neutralisation est lié à la présence de nombreux systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

Il est souhaitable de poursuivre et de compléter notre étude. Si nous obtenons de bons résultats, il serait intéressant d'approfondir également cette étude par :

- ✓ Utilisation d'autres méthodes d'extraction avec d'autres solvants organiques.
- ✓ Une étude de l'activité anti-oxydante se basant sur d'autres méthodes (GOR, ORAC, etc.).
- ✓ Isolement des molécules responsables de l'activité anti-oxydante observée, en utilisant des techniques chromatographiques.
- ✓ Etude in vivo de l'effet d'*Erodium atlanticum* sur le stress oxydatif en mesurant l'activité des enzymes antioxydantes.
- ✓ Recherche d'autres activités biologiques : antimicrobienne, antidiabétique, anti inflammatoire, etc.

Références bibliographiques



-A-

Abdelkebir, Radhia, Cristina Alcántara, Irene Falcó, Gloria Sánchez, Jose V. Garcia-Perez, Mohamed Neffati, José M. Lorenzo, Francisco J. Barba, et María Carmen Collado. 2019. « Effect of Ultrasound Technology Combined with Binary Mixtures of Ethanol and Water on Antibacterial and Antiviral Activities of Erodium Glaucophyllum Extracts ». *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 52 (mars): 189-96.

Abraham, Yael, et Rivka Elbaum. 2013. « Hygroscopic Movements in Geraniaceae: The Structural Variations That Are Responsible for Coiling or Bending ». *The New Phytologist* 199 (2): 584-94.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : Rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7), 636-643.

Aikens, J., & Dix, T. A. (1991). Peroxy radical (HOO.) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *Journal of Biological Chemistry*, 266(23), 15091-15098.

Akoh, C. C., & Min, D. B. (2008). *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Third Edition. CRC Press.

Akroum, S. (2011). *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels*.

Alarcón, María Luisa, Cristina Roquet, et Juan José Aldasoro. 2011. « Evolution of pollen/ovule ratios and breeding system in Erodium (Geraniaceae) ». *Systematic Botany* 36 (3): 661–676.

Alsayari, A., Muhsinah, A. B., Hassan, M. Z., Ahsan, M. J., Alshehri, J. A., & Begum, N. (2019). Aurone: A biologically attractive scaffold as anticancer agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 166, 417-431.

Amelot, N. (2010). Couplage entre signalisation calcique et modulation du transcriptome en réponse à la cryptogéine chez des cellules de tabac. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., & Özyurt, D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 12(7), 1496-1547.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.

Ayad, R. (2008). Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce: *Zygophyllum cornutum* (Zygophyllaceae). *Mém. Magister, Univ. Constantine*, 124.

-B-

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali.

Barba, Francisco J., Cristina Alcántara, Radhia Abdelkebir, Christine Bäuerl, Gaspar Pérez-Martínez, Jose M. Lorenzo, María Carmen Collado, et Jose V. García-Pérez. 2020. « Ultrasonically-Assisted and Conventional Extraction from *Erodium Glaucophyllum* Roots Using Ethanol:Water Mixtures: Phenolic Characterization, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities ». *Molecules* 25 (7): 1759.

Becker, B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(6), 615-631.

Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique

Benelli, Giovanni, et Heinz Mehlhorn. 2018. *Mosquito-Borne Diseases: Implications for Public Health*. Springer.

Bensouici, C., Boudiar, T., Kashi, I., Bouhedjar, K., Boumechhour, A., Khatabi, L., & Larguet, H. (2020). Chemical characterization, antioxidant, anticholinesterase and alpha-glucosidase potentials of essential oil of *Rosmarinus tournefortii* de noé. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 632–639.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism - Clinical and Experimental*, 49(2), 3-8.

Bidie, A. P., N'Guessan, B. B., Yapo, A. F., N'Guessan, J. D., & Djaman, A. J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1-2), 1–12.

Bisson, J. (2012). *Développements méthodologiques en chromatographie de partage : Application aux stilbénoides* [These de doctorat, Bordeaux 2].

Black, H. (2002). Pro-oxidant and anti-oxidant mechanism(s) of BHT and beta-carotene in photocarcinogenesis. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 7, d1044-55.

Bohlmann, J., & Keeling, C. I. (2008). Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, 54(4), 656-669.

Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudoux, J.-L., Théron, P., Legrand, A., & Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 260-267.

Boucherle, B., Peuchmaur, M., Boumendjel, A., & Haudecoeur, R. (2017). Occurrences, biosynthesis and properties of auronones as high-end evolutionary products. *Phytochemistry*, 142, 92-111.

Bougandoura, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calaminthassnepta* (nabta) et *Ajugaiva L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technology*, 9, 14.

Bouldjadj, R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine [PhD Thesis]. Thèse de magister.

Boutefnouchet, S., Champy, P., Girard, C., Grovel, O., Hennebelle, T., Poupon, E., & Seguin, E. (2020). *Pharmacognosie : Obtention et propriétés des substances actives médicamenteuses d'origine naturelle.* Elsevier Health Sciences.

Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touys, A., Lagrouh, F., Dakka, N., & Bakri, Y. (2018). Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. *Phytothérapie*, 16(S1), S220-S224.

Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids : A review. *Asian Journal of Botany*, 1(1), 1–6.

Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2019). Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants & Redox Signaling*.

Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1830(5), 3289-3303.

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e ed.). Lavoisier.

Buetler, T. M., Krauskopf, A., & Rugg, U. T. (2004). Role of Superoxide as a Signaling Molecule. *Physiology*, 19(3), 120-123.

Burk, R. F., & Hill, K. E. (2010). 4.13—Glutathione Peroxidases. In C. A. McQueen (Éd.), *Comprehensive Toxicology* (Second Edition) (p. 229-242).

-C-

Cadenas, E., & Davies, K. J. A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3-4), 222-230.

Cao, D., Liu, Z., Verwilt, P., Koo, S., Jangjili, P., Kim, J. S., & Lin, W. (2019). Coumarin-Based Small-Molecule Fluorescent Chemosensors. *Chemical Reviews*, 119(18), 10403-10519.

Cao, Y., Himmeldirk, K. B., Qian, Y., Ren, Y., Malki, A., & Chen, X. (2014). Biological and biomedical functions of Penta-O-galloyl-d-glucose and its derivatives. *Journal of Natural Medicines*, 68(3), 465-472.

Causse, C. (2004). Les secrets de santé des antioxydants : Plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen Editions s.a.m.

Césarini, J.-P. (2004). Le sélénium : Actualités. John Libbey Eurotext.

Chabory, E. (2009). Caractérisation fonctionnelle de la glutathione peroxydase 5 murine. 379.

Chabrier, J.-Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie [Other, UHP - Université Henri Poincaré].

Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin, 49(3), 481-493.

CHELGHOU, F. (2015). Extraction de la catéchine à partir du thé vert et étude de son activité antioxydante [PhD Thesis].

CHENNI, M. (2010). Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : Bryonia dioica Jacq. [PhD Thesis]. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.

Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissède, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. Phytothérapie, 6(2), 75-82.

Chung, Y.-C., Chang, C.-T., Chao, W.-W., Lin, C.-F., & Chou, S.-T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(8), 2454-2458.

Cillard, J., & Pierre, cillard. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations | OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids. 13(1), 24-29.

Claude, L. (2010). Les lipides dans le monde vivant. Lavoisier.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews, 12(4), 564-582.

Crépel, F., & Lemaire, G. (1995). Le monoxyde d'azote.

Curin, Y., & Andriantsitohaina, R. (2005). Polyphenols as potential therapeutical agents against cardiovascular diseases. Pharmacological reports, 57, 97.

-D-

D'Andrea, G. (2015). Quercetin : A flavonol with multifaceted therapeutic applications? Fitoterapia, 106, 256-271.

De Billerbeck, V.-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 5(5), 249-253.

De Padua, L. S., Bunyapraphatsara, N., & Lemmens, R. (1999). Plant resources of South-East Asia. (Vol. 12). Backhuys Publ.

de Haan, J. B., Bladier, C., Griffiths, P., Kelner, M., O'Shea, R. D., Cheung, N. S., Bronson, R. T., Silvestro, M. J., Wild, S., Zheng, S. S., Beart, P. M., Hertzog, P. J., & Kola, I. (1998). Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(35), 22528-22536.

Deaton, C. M., & Marlin, D. J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3), 278-291.

Delmas, D., Lancon, A., Colin, D., Jannin, B., & Latruffe, N. (2006). Resveratrol as a Chemopreventive Agent : A Promising Molecule for Fighting Cancer. *Current Drug Targets*, 7(4), 423-442.

Démarchez, M. (2012, juin 16). Le stress oxydant cutané.

Descamps, E. (2006). Modulation pharmacologique du stress oxydatif—Pharmacological control of oxidative stress. 20, 12.

Desport, J.-C., & Couratier, P. (2002). Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 253-259.

Devappa, R. K., Makkar, H. P., & Becker, K. (2011). Jatropha diterpenes : A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(3), 301–322.

Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016, juillet 12). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions [Review Article]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; Hindawi.

Doat, J. (1978). Les tanins dans les bois tropicaux. *BOIS & FORETS DES TROPIQUES*, 182(182), 37–54.

Dridi, D. (2015). Synthèse de dérivés coumariniques d'intérêts biologiques et antioxydants [PhD Thesis]. Université de Lorraine.

Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : Principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.

-E-

Egan, D., O'Kennedy, R., Moran, E., Cox, D., Prosser, E., & Thornes, R. D. (1990). The Pharmacology, Metabolism, Analysis, and Applications of Coumarin and Coumarin-Related Compounds. *Drug Metabolism Reviews*, 22(5), 503-529.

-F-

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390-396.

Favier, Alain. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, 11/12, 108–117.

Ferradini, C. (1986). Espèces activées radicalaires de l'oxygène. *Biochimie*, 68(6), 779-785.

Filaire, E., & Toumi, H. (2012). Rôle des dérivés réactifs de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux : Amis ou ennemis ? *Revue du Rhumatisme*, 79(5), 387-392.

Fiz, Omar, Pablo Vargas, María Luisa Alarcón, et Juan José Aldasoro. 2006. « Phylogenetic Relationships and Evolution in *Erodium* (Geraniaceae) Based on TrnL-TrnF Sequences ». *Systematic Botany* 31 (4) : 739-63.

Fiz, Omar, Pablo Vargas, Marisa Alarcón, Carlos Aedo, José Luis García, et Juan José Aldasoro. 2008. « Phylogeny and Historical Biogeography of Geraniaceae in Relation to Climate Changes and Pollination Ecology ». *Systematic Botany* 33 (2) : 326-42.

Fiz-Palacios, Omar, Pablo Vargas, Roger Vila, Alexander ST Papadopulos, et Juan José Aldasoro. 2010. « The uneven phylogeny and biogeography of *Erodium* (Geraniaceae): radiations in the Mediterranean and recent recurrent intercontinental colonization ». *Annals of botany* 106 (6) : 871–884.

Fontaine, E. (2007). Radicaux libres. In N. Cano, D. Barnoud, S. M. Schneider, M.-P. Vasson, M. Hasselmann, & X. Leverage (Éds.), *Traité de nutrition artificielle de l'adulte* (p. 251-257).

Freitas, K. H. G., & Fatibello-Filho, O. (2010). Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with Cu₃(PO₄)₂ immobilized in polyester resin. *Talanta*, 81(3), 1102-1108.

Frochot, M. C., Bonneau, M. S., Ogilby, M. P., Courtade, M. E., Douay, M. M., de Conférences, M., & de Lorraine, U. (2019). Mort cellulaire initiée par l'oxygène singulet : Mise en évidence d'effet à longue portée. 208.

-G-

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin [phdthesis, université joseph-fourier - grenoble i].

Gardès-Albert, M. (2006). [Physico-chemical aspects of reactive oxygen species]. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 365-372.

Gardès-Albert, Monique, Bonnefont-Rousselot, D., & Abedinzadeh, Z. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. 6.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118–129.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169.

Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120.

GRAIT, S. (2015). Etude du pouvoir antioxydant d'une plante médicinale (*Urginea maritima* L) [PhD Thesis].

Groussard, C. (2006). Stress oxydatif et exercice anaérobie. *Science & Sports*, 21(2), 62-67.

Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 14(6), 509-516 (1).

Guimarães, A. G., Quintans, J. S., & Quintans-Júnior, L. J. (2013). Monoterpenes with analgesic activity—A systematic review. *Phytotherapy research*, 27(1), 1–15.

Guittonneau, G. G. 1972. « Étude biosystématique du genre *Erodium* L'Hér ». *Boissiera* 20: 1–154.

Guittonneau, G, et J Mathez. 1968. « UNE ESPECE MECONNUE DU HAUT ATLAS MAROCAIN : *ERODIUM COSSONII* sp. nov. » 1968.

-H-

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.

Halliwell, B. (1994). Free Radicals and Antioxidants : A Personal View. *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.

Harman, D., & D, P. (1956). Aging : A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 298–300.

Haudecoeur, R. (2011). Pharmacochimie des auronnes pour la modulation d'enzymes [Phdthesis, Université de Grenoble ; Université de Genève. Faculté des sciences].

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants : Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572–584.

Herrera, E., & Barbas, C. (2001). Vitamin E: Action, metabolism and perspectives. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 57(1), 43-56.

Hesse, M. (2002). *Alkaloids : Nature's Curse Or Blessing?* John Wiley & Sons.

Higuchi, M. (2014). Chapter 15—Antioxidant Properties of Wheat Bran against Oxidative Stress. In R. R. Watson, V. R. Preedy, & S. Zibadi (Éds.), *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health* (p. 181-199).

Hinderer, W., & Seitz, H. U. (1988). Flavonoids. In *Phytochemicals in Plant Cell Cultures* (p. 23-48).

Holton, T. A., Brugliera, F., & Tanaka, Y. (1993). Cloning and expression of flavonol synthase from *Petunia hybrida*. *The Plant Journal*, 4(6), 1003-1010.

Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.

Hrycay, E. G., & Bandiera, S. M. (2015). Chapter Two—Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. In J. P. Hardwick (Éd.), *Advances in Pharmacology* (Vol. 74, p. 35-84).

Huet, R. (1991). *Les huiles essentielles d'agrumes*. Fruits.

-I-

Ito, N., Fukushima, S., Haqlwara, A., Shibata, M., & Ogiso, T. (1983). Carcinogenicity of Butylated Hydroxyanisole in F344 Rats. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 70(2), 343-352.

-J-

Jadot, G. (1994). *Antioxydants et vieillissement*. John Libbey Eurotext.

Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e ed.)

Jean-Marie, G., & Anne-Marie, O. (2013). *Le préparateur en pharmacie—Guide théorique et pratique* (2e ed.)

Jeiter, Julius, Theodor C. H. Cole, et Hartmut H. Hilger. 2017. « Geraniales Phylogeny Poster (GPP) ». e3127v1. PeerJ Inc.

Jeiter, Julius, Hartmut H. Hilger, Erik F. Smets, et Maximilian Weigend. 2017. « The relationship between nectaries and floral architecture: a case study in Geraniaceae and Hypseocharitaceae ». *Annals of botany* 120 (5): 791–803.

Johnson, R. J., Sautin, Y. Y., Oliver, W. J., Roncal, C., Mu, W., Gabriela Sanchez-Lozada, L., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., & Benner, S. A. (2009). Lessons from comparative physiology : Could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *Journal of Comparative Physiology B*, 179(1), 67-76.

-K-

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food chemistry*, 100(2), 584–589.

Kataev, E., Khaybullin, R. N., Sharipova, R. R., & Strobykina, I. Y. (2011). Ent-kaurane diterpenoids and glycosides : Isolation, properties, and chemical transformations. *Review journal of chemistry*, 1(2), 93.

Katiyar, S. K., Afaq, F., & Mukhtar, H. (2001). Effects of solar radiation on detoxification mechanisms in the skin. In *Comprehensive Series in Photosciences* (Vol. 3, p. 419-436).

Kechar, K., & Hellal, B. (2017). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth. Du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(4), 217–221.

Khalil, M. I., Alam, N., Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2011). Phenolic Acid Composition and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys. *Journal of Food Science*, 76(6), C921-C928.

Khoudali, S., Essaqui, A., Zertoubi, M., Azzi, M., & Benaissa, M. (2014). Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves (*chamaerops humilis* L.) from morocco.

Klebanoff, S. J. (2005). Myeloperoxidase : Friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77(5), 598-625.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 165-177.

Kokwaro, John O. 1971. « THE FAMILY « GERANIACEAE » IN NORTH-EAST TROPICAL AFRICA ». *Webbia* 25 (2): 623-69.

Kovács, A., Vasas, A., & Hohmann, J. (2008). Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry*, 69(5), 1084-1110.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées [PhD Thesis]. *Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS*.

Kruidenier, L., & Verspaget, H. W. (2002). Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease—Radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16(12), 1997-2015.

-L-

Lacolley, patrick, Babuty, D., Boulanger, chantal, & Ghaleh, bijan. (2008). *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*. John Libbey Eurotext.

Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., & Fillastre, J. P. (2004). Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52(6), 314-322.

Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., & Carde, J. P. (1994). BIOGÉNÈSE DES MONOTERPÈNES (II-La chaîne isoprénique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133, 79–99.

Lamblin, F., Hano, C., Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M.-A., & Lainé, É. (2008). Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. *médecine/sciences*, 24(5), 511-520.

Lefort, É. C., & Blay, J. (2013). Apigenin and its impact on gastrointestinal cancers. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(1), 126-144.

Lei, X. G. (2001). Glutathione peroxidase-1 gene knockout on body antioxidant defense in mice. *BioFactors*, 14(1-4), 93-99.

Lei, X. G., Cheng, W.-H., & McClung, J. P. (2007). Metabolic Regulation and Function of Glutathione Peroxidase-1. *Annual Review of Nutrition*, 27(1), 41-61.

Leverve, X. (2009) ‘Stress oxydant et antioxydants?’, *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), pp. 219–224.

Li, C., Miao, X., Li, F., Wang, S., Liu, Q., Wang, Y., & Sun, J. (2017). Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1-15.

Li, J., O, W., Li, W., Jiang, Z.-G., & Ghanbari, H. A. (2013). Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(12), 24438-24475.

Li, S., Pan, J., Hu, X., Zhang, Y., Gong, D., & Zhang, G. (2020). Kaempferol inhibits the activity of pancreatic lipase and its synergistic effect with orlistat. *Journal of Functional Foods*, 72, 104041.

Lim, G. P., Chu, T., Yang, F., Beech, W., Frautschy, S. A., & Cole, G. M. (2001). The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative Damage and Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse. *Journal of Neuroscience*, 21(21), 8370-8377.

Liochev, S. I. (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology & Medicine*, 60, 1-4.

Lis-Balchin, Maria. 2002. *Geranium and Pelargonium: History of Nomenclature, Usage and Cultivation*. CRC Press.

Logan, A. S., Nienaber, U., & Pan, X. (Shawn). (2015). Lipid Oxidation : Challenges in Food Systems.

Loomis, W. D., & Croteau, R. (1980). Biochemistry of terpenoids. In *Lipids : Structure and function* (p. 363–418).

Losa, G. A. (2003). Resveratrol modulates apoptosis and oxidation in human blood mononuclear cells. *European Journal of Clinical Investigation*, 33(9), 818-823.

Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease : From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(7), 1957-1997.

-M-

Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

Malecky, M. (2008). Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins [PhD Thesis]. Paris, AgroParisTech.

MALIK, M. G. (2009). Vers la Synthèse Totale d'Ellagitannins C-arylglicosidiques Une Approche Biomimétique Visant la Vescaline [PhD Thesis, Université Bordeaux 1].

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols : Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.

Marín-García, J. (2014). Chapter 14 - Oxidative Stress and Cell Death in Cardiovascular Disease : A Post-Genomic Appraisal. In J. Marín-García (Éd.), *Post-Genomic Cardiology (Second Edition)* (p. 471-498).

Martens, S., & Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, 66(20), 2399-2407.

Martin, S. (2001). La phytothérapie et les troubles digestifs [Other, UHP - Université Henri Poincaré].

Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems : Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577-586.

Massion, P., Preiser, J.-C., & Balligand, J.-L. (2002). Les espèces réactives de l'azote : Bénéfiques ou délétères ? *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 248-252.

McGarvey, D. J., & Croteau, R. (1995). Terpenoid metabolism. *The Plant Cell*, 7(7), 1015-1026.

Menvielle-bourg, F. J. (2005). Original article Superoxide Dismutase (SOD), a Powerful Antioxidant, is now available Orally.

Merghem, R. (2009). *Eléments de biochimie végétale*. Edition Bahaeddine, 107–133.

Messner, K. R., & Imlay, J. A. (1999). The Identification of Primary Sites of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation in the Aerobic Respiratory Chain and Sulfite Reductase Complex of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 274(15), 10119-10128.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Miller, H. E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48(2), 91–91.

Mingshu, L., Kai, Y., Qiang, H., & Dongying, J. (2006). Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. *Journal of Basic Microbiology*, 46(1), 68-84.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. sci. technol*, 26(2), 211–219.

Monteiro, G., Horta, B. B., Pimenta, D. C., Augusto, O., & Netto, L. E. S. (2007). Reduction of 1-Cys peroxiredoxins by ascorbate changes the thiol-specific antioxidant paradigm, revealing another function of vitamin C. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(12), 4886-4891.

Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en Chimie organique. Ecole doctorale SESAMES Université Paul Verlaine-Metz, 294.

Munekata, Paulo E.S., Cristina Alcántara, María Carmen Collado, Jose V. Garcia-Perez, Jorge A. Saraiva, Rita P. Lopes, Francisco J. Barba, et al. 2019. « Ethnopharmacology, Phytochemistry and Biological Activity of Erodium Species: A Review ». *Food Research International* 126 (décembre): 108659..

-N-

Naumann, H. D., Tedeschi, L. O., Zeller, W. E., Huntley, N. F., Naumann, H. D., Tedeschi, L. O., Zeller, W. E., & Huntley, N. F. (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production : Advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(12), 929-949.

Neužil, J., & Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*, 331(3), 281-284.

Nies, D. H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(6), 730-750.

Nishinaka, Y., Masutani, H., Nakamura, H., & Yodoi, J. (2001). Regulatory roles of thioredoxin in oxidative stress-induced cellular responses. *Redox Report*, 6(5), 289-295.

Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de doctorat Spécialité: Sciences des Aliments, Université d'avignon et des pays de vaucluse, 13–16.

Nordberg, J., & Arnér, E. S. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system1. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.

-O-

Okuda, Takuo, Kazuko Mori, et Tsutomu Hatano. 1980. «The Distribution of Geraniin and Mallotusinic Acid in the Order Geraniales ». *Phytochemistry* 19 (4): 547-51.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307–315.

Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Celik, S. E., Baki, S., Yıldız, L., Karaman, Ş., & Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical methods*, 3(11), 2439–2453.

-P-

Paduch, R., Kandefér-Szerszeń, M., Trytek, M., & Fiedurek, J. (2007). Terpenes : Substances useful in human healthcare. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 55(5), 315.

Palipoch, S., & Koomhin, P. (2015). Oxidative Stress-Associated Pathology: A Review. *Sains Malaysiana*, 44(10), 1441-1451.

Panasenko, O. M., Gorudko, I. V., & Sokolov, A. V. (2013). Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems. *Biochemistry. Biokhimiia*, 78(13), 1466-1489.

Parsonage, D., Youngblood, D. S., Sarma, G. N., Wood, Z. A., Karplus, P. A., & Poole, L. B. (2005). Analysis of the Link between Enzymatic Activity and Oligomeric State in AhpC, a Bacterial Peroxiredoxin[†]. *Biochemistry*, 44(31), 10583-10592.

Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des Laboratoires*, 1995(276), 87-92.

Perveen, Anjum, et Mohammad Qaiser. 1999. «Pollen Flora of Pakistan -XV Geraniaceae ». *TURKISH JOURNAL OF BOTANY* 23 (4): 263-70.

Pincemail, J. (2001). Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Mise au point*, 7.

Pincemail, Joël, Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 233-239.

Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress : Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243-1276.

Price, Robert A., et Jeffrey D. Palmer. 1993. « Phylogenetic Relationships of the Geraniaceae and Geraniales from rbcL Sequence Comparisons ». *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80 (3): 661.

-R-

Radák, Z. (2000). Free Radicals in Exercise and Aging. *Human Kinetics*.

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants : The Interplay. *BioMed Research International*, 2014.

Raut, N. A., Dhore, P. W., Saoji, S. D., & Kokare, D. M. (2016). Chapter 9—Selected Bioactive Natural Products for Diabetes Mellitus. In Atta-ur-Rahman (Éd.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 48, p. 287-322).

Raven, P. H., Singer, S. R., Johnson, G. B., Mason, K. A., & Losos, J. B. (2017). *Biologie*. De Boeck Supérieur.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231–1237.

Reimund, J.-M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 275-284.

Rhee, S. G., Chae, H. Z., & Kim, K. (2005). Peroxiredoxins : A historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(12), 1543-1552.

Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J.-C., Krisa, S., & Mérillon, J.-M. (2014). Stilbènes : De la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173-180.

Richard, W. (2013). Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : Application aux capteurs à antioxydants [PhD Thesis]. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

RIOTTE, B. (2015). *Mon guide Huiles essentielles*.

Rira, M. (2019). Les tanins hydrolysables et condensés : Une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical [Phdthesis, Université Clermont Auvergne].

Roberts, M. F. (2013). *Alkaloids : Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*. Springer Science & Business Media.

Roussel, A.-M., & Ferry, M. (2002). Stress oxydant et vieillissement. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 285-291.

Roy, A. S., & Ghosh, P. (2016). Characterization of the binding of flavanone hesperetin with chicken egg lysozyme using spectroscopic techniques : Effect of pH on the binding. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 84(1-2), 21–34.

-S-

Sahli, R. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques [Phdthesis, Université du Droit et de la Santé - Lille II].

Sailaja Rao, P., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011). Free Radicals and Tissue Damage : Role of Antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 2-7.

Sainvitu, P., Nott, K., Richard, G., Blecker, C., Jérôme, C., Wathelet, J.-P., Paquot, M., & Deleu, M. (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol, a review. *BASE*.

Sánchez Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.

Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263–1269.

Scandalios, J. G. (1993). Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. *Plant Physiology*, 101(1), 7-12.

Seelinger, G., Merfort, I., & Schempp, C. M. (2008). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta medica*, 74(14), 1667–1677.

Sereme, A., Milogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., & Nacro, M. (2011). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 15.

Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, 49(9), 689-695.

Sertejn, D., Grulke, S., Franck, T., Mouithys-Mickalad, A., & Deby-Dupont, G. (2002). La myéloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de défense aux capacités oxydantes. 15.

Sertejn, D., Mouithys-Mickalad, A., Franck, T., Grulke, S., Lamy, M., Deby, C., & Deby-Dupont, G. (2002). La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Annales de médecine vétérinaire*, 146(3), 137–153.

Sharawy, Sherif M. 2008. Chromosomal Criteria and Taxonomic Relationships in the Egyptian *Erodium L'Hér.*(Geraniaceae). *Taeckholmia*.

Sies, H. (1991). Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klinische Wochenschrift*, 69(21-23), 965-968.

Sies, Helmut. (2014). Role of Metabolic H₂O₂ Generation: REDOX SIGNALING AND OXIDATIVE STRESS. *Journal of Biological Chemistry*, 289(13), 8735-8741.

Smeitink, J. A. M. (2004). *Oxidative Phosphorylation in Health and Disease*. Springer Science & Business Media.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus Biologies*, 327(7), 649-662.

Sroka, Zbigniew, Halina Rządowska Bodalska, et Irena Mażol. 1994. « Antioxidative Effect of Extracts from *Erodium Cicutarium* L. » *Zeitschrift Für Naturforschung C* 49 (11-12): 881-84.

Stevenson, D. E., & Hurst, R. D. (2007). Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22), 2900-2916.

Stief, T. W. (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Medical Hypotheses*, 60(4), 567-572.

Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A., Glazer, A., & Ames, B. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235(4792), 1043-1046.

Stoclet, J.-C., & Schini-Kerth, V. (2011). Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 69(2), 78-90.

Su, M.-S., Shyu, Y.-T., & Chien, P.-J. (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. *Food Chemistry*, 111(4), 892–896.

Svensson, L., Sekwati-Monang, B., Lutz, D. L., Schieber, A., & Gänzle, M. G. (2010). Phenolic Acids and Flavonoids in Nonfermented and Fermented Red Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 9214-9220.

-T-

Tanguy, M., & Begué-Simon, A.-M. (2009). Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine*, 5(6), 256-260.

Terao, J., Piskula, M., & Yao, Q. (1994). Protective Effect of Epicatechin, Epicatechin Gallate, and Quercetin on Lipid Peroxidation in Phospholipid Bilayers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 308(1), 278-284.

Thannickal, V. J., & Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-L1028.

Therond, P. (2006). Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 383-389.

Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M.-È., & Thorin, É. (2010). Âge et stress oxydant : Vers un déséquilibre irréversible de l'homéostasie endothéliale. *Medecine sciences : M/S*, 26(10), 875-880.

Topal, F., Nar, M., Gocer, H., Kalin, P., Kocyigit, U. M., Gülçin, İ., & Alwasel, S. H. (2016). Antioxidant activity of taxifolin : An activity–structure relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(4), 674-683.

-V-

Valavanidis, A., Vlachogianni, T., & Fiotakis, K. (2009). Tobacco Smoke : Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effects with Other Respirable Particles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(2), 445-462.

Valavanidis, A., & Vlachogianni, T. (2013). Chapter 8 - Plant Polyphenols : Recent Advances in Epidemiological Research and Other Studies on Cancer Prevention. In Atta-ur-Rahman (Éd.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 39, p. 269-295).

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.

Valko, Marian, Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.

Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., & Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *P HARMACOLOGIE*, 18, 8.

Venter, H. J. T., et R. L. Verhoeven. 1990. « The Genus *Erodium* in Southern Africa ». *South African Journal of Botany* 56 (1): 79-92.

Vergne, S. (2007). Les isoflavones de soja : Leur biodisponibilité chez l'Homme et leurs effets sur la différenciation d'une lignée ostéoblastique humaine [PhD Thesis]. Bordeaux 1.

Verhoeven, R.L., et H.J.T. Venter. 1992. « Pollen Morphology of *Geranium* (Geraniaceae) in Southern Africa ». *South African Journal of Botany* 58 (6): 440-47.

Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network : An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 10(14), 1677-1694.

Vuong, Q. V., Hirun, S., Roach, P. D., Bowyer, M. C., Phillips, P. A., & Scarlett, C. J. (2013). Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of herbal medicine*, 3(3), 104–111.

-W-

Wang, H., & Murphy, P. A. (2002, mai 1). Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods (world). American Chemical Society.

Wang, Z., Guhling, O., Yao, R., Li, F., Yeats, T. H., Rose, J. K., & Jetter, R. (2011). Two oxidosqualene cyclases responsible for biosynthesis of tomato fruit cuticular triterpenoids. *Plant Physiology*, 155(1), 540–552.

-Y-

Yehye, W. A., Rahman, N. A., Ariffin, A., Abd Hamid, S. B., Alhadi, A. A., Kadir, F. A., & Yaeghoobi, M. (2015). Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT) : A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 101, 295-312.

Yoon, C.-H., Chung, S.-J., Lee, S.-W., Park, Y.-B., Lee, S.-K., & Park, M.-C. (2013). L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. *Revue du Rhumatisme*, 80(3), 271-278.

-Z-

Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., & Miao, Z. (2017). Chalcone : A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*, 117(12), 7762-7810.

Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis : Metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735–769.

Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*, 9(3), 167-179.

Sites web consultés

Erodium atlanticum. <http://www.erodium.co.uk/page28.html>.

Erodium—*Wikiwand*. <https://www.wikiwand.com/fr/Erodium>.

Geraniaceae.auJardin.info. <https://www.aujardin.info/plantes/famille-geraniaceae.php>.

Fiche plante : Érodium. (s. d.). Ooreka.fr. à l'adresse <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/41/erodium>.

Annexe



Matériel et réactifs

➤ Appareils utilisés



Évaporateur rotatif de marque BUCHI



Balance de précision



Agitateur magnétique



Ampoule à décanter

Éprouvette



Eppendorf

Entonnoir

Bécher

Spatule



Microplaque

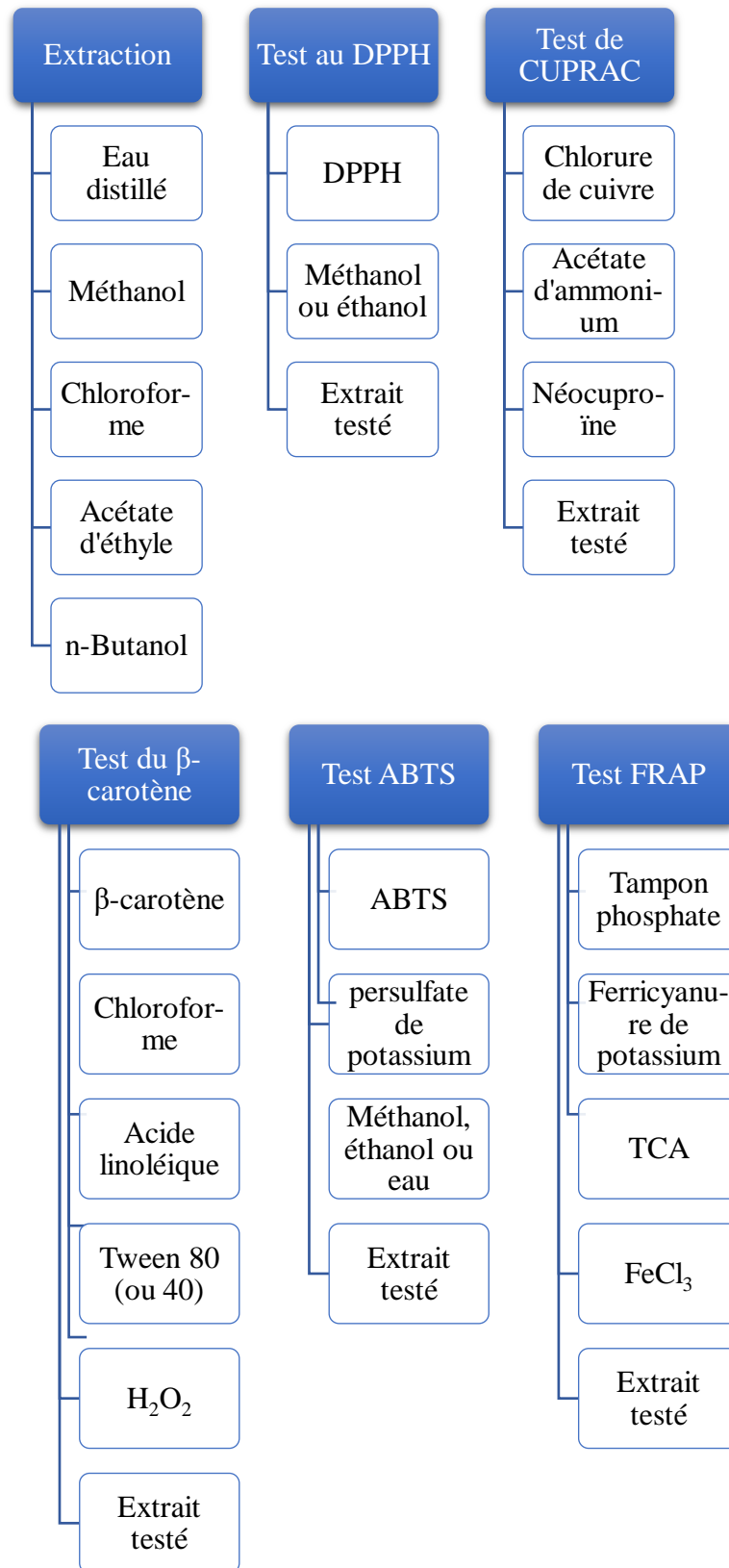


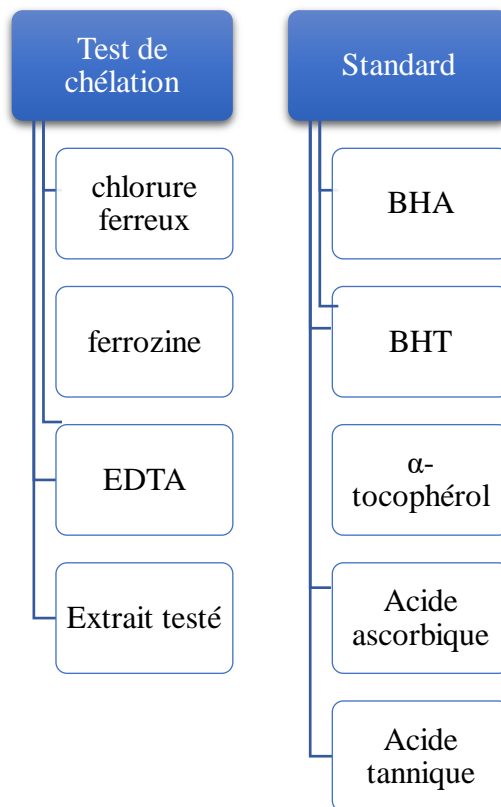
Spectrophotomètre UV-Visible



Lecteur de microplaque

➤ Produits chimiques et réactifs utilisés





Résumé

De nos jours, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé une place incontestée dans la pratique, du fait de l'efficacité de ces dernières, dans diverses procédures thérapeutiques. Plusieurs métabolites secondaires, issues de plantes, se révèlent être des ressources aux vertus anti-oxydantes. Ils ont une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant, en transférant l'hydrogène, en chélatant les ions métalliques et en réduisant l'oxygène.

L'*Erodium atlanticum* est une plante médicinale de la famille des Geraniaceae, la moins fréquemment employée et étudiée bibliographiquement, en région méditerranéenne. De ce fait, le choix de cette espèce a retenu notre attention, afin d'augmenter les chances de connaître leurs effets biologiques.

Notre étude a pour objectif l'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait, chloroformique, n-butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle, de la partie aérienne, d'*Erodium atlanticum*. Nous avons l'intention de mesurer le pouvoir anti-radicalaire de cette plante en utilisant différentes méthodes (le piégeage du radical DPPH, le test CUPRAC, le test du pouvoir réducteur FRAP, le piégeage du radical-cation ABTS^{•+}, le blanchissement du bêta carotène et la chélation des ions métalliques), malheureusement, nous n'avons pas pu le faire en raison de la situation actuelle du covid-19. Par manque de ces tests on n'a pas abouti à des résultats concrets surtout en l'absence des indices indiquant l'extrait le plus puissant.

Mots clés : *Erodium atlanticum*, stress oxydant, pouvoir antioxydant, métabolites secondaires.

Abstract

Nowadays, despite the development of synthetic chemistry, the use of medicinal plants has retained an undisputed place in practice, due to their effectiveness in various therapeutic procedures. Several secondary metabolites isolated from plants are shown to be resources with antioxidant properties and have the ability to prevent the toxic effects of oxidative stress by transferring hydrogen, chelating metal ions and reducing oxygen.

Erodium atlanticum a medicinal plant of the Geraniaceae family, the least frequently used and studied bibliographically in the Mediterranean region. Therefore, the choice of this species caught our attention, in order to increase the chances of knowing their biological effects.

Our study aims to evaluate the antioxidant activity of the extract, chloroform, n-butanol and ethyl acetate from the aerial part of *Erodium atlanticum*. We intended to measure the anti-radical potency of this plant using different methods (DPPH radical scavenging activity, CUPRAC test, FRAP assay, ABTS^{•+} radical scavenging, beta-carotene bleaching and metal ion chelation). Unfortunately, we couldn't do it due to the current covid-19 situation. Because of the absence of these tests, no concrete results were obtained, especially in the absence of clues indicating the most powerful extract.

Keywords: *Erodium atlanticum*, oxidative stress, antioxidant power, secondary metabolites.

ملخص

في الوقت الحاضر، على الرغم من تطور الكيمياء التركيبية، احتفظ استخدام النباتات الطبية بمكانة لا جدال فيها في الممارسة العملية، لفعاليتها في الإجراءات العلاجية المختلفة. تبين أن العديد من المركبات الثانوية المعزولة من النباتات هي موارد ذات خصائص مضادة للأكسدة ولديها القدرة على منع التأثيرات السامة التي يسببها الضغط أوكسيدي عن طريق نقل الهيدروجين واستخلاب أيونات المعادن و خفض عامل الأوكسجين.

Erodium atlanticum هو نبات طبي من عائلة Geraniaceae ، الأقل استخدامًا في منطقة البحر الأبيض المتوسط. لذلك، فإن اختيار هذا النوع لفت انتباهنا، من أجل زيادة فرص معرفة آثاره البيولوجية.

تهدف دراستنا إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص، الكلوروفورم، و البيوتانول، و أسيتات الإيثيل من الجزء الهوائي من *Erodium atlanticum*. كنا نهدف إلى قياس القوة المضادة للجذور الحرة لهذه النبتة باستخدام طرق مختلفة (مسح جذري DPPH، اختبار CUPRAC، اختبار FRAP، كسح الكاتيون الجذري ABTS^{•+}، تبييض بيتا كاروتين واستخلاب أيونات معدنية)، لسوء الحظ لم تتمكن من القيام بذلك بسبب نقشي فيروس كوفيد-19. لم يتم الحصول على نتائج ملموسة لغياب هاته الاختبارات.

الكلمات المفتاحية: *Erodium atlanticum*، الضغط أوكسيدي ، مضادات الأكسدة، المركبات الثانوية.

Présenté par : BITAT RANIA

BOUNAAS JIHANE

Année universitaire 2019-2020

Titre : *Erodium atlanticum* extraction et étude théorique

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

De nos jours, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé une place incontestée dans la pratique, du fait de l'efficacité de ces dernières, dans diverses procédures thérapeutiques. Plusieurs métabolites secondaires, issues de plantes, se révèlent être des ressources aux vertus anti-oxydantes. Ils ont une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant, en transférant l'hydrogène, en chélatant les ions métalliques et en réduisant l'oxygène.

L'*Erodium atlanticum* est une plante médicinale de la famille des Geraniaceae, la moins fréquemment employée et étudiée bibliographiquement, en région méditerranéenne. De ce fait, le choix de cette espèce a retenu notre attention, afin d'augmenter les chances de connaître leurs effets biologiques.

Notre étude a pour objectif l'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait, chloroformique, n-butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle, de la partie aérienne, d'*Erodium atlanticum*. Nous avons l'intention de mesurer le pouvoir anti-radicalaire de cette plante en utilisant différentes méthodes (le piégeage du radical DPPH, le test CUPRAC, le test du pouvoir réducteur FRAP, le piégeage du radical-cation ABTS^{•+}, le blanchissement du bêta carotène et la chélation des ions métalliques), malheureusement, nous n'avons pas pu le faire en raison de la situation actuelle du covid-19. Par manque de ces tests on n'a pas abouti à des résultats concrets surtout en l'absence des indices indiquant l'extrait le plus puissant.

Mots clés : *Erodium atlanticum*, stress oxydant, pouvoir antioxydant, métabolites secondaires

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biochimie (C.R.BT.)

Jury d'évaluation :

Président : Mr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Mr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).

Examineurs : Mr BENSOUISI Chawki (MRB- CRBT Constantine).

Date de soutenance : 24/09/2020