



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

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا
الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et de Biologie
Moléculaire et Cellulaire

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
Nutrition

Thème :

*L'importance des nutriments comme des antioxydants pour
lutter contre le stress oxydatif*

Présenté par

KHELIFI ESMA & SID MALEK

Jury d'évaluation :

président : Mr Nacib Youcef (PR UFM Constantine)

Encadreur : Mme Djemai Zoughlache Soumia (MAA UFM Constantine)

Examinatrice : Mme Bahi Ahlem (MCA UFM Constantine)

Année universitaire
2020 – 2021

Remerciements

AVANT TOUS



Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance pour réaliser cette étude. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à certaines personnes, qui grâce à leur aide et orientations notre travail a vu le jour :

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadrante Mme Djemai Zoughlache Soumia qui nous a proposé le sujet de ce mémoire et nous a guidé avec ses précieux conseils et suggestions, sa sympathie et pour la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre président de mémoire Mr NACIB YOUCEF maitre de conférences à l'université Frères Mentouri Constantine, Nous adressons également nous hommages les plus respectueux.

Nous tenons à gratifier Mme Bahi. Pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre travail en acceptant d'examiner ce modeste travail. Nous tenons à lui exprimer notre grand respect.

Enfin, il est particulièrement agréable d'exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.



Merci

Dédicace



Avec l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le Chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce modeste travail qui je dédie à :

*La lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie à **mes chers parents** pour leurs soutiens durant le long chemin de mes études, qui ont toujours été là pour moi, et qui ont beaucoup sacrifié pour que j'atteins ce niveau, qu'ils trouvent ici tous mes profonds remerciements, et j'espère qu'ils sont fières de leur fille et que dieu vous bénisse pour moi.*

*À mes chères sœurs **Nesrine et Manel.***

*À mes frères **Walid et Mouad.***

*À ma chère copine avant d'être mon binôme **Malek** qui a partagée avec moi des beaux moments et souvenirs.*

*À mon encadrante **Mme Djemai Zoughlache Soumia** pour sa patience, son soutien et pour ces précieux conseils et son aide.*

A toute mes amies.

A tous ceux qui me sont chers.

A tous ceux qui m'aiment.

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.



Dédicace

Mes remerciements vont tout d'abord au bon DIEU pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade, du fond de mon cœur

Je dédie ce modeste travail de recherche à :

A mon cher père AMAR que j'aime très fort et qui fait tout possible pour que je puisse être ainsi, pour tout leurs efforts et leur patience durant toutes ces années, pour m'avoir orienté et encouragé dans mes études.

Ma chère mère SAMIRA que j'aime très fort et qui a toujours espéré ma réussite et qui m'a donné assez d'affection et je prie le dieu de la protéger du mal, celle que je lui souhaite une longue vie pleine de santé et de prospérité.

Mes très chers frères AYOUB et MOHAMED ma petite sœur OUMAIMA qui me servait d'avantage dans ma vie, je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.

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

À mon cher mari aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as entouré.

J'aimerais bien que tu trouve dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour...

MALEK

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

CHAPITRE 1 : Le stress oxydatif et pathologies associées

1. Introduction	3
2. Radicaux libres	4
2.1 Définition des radicaux libres.....	4
2.2 La nature des radicaux libre	4
3. Mécanismes de production des principales ERO	5
3.1 L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$	5
3.2 Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	5
3.3 Le radical hydroxyle HO^{\cdot}	5
3.4 L'oxygène singulet 1O_2	6
4. Origines et sources d'espèces réactives de l'oxygène(ERO) ou (ROS).....	7
4.1 Sources endogènes	8
4.1.1 Mitochondrie	8
4.1.2 Peroxysomes	10
4.1.3 Réticulum endoplasmique	10
4.1.4 NADPH oxydase.....	11
4.2 Sources exogènes	12

5. Effet et conséquences des radicaux libres sur les molécules biologiques	12
5.1 Oxydation de l'ADN	13
5.2 Oxydation des protéines	13
5.3 Peroxydation lipidique	14
5.4 Oxydation des glucides	14
6. Rôles physiologiques des ROS et RNS	15
7. Stress oxydant et pathologies	16
7.1 Stress oxydant et le phénomène de vieillissement	16
7.2 L'inflammation	17
7.3 Diabète de type2	18
7.4 L'athérosclérose	19
7.5 Le processus de cancérisation	21
7.6 Maladies neurodégénératives	21
8. Le statut antioxydant chez l'humain et la prévention des maladies	22
8.1 L'alimentation et la prévention des maladies	22
8.2 Bénéfices attribués aux antioxydants	22
9. Effets sur la santé	23

CHAPITRE 2 : Les antioxydants

1. Introduction	26
2. Défense antioxydante	27
2.1 Système antioxydant endogène enzymatique	27
2.1.1 Le catalase(CAT)	27
2.1.2 L superoxyde dismutase (SOD)	28
2.1.3 La glutathion peroxydase (GSH-Px)	29

2.2	Système antioxydant endogène non enzymatique	30
2.3	Système antioxydant exogène.....	30
2.3.1	La vitamine C	31
2.3.2	La vitamine E	31
2.3.3	Les caroténoïdes	32
2.3.4	La vitamine A	32
2.4	Autre antioxydants	33
2.4.1	Les oligo-éléments	33
3.	Origines des antioxydants	34
4.	La localisation des antioxydants	35
4.1	Localisations alimentaires	35
4.2.	Localisations cellulaires des antioxydants	36
5.	Le Mode d'action des antioxydants	36
6.	Le rôle et bienfaits des antioxydants	40
7.	Antioxydants dans l'alimentation.....	41
7.1	Fruits et légumes et couverture des besoins nutritionnels.....	41

CHAPITRE 3 : Les polyphénols structures et propriétés
--

1.	Introduction	43
2.	Structures et Classification des polyphénols	44
2.1	Les acides phénoliques (non flavonoïdes)	46
2.1.1	Les acides hydroxybenzoïques (C6-C1)	46
2.1.2	Les acides hydroxycinnamiques (C6-C3).....	47
2.2.	Les flavonoïdes	47
2.2.1	Structure des flavonoïdes	48
2.2.2	Les différentes classes des flavonoïdes	49
2.3.	Les tanins	50

2.3.1 Les tanins hydrolysables	51
2.3.2 Les tanins condensés	52
2.4. Les lignanes	52
3. La Biosynthèse des polyphénols	53
3.1 voie de l'acide shikimique	53
3.2 voie de l'acétate	53
4 .Mécanisme d'action antioxydante des polyphénols	53
4.1 Inhibition enzymatique	54
4.1 Chélation des ions métalliques	54
4.2 Piégeage des radicaux libres	54
5. Les méthodes d'extraction des polyphénols	55
5.1 La méthode conventionnelle	55
5.2 Les techniques modernes	55
5.3 Les facteurs influençant l'extraction des polyphénols	57
6. Rôles et effets des composés phénoliques	58
6.1. Chez les végétaux	58
6.2. Chez les humains.....	58

Chapitre 4 : Les méthodes d'évaluation des antioxydants
--

1. Introduction	61
2. Evaluation de l'efficacité d'un antioxydant	61
2.1 Evaluation de produit résultant de l'oxydation.....	62
3. Méthodes d'analyse qualitatives des composés phénoliques	62
3.1 Technique de séparation.....	62
3.1.1 Analyse chromatographique sur couche mince.....	62
3.1.2 Principe.....	62
3.2 Technique d'identification structurale.....	63
3.2.1 La spectrophotométrie UV-visible.....	63

3.2.2 Principe	63
----------------------	----

4. Méthodes d'analyse quantitatives des composés phénolique (dosage des composés phénoliques).....65

4.1 Phénols totaux	65
4.1.2 Principe.....	66
4.2 Dosage des flavonoïdes	67
4.2.2 Principe	67
4.3 Dosage des flavonols	67
4.4 Dosage des Anthocyanes	67
4.5 Dosage de Vitamine C.....	67

5. Les méthodes analytiques employées pour déterminer l'activité antioxydant.....67

5.1 Test de piégeage du radical DPPH.....	68
5.2 Test TEAC.....	69
5.3 Test ORAC	70
5.4 Test FRAP	72
5.4.1 Principe	72
5.5 Test TRAP	75
5.6 Test de Cyclovoltammétrie.....	75
5.7 Test à l'hémolyse des globules rouges.....	75
5.8 La résonnance paramagnétique électronique (RPE)	76

6. La biodisponibilité des antioxydants78

Conclusion générale

Références bibliographiques

Liste des abréviations

(%) :	Pourcentage
• :	Electron célibataire
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ATP :	Adenosine Tri-Phosphate
CAT :	Catalase
ClO⁻ :	Ion hypochlorite
CU :	Cuivre
EOA :	Espèces oxygénées activées
ERO :	Espèces réactives oxygénées
FADH₂ :	Flavine adénosine dinucléotide
Fe²⁺ :	Ion ferreux
Fe³⁺ :	Ion ferrique
GPx :	Glutathion peroxydase
GR :	Glutathion réductase
GSH :	Glutathion réduit
GSPE :	Grape Seed Proanthocyanidins Extracts
GSSG :	Glutathion oxydé
H₂O :	Eau
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HClO :	L'acide hypochloreux
HO° :	Radical hydroxyle
HO₂• :	Hydroperoxyde
LDL :	Lipoprotéine de base densité
Mn :	Manganèse
NAD⁺ :	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADH :	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduite

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

NO• : Monoxyde d'azote

O₂ : L'oxygène ou dioxygène

O²⁻ : Anion superoxyde

O₃ : Ozone

ONOO.- : Peroxynitrite

ONOOH : Nitroperoxyde

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PEP : phospho-énol-pyruvique

pH : Potentiel Hydrogène.

RL : Radical libre.

RLO : Radicaux libres oxygénés

RO• : Alkoxyde

RO₂• : Peroxyle

ROO• : Radicaux peroxydes

ROS : Reactive Speaces Oxygen.

Se : Sélénium.

SO : Stress oxydant ou stress oxydatif

SOD : Superoxyde dismutase.

SOD : Superoxyde dismutase

SOD1 : Superoxyde dismutase cytosolique

SOD2 : Superoxyde dismutase mitochondriale

SOD3 : Superoxyde dismutase extracellulaire

UV : Ultra-Violet.

VTC : Vitamine C

VTE : Vitamine E

Zn : Zin

Liste des tableaux

N° de tableaux	Titre des tableaux	N° de page
Tableau 1	Principales ERO radicalaires et non radicalaires	4
Tableau 2	Les deux types de protections antioxydants de l'organisme	35
Tableau 3	Principaux groupes d'antioxydants et sources alimentaires associées	35
Tableau 4	Les principaux modes d'action de quelques antioxydants	39
Tableau 5	Rôles de quelques principaux nutriments antioxydants	40
Tableau 6	Principaux constituants d'intérêt nutritionnel des fruits et légumes	41
Tableau 7	Les principales caractéristiques et les sources alimentaires des différentes classes des flavonoïdes	49
Tableau 8	Les méthodes modernes d'extraction des polyphénols	56
Tableau 9	Technique d'évolution des produits résultant de l'oxydation	62
Tableau 10	Méthodes d'analyse, avantages et inconvénients	64
Tableau 11	Tests antioxydants in vitro	77

Liste des figures

N° de figure	Titre des figures	N° de Page
Figure 1.	Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydant	3
Figure 2.	Les étapes de la réduction de l'oxygène moléculaire et les ERO générés	5
Figure 3.	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	7
Figure 4.	Origine extra- et intracellulaires des radicaux libres oxygénés (RLO)	8
Figure 5.	Représentation schématique d'une mitochondrie et de la chaîne respiratoire	9
Figure 6.	Conséquences des ROS sur les molécules biologiques	13
Figure 7.	Principe d'hormesis et les conséquences de stress chronique	17
Figure 8.	Déroulement du processus inflammatoire	18
Figure 9.	Mécanisme de formation de la plaque d'athérome	20
Figure 10.	Structure tridimensionnelle de la catalase	28
Figure 11.	Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase	28
Figure 12.	Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase	29
Figure 13.	Le mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques	30
Figure 14.	Structure chimique de la vitamine C	31
Figure 15.	Schéma de régénération de la vitamine E à partir de la vitamine C	31
Figure 16.	Structure chimiques de vitamine E	32
Figure 17.	Structure chimique de vitamine A	33
Figure 18.	Sites d'action des nutriments antioxydants(en rouge) et des enzymes antioxydants.	36
Figure 19.	Régulation de la production des espèces oxygénées activées(EOA) par des systèmes antioxydants de défense primaire et secondaires	37
Figure 20.	Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classes	44

Figure 21.	Diagramme de classification des polyphénols	45
Figure 22.	Structure de l'acide hydroxybenzoïque et quelques dérivés	46
Figure 23.	Structure de l'acide hydroxycinnamique et quelques dérivés	47
Figure 24.	Structures chimiques des flavonoïdes	49
Figure 25.	Structure de base des tanins	51
Figure 26.	Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)	51
Figure 27.	Structure de base des tanins condensés	52
Figure 28.	Effets biologiques des polyphénols	59
Figure 29.	Schéma du protocole du dosage des flavonoïdes totaux	66
Figure 30.	Modification du DPPH [•] lors du transfert électronique	68
Figure 31.	Structure chimique du Trolox	69
Figure 32.	Modification de l'ABTS [•] lors du transfert électronique	70
Figure 33.	Modification de l'AAPH [•] lors du transfert électronique	71
Figure 34.	Structure chimique de la fluorescéine	71
Figure 35.	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant AH	72
Figure 36.	Schéma du protocole du test de réduction du Fer (FRAP)	74

Introduction générale

Le potentiel des constituants antioxydants des plantes pour la prévention des cancers, des maladies cardiovasculaires, maladie d'Alzheimer et de la peroxydation lipidique est largement évoqué par les scientifiques (Evans et al., 1996). En effet, les différentes études expérimentales renforcent l'hypothèse selon laquelle le stress oxydatif est directement impliqué dans l'apparition de ces maladies. Pour lutter contre les radicaux libres nocifs, notre organisme possède des systèmes de défenses antioxydants. Certains sont endogènes, alors que d'autres sont exogènes (Aviram et al., 2002).

L'alimentation pourrait jouer un rôle important dans l'étiologie de la maladie d'Alzheimer puisque des données probantes semblent lier les dommages oxydatifs à la progression de la maladie (Devasagayam et al., 2004). Les radicaux libres, des sous-produits du stress oxydatif, contribuent à l'étiologie de nombreuses maladies chroniques. Les dommages causés par les radicaux libres entraînent des pertes fonctionnelles au niveau des acides gras polyinsaturés, les nucléotides, l'ADN et les liaisons sulfhydryles des protéines (Sies, 1997). Plusieurs composés alimentaires protègent le tissu contre les méfaits des radicaux libres, tels que les vitamines E et C, le bêta-carotène, le glutathion, l'acide urique et plusieurs oligo-éléments métalliques qui agissent comme des cofacteurs d'enzymes (notamment sélénium, fer, cuivre, zinc, manganèse) (Grossberg et al., 2007).

Dans une première partie, nous définirons le stress oxydant : son origine ainsi que les principaux effets que cela peut engendrer au niveau pathologique. Ensuite nous intéresserons au chaque type de radicaux libres son formation et leur action au niveau biologique. Puis nous détaillerons les différents antioxydants endogènes et exogènes pouvant agir sur l'organisme et leur effet sur la santé. Pour terminer nous présenterons les différentes méthodes d'évaluation actuellement, il existe quatre méthodes bien connues permettant de mesurer la capacité antioxydante des aliments: la méthode « Trolox equivalent antioxidant capacity » (TEAC), la méthode « Oxygen radical antioxidant capacity » (ORAC), la méthode « Ferric-reducing ability of plasma » (FRAP) et la méthode « Total radical-trapping antioxidant parameter » (TRAP) (Marc et al., 2004).

Lorsqu'on compare l'efficacité biologique des quatre techniques, la méthode ORAC est le meilleur choix, car il permet plus précisément de prendre en compte la capacité des antioxydants hydrophiles et lipophiles des échantillons biologiques (Usda, 2007).

CHAPITRE 1

LE STRESS OXYDATIF ET LES PATHOLOGIES ASSOCIEES

1. Introduction

La notion de «stress oxydant» a été définie à l'origine par Sies en 1985 comme un déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants, ce déséquilibre est dû à une surproduction d'espèce pro-oxydantes ou un déficit en antioxydants ou les deux à la fois (Picchi et al., 2006), avec une biodisponibilité accrue des espèces réactives oxygénées (ERO), conduisant à une perturbation de la signalisation redox et du contrôle et / ou des dommages moléculaires (Montezano et al., 2015).

Le stress oxydatif représente l'incapacité de l'organisme de se défendre contre l'agression des radicaux libres oxygénés (Koechiin , 2006). Il a été dit que « une perturbation des systèmes pro-oxydants/antioxydants en faveur du premier peut être considérée comme un stress oxydatif (Davies., 2000). Il résulte soit d'une diminution des antioxydants ou d'une augmentation de production des radicaux libres (Favier , 2003).

Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme (Valko et al., 2005). A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardiovasculaires (Campisi et al., 2014). Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser nos défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les EOA au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides (Stocker et al., 2011).

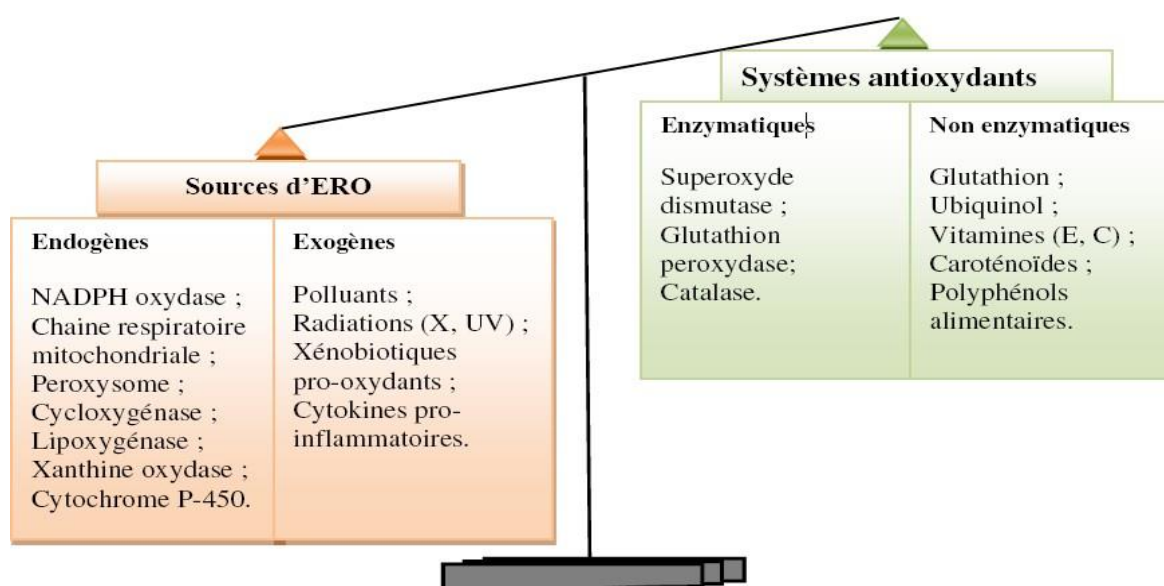


Figure 1. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Rahman et al.,2012).

Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

2. Radicaux libres (RL)

2.1 Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui manquent d'un électron au niveau de la couche électronique la plus externe ce qui les rend instables et deviennent très réactives afin de s'associer à d'autres molécules et d'obtenir un état de stabilité (Dacosta., 2003).

Les radicaux libres peuvent être considérés comme un sous-ensemble d'espèces réactives de l'oxygène (O) ou de l'azote (N) (Henry et al., 2002). Ces radicaux libres sont produits continuellement dans le corps humain (Dorcias *et al.*, 2016).

2.2 La nature des radicaux libre

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles, il convient de distinguer (Favier, 2003).

* **Des radicaux primaires** : dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, et le radical hydroxyle OH^{\cdot} ; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} .

* **Des radicaux secondaires** : se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

* **D'autres espèces dérivées de l'oxygène** : dites espèces actives de l'oxygène comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Dhalla et al., 2000).

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO), ou de l'anglais reactive oxygen species (ROS) (deby et al.,2002).

Tableau 1. Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Dwassy, 2014)

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde: $O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène: H_2O_2
Radical hydroxyle: OH^{\cdot}	Ion hypochlorite: ClO^-
Peroxyde: RO_2^{\cdot}	Ozone: O_3
Alkoxyde: RO^{\cdot}	Oxygène singulet: 1O_2
Hydroperoxyde: HO_2^{\cdot}	Peroxynitrite: $ONOO^-$

Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

Dans les circonstances quotidiennes normales, ces ERO sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense (antioxydants) adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003). Cependant, les ERO provoquent des dommages cellulaires si elles sont produites d'une manière incontrôlée et sont alors à l'origine d'un stress oxydant (SO) (Kim et al., 2009).

3. Mécanismes de production des principales ERO

3.1 L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ constitue le précurseur de la plupart des ERO et induit les réactions oxydatives en chaîne (Abele et al., 2002). C'est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d' O_2 (Wolin, 1996). A l'état fondamental, l' O_2 est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbitaux externes deux électrons non appariés (Sies, 1993 ; De Leiris, 2003). En présence d'une quantité d'énergie suffisante, la molécule d'oxygène peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde (Bisbal et al., 2010).



Les anions superoxydes ne sont pas très réactifs et ont une demi-vie courte, mais ils constituent des radicaux précurseurs et ils exercent leurs effets par la formation d'espèces radicalaires beaucoup plus réactives (Louis, 2011).

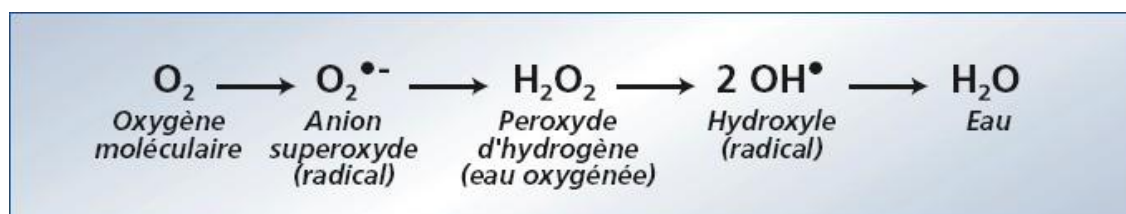
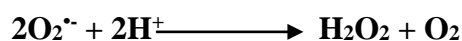


Figure 2. Les étapes de la réduction de l'oxygène moléculaire et les ERO générés (Vamecq *et al.*, 2004).

3.2 Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (appelé également eau oxygénée) est formé par l'addition d'un second électron sur l' $O_2^{\bullet-}$ donnant comme intermédiaire l'anion peroxyde O_2^{2-} , qui se protone facilement pour donner H_2O_2 . Toutefois, la principale production de H_2O_2 résulte de la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ selon la réaction suivante (Badouard, 2006):



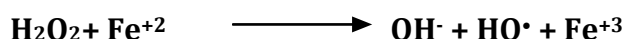
Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

3.3 Le radical hydroxyle HO•

Le radical hydroxyle, est généré par la réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction d'Haber-Weiss), engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO• (Comhair et Erzurum, 2002) :



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais, en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l'H₂O₂ donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO• hautement réactif (Goldstein et al., 1993).



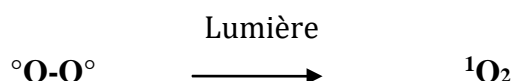
Les réactions en chaîne représentent l'un des plus grands dangers du radical OH•. En revanche, l'H₂O₂ et l'O₂•⁻ ne sont pas suffisamment réactifs pour déclencher des réactions en chaîne (Lau et al., 2008; Aprioku, 2013).

Le radical hydroxyle apparaît donc comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (Guetteridge, 1993), et serait à l'origine de la production des radicaux libres « secondaires », suite à sa réaction avec différents composés cellulaires (Boubekri, 2014).

3.4 L'oxygène singulet ¹O₂

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

L'oxygène singulet n'est pas un radical libre parce qu'il ne contient pas d'électrons non appariés, mais formé dans certaines réactions radicales (Shiv, 2011). Lorsque l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante (Justine et al., 2005) :



L'oxygène singulet est un agent oxydant très puissant qui peut directement oxyder des protéines, l'ADN et des lipides et causer des dommages tissulaires (Halliwell, 2006).

Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

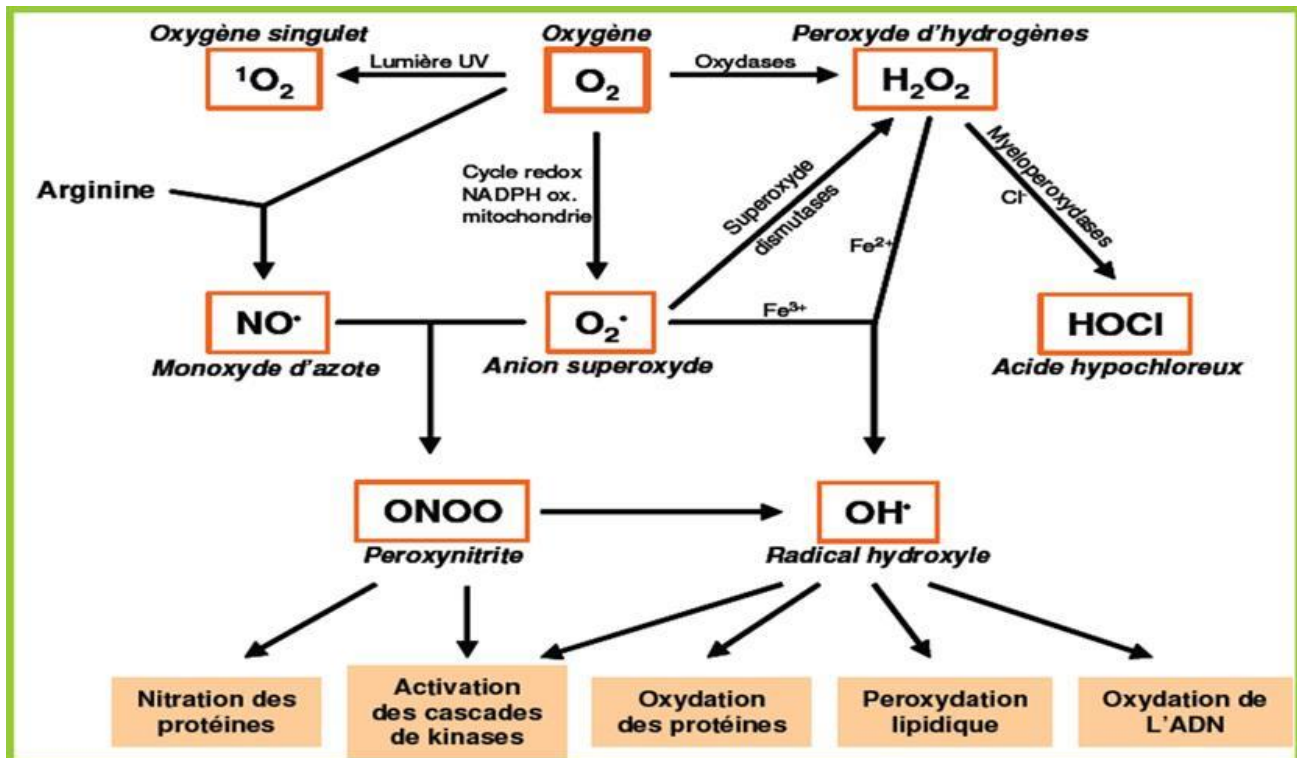


Figure. 3 - Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Sies, 1997).

4. Origines et sources d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La production des ERO pendant les processus métaboliques est un processus normal et nécessaire qui assure des fonctions physiologiques importantes (Pavithra et al., 2013). Dans les cellules mammifères, la production des ERO est essentiellement d'origine enzymatique ; la NADPH oxydase membranaire et le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire en sont les principales sources (Beaudeau et al., 2006).

Cependant, lorsqu'un déséquilibre entre la production des ERO et les défenses antioxydantes se produit, il entraîne un stress oxydatif qui est impliqué dans plus d'une centaine de pathologies humaines (Pavithra et al., 2013).

Les radicaux libres peuvent aussi être formés en réaction à des agressions de notre environnement, ainsi que par ces réactions initiées par des rayonnements ionisants (la lumière ultraviolette). Ils sont également générés par d'autres sources externes telles que la fumée de cigarette, les polluants environnementaux, certains médicaments, les pesticides, l'ozone, les anesthésiques et les solvants industriels (Albert et al., 2003 ; Gbohaida et al., 2015).

Les différentes origines de formation des ERO (en particulier les radicaux libres) sont illustrées dans la figure suivante.

Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

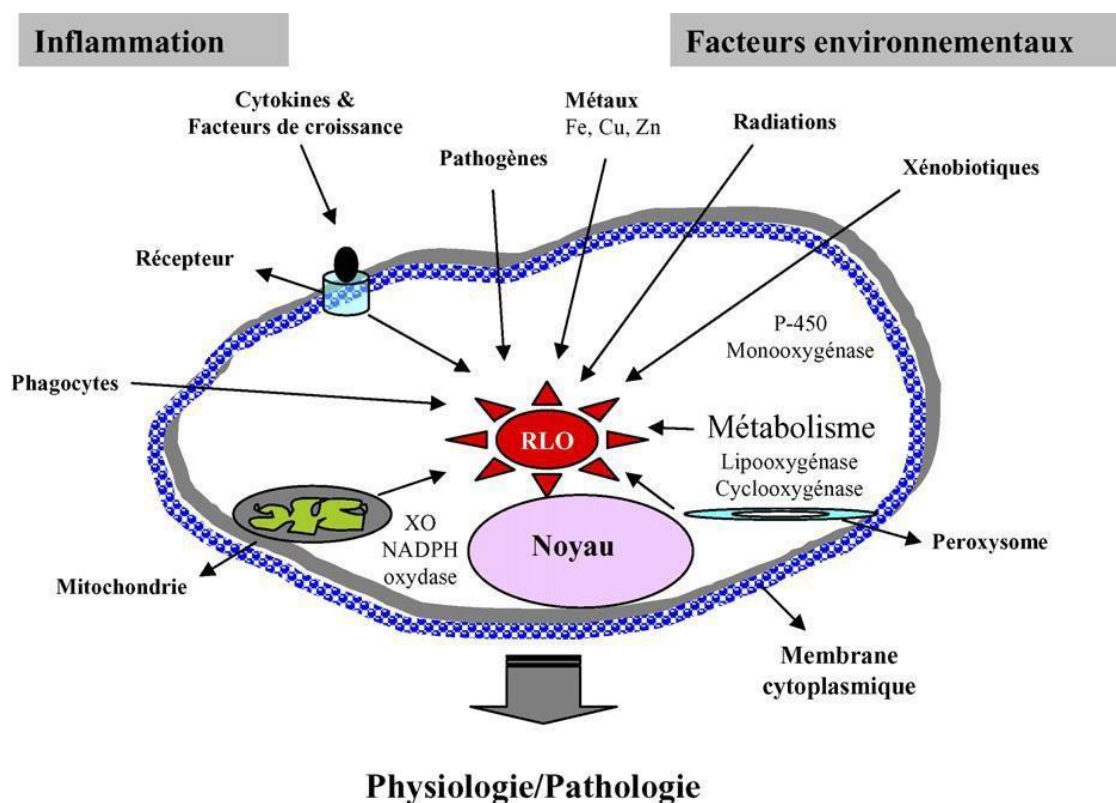


Figure 4. Origines extra- et intracellulaires des radicaux libres oxygénés (RLO) (Achat, 2014).

Les différents types des ROS sont produits d'une manière endogène lors du métabolisme mitochondrial, dans le peroxysome ainsi que par une variété de système d'enzymes cytosoliques. En outre, un certain nombre d'agents extérieurs peuvent déclencher la production de ROS (Taibur et al., 2012).

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 (Di Meo et al., 2016).

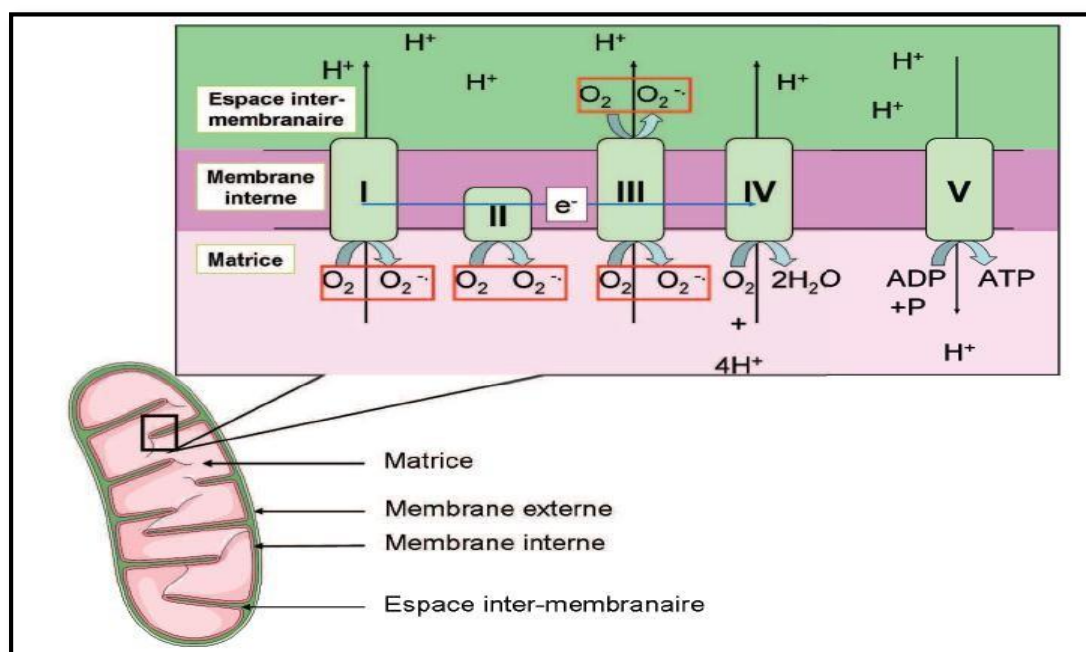
4.1.1 Mitochondrie

La mitochondrie est considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Elle produirait, en effet, 90% des ROS cellulaires (Balaban et al., 2005). Cette production centralisée de ROS est due au fait que la mitochondrie est le lieu central de consommation de l'oxygène au cours de la phosphorylation oxydative (Qutub et al., 2008).

Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

La chaîne respiratoire mitochondriale est la résultante de l'association d'une cinquantaine de polypeptides et permet la production d'énergie sous forme d'ATP en utilisant le dioxygène. Elle est composée de cinq complexes protéiques situés dans la membrane interne des mitochondries (popel et al., 2008).

Cette chaîne respiratoire utilise deux transporteurs d'électrons, le nicotinamide adénosine dinucléotide (NADH) et le flavine adénosine dinucléotide (FADH₂), pour faire subir à l'oxygène une réduction tétravalente par addition de 4 électrons (e⁻) et de 4 protons (H⁺) conduisant à la production d'eau (Mandavilli et al., 2002). Or, des réductions à un seul électron, produisant des anions superoxyde, peuvent aussi survenir (Abele et al., 2002).



(I : NADH déshydrogénase, II : succinate déshydrogénase, III : complexe cytochrome IV : cytochrome C oxydase et V : ATP synthèse)

Figure 5. Représentation schématique d'une mitochondrie et de la chaîne respiratoire (Heis et al., 2002)

Le passage d'électrons (représenté schématiquement par la flèche bleue) à travers les complexes de la chaîne respiratoire permet la translocation de protons dans l'espace inter-membranaire. Ce gradient de protons est utilisé par le complexe V pour produire l'ATP à partir de l'ADP. L'accepteur final d'électrons, le complexe IV réduit l'oxygène en eau. Encadrés en rouge : site de formation du radical superoxyde (Jean-Philippe, 2013).

La réduction partielle d'oxygène dans la mitochondrie est due à la fuite d'électrons dans

Chapitre 1 **Le stress oxydatif et les pathologies associées**

la chaîne respiratoire qui a lieu dans la membrane interne mitochondriale. Cette fuite se produit principalement au niveau des complexes I et III, et mène à la production du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le précurseur des ROS (Turrens, 1997; Lennan et Degli, 2000).

4.1.2 Peroxysomes

Un peroxysome est un organite cellulaire entouré par une membrane simple et ne contenant pas de matériel génétique. Il contient de nombreuses enzymes générant une grande quantité d' H_2O_2 . Toutefois, l' H_2O_2 généré est rapidement détoxifié par la catalase peroxysomale, qui joue un rôle particulier dans l'homéostasie. Cette réaction est particulièrement rénale et hépatique puisqu'un dysfonctionnement de la catalase peroxysomale accélère l'atteinte rénale chez les patients diabétiques (Hwang et al., 2012).

4.1.3 Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Turrens et al., 1982 ; Freeman et al., 1983). La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des ROS (Morel et Barouki, 1999).

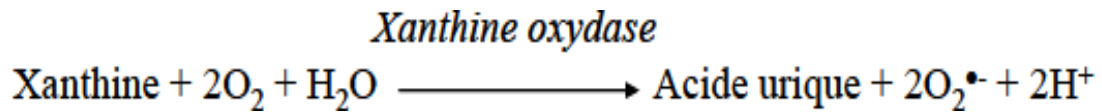
Ainsi, il existe de nombreuses autres sources de ROS parmi lesquelles l'auto oxydation des petites molécules, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase :

❖ L'auto oxydation de molécules :

L'auto-oxydation de molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones est une importante source de ROS (Freeman et Crapo, 1981). Le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l' $O_2^{\cdot-}$. Ainsi, l'auto-oxydation de la dopamine est en partie impliquée dans le processus apoptotique lors de pathologies neurodégénératives notamment lors de la maladie de Parkinson (Thannickal et Fanburg, 2000).

❖ Xanthine oxydase :

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie- reperfusion ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\cdot-}$ (Blandine Garait, 2006).



4.1.4 NADPH oxydase

Les NADPH oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent $\text{O}_2^{\bullet-}$ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat (Mabile et al.,1997).

En parallèle de la production d'ERO par le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, la plupart des cellules sont capables de produire des radicaux superoxydes $\text{O}_2^{\bullet-}$ via une activité NADPH oxydase membranaire (NOX), qui est présente dans la membrane plasmique des phagocytes (Krause, 2004).

La NOX est une enzyme qui catalyse la réduction mono électronique de l' O_2 en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons :



La NOX a été initialement étudiée dans les cellules phagocytaires où elle joue un rôle primordial dans la défense contre les pathogènes, mais elle existe également dans toutes les autres cellules non phagocytaires où elle participe à la signalisation cellulaire (Camille et Mireille, 2011). Selon le type cellulaire, la NOX peut libérer $\text{O}_2^{\bullet-}$ de la cellule de manière préférentielle vers l'extérieur (cellules phagocytaires) ou vers l'intérieur (cellules non phagocytaires) (Guichard et al.,2006).

Chapitre 1 **Le stress oxydatif et les pathologies associées**

4.2 Sources exogènes

L'environnement et le mode de vie sont à l'origine de la création des ROS et de leur accumulation et sont générateurs du stress oxydant. Les sources exogènes peuvent être représentées par (William, 2013) :

➤ L'exposition aux rayons UV, aux ultrasons, aux micro-ondes et à des champs magnétiques

Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou gamma soit en activant des molécules photo sensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet (Favier, 2003).

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).

- Les métaux lourds (chrome, Cadmium, etc.) sont connus pour leurs propriétés redox ;
- Le contact avec des agents cancérigènes ;
- Le tabagisme et l'alcool ;
- La prise de médicaments et de la pilule contraceptive ;
- La pratique trop intense ou mal gérée d'un sport ;
- Le stress intellectuel ou émotionnel ;
- La pollution, ozone, alimentation, etc (Pincemail et al., 2001).

5. Effet et conséquences des radicaux libres sur les molécules biologiques

Les radicaux libres entraînent des dommages de toutes les macromolécules cellulaires, y compris les protéines, les hydrates de carbone, les lipides et les acides nucléiques (l'ADN et l'ARN), ce qui est à l'origine des maladies chroniques et dégénératives (Dorcas et al., 2016).

Les EOR interagissent avec des acides aminés spécifiques des chaînes peptidiques. Ceci entraîne des modifications structurelles dues à la fragmentation de la chaîne peptidique et à l'altération de la charge électrique, par conséquent, une inactivation des protéines se produit (Noori et al., 2012).

L'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires, initie le processus de peroxydation lipidique qui favorise la propagation des réactions des radicaux libres (Edziri et Sharma, 2012).

Les EOR brisent les brins d'ADN et provoquent la dégradation et l'oxydation des sucres et des bases azotées, qui se traduisent par des mutations génétiques (Sharma et al., 2012).

Chapitre 1 Le stress oxydatif et les pathologies associées

Les différents dommages engendrés par ces radicaux libres sur les macromolécules biologiques sont résumés dans la figure suivante.

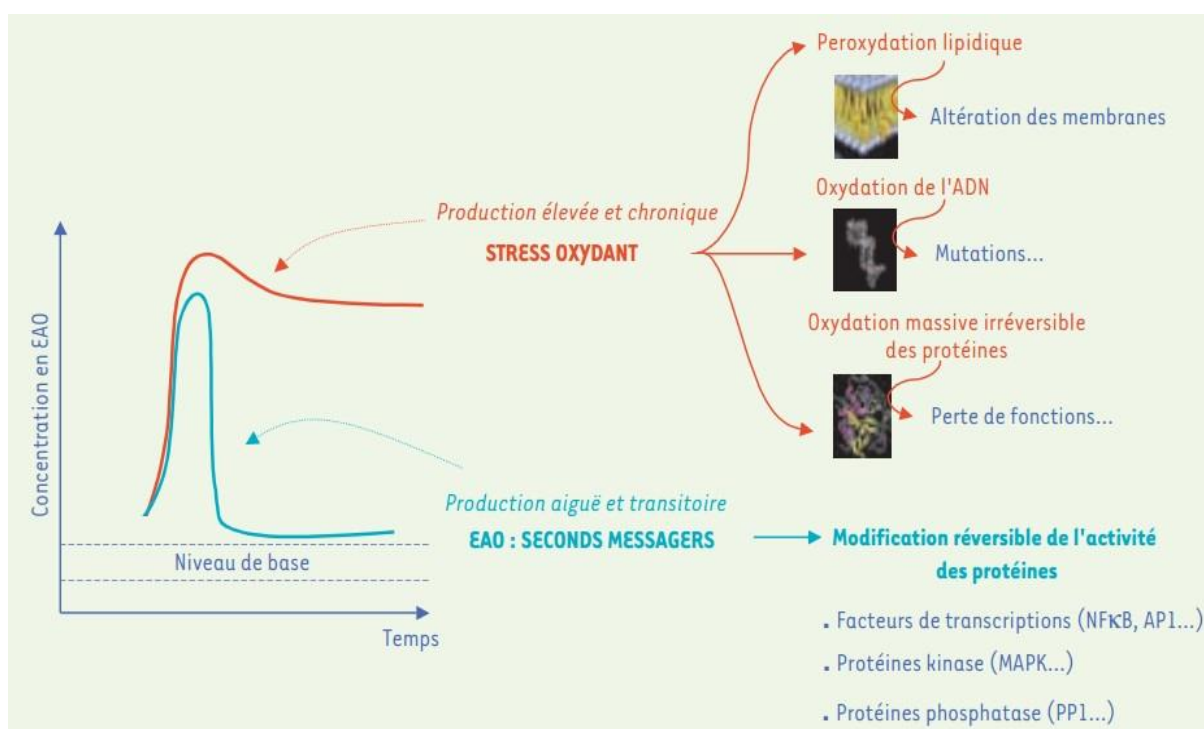


Figure 6. Conséquences des ROS sur les molécules biologiques (Carriere et al., 2017).

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 (Favier, 2003)

5.1 Oxydation de l'ADN

Les ROS entraînent la formation de 8-hydroxyguanine et 8-hydroxy-2- déoxyguanosine, 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).

5.2 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

Chapitre 1 **Le stress oxydatif et les pathologies associées**

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 (Sergent et al., 2001 ;Garait, 2006).

5.3 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 (Hulbert, 2005). L'oxydation des lipides comportent trois phases : l'initiation, la propagation et la terminaison 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 diènyl caractérisé par la présence de deux doubles liaisons conjuguées (Michael, 2007).
- La propagation : Le radical diènyl se combine avec l'oxygène pour former un radical peroxyde (LOO•). Ce dernier est capable de réagir avec une molécule lipidique voisine entraînant la formation d'un hydroperoxyde (LOOH) 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•), peroxydes (LOO•) et aussi les aldéhydes (Hong et al., 2004).
- 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 (Marnett et al., 1999).

5.4 Oxydation des glucides

Les radicaux libres (HO•...) 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).

6. 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 (Vamecq et al., 2004 ;Liochev,2013). 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 et 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).

7. 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 (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 et 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 antioxydant, la superoxyde dismutase (Desport et 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 (Favier,2006).

7.1 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 antioxydants 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 1) (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 (Ferry.,2002).

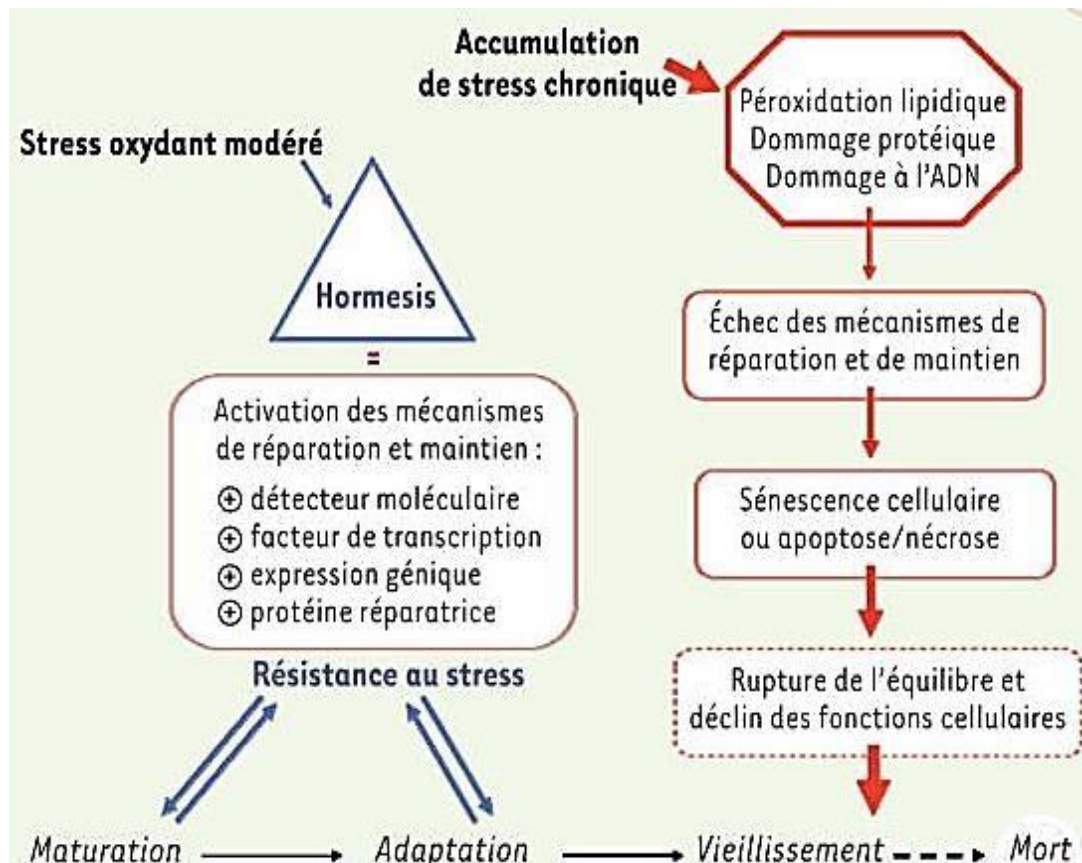


Figure 7. Principe d'hormesis et les conséquences de stress chronique (Roussel.,2002).

7.2 L'inflammation

L'inflammation se caractérise par une réponse des tissus vivants à une agression. Ce phénomène fait intervenir le processus d'immunité qui peut-être naturelle (phagocytose par exemple) ou spécifique (cellulaire ou humorale). L'inflammation n'est pas synonyme d'infection mais une infection peut être la cause d'un phénomène inflammatoire (Luchsinger ,2007)

Les différents facteurs induisant l'inflammation sont:

- Une agression physique (froid, chaleur)
- Une agression chimique (acide, base)
- Une infection due à des bactéries ou à des virus
- Une réaction immunitaire primaire ou secondaire (qui est la conséquence de la réintroduction dans l'organisme d'un antigène)
- Une nécrose tissulaire

L'inflammation va avoir pour but de permettre l'élimination de l'agent agresseur et des débris cellulaires, ainsi que de la réparation des tissus

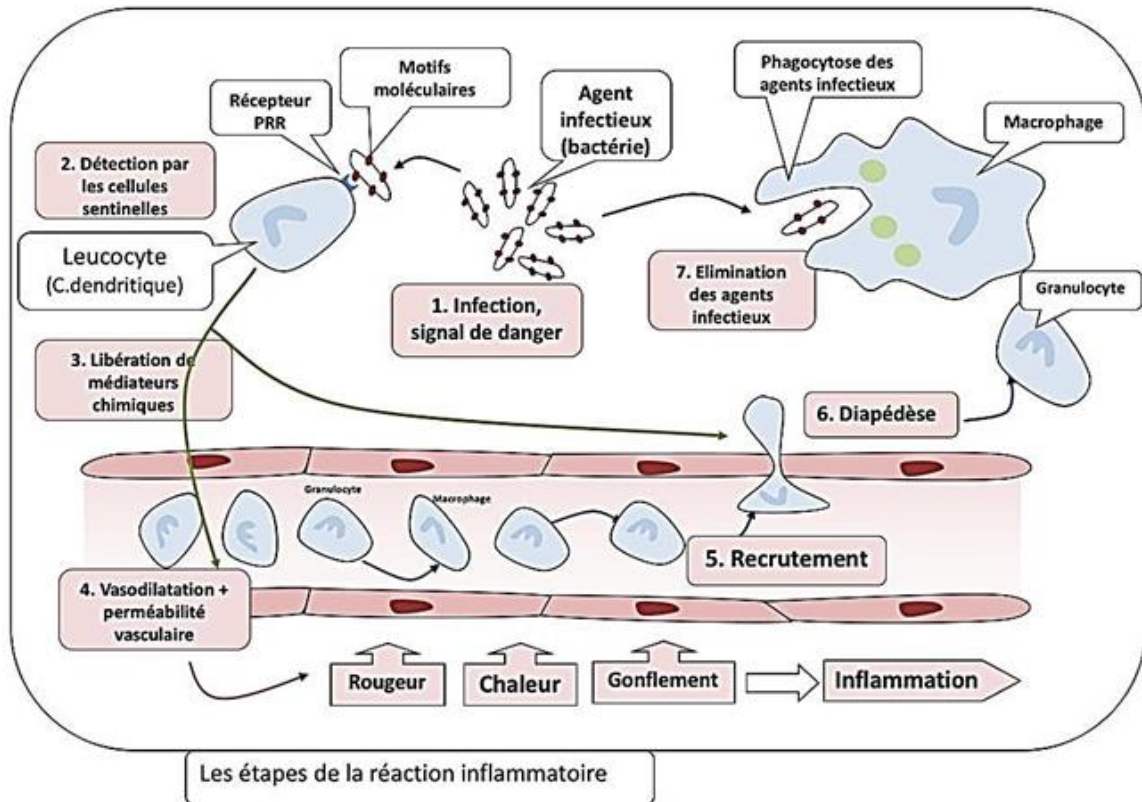


Figure 8. Les étapes de déroulement du processus inflammatoire (Wang et al., 1996).

Par ailleurs, l'inflammation accélère la production de radicaux libres. Lorsque l'inflammation est limitée, les radicaux libres peuvent être contrôlés par les défenses antioxydantes naturelles de l'organisme. Lorsqu'elle est trop intense ou chronique, les radicaux libres deviennent alors trop nombreux, submergent les défenses antioxydantes et entraînent des réactions en chaîne pouvant, entre autres, altérer des tissus sains.

La betterave est un des légumes aux propriétés anti-inflammatoires, Il est riche en bétanine un antioxydant qui en plus de lui conférer sa couleur rouge vif, est un excellent anti-inflammatoire ce légume est également riche en magnésium, ce qui permet de limiter les risques d'apparition de maladies inflammatoires causées par une carence en magnésium.

La vitamine A est essentielle pour assurer le bon fonctionnement immunitaire et le maintien de la peau, des yeux, des os, des dents et des cheveux (Nève, 2002)

7.3 Diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant est une maladie se caractérisant par un taux trop élevé de glucose dans le sang. Son origine est métabolique, elle provient de la modification progressive et insidieuse du métabolisme glucidique. Ainsi le glucose est moins bien absorbé au niveau des tissus adipeux et musculaires provoquant une augmentation du glucose sanguin. Son incidence augmente significativement avec l'âge, les signes cliniques s'observent

généralement après 40 ans et la maladie est diagnostiquée à l'âge moyen de 65 ans. Il est important de noter que ce diabète doit être différencié de celui de type 1 qui résulte d'une absence d'insuline active (Wens et al., 2005).

Le diabète engendre des hyperglycémies qui vont être perçues par l'organisme comme un stress oxydant (Bonfont-Rousselot, 2002). Dans cette maladie, contrairement aux autres développées dans ce chapitre, le stress oxydatif est superposable à l'hyperglycémie. Ainsi, plus la glycémie est élevée et prolongée, plus le stress oxydatif est intense et donc plus l'effet sera néfaste pour l'organisme. Cela va provoquer une augmentation de la dégradation du glucose qui, par accroissement du potentiel de membrane mitochondriale, va augmenter la synthèse de radicaux libres. Outre ce phénomène, il va se produire une inhibition de la glyceraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase responsable de la diminution de formation du cofacteur réduit NADPH,H⁺ essentiel à la régulation de l'homéostasie (Bonfont-Rousselot, 2004).

Le risque de développer un diabète type 2 était significativement réduit grâce à la consommation quotidienne d'au moins une portion de céréales complètes, tandis que le risque était augmenté par la consommation de pop-corn. L'intérêt des céréales complètes se confirmait quel que soit le type de céréales (Portha, 2003) :

- Le gruau
- Le pain complète
- Le riz brun
- Le son de blé
- Le germe de blé

7.4 L'athérosclérose

Les ROS sont produites en permanence par les types constituant la paroi vasculaire. Ils sont, à l'état physiologique, des modulateurs des voies de transduction du signal et de l'expression des gènes participant à l'homéostasie vasculaire, il se définit comme un processus de régulation homéostatique dans le système vasculaire. Les cellules de la paroi vasculaire présentent un état redox physiologique qui peut être modifié dans de nombreuses circonstances physiopathologiques. Toute altération va avoir pour conséquence un stress oxydant qui sera nocif pour les cellules et pour leur fonctionnement vasculaire. Un exemple fréquent dans la civilisation occidentale est l'athérosclérose définie comme la formation d'une plaque d'athérome au sein de la paroi vasculaire. La présence de cette « protubérance » altère significativement l'écoulement sanguin pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la circulation ou la rupture de la plaque (Beaudeau et Delattre, 2006).

Les facteurs de risques de la survenue de plaques d'athérome sont multiples, comme l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie ou encore le diabète. Ils vont engendrer une production anormale des ROS. Le déséquilibre antioxydant/pro-oxydants va entraîner l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL pour Low Density Lipoproteins) se situant dans l'intima ainsi que des troubles cellulaires tels que la libération de facteurs pro inflammatoires, de facteurs favorisant la prolifération cellulaire, ou la modification du processus d'apoptose/nécrose (Pasquier,1995).

La vitamine E englobe de nombreux composés y compris les α -tocophérols, β - tocophérols, γ -tocophérols, δ -tocophérol et les tocotriénols. Ces composés visent la protection des lipoprotéines et des membranes cellulaires lorsqu'elles sont transportées par les LDL (lipoprotéines de basse densité), et ensuite distribuées aux cellules par les récepteurs du cholestérol. Les LDL sont un groupe de lipoprotéines qui transportent le cholestérol aux cellules sanguines (Léger, 2000).

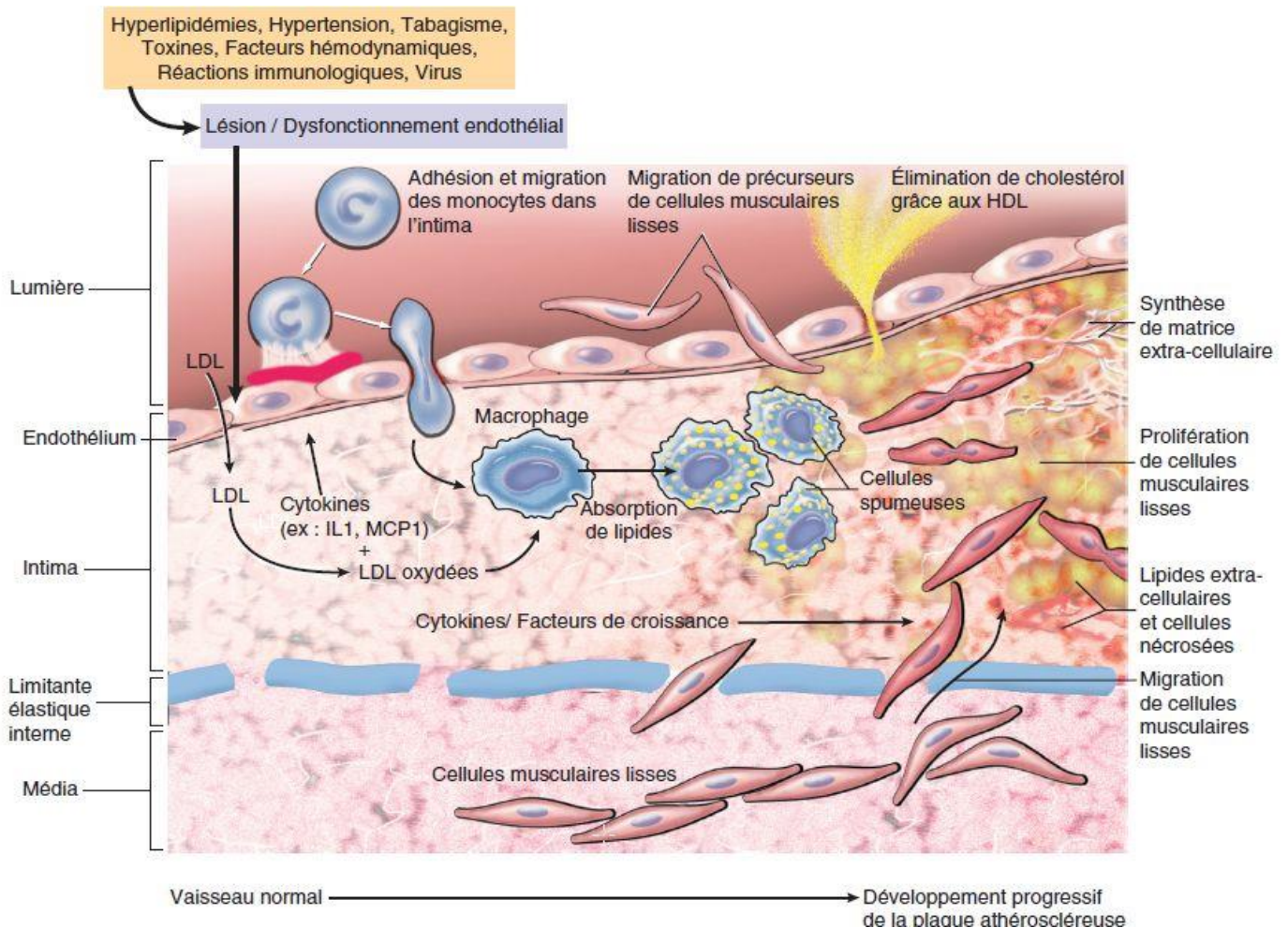


Figure 9. Mécanisme de formation de la plaque d'athérome (Kaplan et Aviram ,2012).

7.5 Le processus de cancérisation :

Le stress oxydant joue un rôle particulier dans les différents processus de cancérisation. La réaction d'un ROS avec une base nucléique induit une modification de l'ADN. L'ADN humain est constamment soumis à l'action des radicaux libres à raison, en moyenne, de 20 altérations de l'ADN par jour (Moncol et Izakovic, 2006). L'organisme a développé de nombreux systèmes, notamment enzymatiques, dédiés à la reconnaissance et la réparation de l'ADN (DNA polymérase). Cependant, ces systèmes sont parfois insuffisants, ce qui conduit à la création de protéines mutantes, à condition que la mutation ait lieu sur une partie traduite de l'ADN. Selon la nature de la mutation, la protéine mutante pourra être inactive ou, à l'inverse verra son activité augmentée. Par exemple, une mutation désactivant une protéine de la chaîne apoptotique pourra être à l'origine de l'immortalisation de la cellule. Cette dernière pourra alors se diviser et constituer une lignée cellulaire immortelle (Valko et Rhodes, 2006).

Par ailleurs, les cellules tumorales immortelles seront reconnues par le système immunitaire qui luttera en activant les mécanismes de défenses (intervention de phagocytes, inflammation). En conséquence, le taux de ROS augmentera à proximité et sera susceptible de faire muter à nouveau les cellules environnantes. L'apparition de tumeur survient lorsque la balance protection/mutation tourne en faveur des cellules tumorales (Mazur, 2006).

7.6 Maladies neurodégénératives :

Le stress oxydant intervient dans le processus de mort cellulaire que l'on va retrouver dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou la maladie de Charcot.

La maladie d'Alzheimer entraîne la perte des fonctions mentales et plus particulièrement de la mémoire jusqu'à la démence. Il s'agit d'une maladie incurable, sa survenue est progressive et irréversible (Pearl et Taylor, 2007). La protéine β amyloïde semble être un acteur important de la survenue de cette maladie, en effet on la retrouve dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. Elle possède un effet toxique sur les cellules neuronales (Christen, 2000). Bien que le lien de cause à effet entre stress oxydant et la maladie d'Alzheimer ne soit pas encore bien élucidé, la présence de protéines β amyloïde est toujours associée à la présence de ROS. Il a été démontré que le stress oxydant favorise l'agrégation de β amyloïde qui lui-même va provoquer un nouveau stress oxydatif par dysfonctionnement au niveau du métabolisme neuronal et des états de certains métaux (fer et cuivre).

Plusieurs recherches cliniques ont évalué les composés ayant un potentiel neuroprotecteur, tel que les antioxydants. Les données suggèrent que les processus d'oxydation sont associés à l'agrégation des peptides A β , l'activation microgliale (ce qui mène à la neuroinflammation) et la peroxydation des lipides et des protéines. Les chercheurs émettent l'hypothèse que la consommation des antioxydants, comme la vitamine E, vitamine C, β -carotène, l'acide α -lipoïque, coenzyme Q ou le sélénium, est un moyen de protéger contre l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer ou la progression de la maladie. Une alimentation riche en fruits et légumes, céréales de grains entiers, œufs, viande, légumineuses et noix a longtemps été considérée comme une excellente source d'antioxydants (Grossberg et al., 2007).

8. Le statut antioxydant chez l'humain et la prévention des maladies

8.1. L'alimentation et la prévention des maladies :

Le lien entre l'alimentation et les maladies chroniques est très bien documenté. Les diététistes et les médecins sont unanimes dans leurs recommandations à consommer suffisamment de fruits et légumes pour préserver une bonne santé et pour prévenir les maladies cardiovasculaires et certains cancers. L'alimentation méditerranéenne, qui inclut un régime riche en fruits et légumes et faible en graisses saturées, semble être responsable de la faible incidence de maladies cardiaques et de cancer des pays méditerranéens comparativement aux pays de l'Europe du Nord et l'Amérique du Nord. Les bénéfices de ce régime alimentaire sont attribués à plusieurs de ces composants, mais surtout, à la présence des antioxydants (Hagfors et al., 2003). Il a été démontré que l'alimentation influence le statut antioxydant et se classe parmi les principaux facteurs modifiables qui contribuent non seulement au vieillissement et aux maladies neurologiques, mais aussi au diabète, aux maladies cardiovasculaires et au cancer (Papavasiliou, 1999).

Les antioxydants sont maintenant considérés comme des moyens de protection contre la perte neuronale puisqu'ils ont la capacité de neutraliser les radicaux libres (Uttara et al., 2009). Une revue de littérature qui portait sur les sources d'antioxydants et les mécanismes de protection des antioxydants contre les effets néfastes des radicaux libres. L'accent a été mis sur le rôle du stress oxydatif par rapport aux maladies neurodégénératives, y compris la maladie d'Alzheimer, la maladie du Parkinson, la sclérose en plaques et la sclérose latérale amyotrophique. Les auteurs ont constaté que les antioxydants naturels empêchaient l'oxydation des protéines, la peroxydation des lipides, la production des DROs, (dérivées oxygénées des radicaux libres) l'inflammation neuronale et la production des radicaux libres. Les antioxydants se révélaient être un outil efficace pour la compréhension des perturbations neuronales ainsi que des réactions radicalaires (Uttara et al., 2009).

8.2 Bénéfices attribués aux antioxydants

On résumait qu'une consommation élevée de fruits et légumes était associée à un plus faible risque de cancer, de maladies cardiovasculaires et de maladies neurodégénératives (Papavasiliou, 1999). Les effets protecteurs des fruits et légumes sont attribués à un large éventail de composés, notamment les antioxydants. Les défenses antioxydantes limitent les dommages causés par les oxydants et confèrent plusieurs fonctions destinées à combattre l'inflammation, les virus, l'hypercholestérolémie, le développement du cancer, la formation de tumeurs malignes, la production des mutations cellulaires et le déclin des fonctions cognitives (Vans den Berg et al., 2001).

9. Effets des antioxydants sur la santé

9.1 Traitement des maladies

Le cerveau est le principal vulnérable aux blessures oxydatives à cause de son taux de métabolisme élevé et sa richesse en lipides polyinsaturés qui ont fait de lui la cible de per oxydation lipidique (Reister, 1995). Conséquence, les antioxydants sont couramment utilisés comme médication pour traiter les différentes formes de blessures du cerveau. Ici, le dismutase super oxyde mimétique (Warner et al., 2004), sodium thiopental et propofol sont utilisés pour traiter les blessures, reperfusion des blessures traumatiques du cerveau, alors que des principes actifs expérimentaux (Lee et al., 2006) et (Yamaguchi et al., 1998) vont être appliqués dans le traitement de congestion. Ces composés apparaissent pour empêcher le stress oxydatif dans les neurones et prévenir l'apoptose et les dommages neurologiques. Les antioxydants vont aussi être utilisés comme traitement possible des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'ALZHEIMER, la maladie de PARKINSON (Matteo et Esposito, 2003).

9.2 Prévention des maladies

Les antioxydants peuvent supprimer les dégâts cellulaires des effets des radicaux libres (Sies, 1997), et ceux qui consomment des fruits et légumes qui sont de bonnes sources d'antioxydants ont un faible risque de développer le cancer, des maladies cardiaques et certaines maladies neurologiques (Stanner et al., 2004). Cette observation montre que les antioxydants peuvent aider à empêcher ces conditions. Il y a des preuves que les antioxydants peuvent empêcher des maladies comme la dégénérescence musculaire, supprimé l'immunité due à l'une des pauvres nutriments et de la neurodégénération (Bartlett et Esperjesi., 2003). Cependant en dépit du rôle clair du stress oxydatif dans les maladies cardiovasculaires, des études contrôlées utilisant des vitamines antioxydantes n'ont pas observé de réduction dans l'un ou l'autre, le risque de développer des

maladies cardiovasculaires, ou le taux de progression des maladies existantes. Cela suggère que d'autres substances dans les fruits et légumes (flavonoïdes) ou un complexe de mélange de substance peuvent contribuer à la meilleure santé cardiovasculaire de ceux qui consomment beaucoup de fruits et légumes (Lotito et Frei ,2006). On a pensé que l'oxydation des LDL dans le sang contribue à la maladie cardiaque, et des études d'observation ont trouvé que des gens prenant la vitamine E en supplément avaient un faible risque de développer une maladie cardiaque, conséquence, sept grands essais cliniques étaient conduites pour tester les effets des antioxydants en supplément avec la vitamine E, dans une gamme de doses de 50 à 600 mg/jours. Mais aucuns de ces essais n'a trouvé d'effets statistiquement significatifs de la vitamine E sur le nombre total de morts ou les morts dû à la maladie cardiaque. Il n'est pas clairement établi que les doses utilisées dans ces essais ou dans la plus part de suppléments alimentaires sont capables de produire une diminution significative du stress oxydatif (Vivekananthan et al., 2003). Alors que plusieurs essais avaient examiné les suppléments avec des doses élevées d'antioxydants, la « supplémentation en vitamine et minéraux antioxydants » (SU.VI.MAX) a testé l'effet de la supplémentation avec des doses comparables à celles d'une alimentation saine (bonne alimentation).

CHAPITRE 2

LES ANTIOXYDANTS

1. Introduction

Le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Shimizu . 2004).

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Dans l'organisme, la respiration cellulaire génère des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent être à l'origine de radicaux libres (Tanguy et Simon, 2009). Les radicaux libres en excès sont responsables de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN, et peuvent favoriser des maladies. À l'inverse, les antioxydants luttent contre le stress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire. Ils auraient donc un effet anti-âge (Halliwell ,1999).

Dans les aliments, le pouvoir antioxydant est mesuré par l'indice ORAC (pour Oxygen Radical Absorbance Capacity ou capacité d'absorption des radicaux libres). Les aliments ayant un indice ORAC élevé sont surtout des fruits et des légumes (kiwi, agrumes, pomme, fruits rouges, chou, épinard, carotte..) mais aussi d'autres aliments comme le chocolat, les épices, le vin rouge, les coquillages, le thé.

Certains compléments alimentaires proposent des produits riches en antioxydants. Des produits cosmétiques contiennent aussi des molécules antioxydantes pour lutter contre les effets du vieillissement sur la peau (Favier et al., 2003).

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydant. (Desmier ,2016).

Exemples de molécules antioxydantes :

Parmi les molécules antioxydantes, on trouve par exemple :

- des vitamines : E, C, A
- des minéraux : sélénium, zinc
- des molécules complexes : polyphénols, flavonoïdes, coenzyme Q10, caroténoïdes...
- des enzymes comme la glutathion peroxydase et la superoxyde dismutase (SOD) : dans l'organisme, ces enzymes jouent un rôle de protection antioxydante naturelle. La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine, ce qui explique l'importance du sélénium pour lutter contre les radicaux libres (Haleng et al., 2007).

2. Défense antioxydante

Un antioxydant est une substance présente en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable qui, de manière significative, retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat (Martín et al., 2015). Un bon antioxydant doit :

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres ;
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer ;
- Être rapidement absorbé ;
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques ;
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

Les antioxydants peuvent être classés selon leurs origines en deux classes : les antioxydants enzymatiques et les non enzymatiques localisés dans les compartiments intra et extracellulaires (Cano et al., 2006).

2.1 Système antioxydant endogène enzymatique

Les enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (Mika et al., 2004).

Le rôle majeur de la SOD est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. La catalase, essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La glutathion peroxydase (GPx) neutralise le peroxyde d'hydrogène en présence du glutathion.

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante : glutathion réductase, thioredoxine réductase, et glutathion transférase (Lubrano et Balzan, 2015).

2.1.1 La catalase (CAT)

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Sharma et al., 2012).



Cette enzyme est constituée de quatre chaînes polypeptidiques, comportant chacune un atome de fer sous forme ferrique (Fe^{3+}). Ces derniers constituent les sites actifs de cette enzyme (Menvielle-Bourg., 2005). 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)

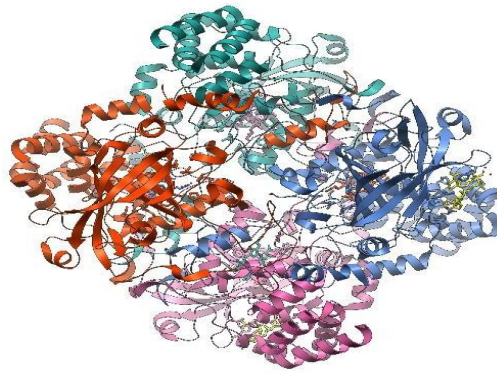


Figure 10. Structure tridimensionnelle de la catalase (Skotheim, 1986).

2.1.2 La superoxyde dismutase (SOD)

Est une protéine métallique possédant une activité enzymatique lui permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ en le transformant en peroxyde d'hydrogène (puther et al., 2016).



Il existe plusieurs SOD, elles diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans sa structure qui va (vont) permettre la liaison enzyme-ligand. Il est important de noter qu'il existe des SOD avec deux types de métaux qui pourront être du Cuivre, du Zinc, du Manganèse et/ou du Fer (Afonso et al., 2007).

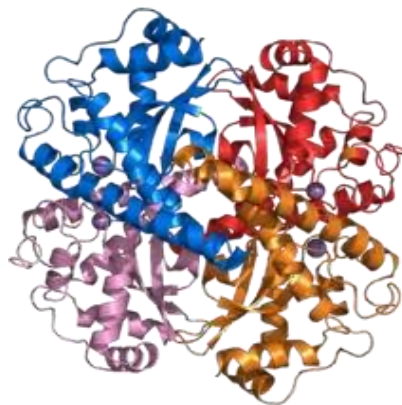


Figure 11. Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase (Moumen al.,1997)

Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire : la SOD1 cytosolique et la SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs (Cu/Zn-SOD), alors que la SOD2 mitochondriale utilise le manganèse (Mn-SOD) (Afonso et al.,2007).

2.1.3. La glutathion peroxydase (GSH-Px)

Est une enzyme à sélénium ayant la propriété de pouvoir catalyser la réduction des hydroxyperoxydes. Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries (Rahman et al., 2012).

Les GPx permettent la décomposition de H_2O_2 par l'oxydation de son co-substrat le glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) qui sera réduit par la suite par l'action de la glutathion réductase (Zerargui, 2015).

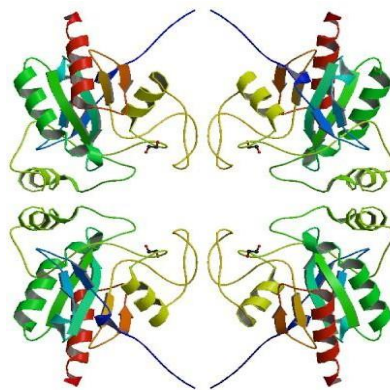


Figure 12. Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase (Lyons et al., 1990)

Elle est constituée de 4 sous-unités contenant chacune un atome de sélénium. Il existe 5 isoformes de cette enzyme variant suivant leur localisation dans l'organisme. Cette enzyme constitue la voie majeure de dégradation des hydroperoxydes. Cette fonction antioxydante est d'autant plus importante qu'elle joue un rôle essentiel avec les superoxydes dismutases et la vitamine E. Elle va donc assurer l'équilibre intra et extracellulaire de la balance pro-/antioxydants (Youdim K., et al., 2002).

La glutathion réductase ou GR réduit le glutathion oxydé en utilisant le NADPH (nicotinamide adénine dinucléotique phosphate, elle est donc nécessaire pour maintenir l'activité de GPx (William, 2013).

Il existe deux formes de GPx, La GPx dépendante du sélénium (GPx1, GPx2, GPx3 et GPx4), et la GPx indépendante du sélénium (l'absence de sélénium au niveau de leur site actif) GPx5 et GPx6 (Katiyar et al., 2001).

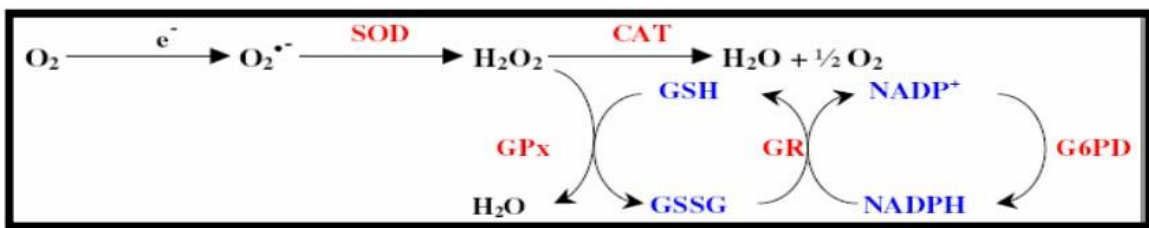
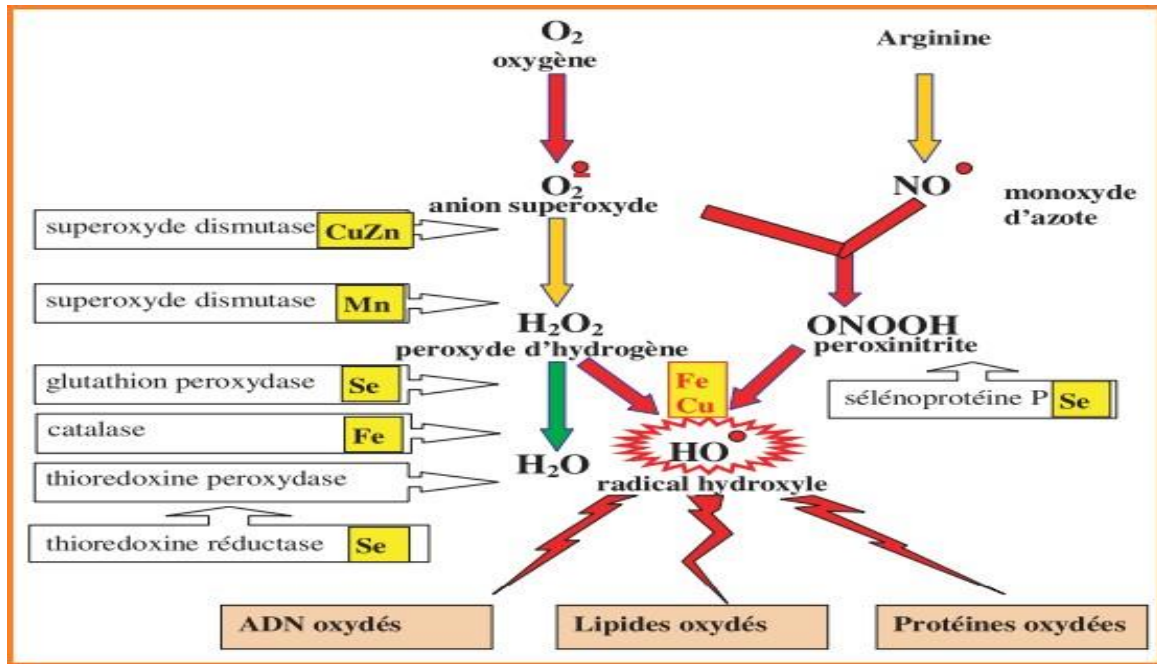


Figure 13. Le mode d’action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (favier, 2003).

2.2 Système antioxydant endogène non enzymatique

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion, largement présent sous forme réduite, capable de réagir, *in vitro*, avec les radicaux HO•, RO2•, RO•, IO2, ONOO• et l’acide hypochloreux HOCl.

Le glutathion est aussi capable de participer à l’activité enzymatique en détoxifiant le peroxyde d’hydrogène et d’autres hydroperoxydes (Pisoschi et Pop, 2015).

2.3 Système antioxydant exogène

Les antioxydants exogènes comprennent, principalement, les vitamines C et E, les caroténoïdes et les composés phénoliques (Berger., 2005).

2.3.1. La vitamine C

hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes et connue par son action protectrice de l'oxydation membranaire (Rodríguez-Roque et al., 2015). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée (AsC⁻) qui peut réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AsC[•]), stabilisée par résonance (Valko et al., 2016).

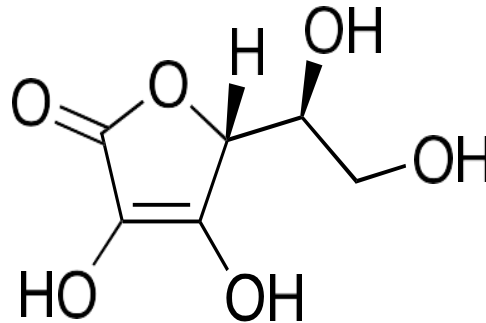


Figure 14. Structure chimique de la vitamine C (Diallo, 2005).

Toutefois la vitamine C est capable de piéger des radicaux libres mais son intérêt majeur en terme de pouvoir antioxydant réside en sa capacité à régénérer la vitamine E au sein de la membrane (Bossokpi, 2002).

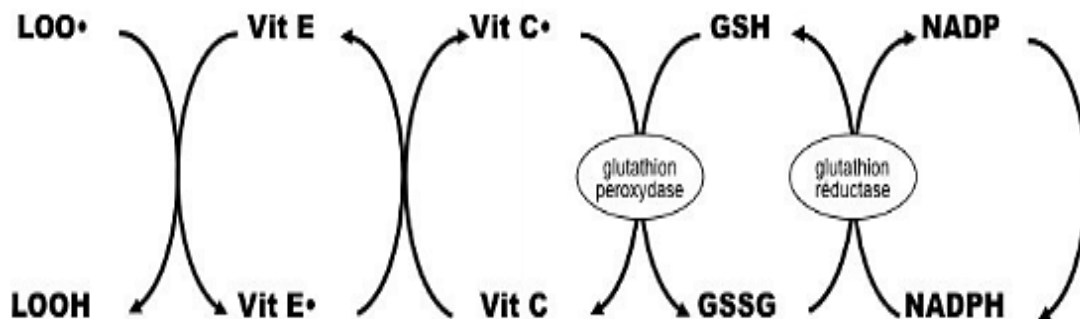


Figure 15. Schéma de régénération de la vitamine E à partir de la vitamine C (Bossokpi, 2002).

2.3.2 La vitamine E

antioxydant liposoluble, se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides constituant les membranes et les lipoprotéines (Lopez et al., 2005). Le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux peroxydes lipidiques RO₂[•] qui propagent les chaînes de peroxydation. La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice, celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical α-tocophéryle, tandis que le radical peroxyde est réduit en une molécule d'hydroperoxyde (Gardès-Albert et al., 2003).

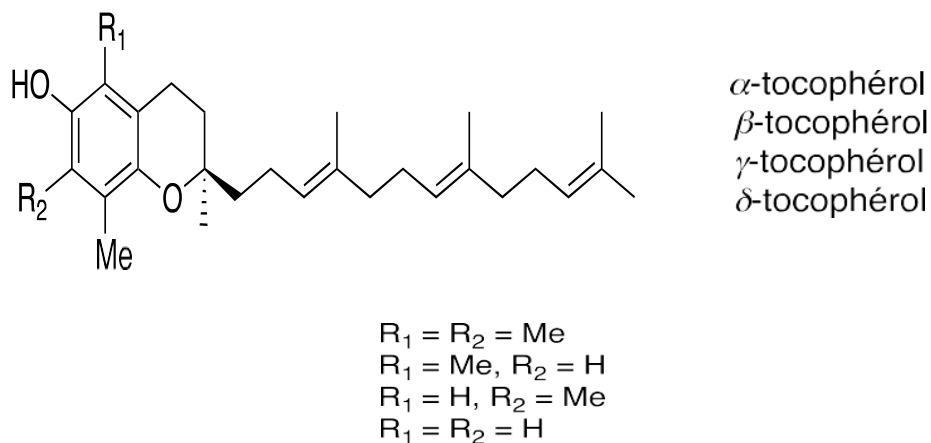


Figure 16. Structure chimiques des vitamines E (Defraigne et al., 2007).

L' α -tocopherol est considéré comme un antioxydant de référence servant d'étalon pour les nouvelles molécules que l'on souhaite évaluer comme antioxydants (Barus, 2008).

2.3.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments importants des plantes qui contiennent des doubles liaisons conjuguées. Leur activité antioxydante est due à la capacité de ces doubles liaisons à délocaliser les électrons non-appariés, à éliminer l'oxygène singulet et à réagir avec les radicaux libres (Rahman, 2007).

Concernant les polyphénols sont les antioxydants les plus répandus dans notre alimentation et en particulier, les flavonoïdes, de nombreux travaux leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives issues de l'oxygène et impliqués dans l'oxydation des lipides, des protéines et des acides nucléiques (ADN, ARN). Cette action, largement étudiée, est citée comme une clé pour la prévention des maladies chroniques directement liées avec le stress oxydatif tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neuro-dégénératives et le vieillissement (Nibir et al., 2017).

2.3.4. La vitamine A

Est une vitamine liposoluble que l'on retrouve en grande quantité dans l'organisme surtout au niveau du foie, son lieu de stockage principal. On distingue deux groupes, à savoir les rétinoïdes (rétinol, trétinoïne...) et les provitamines A (principalement les α - et β - carotènes) (desmier et al., 2016).

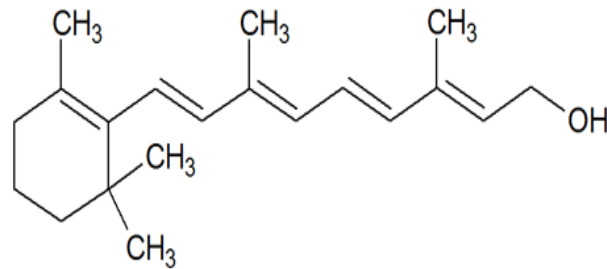


Figure 17. Structure chimique de vitamine A (Flora et al., 2008).

-Les rétinoïdes vont se retrouver dans les aliments d'origine animale (œufs, lait, viande...). Les provitamines A sont essentiellement contenues dans les végétaux et plus particulièrement la carotte, la citrouille et la patate douce (Richard, 2013).

Même en l'absence de liaison OH, le β - carotène est un bon antioxydant naturel. Son activité s'explique en partie par ses propriétés lipophiles lui permettant de traverser les membranes cellulaires et en partie par son système π -conjugué permettant d'interagir avec les radicaux libres pour former des adduits (Stahl et Sies, 2002).

-Le β - carotène peut agir comme un inhibiteur de la peroxydation lipidique uniquement à une faible pression partielle en O₂. Il peut être oxydé tout comme un acide gras et ainsi avoir un effet pro-oxydant (Flora et al., 2008)

Le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace. Sa constitution polyiénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour. Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (Bossokpi et al., 2002).

2.4 Autre antioxydants

2.4.1. Les oligo-éléments

Se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme (Higuchi, 2014). L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial. En effet, ils n'agissent pas directement contre les ROS, mais ils sont nécessaires aux enzymes décrites précédemment. Un apport excessif en oligo-éléments peut entraîner de sérieux dysfonctionnements (desmier, 2016)

➤ Le sélénium (Se)

Est un oligo-élément constituant des sélénoprotéines dont fait partie le principal antioxydant intracellulaire, la glutathion peroxydase (Favier et al., 1995). On le retrouve notamment dans le bœuf et le poisson. Il joue également le rôle de détoxification des métaux lourds comme le cadmium (Rollin, 2002).

➤ Le cuivre (Cu)

Est un des cofacteurs essentiels de la SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé (Dusek et al., 2015). On retrouve le cuivre surtout dans le foie, les huîtres et le chocolat noir. Néanmoins, il joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ROS par ses propriétés de métal de transition, tout comme le fer. Une concentration importante en cuivre pourra être le révélateur d'un stress oxydant (Laliberte et al., 2008). Au cours du processus de vieillissement, la concentration sérique en cuivre est amenée à augmenter. En d'autres termes, cet élément peut jouer à la fois le rôle de protecteur ou d'initiateur (Dusek et al., 2015).

➤ Le zinc (Zn)

Est un cofacteur de la SOD. On retrouve le zinc dans les huîtres, le foie de veau et la viande de bœuf. Le zinc a également comme fonction de protéger le groupement thiol des protéines. De plus, il peut lutter contre la formation des ROS induite par le fer ou le cuivre. Ainsi l'analyse du rapport des taux sanguins Cuivre/ Zinc permet d'évaluer le stress oxydant d'un individu donné (Chappuis et Favier, 1995). Il semblerait que les personnes atteintes de maladies dégénératives aient un rapport Cuivre/Zinc plus élevé que la moyenne. De plus, une carence en zinc est souvent liée à un stress oxydant plus important et à l'apparition de pathologies chroniques (Favier et al., 1995).

3. Origines des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en deux catégories avec :

- les enzymes antioxydantes directement synthétisées par l'organisme.

- les nutriments antioxydants dont les apports sont nécessaires par l'alimentation.

Cette dernière classe d'antioxydants nous intéresse particulièrement puisque nous verrons s'il est possible de renforcer les défenses de l'organisme en augmentant les apports exogènes de ces différentes molécules (Pastre, 2005).

Tableau 2. Les deux types de protections antioxydants de l'organisme (Machlin et al., 1987)

Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes	Systèmes antioxydants d'origine alimentaire
Superoxyde dismutase	Vitamine E
Glutathion peroxydase	Vitamine C
Catalase(s)	Taurine
Lipases, protéases, endonucléases	Caroténoïdes (lycopène, lutéine...)
(éliminent les molécules oxydées)	Polyphénols
	Minéraux et oligo-éléments

4. La localisation des antioxydants

4.1 Localisations alimentaires

On trouve principalement les antioxydants dans les fruits et légumes. Les antioxydants sont présents dans de nombreux aliments que nous consommons quotidiennement (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Tableau 3. principaux groupes d'antioxydants et sources alimentaires associées (Koechlin, 2006).

Groupes principaux	Exemple d'antioxydants	Aliments
Vitamines	Vitamine A	Foie, thon, beurre, fromage, œuf, laitages
	Vitamine E	Huiles végétales, amandes, noix, noisettes, brocoli, épinard, avocat, asperge, crevette, crabe
	Vitamine C	Agrumes (citron, orange, pamplemousse...), cassis, fraises, melon, persil, kiwi, poivron, brocoli
Caroténoïdes	Béta-carotène	Carotte, persil, abricot, poivron, orange, épinards
	Lycopènes	Tomates, papaye, abricot, goyave, melon
	Lutéine et zéaxanthine	Brocolis, épinards, chou vert, maïs, poivron rouge, pois verts, kaki, navet, laitue, courgette
Polyphénols	Acides phénoliques	Café, fruits
	Flavonoïdes	Chocolat, légumes (persil, chou, laitue, endive, poireau), fruits (orange, cerise, cassis, mûre, myrtilles), huile de pépin de raisin, thé
	Tanins	Lentilles, thé, raisin

4.2. Localisations cellulaires des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être classés en molécules liposolubles ou hydrosolubles. Selon leurs caractéristiques physico-chimiques, ils auront une localisation cellulaire préférentielle : les membranes cellulaires pour les substances liposolubles et le cytosol et/ou le milieu extracellulaire pour les substances hydrosolubles. Ils seront particulièrement efficaces sur les radicaux libres présents dans chaque type de milieu (Machlin et al., 1987).

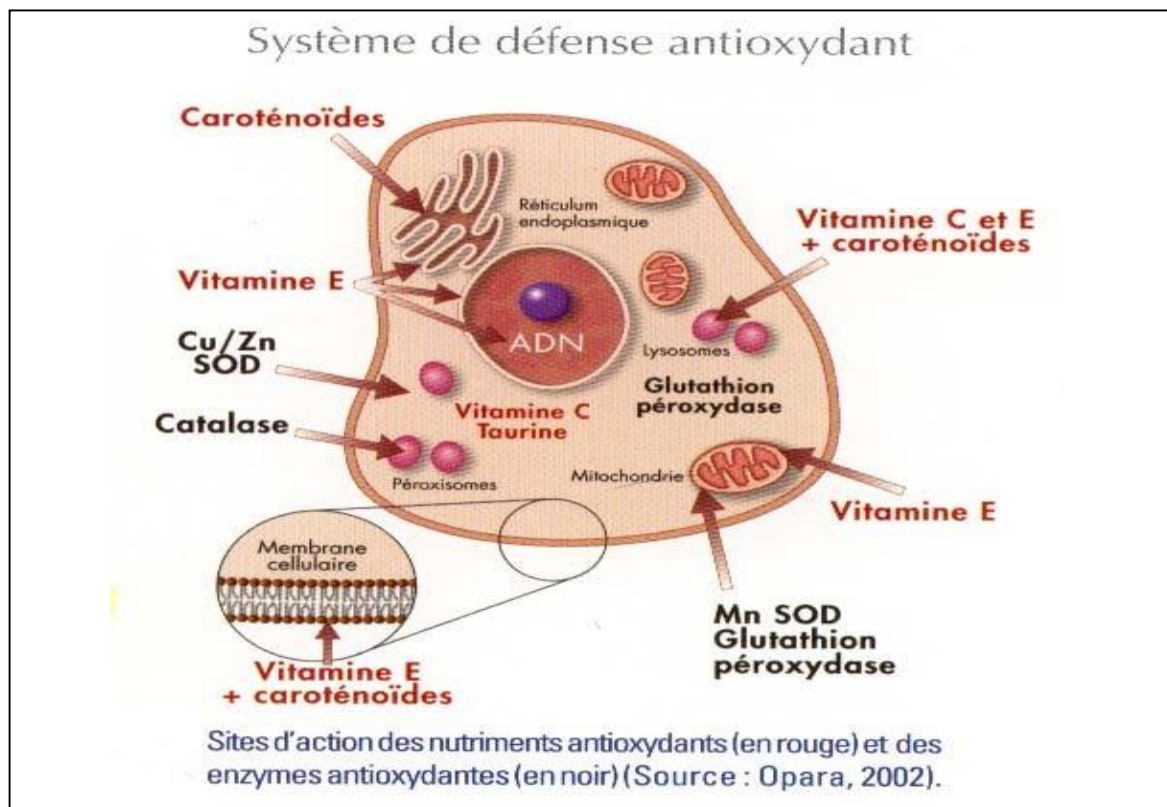


Figure 18. Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir)(Opara ,2002).

5. Le Mode d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

- Système de défense primaire : comme la catalase, le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation.
- Système de défense secondaire : à titre d'exemple les tocophérols, sont capables de piéger directement les radicaux oxydants et sont ainsi des antioxydants «briseurs» de la chaîne radicalaire bloquant ainsi les réactions de propagation (Buettner, 1993).

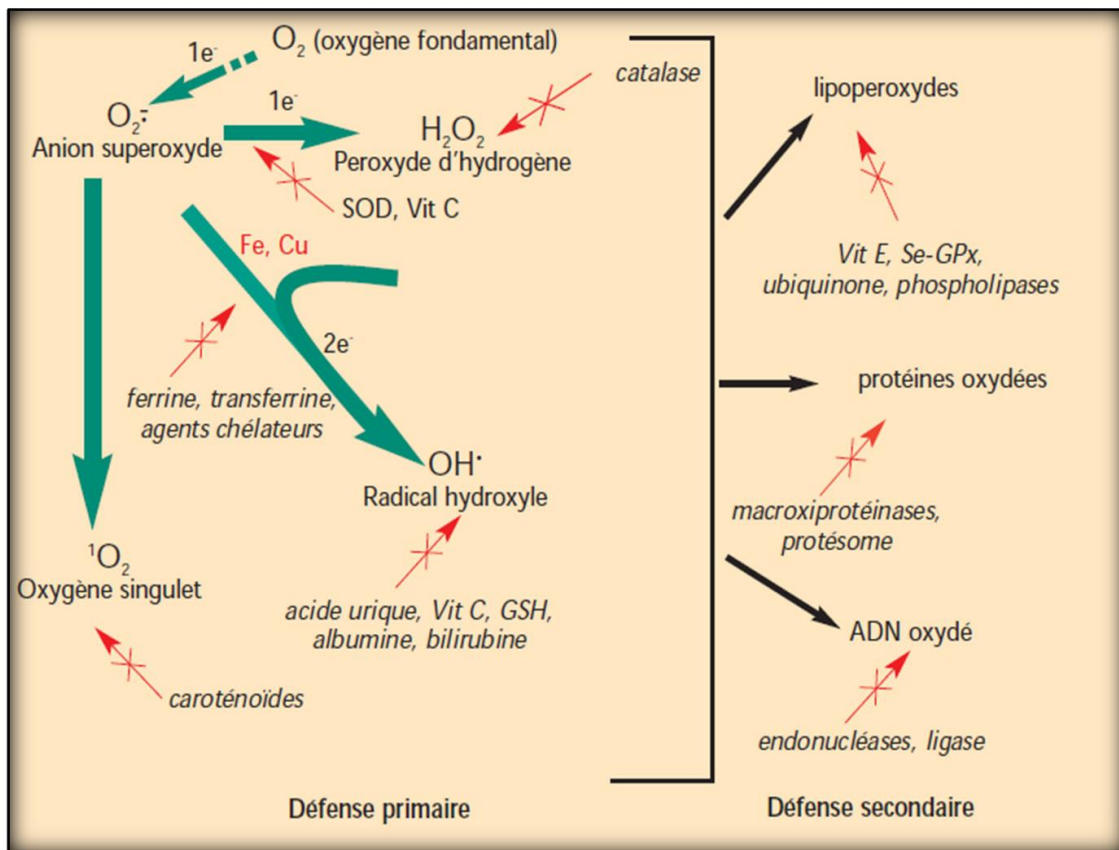


Figure 19. Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire (Pincemail , 2001).

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (Kinsky, 1989). La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ainsi, la vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes, les ascorbates réductases (Packer ,1991). Ce type d'antioxydant est appelé piégeur ou éboueur (« scavenger » pour les Anglo-saxons). De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes, phytates (Bors et al., 1990). Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO (Favier et al.,2003).

L'autre stratégie utilisée est de nature enzymatique, Toutes les cellules aérobies contiennent un éventail d'antioxydants chimiques et enzymatiques. Différentes enzymes participent aux systèmes de défense antioxydante, en particulier les superoxydes-dismutases (SOD), la catalase (CAT), les glutathion-peroxydases (GSHpx) et la glutathion-réductase (GSHr) (Ighodaro et Akinloye, 2017).. Ces enzymes interviennent dans des réactions neutralisant l'effet des radicaux libres comme l'anion superoxyde (O^{2-}), les radicaux hydroxyles (OHo), et les produits de peroxydation lipidique (radicaux hydroperoxydes ROOH) générés par l'oxydation des lipides polyinsaturés des membranes cellulaires. Les SOD catalysent la dismutation de O^{2-} en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La CAT catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau. La réaction de Haber-Weiss ne peut se produire que s'il y a du fer ferrique disponible (Fe^{3-}), qui est transformé en fer ferreux (Fe^{2-}) en présence de O^{2-} (penna et al., 2009). Les GSHpx réduisent les peroxydes (ROOH) en alcool, et le glutathion (GSH) est oxydé (GSSG) (Kehrler JP et al.,1994)

Les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, formant avec deux superoxydes une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (Mariani et al.,2002).

Les superoxydes dismutases existent sous plusieurs isoformes dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution, formant un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde (Zelko et al.,2002).

Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD). Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer, présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques, et les glutathions peroxydases à cofacteur sélénium (Ganthe et al.,1999) .

Des glutathions peroxydases à sélénium existent dans le cytosol (cGPX) dans le plasma (pGPx), au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx), et une isoenzyme est spécifique des cellules digestives (GIGPx). Ces enzymes sont sans doute le principal système de protection car elles détruisent non seulement H_2O_2 , mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol. L'activité de ces enzymes est très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium (Mariani et Folz, 2002).

Le rôle des SOD et des peroxydases est complémentaire car une bonne protection ne peut être obtenue par les superoxydes dismutases seules. Il existe de nombreuses autres enzymes

antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxines réductases ou les thioredoxines peroxydases (Mariani et al., 2002). La plupart des enzymes décrites ci-dessus, de même que les enzymes de réparation des dommages oxydants, vont utiliser un donneur d'équivalent réducteur, le NADPH, qui constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante. La production d'énergie ne semble pas ici en elle-même capitale (la diminution de l'ATP facilitant même la formation du NADPH) (Favier et al., 2003).

Tableau 4. Les principaux modes d'action de quelques antioxydants (Justine et al., 2005)

	Nature	Mode d'action
Défenses non enzymatiques	- Vitamine E	
	- Vitamine C	
	- Bêta carotène	Fixation des métaux de transition
	- Ubiquinone, Acide urique...	
Défenses enzymatiques	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$
	Catalase	Métabolise le H_2O_2
	Glutathion peroxydase	Réduction de H_2O_2 et les HO_2^{\cdot}

6. le rôle et bienfaits des antioxydants

Les antioxydants permettent de diminuer le risque de survenue de nombreuses pathologies. Les antioxydants permettent de protéger notre organisme contre les radicaux libres et ainsi, ils permettent la prévention de nombreuses maladies.

Tableau 5. Rôles de quelques principaux nutriments antioxydants (Monteleone et Sherman, 1997)

Nutriments	Rôles	Commentaires
Vitamine C (acide ascorbique)	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxydant hydrosoluble • Neutralise O^{-2} • Régénère la vitamine E oxydée • Présent dans les neutrophiles et les lymphocytes 	<ul style="list-style-type: none"> • L'homme ne peut pas synthétiser la vitamine C
Vitamine E (alpha-tocophérol)	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxydant liposoluble • Réagit avec les radicaux peroxydes pour stopper la peroxydation des lipides contenus dans les membranes 	<ul style="list-style-type: none"> • Le niveau de vitamine E dans les aliments est lié au taux de graisse insaturée
Bêta-carotène, lycopène et autres caroténoïdes	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxydants liposolubles • Réagit avec les radicaux libres peroxydes, diminue la peroxydation lipidique • Neutralise O^{-2} • Régule la croissance des cellules cancéreuses (à travers l'effet de la vitamine A) 	<ul style="list-style-type: none"> • L'effet antioxydant des caroténoïdes peut être plus important pour les maladies pulmonaires liées à l'environnement que leur effet provitamine A
Sélénium	<ul style="list-style-type: none"> • Cofacteur de la glutathion-péroxydase, qui réduit les peroxydes lipidiques et d'hydrogène • Détoxication des métaux lourds • Rôle dans la réparation de l'ADN 	<ul style="list-style-type: none"> • Les aliments cultivés sur des sols pauvres en sélénium peuvent contribuer à la déficience en sélénium • Les vitamines C, E et A augmentent l'absorption du sélénium • Le mercure et les autres métaux lourds inhibent l'absorption du sélénium

7. Antioxydants dans l'alimentation

7.1 Fruits et légumes et couverture des besoins nutritionnels

Les fruits et légumes apportent dans notre alimentation quotidienne des fibres, des vitamines, des minéraux, dont les apports nutritionnels conseillés ont été établis. Ils renferment aussi une grande variété de composés, dépourvus de valeur nutritionnelle. Ces composés appartiennent à différentes familles : les polyphénols, les caroténoïdes (en dehors des caroténoïdes provitaminiques A) comme le lycopène ou la lutéine, les composés soufrés (glucosinolates et sulfures d'allyle) et les phytostérols. Aujourd'hui, il n'existe pas d'ANC pour ces microconstituants, même si beaucoup de travaux établissent qu'ils pourraient avoir également un effet préventif sur notre santé (Marie-Jo et al., 2008)

Tableau 6. Principaux constituants antioxydants d'intérêt nutritionnel des fruits et légumes (Pascale et al., 2007)

Composé	Nature	Effet biologique	Recommandation	F&L riches [autres aliments riches en ces nutriments]
Caroténoïdes pro-vitamine A (α - et β -carotènes)	pigments liposolubles	Vitamine A : dans la vision + autres (embryogenèse, croissance...)	Vitamine A : ANC = 900-700 μ g ER pour homme-femme	fruits et légumes de couleur orange, légumes feuilles [produits animaux]
Vitamine C	Hydrosoluble	antioxydant et cofacteur dans hydroxylation	ANC = 110 mg/j	fruits frais agrumes et jus d'agrumes
Polyphénols	Grande diversité de structures composées de plusieurs noyaux phénoliques (différentes classes : acides phénoliques, flavonoïdes, tannins)	antioxydants (seuls ou en synergie) € protecteurs probables / maladies cardiovasculaires (flavonoïdes)	pas d'ANC	fruits (petits fruits rouges), légumes (artichaut, chou) [café, thé, céréales]

CHAPITRE 3

LES POLYPHENOLS STRUCTURES ET PROPRIETES

1. Introduction

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Akowauh et al., 2004).. Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Aarabi et al., 2004 ; Dai et Mumper, 2010).

Le terme « polyphénol » désigne l'ensemble des composés phénoliques des végétaux (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).

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit. (Beta et al., 2005).

Les polyphénols présentent des activités antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Bidie et al., 2011). Ces activités sont attribuées en partie à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{HO}\bullet$) et superoxyde ($\text{O}_2\bullet^-$) mais aussi à leur affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs (bloor, 2001). Dans la première partie de ce chapitre, nous présenterons les différentes classes de polyphénols ainsi que leurs propriétés chimiques et les réactions qui peuvent influencer sur leur stabilité. Ceci sera suivi, dans une deuxième partie, par un rappel bibliographique de leur activité antioxydante (piégeurs des radicaux libres) mais aussi de leur activité pro-oxydante éventuelle (Gomez et al., 2006).

2. Structures et Classification des polyphénols

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient (Barboni et al., 2006).

On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (Boros,2010). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux. Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes.

- Les phénols simples (C6): un seul noyau phénol comme pour les acidesphénoliques (C6–C1).
- Les flavonoïdes (C6-C3–C6): 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycleoxygéné.
- Les tanins hydrolysable et non-hydrolysable.
- Les stilbènes (C6–C2–C6).
- Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane.
- Autres phytoestrogènes
- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols (Paraskevi, Moutsatsou, 2007). Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates,qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (Dacosta, 2003).

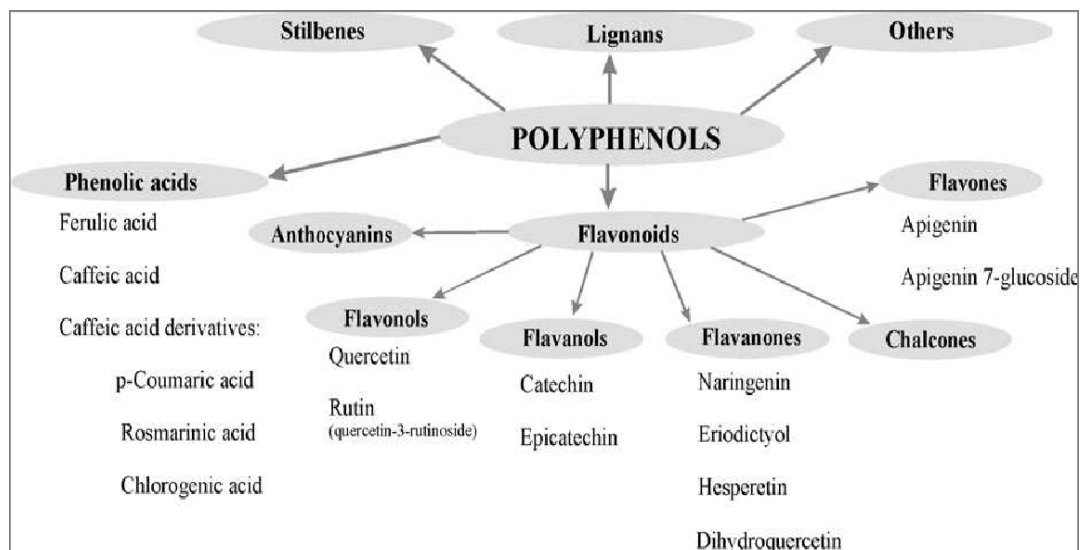


Figure 20. Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe(Boros et al., 2010)

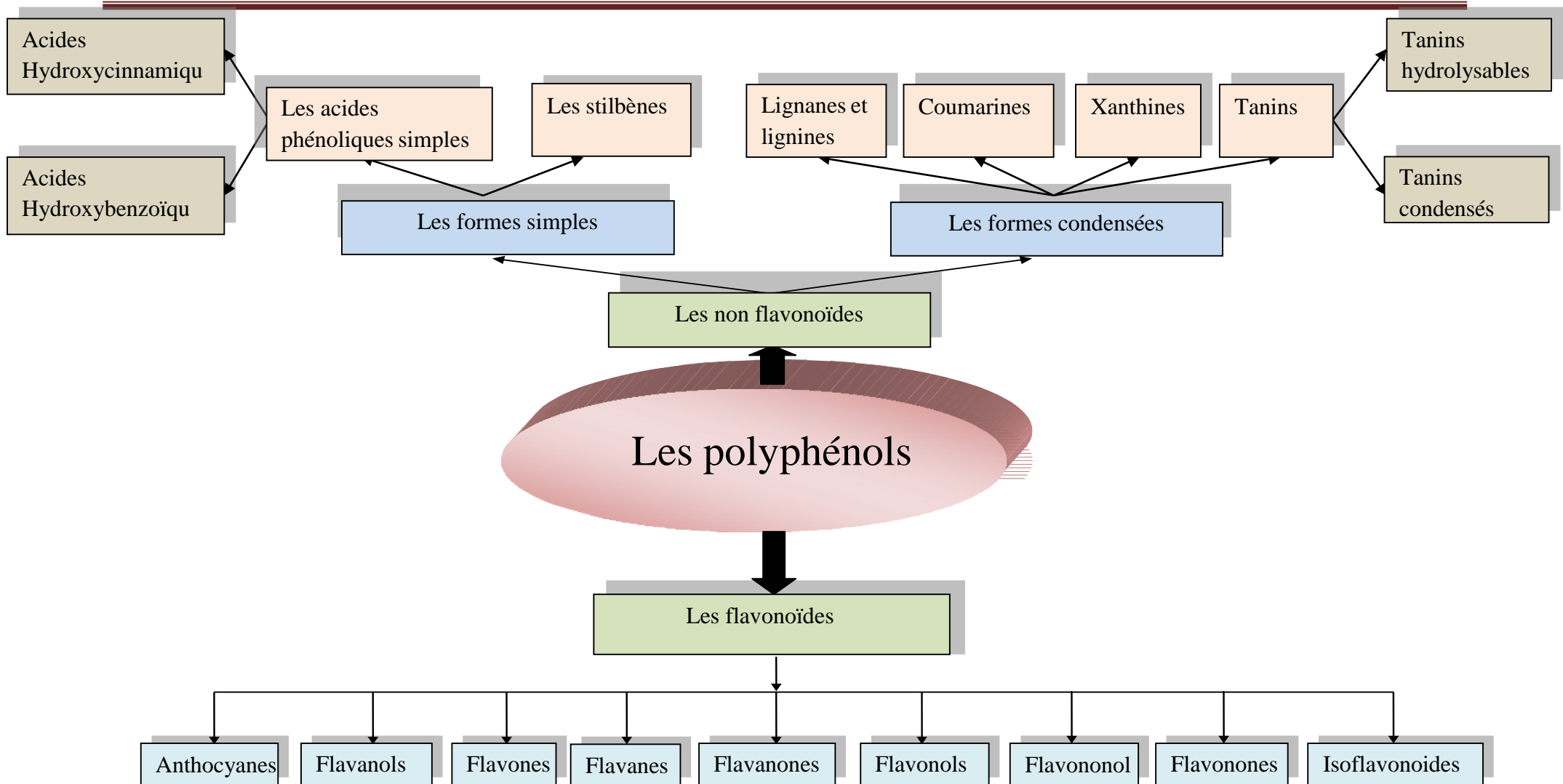


Figure 21. Diagramme de classification des polyphénols (Kumar et al., 2015)

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Hanasaki et al., 1994).

2.1. Les acides phénoliques (non flavonoïdes)

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires aromatiques, largement répartis dans l'ensemble de la plante, mais qui sont particulièrement abondants dans les fruits acides. Ce sont les métabolites les plus abondants dans les aliments en plus des flavonoïdes. Le terme acide phénolique désigne en général les phénols possédant une seule fonction carboxylique acide (Stalikas et al., 2007). Cependant, en ce qui concerne les métabolites végétaux, il s'agit d'un groupe distinct d'acides organiques. Ces acides phénoliques naturels contiennent deux structures de carbone représentatives et distinctives : les structures hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques. Bien que le squelette de base reste le même, les nombres et les positions des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique font la différence et établissent la variété des structures et de composés (Kumar et al., 2014). Les acides phénolique sont rarement présents à l'état libre, mais ils sont en général combinés à d'autres molécules organiques (Macheix et al., 2005).

➤ 2.1.1. Les acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

Les acides hydroxybenzoïques ont une structure courante de type (C6-C1), ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides. Ils sont particulièrement bien représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes (Milenkovic et Kaur, 2014).

La structure de base de l'acide hydroxybenzoïque et les principaux composés dérivés de cette structure sont indiqués dans la figure ci-après.

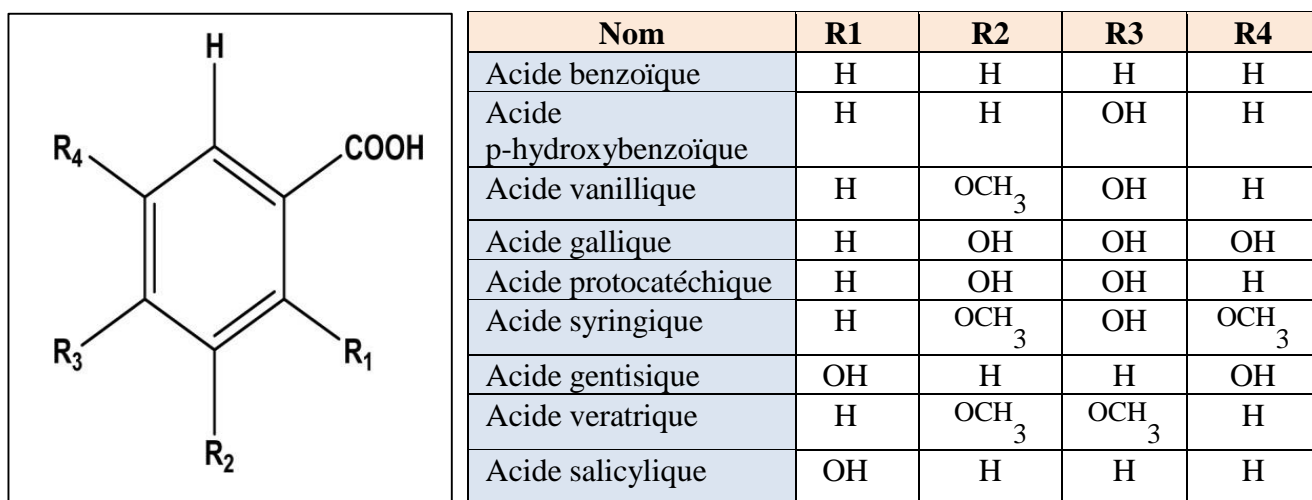


Figure 22. Structure de l'acide hydroxybenzoïque et quelques dérivés (Dykes et al., 2006).



➤ 2.1.2 les acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

Les acides hydroxycinnamiques sont des composés aromatiques avec une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (telle que la méthylation), sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules (Macheix et al., 2005).

Les acides hydroxycinnamiques sont naturellement présents associés avec diverses molécules, provenant de voies métaboliques différentes. On les trouve sous forme (Dai ,2010).

- d'esters avec des acides-alcools, dont le plus commun est l'acide quinique. L'acide 5-caféoylquinique est l'acide chlorogénique, composé très répandu dans le règne végétal et l'alimentation;
- d'esters glycosidiques (sucres liés à la fonction acide);
- d'hétérosides (sucres liés à la fonction phénolique).

La figure ci-après, représente la structure de base de l'acide hydroxycinnamique et quelques dérivés (Dykes et ronney, 2006).

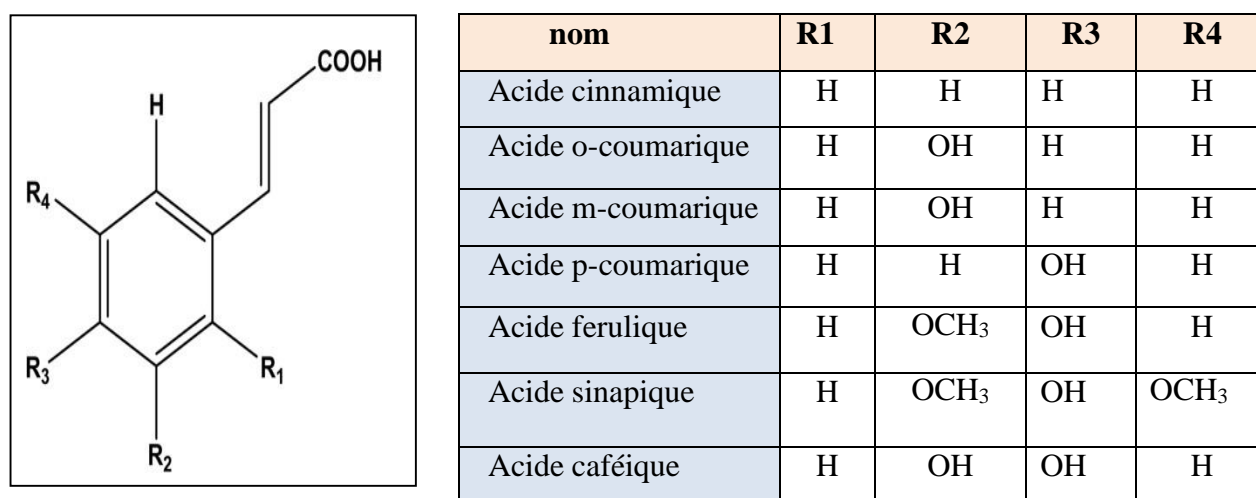


Figure 23. Structure de l'acide hydroxycinnamique et quelques dérivés (Stalikas et al., 2007).

2.2. Les flavonoïdes

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 (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes constituent un grand groupe de composés phénoliques bioactifs, végétaux, les plus importants et les plus abondants des produits naturels diététiques. Ce sont les pigments les



plus fréquents à côté de la chlorophylle et des caroténoïdes (Pavithra et al., 2013).

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (Harborne et al., 1988)

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).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Bruneton , 1999).

2.2.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire, ayant une structure phényl benzopyrone (Liu et al., 2008).

La structure de base des flavonoïdes est le noyau flavane, qui comprend 15 atomes de carbone disposés dans une configuration caractéristique C6-C3-C6 (Mraihi et al., 2015). Cette structure est représentée par deux cycles benzéniques (C6), étiquetés A et B, unis par une chaîne linéaire à trois atomes de carbone (C3) sous forme d'un noyau hétérocyclique oxygéné (Kumar et al., 2014). Le premier cycle benzénique (A) est condensé avec le sixième carbone du troisième cycle (C), qui porte en position 2 un groupe phényle (B) en tant que substituant (Nakajima et al., 2014).

Les flavonoïdes sont hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et / ou 5'. Souvent, un ou plusieurs de ces groupes hydroxyle sont méthylés, acétylé ou sulfaté. Dans les plantes et à l'exception des leucoanthocyanines, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme des glycosides O ou C, ils sont dits des flavonoïdes glycosylés (Maruti et Liu et al., 2008). Les substituants glucidiques comprennent : le D-glucose, le L-rhamnose, le galactose et l'arabinose. Lorsque le flavonoïde est exempt de glucides, la structure s'appelle aglycone (Mraihi et al., 2015).



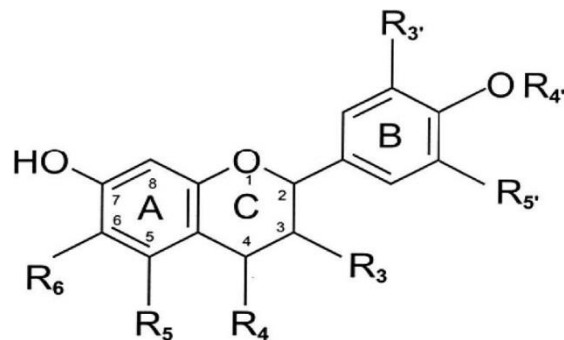


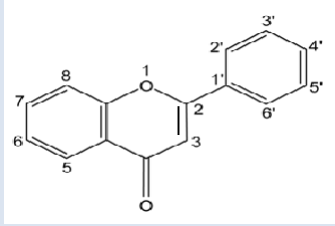
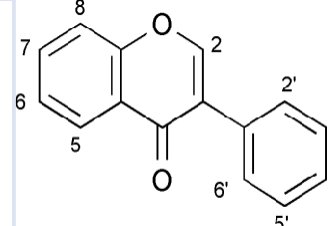
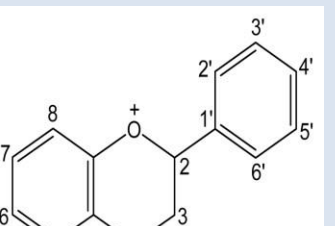
Figure 24. Structure de base des flavonoïdes (Damian et al., 2016).

2.2.2. Les différentes classes des flavonoïdes

Selon la structure et l'état d'oxydation du noyau central C, les flavonoïdes comprennent les classes suivantes : les flavanones, les flavones, les flavanols (catéchines), les flavonols, les flavanonols, les isoflavones, et les anthocyanines (Arrabi et al., 2004).

Tableau 7. les principales caractéristiques et les sources alimentaires des différentes classes des flavonoïdes (Albuquerque et al., 2013 ; Kumar et al., 2014).

Structure chimique	Caractéristiques	Exemple	Source principale
<p>Les flavanones</p>	<p>Absence de la double liaison entre C2 et C3, Ils sont glycosylés soit par du rutinoside (6-O-α-L-rhamnosyl –D-glucose) soit par la néohesperidose (2-O-α-L-rhamnosyl-D-glucose) liés en position 7</p>	<p>-Naringénine; -Naringine; -Hesperitine ; -Hesperidine ; -Eriodictyol :</p>	<p>Ecorce d'agrumes Agrumes, raisin</p>
<p>Flavonols</p>	<p>Les plus répandus et les plus diversifiés structurellement, se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison entre C2-C3, Ils existent sous forme d'aglycones ou d'hétérosides, structure similaire à celle des flavones avec un hydroxyle en position C3 du noyau pyrone C, s'accumulent dans les tissus extérieurs et aériens (peau et feuilles)</p>	<p>-Quercétine ; -Kaempferol ; -Galangine ; -Fisetine ; -Myricétine ; -Sorhamnetine.</p>	<p>brocoli, thé, tomate, oignon, épinard, chou, brocoli, baies laitue, pomme, raisin et peaux des fruits.</p>
<p>Flavan 3 ols ou Flavanols</p>	<p>Flavonoïde le plus complexe, souvent appelés catéchines. Leur structure diffère de la plupart des flavonoïdes : il n'y a pas de double liaison entre C2 et C3 et pas de carbonyle C4 dans le cycle C. L'hydroxylation en C3 permet au flavanols d'avoir deux centres chiraux sur la molécule (sur C2 et C3) donc quatre diastéréoisomères possibles.</p>	<p>-(+) Catéchine ; -(-) Catéchine ; - (+)Epicatechine -(-)Epicatechine.</p>	<p>Chocolat, et fruits, thé vert</p>

Structure chimique	Caractéristiques	Exemple	Source principale
<p>Flavones</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Les plus ré pondus et les plus diversifiés structurellement -Groupe phényl B comme substituant en position 2 du noyau pyrone C -Présence de double liaison entre C2 et C3 et une fonction oxo en C4. 	<ul style="list-style-type: none"> -Chry sine ; -Apgenine, -luteoline ; -Chry sine ; -Eupaline ; -Balcalin. 	<p>Graine de céréales, persil, thym, tisane, pommes, thé, cerise, céleri, raisins, haricots, brocolis, poireaux, oignons, et tomate.</p>
<p>Isoflavones</p> 	<p>Rencontrés sous forme d'aglycones ou de glycosides, la structure des isoflavones diffère des flavones en localisation du groupe phényl (cycle B), car il est substitué à la position C3 du cycle pyrone (noyau C).</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Genisteine; -Genistine; -Daidzeine; -Daidzine; -Ononine. 	<p>Les légumes, y compris le soja, les haricots verts et les pois chiches. Les germes de luzerne et de trèfle, les graines de tournesol.</p>
<p>Les anthocyanines</p> 	<p>les antioxydants puissants, structures caractérisée par le noyau flavone avec différentes substitutions d'hydroxyle ou de méthoxyle, apparaissent principalement dans les fruits mais aussi dans les feuilles et les racines sous forme de glycosides, ce sont des pigments hydrosolubles présents uniquement dans le cytoplasme des plantes terrestres.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Cyanidine; -Cyanine; -Peonidine; -Delphinidine; Pelargonidine; -Malvidine; -Delphinidine. 	<p>Raisin rouge, Pommes, grains d'orge baies (fraise, cassis, mûres. ...) fraises, framboises, prunes rouges, et agrumes.</p>

Les flavonoïdes sont divisés en différentes classes suivant la position des cycles B et C, le degré de saturation, d'oxydation et d'hydroxylation du cycle C. Tandis que le type de substitution sur les cycles A et B donnent naissance aux différents composés de la même classe de flavonoïdes (Pietta, 2000).

2.3. Les tanins

Ce sont des composés phénoliques hydrosolubles, capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter (Silanikove et al., 2001). Leur poids moléculaire est compris entre 5000 et 3000 Daltons (Bruneton., 2008).

Ils sont caractérisés par leur capacité antioxydante et leur propriété thérapeutique, ces molécules permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections, aussi traiter la diarrhée ou les irritations cutanées (Achille, 1980).

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).

Les structures chimiques des Tanins sont variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes (Dahmani, 2013).

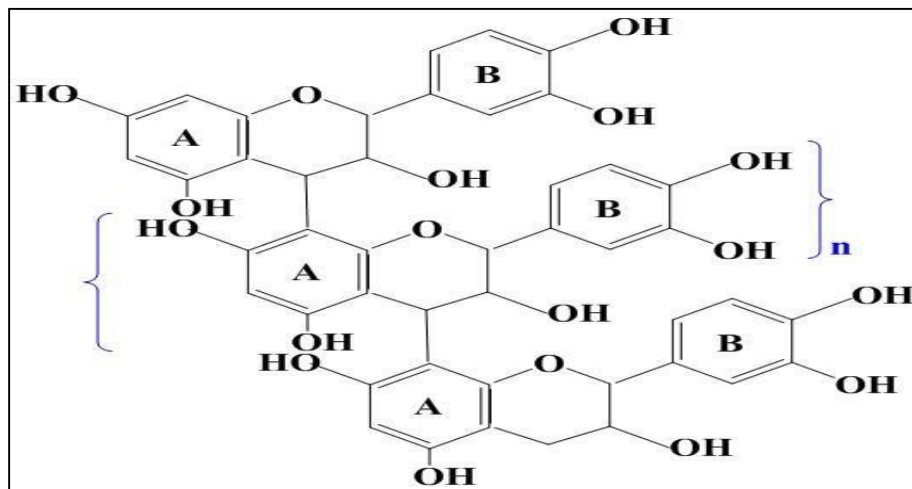


Figure 25. Structure de base des tanins (Dahmani, 2013).

2.3.1. Les tanins hydrolysables

Sont des oligoesters ou des polyesters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable d'acide phénol (acide gallique dans le cas des gallotanins soit l'acide éllagique dans le cas des tanins classiquement dénommés éllagitanins). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Bruneton, 2009).

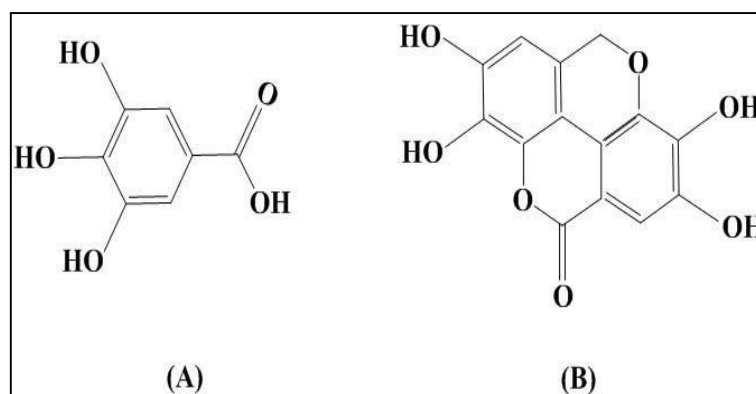


Figure 26. Structure chimique des acides gallique (A) et éllagique (B) (Bruneton, 2009).

2.3.2. Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes (Sereme et al., 2011), et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (Rira, 2019)

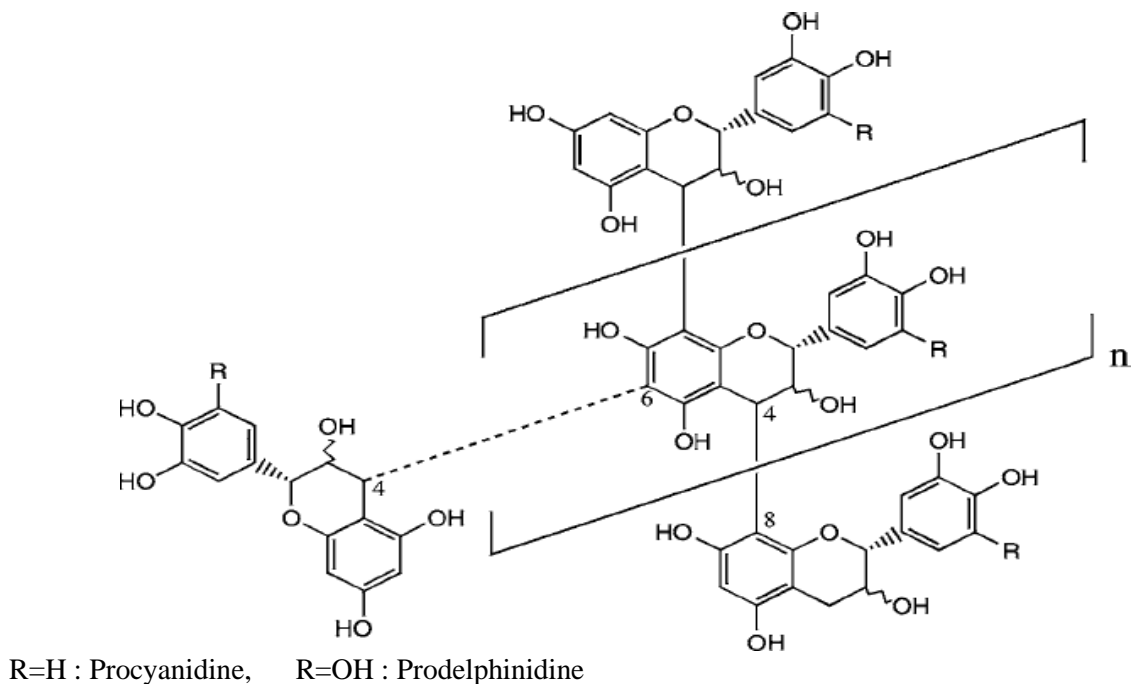


Figure 27. Structure de base des tanins condensés (Scholfield et al., 2001).

2.4. Les lignanes

Les lignanes sont un groupe de diphenols (deux unités de phenylpropane), relativement simples, ayant une structure de 2,3-dibenzylbutane, qui est formée par la dimérisation de deux résidus d'acide cinnamique (Keerthi et Kumar ,2014). Ce sont des composés mineurs non nutritifs et non caloriques, associés aux fibres alimentaires et se sont révélés produire des effets physiologiques importants. Ils sont produits dans une grande variété d'aliments végétaux, principalement dans les graines oléagineuses, les céréales, les légumes, les fruits et des légumineuses. La graine de lin et de sésame, ainsi que le thé est unesource riche de lignanes. Les lignanes végétales se produisent généralement sous forme de glycosides (Peterson, 2011).

3. La Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont synthétisés au cours du développement de la plante tels que les acides phénoliques qu'on retrouve au cours des différents stades de la maturation. Les phénols insolubles se retrouvent au niveau des parois cellulaires tandis que les phénols solubles sont localisés dans les vacuoles des cellules végétales (Stalikas, 2007).

La biosynthèse des flavonoïdes se produit généralement dans le cytoplasme ou sur la surface cytoplasmique du réticulum endoplasmique (Dong et al., 2006).

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

3.1 Voie de l'acide shikimique

Conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (Knaggs, 2003). Cette voie commence 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 (Amelot, 2010).

- 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...) (Amelot et al., 2010).

3.2 Voie de l'acétate

Conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (Bruneton, 1999 ; Naczki, et Shahidi, 2004).

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Martin, 2002).

4. Mécanisme d'action antioxydante des polyphénols

La particularité structurale donne à la fonction phénol un caractère plus acide que les autres groupements alcools : elle perd facilement un proton H^+ pour former l'ion phénoxy. La perte d'un hydrogène engendre la formation d'un radical fortement stable. C'est cette réactivité chimique qui confère aux composés phénoliques leur caractère antioxydant (Bellebcir, 2008).

Les principaux mécanismes de l'activité antioxydante des polyphénols sont :

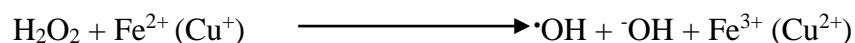
- Le piégeage direct des EOR ;
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène ;
- La protection des systèmes de défense antioxydants (Achat ,2013).

4.1 Inhibition enzymatique

Les phénomènes d'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés *in vitro* particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes, modulation du fonctionnement de divers récepteurs ainsi que du processus de transcription de certains gènes (par interaction dans le cytosol avec les facteurs de transcription ou certains précurseurs) (Havsteen 2002). L'inhibition de la production des EOR par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des EOR. Cette double action est bien illustrée par le cas de la xanthine oxydase, cette enzyme est considérée comme une source biologique importante de radical superoxyde. Les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase en réduisant à la fois les concentrations de l'acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains (Hanasaki, et al., 1994).

4.2 Chélation des ions métalliques

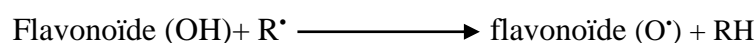
Les ions du fer ou du cuivre entrent dans la composition des hémoprotéines et sont considérés comme cofacteurs d'enzymes antioxydantes. Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton :



Divers polyphénols sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques empêchant ainsi la formation des ERO (Hider et Khodr., 2001).

4.3 Piégeage des radicaux libres

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres: radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante (Ghedira et al ., 2005).



5 Les méthodes d'extraction des polyphénols

Les phénoliques peuvent être extraits d'échantillons de plantes fraîches, congelées ou séchées. L'extraction de composés phénoliques majeurs est importante pour le développement de produits à valeur ajoutée, à partir de résidus de cultures agricoles qui sont des sous-produits renouvelables (Aarabi et Mojzer, 2016).

Avant l'extraction, le matériel végétal est prétraité par séchage, broyage, et homogénéisation. Ensuite la procédure d'extraction appropriée doit être considérée. La décision sur la méthode d'extraction à employer est influencée par la nature chimique de la substance, la taille des particules de l'échantillon et aussi par la présence de substances interférentes (Mojzer et al., 2016).

5.1 La méthode conventionnelle

En dépit de plusieurs inconvénients, l'extraction liquide-liquide et solide-liquide sont encore des procédés d'extraction les plus couramment utilisés. De tels procédés impliquent l'utilisation de solvant classique comme les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther diéthylique et l'acétate d'éthyle, souvent mélangés avec différentes proportions d'eau (Ajila et al., 2010).

L'extraction classique est habituellement effectuée à des températures allant de 20°C à 50°C. Des températures supérieures à 70°C ne sont pas souhaitées et entraînent une dégradation rapide des anthocyanines (Magwaza et al., 2016).

Les temps d'extraction prolongés et la nécessité de grande quantité de solvants sont des inconvénients de l'extraction conventionnelle. Cette extraction est rendue encore difficile par la complexité des composés phénoliques dans la matrice végétale (Mojzer et al., 2016).

5.2 Les techniques modernes

Au cours de ces dernières années, de nouvelles méthodes d'extraction des polyphénols sont développées, visant à surmonter les inconvénients de l'extraction conventionnelle (Magwaza et Mojzer, 2016).

Tableau.8 : Les méthodes modernes d'extraction des polyphénols (Franco et al., 2008)

Technique d'extraction	Principe de la technique	Avantage
Extraction liquid sous pression et Extraction au solvant accéléré	Utilise des solvants organiques à des températures et pressions supérieures à leurs points d'ébullition normale pendant de courte durée (5-15mn). Utilisée pour l'extraction rapide de composés organiques thermiquement stables.	<ul style="list-style-type: none"> - Consommer moins de solvant lors de l'extraction ; - Temps d'extraction et de manipulation de l'échantillon réduit.
Extraction par fluide super critique	Basée sur le point critique d'une substance pure, qui est la température la plus élevée et la pression à laquelle la substance peut exister dans un équilibre vapeur-liquide. Au-delà de ce point critique, se forme le liquide super critique. L'addition de co-solvant améliore l'extraction.	<ul style="list-style-type: none"> - Rapide et récupération facile du fluide super critique à partir des extraits ; - Non toxicité, extraction de substances thermolabiles et thermostables ; - Grande qualité d'extraction.
Extraction assistée par ultrasons	Basée sur le phénomène de cavitation acoustique, qui est la formation, la croissance et l'effondrement des micro-bulles à l'intérieur d'une phase liquide soumise à la cavitation ultrasonore.	<ul style="list-style-type: none"> - Capacité d'extraction améliorée ; - Temps d'extraction raccourci ; - Simplification des conditions de traitement ; - Sure et écologique ; - Employer pour les substances thermolabiles.
L'ultrafiltration	Elle dépend principalement de la taille des particules des composés dans le mélange. L'entraînement des particules à travers les membranes est dû à la pression différentielle entre les membranes	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode rapide et faciles pour séparer et concentrer les polyphénols ; - Une sélectivité d'extraction élevée.

5.3 Les facteurs influençant l'extraction des polyphénols

L'extraction des composés polyphénoliques dépend principalement des techniques analytiques, du temps d'extraction, de la température, du nombre d'extractions répétées de l'échantillon, la présence de substances interférentes ainsi que du choix des solvants d'extraction, qui sont les paramètres cruciaux qui affectent le rendement d'extraction (Mumper et Koffi , 2010).

➤ La température et le temps d'extraction

Le temps d'extraction et la température influencent la solubilité des polyphénols ; une température plus élevée augmente simultanément les vitesses de solubilité et de transfert de masse et diminue la viscosité et la tension superficielle des solvants, contribuant à un taux d'extraction plus élevé (Mojzer et al., 2016).

Un temps d'extraction long et une haute température augmentent le risque d'oxydation des polyphénols, ce qui diminue par conséquent leur rendement total (Wissam et al., 2012).

➤ La nature du solvant

Le rendement et le taux d'extraction phénolique sont liés aux caractéristiques du solvant. Diverses études montrent que le méthanol est plus efficace dans l'extraction de polyphénols de poids moléculaire inférieur, tandis que l'acétone aqueux est un solvant approprié pour l'extraction des flavanols à poids moléculaire plus élevé (Ajila et al., 2010).

➤ La polarité

L'efficacité d'extraction des polyphénols est tributaire de la polarité des solvants ainsi que de celle des composés phénoliques. Par conséquent, la combinaison de solvant de différente polarité est recommandée pour une extraction plus efficace des molécules bioactives (Andrade et al., 2015).

6. Rôles et effets des composés phénoliques

6.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Fleuriet et al .,2005).

6.2. Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique (Macheix et al 2005). Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protèges nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères) (allemand et al., 2005).

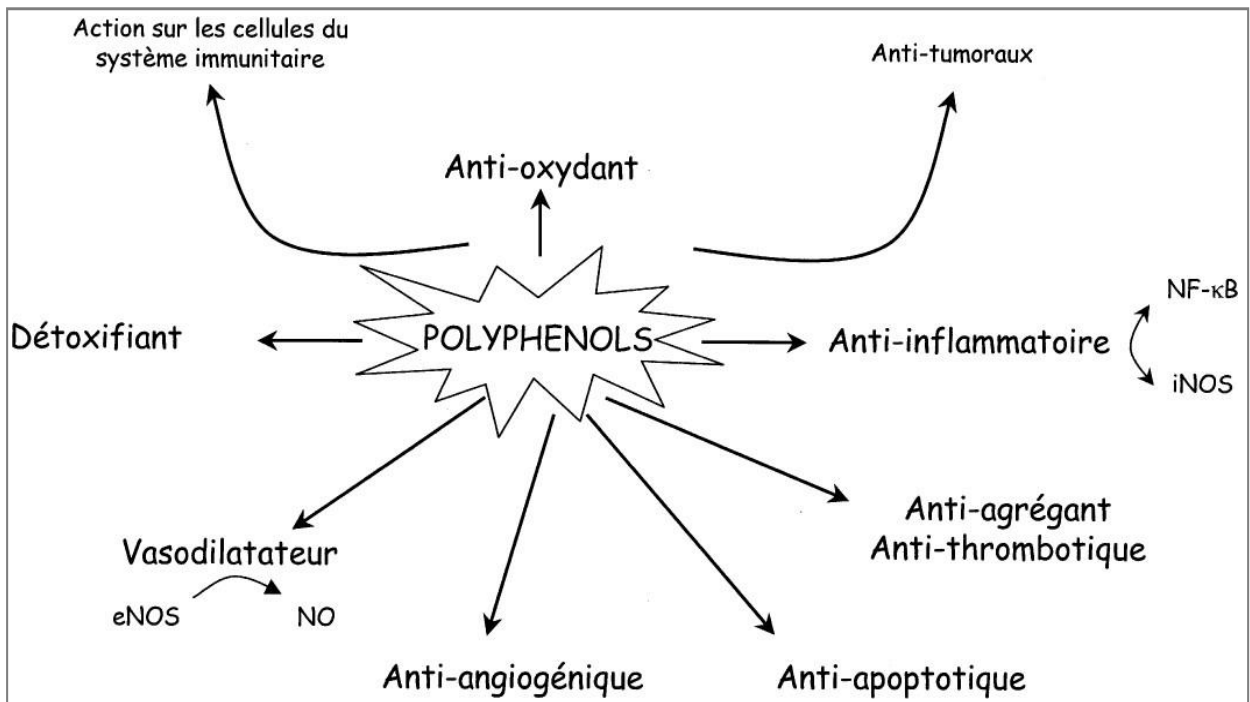


Figure 28. Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

CHAPITRE 4

LES MÉTHODES D'ÉVALUATION DES ANTIOXYDANTS

1. Introduction

Le disposant de méthodes d'évaluation diversifiées il devient possible, d'une part ,de suivre l'évolution des substances naturelles présentes dans les matières première jouant un rôle d'antioxydant et éventuellement d'envisager un enrichissement pour atteindre l'objectif qualitatif souhaité et ,d'autre part de tester comme conservateurs différentes molécules employées pour d'autre usage (colorants alimentaires par exemple) les différentes méthodes présentées permettent, en fonction des milieux alimentaires étudiés, une évaluation optimale et ciblée du potentiel antioxydant (Marc et Davin,2004).

2. Evaluation de l'efficacité d'un antioxydant

La mesure du potentiel antioxydant et le suivie des processus d'oxydation sont abordés globalement en déterminant des produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux des modèles réactionnels .Le premier mode ,le plus ancien, nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation. En effet ces méthodes recherchent certains groupements fonctionnels (aldéhydes, cétones, dicarboxylés...) dans les dérivés des constituants d'origine .Le second relie la quantité de radicaux à piégés à celle d'antioxydante utilisé (Moure et Franco, 2001).

2.1 Evaluation des produits résultant de l'oxydation

L'efficacité des antioxydants (traduite en rapport d'inhibition, IR) correspond à :

$$IR(\%) = [(a-b) / (a-c)] \times 100$$

a,b,c sont les concentration en dérivés oxydées respectivement ,sans antioxydante et en présence de l'antioxydante à tester après incubation et sans antioxydante avant incubation .Le dosage des produits formés(en particulier des hydro peroxydes) est effectué par des techniques photométriques plus ou moins directes. (Yeni et al., 2001).

Tableau 9 : Techniques d'évaluation des produits résultant de l'oxydation.

Spectrophotométrie directe d'hydroperoxydes insaturés
Dosage chimique des dérivés oxides <ul style="list-style-type: none"> • Évaluation des peroxydes • Dosage d'hydroperoxydes • Détermination du malonaldéhyde
Examen de dérivés carbonylés sous forme de dinitrophénylhydrazones
Évaluation de la dégradation du β -carotène en présence d'acide linoléique

3. Méthodes d'analyse qualitatives des composés phénoliques

La séparation, la détection, l'identification et la quantification des molécules s'effectuent par plusieurs méthodes analytiques et spécialement chromatographiques.

De nos jours, les méthodes chromatographiques couplées à divers détecteurs occupent la plus importante place dans le screening moléculaire car elles permettent de caractériser simultanément un éventail très large de molécules avec une meilleure spécificité et une plus grande sensibilité comparées aux méthodes ancienne (Marston et al.,2006).

Elles sont applicables à tous les milieux biologiques, quelle qu'en soit la nature, après une étape d'extraction rendue nécessaire du fait de la complexité de ces matrices

Les propriétés physico-chimiques des analyses conditionnent la détection par chromatographie, ce qui explique qu'il n'y a aucune méthode chromatographique qui permette la détection de toutes les substances et qu'une bonne stratégie impose la disposition de plusieurs méthodes colorimétriques, spectrophotométriques, et chromatographiques complémentaires (Hostettmann, 2006).

3.1 Technique de séparation

3.1.1 Analyse chromatographique sur couche mince

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélange en leurs constituants .Elle est basée sur les différentes d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange. La phase stationnaire solide fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants (Batchvarova et al., 2006).

3.1.2 Principe

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile. La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange à analyser (Kondakova, 2009).

Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, la charge électronique et la présence de groupement d'atomes formant des sites particuliers (Iagnika, 2005), caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (Rf)

$$Rf = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{Hauteur du front du solvant}}$$

3.2 Technique d'identification structurale

3.2.1 La spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-Vis est une des méthodes simples et rapide qui fournit des informations sur la structure chimique, les propriétés physico-structurales, et les caractéristiques optiques de divers types de composés. C'est une méthode quantitative et qualitative de grande utilisation pour les analyses chimiques. Dans les composés, chaque chromophore absorbe à une longueur d'onde bien déterminée (Harar et al., 2012).

3.2.2 Principe

La spectrophotométrie est une méthode quantitative et aussi qualitative, sensible, elle permet d'analyser les échantillons à faible concentration. Les spectres sont caractéristiques aux molécules, et procurent des informations sur le squelette moléculaire et les différentes substitutions. Le spectre UV/vis. des composés flavonoïques solubilisés dans le méthanol présente deux bandes ; qui se situent respectivement entre 320 nm – 380 nm correspondant au cycle B et 240 nm – 270 nm correspondant au cycle A. Ce spectre est susceptible d'être modifié en présence des réactifs spécifiques, dont les changements du spectre apportent des indications sur la position des substitutions (groupements hydroxyles) sur la molécule. Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée (Janina, 1973).

Le tableau suivant présente les différentes méthodes spectrométriques et chromatographiques, en mentionnant les avantages et les limites de chaque méthode (Ben sakhria,2016).

Tableau 10. Méthodes d'analyse, avantages et inconvénients (lien et al.,1998) .

Méthodes	Avantages	Inconvénients
Colorimétriques	simple ; rapide ; disponible ; directe.	Manque de spécificité et e sensibilité ; subjectivité de l'interprétation ; nécessite un blanc et un positif à chaque test
Spectro-photométrique	Quantification et/ou identification spectrale simple et rapide de certains composés.	Manque de spécificité et de sensibilité ; séparation préalable nécessaire
CCM	Matériel simple, disponible, peu coûteux ; méthode séparative robuste non destructive, permet l'identification de centaines de molécules et leurs métabolites ; facilite les tests spécifiques d'identification et permet la collection des fractions après séparation ; les nouvelles méthodes sont semi- quantitatives, automatisables et donnent une meilleure identification	Relativement longue à réaliser ; extraction préalable des analytes nécessaire ; manque de sensibilité et de résolution ; influence des conditions locales sur les résultats ; interprétation difficile et délicate en présence de beaucoup de métabolites.
LC-MS	Identification et quantification rapide d'un très large nombre de composés même polaires et thermolabiles ; grande sensibilité et spécificité ; faible volume d'échantillon et plus simple	Coût élevé ; manque de standardisation des bibliothèques de spectres de masse.

4. Méthodes d'analyses quantitatives des composés phénolique (dosage des composés phénoliques)

4.1 Phénols totaux

Le dosage des poly phénols est effectué selon la méthode décrite par (Talbi et al., 2015).

4.1.2 Principe

Le réactif de Folin-Cioecalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Singleton et Rossi, 1965).

La coloration produite, dont l'absorption est mesurée à 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait végétal (Bonnailliet al., 2012.)

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Stanković, 2011). Elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) selon l'équation suivante :

$$T = C \cdot V / M$$

T : Teneur en composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V : Volume de l'extrait organique ou aqueux (ml)

M : Poids de la matière végétale sèche (g)

4.2 Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux (FT) contenus dans les extraits est réalisée par la méthode décrite par (Kim et al., 2003) avec quelques modifications.

4.2.1 Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, qui est susceptible de donner par son groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (Ribereau et al., 1972 ; Boulekbache, 2005).

D'après (Ribereau, 1968), les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

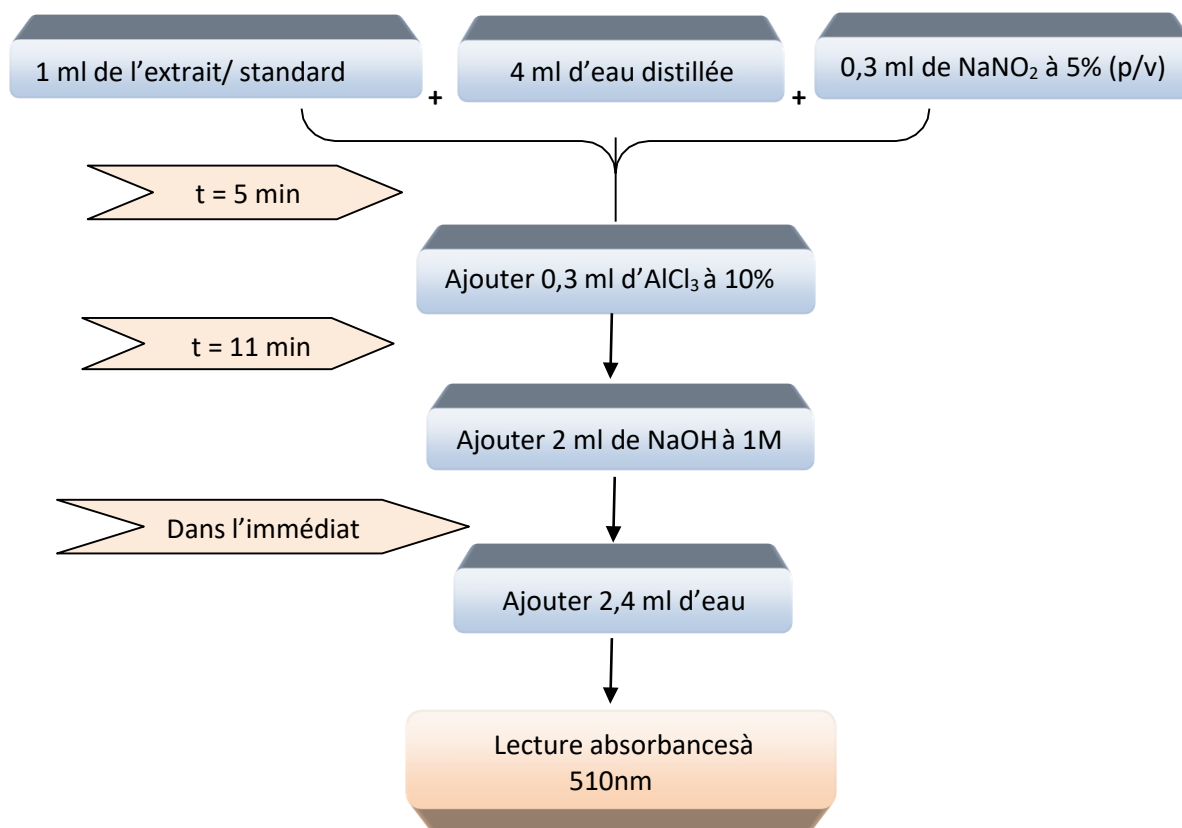


Figure 29. Schéma du protocole du dosage des flavonoïdes totaux (Singleton et al., 1999).

4.3 Dosage des Flavonols

Les flavonols sont des composés hydrosolubles, leur séparation et dosage se fait suivant la technique d'HPLC (high performance liquid chromatography) couplée à un détecteur à barrettes de diode. Les flavonols ne sont pas dosables en l'état car ils sont souvent liés à des sucres. Il sera nécessaire de faire en amont du dosage une hydrolyse acide afin de séparer les oses des aglycones flavoniques (Geethalekshmi ,2016).

L'identification de ces flavones se fait en fonction du temps de rétention dans la colonne chromatographique par rapport à des standards connus. Les molécules sont détectés par mesures spectrophotométriques entre 200 et 400nm. L'utilisation du détecteur à barrettes de diode permet de confirmer l'identité des composés et d'évaluer leur pureté. Le spectre UV/Visible entre 200 et 400nm est en effet souvent « l'empreinte digitale » de la molécule (Sayari et Saidi ,2016).

4.4 Dosage des Anthocyanes

Tout comme les flavonols, les anthocyanes sont hydrosolubles et leur séparation/dosage se fait suivant la technique d'HPLC couplée à un détecteur à barrettes de diode. Il est donc nécessaire de procéder également à une hydrolyse acide afin de séparer les oses des anthocyanidines (Rohmanet Riyanto ,2016).

4.5 Dosage de Vitamine C

Le dosage de la vitamine C (ou acide ascorbique) se fait suivant une réaction d'oxydoréduction avec un réactif. Souvent est utilisé le 2,6-dichloroindophenol en raison de sa décoloration lors de cette réaction (Boizot et Charpentier,2006).

5. Les méthodes analytiques employées pour déterminer l'activité antioxydante

Depuis ces dernières décennies, les tests d'activité antioxydant ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés. De nombreuses méthodologies sont disponibles, permettant d'évaluer les différents aspects physicochimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions. Dans cette section, les méthodes expérimentales les plus répandues seront écrites ainsi que les relativement nouvelles méthodes dites théoriques (Popovici et al., 2009).

5.1 Test de piégeage du radical DPPH

Le DPPH[•] (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante et de couleur bleue caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons π le long de la molécule. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède dans sa structure un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. Sa particularité provient de la modification de ses propriétés d'absorption UV/Visible selon son état : la forme réduite (après ajout d'électron) absorbe à 515-518nm alors que sa forme oxydée ne présente pas de pic d'absorption (Mcphail,1999).

L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical. Ceci s'observait historiquement par le changement de couleur allant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite).

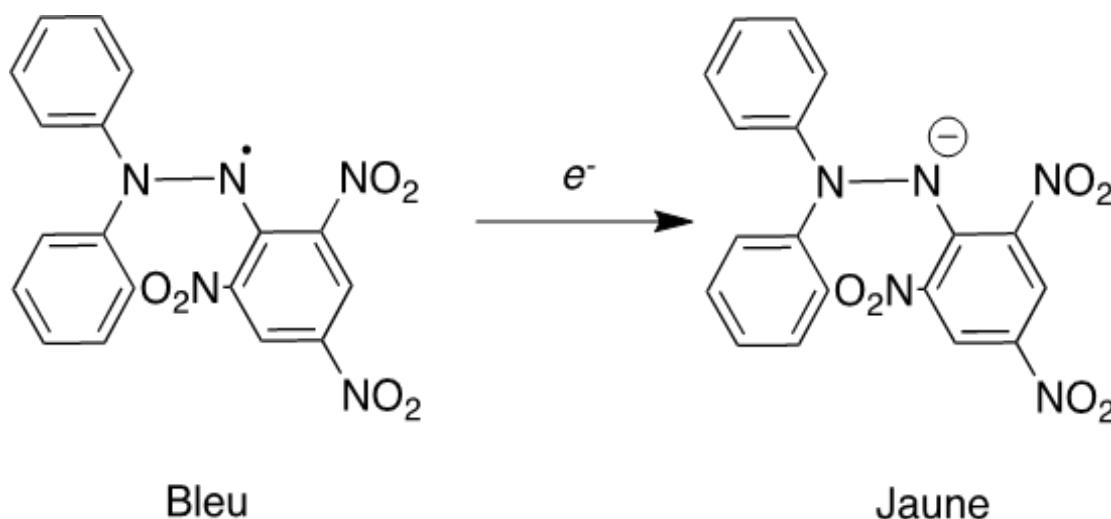


Figure 30. Modification du DPPH[•] lors du transfert électronique (pellegrini,2000).

Cette propriété peut dorénavant être quantifiée par spectroscopie UV/Visible en se focalisant sur l'absorption à 515-518 nm. Ce test est encore fréquemment utilisé pour évaluer le potentiel antioxydant de poly phénols. Un avantage indéniable de ce test est qu'il permet également d'évaluer la cinétique de piégeage. Pour cela, il suffit d'évaluer l'augmentation d'absorption à 515-518 nm en fonction du temps (Lazzaroni et Duroux ,2013).

Le mécanisme de piégeage du DPPH reste encore relativement controversé entre le transfert d'atome d'hydrogène concerné et le transfert électronique. Le piégeage des radicaux libres a été décrit ci-dessous comme pouvant suivre deux types de mécanismes. D'une part, le transfert d'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle présenterait une cinétique rapide comme dans le cas de certains acides et dérivés phénoliques (Olivier et al.,2013). D'autre part, le transfert d'électron aurait une cinétique lente comme montré dans le cas de dérivés glycolyses et des anthocyanes. Cette discrimination de la cinétique en fonction du type de piégeage reste néanmoins à considérer avec prudence. En effet, il a été récemment montré que les cinétiques de transfert d'électron sont généralement plus rapides que celles d'un transfert d'atome (Chen D et Daniel KG,2004).

Il est important de noter que dans le cas des poly phénols, la capacité à piéger les radicaux libres est tributaire des conditions expérimentales. De nombreux facteurs vont influencer le potentiel antioxydant comme le rapport antioxydant/DPPH[•] ou le pH. Pour évaluer l'activité antioxydant, deux approches sont utilisées : d'une part, la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH[•] et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction (Richard et Belleville ,1997).

5.2 Test TEAC

La méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) permet de mesurer la capacité d'un candidat à piéger le radical cation ABTS^{•+} (obtenu à partir de sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La particularité de cette méthode est l'aspect compétitif puisque la mesure sera comparé la capacité d'un antioxydant de référence le Trolox (Salvatore,2003) .Il est important de noter que le Trolox est un analogue chimique de la vitamine E (Bianchi et al.,2003).

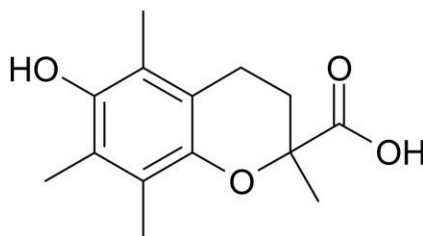


Figure 31. Structure chimique du Trolox (Bergendi et Benes ,1999).

Le test TEAC est également une méthode colorimétrique où une décoloration de la solution bleu-verte contenant ABTS^{•+} sera observée lors de la formation de ABTSH⁺ (couleur bleue à verte). Cette décoloration pourra également être quantifiée par spectrophotométrie (Absorption UV/Visible) à 734

nm. La valeur TEAC obtenue par ce test correspond à la concentration de Trolox ayant la même activité que la concentration unitaire du composé à tester. C'est une méthode, tout comme le DPPH, conceptuellement facile à mettre en place puisque seuls les réactifs et un spectrophotomètre sont nécessaires. Elle est, de plus, rapide et se corrèle bien avec des tests biologiques. En revanche, l'inconvénient majeur de cette méthode relève de l'instabilité des radicaux $ABTS^{\bullet+}$. Ces derniers doivent être générés extemporanément à partir de sels d'ABTS et la mesure doit être faite assez rapidement (Pearl PL et Taylor ,2007).

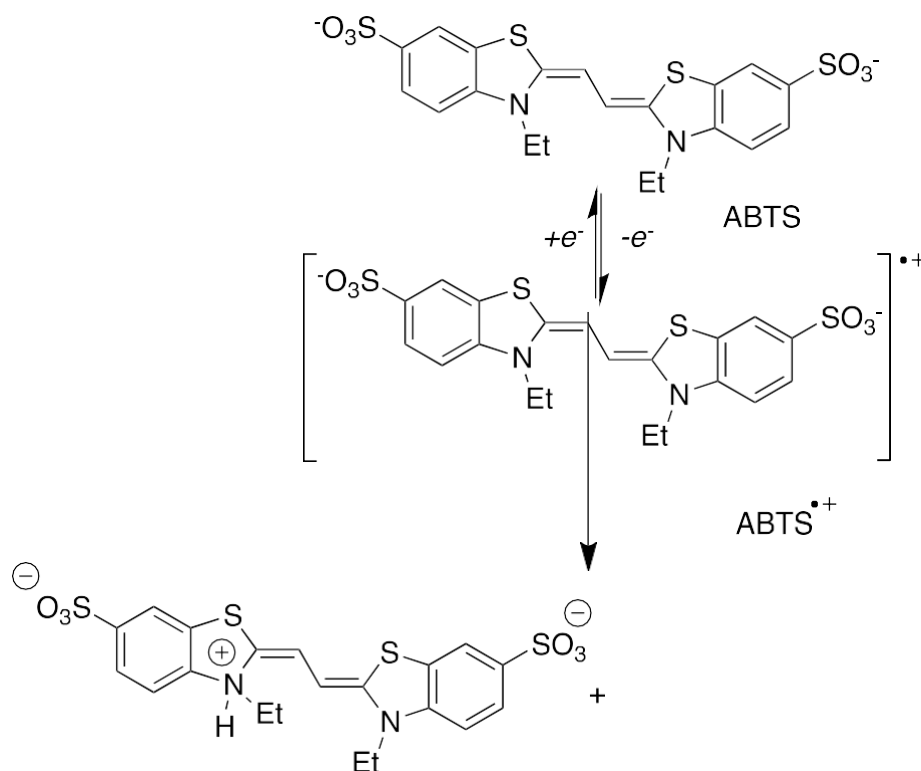


Figure 32. Modification de l'ABTS lors du transfert électronique (Sokohl ,2007).

5.3 Test ORAC

Le test ORAC (ou Oxygen Radical Absorbance Capacity) est une méthode de mesure de la capacité antioxydant des échantillons biologiques *in vitro*. Cette méthode mesure la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après ajout d'un générateur de radicaux libres, le 2,2'-azobis(2-amidinopropane) (AAPH). La dégradation thermique de cette molécule en présence d'oxygène va provoquer la génération de radicaux libres de façon régulière qui vont pouvoir attaquer la membrane des globules rouges (Ou et Hampsch-Woodill ,2001).

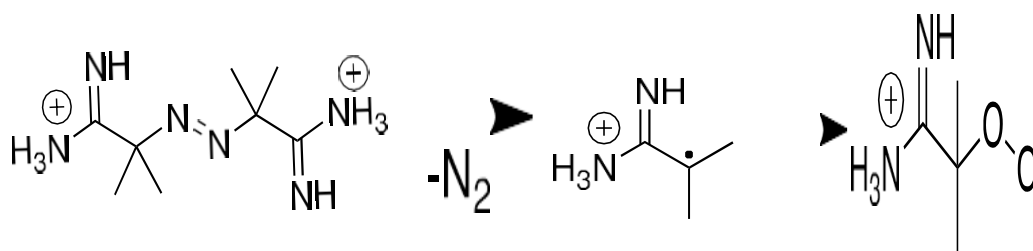


Figure 33. Modification de l'AAPH lors du transfert électronique (Bernardi, 2006).

Deux systèmes révélateurs sont fréquemment utilisés : la fluorescéine et la α - phycoérythrine. La dernière est particulièrement pertinente des tests *in vitro* puisque c'est un fluor protéine.

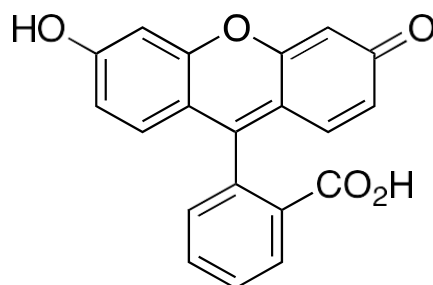


Figure 34. Structure chimique de la fluorescéine (Ruggiero, 2003).

Le principe est basé sur la mesure de la baisse de fluorescence. La génération de radicaux libres dégrade la molécule optiquement active, qui perd alors sa propriété à émettre, et ainsi aboutit à une perte de fluorescence du milieu. L'ajout de composés antioxydants efficaces devrait permettre le piégeage des radicaux libres et protéger la molécule fluorescente. Le milieu sera alors analysé 35 minutes après l'ajout du générateur de radicaux libres par spectrofluorimétrie, permettant de relier l'intensité de fluorescence à la concentration présente dans le milieu (Steiner ,1988).

Ce test permet également de suivre la cinétique de piégeage ainsi que la consommation des antioxydants testés. Tout comme le TEAC, les résultats seront comparés à ceux du Trolox.

L'avantage principal de cette méthode est la capacité d'évaluer dynamiquement les capacités antioxydantes de composés. Elle permet notamment de déceler une latence d'action. Ce point est particulièrement intéressant pour étudier des extraits végétaux, aliments ou des compléments alimentaires contenant plusieurs antioxydants à action rapide et à action retardée, ces effets combinés ne pouvant que difficilement être prédits (Cao et Alessio ,1999).

Cette méthode a également des inconvénients. Elle ne va mesurer l'activité antioxydant que sur des radicaux pyroxyles. De plus, il n'y a pas de corrélation évidente entre les résultats obtenus avec cette méthode et la consommation d'aliments réputés contenir des antioxydants. Une vaste gamme de molécules et d'extraits végétaux a été testée par cette méthode aboutissant au recueil d'un nombre très important de données. Toutefois il est difficile de corréler les données in vitro avec des résultats physiologiques in vivo. Les aliments ayant eu les meilleurs résultats avec cette méthode sont le pruneau, les haricots et les myrtilles(Cutler RG et al.,1993).

5.4 Test FRAP

Le test FRAP (ou Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer, de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant. De par la nature de la réaction de réduction, l'antioxydant doit présenter une capacité de donneur d'électron. Le transfert d'atome d'hydrogène ne sera pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm (Pellegrini ,2003).

Ce test est peu couteux, simple, reproductible et rapide. Toutefois il n'est pas capable d'évaluer l'activité antioxydant des thiols (SH), incluant donc les polypeptides et les protéines à groupement cystéine (Serafini et Colombi ,2003).

6.4.1 Principe

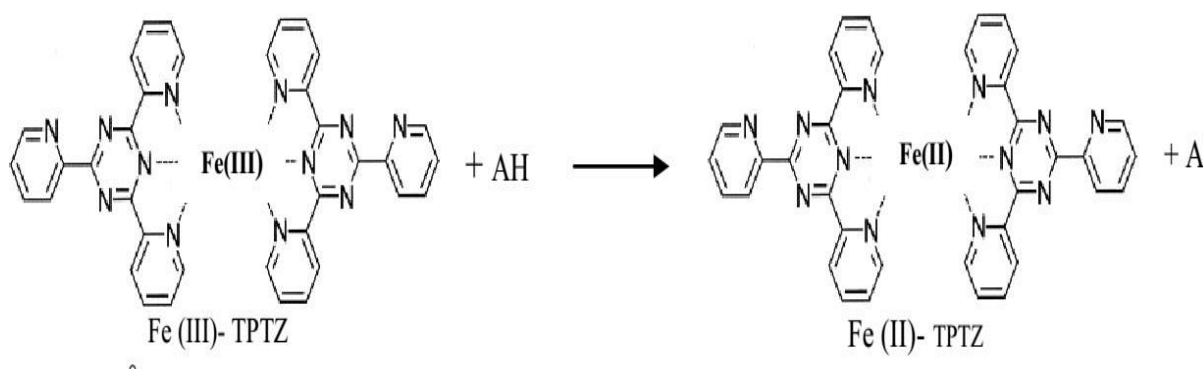


Figure35. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant AH (Djahr, 2014).

Le pouvoir réducteur d'un extrait végétal est associé à son pouvoir antioxydant, l'activité réductrice du fer est déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986 ; Yildirim et al., 2001), basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe^{3+}), présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) par un antioxydant (De Santo et al., 2013). Un mécanisme similaire est représenté dans la figure 9 en remplaçant le ferrocyanure de potassium par le tripyridyl triazine.

La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu-vert du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration mesurée par spectrophotométrie à 700 nm, est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (Karoui et Marzouk, 2013).

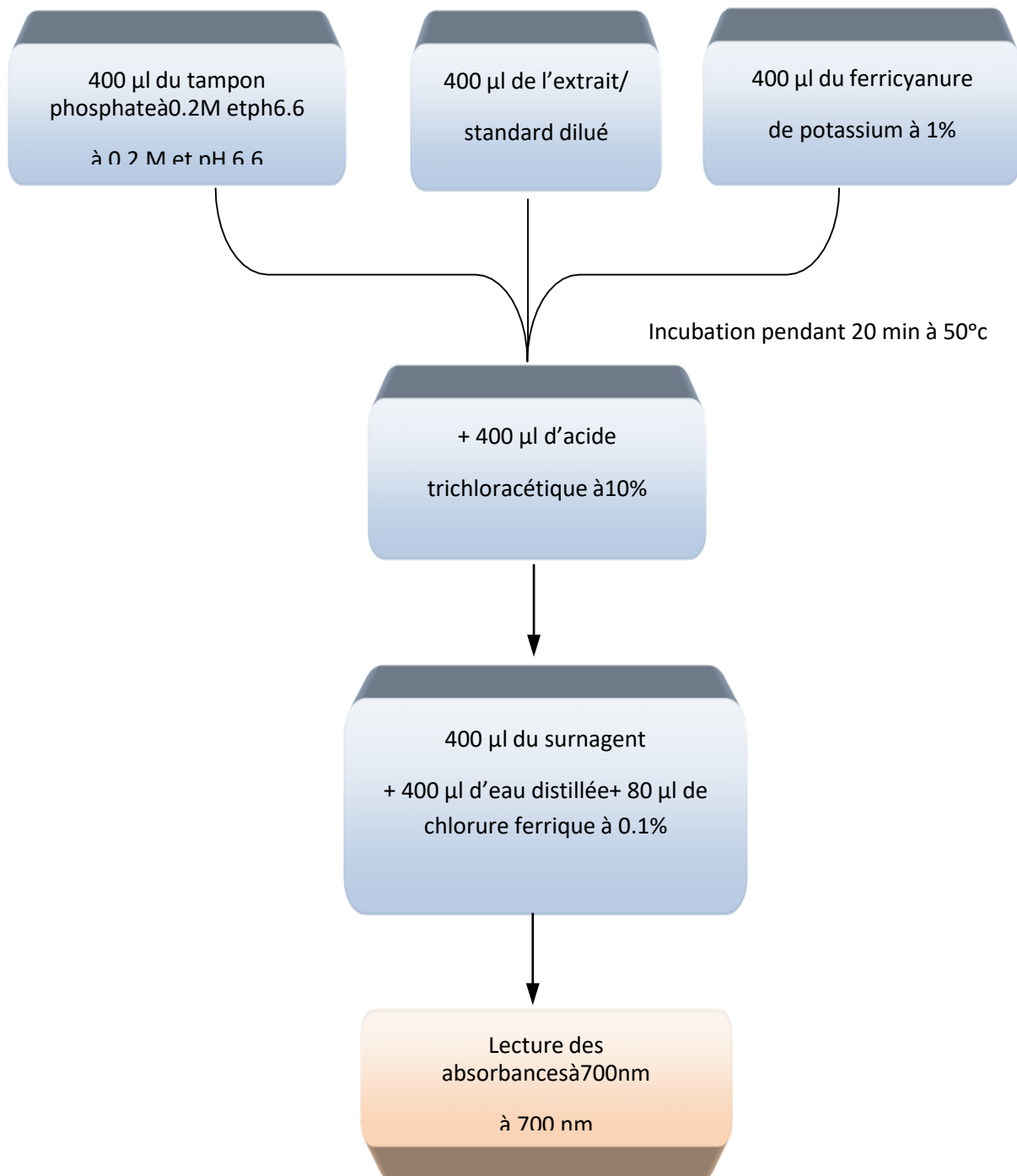


Figure 36. Schéma du protocole du test de réduction du Fer (FRAP) (Prakash et al., 2001).

5.5 Test TRAP

Ce test TRAP (ou Telomeric Repeat Amplification Protocol) est spécifique de l'action des antioxydants sur les radicaux peroxydes ROO^{\bullet} . Ces radicaux vont être produits par des générateurs de radicaux libres. Pour ce test, le BAP [2,2-azo-bis(2-amidinopropane) chlorhydrate] ou le AAPH [2,2'-azobis(2- amidinopropane)] seront utilisés.

Cette méthode permet de quantifier les antioxydants non enzymatiques (glutathion...) ainsi que de mesurer la capacité antioxydante du plasma et du sérum. En revanche, cette méthode se base sur le fait que chaque antioxydant possède un temps de latence avant son action. Ainsi la corrélation avec d'autres méthodes d'évaluation est particulièrement compliquée (Stocker et Ames,1988).

5.6 Test de Cyclovoltammétrie

La cyclovoltammétrie ou voltammétrie cyclique est une méthode d'analyse physique capable de caractériser des composés oxydables et réductibles en solution. Elle consiste à mesurer un courant en fonction d'un potentiel appliqué. Le courant est directement lié aux changements d'état oxydoréduction du système étudié. Plus un système s'oxyde facilement, plus il est réducteur et donc son potentiel antioxydant est intéressant(Bayach et Berka ,2015).

Le matériel nécessaire est constitué de 3 électrodes : une électrode de référence, une électrode de travail et une contre-électrode. Un électrolyte sera ajouté à la solution afin d'obtenir une conductivité suffisante. Dans cette méthode, le potentiel appliqué E^0 est augmenté de façon linéaire jusqu'à un maximum E^{\max} . Il sera ensuite diminué progressivement jusqu'à un minimum E^{\min} . Enfin, le potentiel sera ramené progressivement au potentiel initial E^0 . De cette manière, plusieurs cycles seront mesuré (Rossi et al.,2015).A partir de l'évolution de l'intensité en fonction du potentiel, les potentiels Redox d'un système peuvent être obtenus, mais également d'autres informations plus fondamentales telles les niveaux énergétiques des orbitales moléculaires de frontières, indicateurs importants du transfert électroniques(Starok,2015)

5.7 Test à l'hémolyse des globules rouges

Ce test consiste à prélever sur de l'EDTA (ou Éthylène Diamine Tétra-Acétique) du sang qui sera ensuite être centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes afin d'extraire un culot de globules rouges. Ce culot sera lavé puis mis en contact avec le générateur de radicaux libre AAPH à 37°C.

Quand les antioxydants endogènes seront consommés, les radicaux libres agiront alors sur les parois des érythrocytes entraînant alors leur éclatement. L'hémoglobine sera alors reléguée dans le milieu. Ce phénomène d'hémolyse sera suivi par spectrophotométrie à 545nm. Si dans le milieu sont présents des composés à activité antioxydant, l'hémolyse sera logiquement retardée. Cette méthode nécessite un étalonnage en utilisant la vitamine C (Jomova et Valko, 2011).

5.8 La résonance paramagnétique électronique (RPE)

Cette méthode est une technique très utilisée pour visualiser directement les radicaux libres que ce soit in vitro ou in vivo. Elle suit le même principe que la résonance magnétique nucléaire, à savoir l'absorption et la réémission d'énergie provenant d'un rayonnement électromagnétique extérieur.

Les radicaux libres se caractérisent par la présence d'un électron libre, qui par son mouvement de spin, va produire un champ magnétique. Si le radical se trouve dans un champ magnétique extérieur puissant et dirigé, il en résultera une absorption d'énergie qui pourra être visualisée sous la forme d'un spectre. Plus la quantité de radicaux libres présents dans le milieu sera importante, plus l'absorbance sera grande (Daniel et Kuhn, 2004). Cette méthode est idéale pour évaluer les emballements de processus oxydatif. Par exemple, l'inhibition de la peroxydation lipidique par des antioxydants est aisément quantifiable. Un antioxydant enrayera rapidement la phase de propagation empêchant la formation de nouveaux radicaux. Un autre exemple est la quantification de production d'oxygène singlet dans le milieu. Pour la quantification du radical anion superoxyde, la méthode est fréquemment calibrée en utilisant l'efficacité de superoxyde dismutase (SOD) (Costantini et Romano, 1998).

Tableau 11. Tests antioxydants in vitro (Cuccurullo, 1998).

Tests	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
Mécanismes réactionnels	<ul style="list-style-type: none"> transfert d'électron majoritaire 	<ul style="list-style-type: none"> transfert d'électron et de proton 	<ul style="list-style-type: none"> transfert d'électron 	<ul style="list-style-type: none"> transfert de proton
Nature des molécules testées	<ul style="list-style-type: none"> hydrophiles et lipophiles 	<ul style="list-style-type: none"> hydrophile et lipophiles 	<ul style="list-style-type: none"> hydrophiles 	<ul style="list-style-type: none"> hydrophiles et lipophiles
Expression des resultants	<ul style="list-style-type: none"> CI50 et/ou en mg ou μmol équivalent d'une molécule de référence 	<ul style="list-style-type: none"> CI50 et/ou en mg ou μmol équivalent d'une molécule de référence 	<ul style="list-style-type: none"> en mg ou μmol équivalent Fe^{2+} 	<ul style="list-style-type: none"> CI50 et/ou en mg ou μmol équivalent d'une molécule de référence
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> très facile à mettre en œuvre peu couteux 	<ul style="list-style-type: none"> très facile à mettre en œuvre cinétique de réaction très rapide peu couteux 	<ul style="list-style-type: none"> très facile à mettre en œuvre peu couteux 	<ul style="list-style-type: none"> facile à mettre en œuvre couteux (nécessité d'un fluorimètre) Utilisation d'un générateur de radicaux ($\text{ROO}\cdot$)
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires interférences possibles à 515 nm forte dépendance au pH et au solvant radical inexistant <i>in vivo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> produits de dégradation antioxydants radical inexistant <i>in vivo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> pH utilisé non physiologique interférences possibles à 595 nm interférences avec composés possédant $E^\circ < 0,77\text{V}$ 	<ul style="list-style-type: none"> mécanismes de génération des $\text{ROO}\cdot$ non physiologique interférences possibles des protéines

6. La biodisponibilité des antioxydants

La biodisponibilité est une mesure de la vitesse selon laquelle un composant est absorbé par la voie gastro-intestinale et l'étendue selon laquelle un composant devient disponible au site d'action. Ceci influe directement les effets bénéfiques d'un nutriment, et la concentration plasmatique des antioxydants. De plus, la biodisponibilité peut également influencer la toxicité due à des apports excessifs de nutriments (Pincemail et al., 2007). Plusieurs facteurs exogènes et endogènes peuvent déterminer la biodisponibilité d'un composé. Les facteurs exogènes comprennent la complexité de la matrice alimentaire, la forme chimique du composé et la structure et quantité des composés ingérés en même temps. D'autre part, les facteurs endogènes incluent la muqueuse gastrique, le temps de transit intestinal, la vitesse de la vidange gastrique, le métabolisme et le taux de liaison aux protéines plasmatiques. Lorsque ces facteurs sont cumulés, de grandes variations interindividuelles et intra-individuelles peuvent être observées en ce qui concerne la biodisponibilité des composés alimentaires (entre 0 % à 100 % de la dose ingérée) (Holst et Williamson, 2008).

Les antioxydants sont naturellement soumis à l'oxydation, ce qui limite leur stabilité lors de la transformation des aliments, l'entreposage et la digestion. Le trajet d'un composé antioxydant, à travers le corps humain, se déroule selon les étapes suivantes : la consommation, l'absorption et la distribution. Selon (Stahl et al., 2002) la consommation de plusieurs composés antioxydants ne contribue que légèrement à l'état nutritionnel alors que seulement une proportion (parfois très variable en fonction de la matrice alimentaire, la transformation et l'entreposage) de ces composés alimentaires est absorbée et utilisée par le corps. Pour que les antioxydants soient absorbés, ils doivent d'abord être libérés de la matrice alimentaire et délivrés à l'intestin grêle de telle sorte qu'ils peuvent être absorbés par diffusion passive ou grâce à des systèmes de transport actif.

Les facteurs suivants influencent l'absorption des composés alimentaires, incluant les antioxydants; la nature de l'aliment (p. ex. crues ou traitées), la taille des particules, les enzymes digestives disponibles, la composition du repas (p. ex. la teneur en lipides, glucides, ou protéines), la présence de sels biliaires et le temps de consommation. Tous ces facteurs auront un impact sur le taux de livraison à l'intestin grêle, la séquence de la digestion des nutriments (la longueur de l'iléon sur laquelle l'absorption se produit) et la limite d'absorption (Stahl et al., 2002). ont rapporté que la biodisponibilité de la vitamine C (30 mg/j) est d'environ 87 % de la dose administrée. La concentration plasmatique de la vitamine C est due à l'assimilation limitée au niveau gastro-intestinal. De plus, selon (Pastre et Priymenko, 2007), le catabolisme et l'excrétion des métabolites de l'ascorbate entraînent une perte rapide de la vitamine C.

Conclusion générale

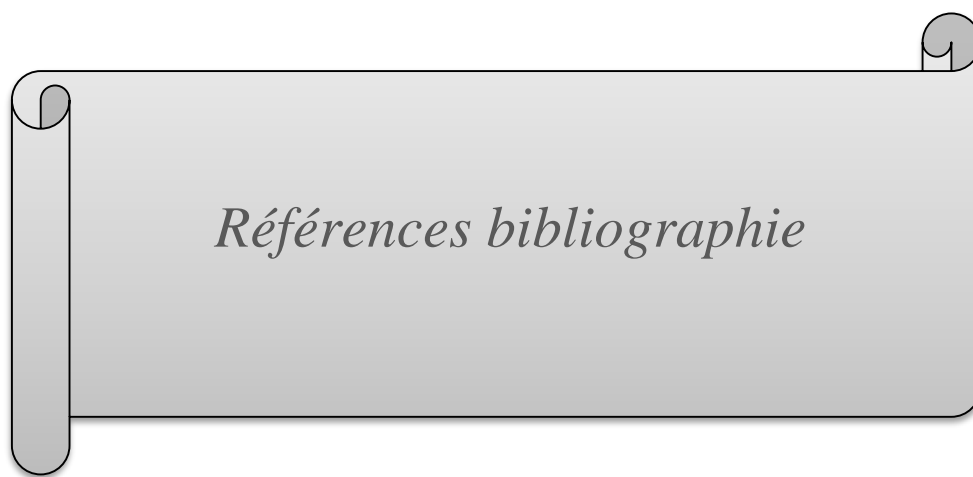
Le stress oxydatif ou stress oxydant qui correspond à une agression des cellules par des radicaux libres, aussi appelés « espèces réactives de l'oxygène » (ERO). Ces dernières, sont produites dans les organismes vivants sous l'effet du métabolisme cellulaire normal ou de facteurs environnementaux, comme le tabac ou la pollution. Ce processus biologique est reconnu comme principal précurseur de nombreuses pathologies telles que les cancers, le diabète, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives et bien d'autres encore.

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. Cependant, les antioxydants apportés par une alimentation saine, particulièrement riche en fruits et légumes, permettent de protéger notre organisme contre les radicaux libres et ainsi, ils permettent la prévention de nombreuses maladies. A ce titre, l'utilisation de suppléments d'antioxydants pour prévenir les situations de stress oxydant a été particulièrement étudiée.

La présence des métabolites secondaires et leurs effets biologiques multiples, telle que leur propriété anti-oxydante. La famille des polyphénols renferme de nombreux composés d'intérêt nutritionnel et valorisables dans l'industrie alimentaire et la cosmétologie en raison de leurs propriétés réductrices (antioxydantes) et de leur capacité à interagir avec les ions métalliques et une grande variété de protéines.

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit pur ou de mélanges ont été examinées et regroupées selon leurs principes. Elles sont fondées sur la détermination de produits résultant de l'oxydation ou, au contraire, mesurent l'efficacité d'une substance à piéger des radicaux, souvent en donnant une forme H•.

Enfin ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur l'activité antioxydante, et le rôle des antioxydants dans la lutte contre le stress oxydatif.



Références bibliographie

Références

Abele D., Heise K., Pörtner H.O., Puntarelo S. (2002). Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *J Exp Biol.* **205** : 41-1831.

Achat S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia. Algérie.

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.

Aïra R. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat Université des Antilles et de la Guyane.

Ajila C, Brar S.K, Verma M, Tyagi R.D, Godbout S. et Valero J.R. (2016). Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology.* 1-22.

Albuquerque A.J.R., Silva P.M.F., Cavalcant A.L et Sampaio F.C. (2013). Polyphenols as a source of antimicrobial Agents against Human Pathogens. *Nova Science Publishers.* 276-293.

Ameer K, Shahbaz H.M. et Kwon J-H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A Review *Comprehensive. Reviews in Food Science and Food Safety.* 16.

Arabbi P.R, Genovese M.I.S. et Lajolo F.M. (2004). Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *J. Agric. Food Chemistry.* **52**: 1124-1131.

Atrouz O.M. (2009). The Antioxidant activity and polyphenol contents of different plants seeds extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* **12**(15): 1063- 1068.

Aude H.(2008). Etude de la fonctionnalité alimentaire de plats industriels.Thèse doctorat .Institut national polytechnique de lorraine.238p.

Aurelia P.(2018). Action antioxydante et antimicrobienne de composés phénoliques dans des milieux modèles et des émulsions riches en lipides insaturés. Génie des procédés. Thèse de doctorat. Université Paris Saclay.181p.

Balaban R, Nemoto S, Finkel T. (2005). Mitochondria oxidants and aging Cell. **120**: 483-495.

Barus C. (2008). Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique - Application aux produits dermocosmétiques. Thèse de Doctorat en Génie des procédés et environnement, Université Toulouse III - Paul Sabatier. P : 235.

Beaudeau J-L, Delattre J, Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Legrand A, Peynet J.(2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. Immuno-Anal Biol Spéc. **21**(3):50-144.

Beaudeau J-L, Peynet J, Bonnefont-Rousselot D, Therond P, Delattre J. et Legrand A. (2006). Stress oxydant: Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Annales Pharmaceutiques. **64** : 373-381.

Bisbal C, Lambert K, Avignon A. (2010). Antioxidants and glucose metabolism disorders. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. **13** (4): 46-439.

Bloomer R.J, Goldfarb A.H., McKenzie M.J, You T., Nguyen L. (2004). Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. Int J Sport Nutr Exerc Metab. **14** (4): 377-88.

Bonnaillie C, Salacs M., Vassiliova E. et Saykova I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue de Génie Industriel. **7** : 35-45.

Bonnefont-Rousselot D.(2004). The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. Treat Endocrinol.**3**(1):41-52.

Boros B, Jakabova S, Dornyei A, Horvath G, Pluhar Z , Kilar F, Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in Thymus species. Journal of Chromatography A, **1217** : 7972–7980.

Bossokpi I.P.L. (2002). Etude des activités biologiques de Fagara xanthoxyloïdes Lam (Rutaceae). Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-

Stomatologie, Université de Bamako.

Boubekri C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat: Université Mohamed Khider – Biskra.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C.(1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss U-Technol* .**28** : 25-30.

Brigelius-Flohe R., Traber M.G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *Faseb j.* **13** : 1145-1155.

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

Cadenas E et Davies K. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, **29** :222-230.

Camille M., Mireille S. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris)*. **27** (4) : 405-412.

Cano N., Barnoud D., Schneider S.M., Vasson M.P., Hasselmann M., Leverve X. (2006).

Carriere A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M-C., Penicaud L et Casteilla L. (2017). Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Médecine Sciences*. **22**(1) : 47-53.

Castellano G. (2012). Classification of phenolic compounds by chemical structural indicators and its Relation to antioxidant properties of *Posidonia Oceanica* L. Delile. *match Communications in Mathematical and in Computer Chemistry*. **67**: 231-250.

Chappuis P, Favier A. (1995). Les oligoéléments en nutrition et en thérapeutique. Lavoisier, Tec et Doc., Paris. P : 474.

Christen Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr.* **71**(2):621 - 629.

Cillard J. (2011). Physiopathologie du Stress Oxydant: Faculté de Pharmacie Université de Rennes. EA 1274 « Mouvement-Sport-Santé ».

Clarkson P.M., Thompson H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal of Clinical Nutrition*. **72** (2): 637-646.

Claude L.(2006). Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action anti-oxydante, interactions. EA Laboratoire Nutrition humaine et athérogenèse, **13** :59-69.

Comhair S.A, Erzurum S.C. (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. **283** (2) : 246-55.

Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta, Paris. p 317.

Damian-reyna A, Gonzalez-hernandez J.C et Chavez-parga M.C. (2016). Current procedures for extraction and purification of citrus flavonoids current extraction of citrus. Revue of Colombia. Biotechnology. **18**(1): 135-147

Daum-badouard C. (2006). Les lésions des acides nucléiques : détection par clhp-sm/sm dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation.thèse. Université joseph fourier-grenoble.

Davis J.B, McMurray, H.F, and Schubert D. (1992). The amyloid betaprotein of Alzheimer's disease is chemotactic for mononuclear phagocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun,**189** :1096–1100.

De Jaeger C. (2011). Les théories du vieillissement. Médecine & Longévit. **3** : 155-174.

Defraigne J.O., Degrune F., Malherbe C., Paquot N., Pincemail J., Voussure S. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. Nutrition clinique et métabolisme. **21** : 66-75.

Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours, définition et application .Thèse d'exercice . Université de Limoges.87p.

Desport J.D. (2002). Nutrition et stress oxydant. Stress oxydant et maladies neurodégénératives. Nutr Clin Métabol. 253-25.

Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD.(2004). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. J Assoc Physicians India. **52**:794-804.

Diallo A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de syzygium guineense willd (myrtaceae). Thèse de doctorat en pharmacie, Univercité de Bamako. P : 13-14.

- Dimitrios, B.**(2006). Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science and Technology, **17** : 505-515.
- Dusek P, Roos P, Litwin T, Schneider S, Flaten T, Aaseth J.** (2015). The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. **31** : 193-203.
- Dwassay A.** (2014). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. These de doctorat Université mohammed V-souissi-faculté de médecine et de pharmacie - Rabat. P : 7.
- Dykes L et Ronney L.W.** (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants.
- Favier A.** (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. **109**: 108-115.
- Favier A.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6), 390-396.
- Flora S, Mittal , Mehta A .**(2008) . Heavy metal included oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. Indian J Med Res. **128** : 501-523.
- Franco D., Sineiro J., Rubilar M., Sanchez M., Jere M., Pinelo M., Costoya N. et Munez M.J.** (2008). Polyphenols from plant materials extraction and antioxidant power. Electronic journal of agriculture and food chemistry. **7**(8) : 3210-3216.
- François N.M.**(2010). Identification de polyphenols, evaluation de leur activite antioxydante et etude de leurs proprietes biologiques.Thèse doctorat. Université Paul Verlaine-Metz.160p.
- Françoise M., André D., Laurence D., Carine F., Michel B., Pierre F.**(2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Medecine/sciences ; **20** : 458-63.
- Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G.** (1993). The Fenton reagents. Free Rad Biol Med. **15** : 435-45.
- Gordon MH.**(1990) The mechanism of antioxidant action in vitro. In : Hudson BJJ, ed. Food antioxydants. Amsterdam , Elsevier : 1-18.
- Grossberg G, Pejovic V, Miller M.**(2007). Current strategies for the treatment and prevention of Alzheimer's disease. Prim Care Community Psychiatr. **14**(8):39-54.

Guetteridge J.M. (1993). Free radicals in disease processes: à complication of cause and consequence. *Free Radic Res Commun.* **19** (3) :58- 141.

Haleng J , Picemail J, Defraigne J, Charlier C, Chapelle, J.(2007).Le stress oxydant.Revue médicale de liège **62** :38-628.

Halliwell B, Evans B.(2001).Micronutriments :oxidant /antioxydant status.British journal of nutrition **85** :67-74.

Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view.*Nutrition Reviews*, **52**: 253-265.

Halliwell B.(1999). Antioxydant defence mechanisms :from the beginning to the end (ofthe beginning).free radical research **31** :261-272.

Hampsch-Woodill M, Prior RL. (2001) Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *J Agric Food Chem.* **49**(10):26-4619.

Haytowitz D.B., Bhagwat S et Holden J.M. (2013). Sources of variability in the flavonoid content of foods. *Procedia Food Science.* **2** : 46–51.

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

Hong J.H., Kim M.J., Park M.R., Kwag O.G., Lee I.S., Byun B.H., Lee S.C., Lee K.B., Rhee S.J. (2004). Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Chim Acta.* **340** : 107-115.

HuIbert A.J. (2005). On the importance of fatty ac id compositi on of membranes for aging. *J. Theor. Biol.* **23** : 277- 288.

Hwang O. (2013). Role of Oxidative Stress in Parkinson’s Disease. *Exp Neurobiol.* **(1)**:7-11.

Joris V.(2015). Effets potentiels et mécanismes d’action antioxydant et anti-inflammatoire d’un apport nutritionnel de spirulines enrichies en silicium. *Alimentation et Nutrition.*Thèse doctorat. Université Montpellier.186p.

Justine P., Odile P., Carole P. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat Université Paul-Sabatier de Toulouse. P : 14.

Justine P., Odile P., Carole P. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat Université Paul-Sabatier de Toulouse. P : 14.

Kaplan M, Aviram M, Hayek T. (2012) Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacol Ther.* **136**(2):85-175.

Kaplan M, Aviram M, Hayek T. (2012). Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacol Ther.* **136**(2):85-175.

Karsheva M., Kirova E. et Alexandrova S. (2013). Natural antioxidants from citrus mandarin peels. Extraction of polyphenols; effect of operational conditions on total polyphenols contents and antioxidant activity. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy.* **48**(1): 35-41.

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

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.

Kryston T.B., Georgiev A.B, Pissis P., Georgakilas A.G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat. Res.* **711** : 193-201.

Kumar H., Choudhary N., Varsha. Kumar N, Suma N. et Seth R. (2014). Phenolic compounds and their health benefits: A review. *Journal of Food Research and Technology.* **2**: 46-59

Lau A.T., Wang Y., Chiu J.F. (2008). Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem.* **104** (2) : 657-667.

Laurent D.(2005). Identification et caractérisation fonctionnelle de deux gènes régulateurs du métabolisme des composés phénoliques de la baie de raisin. These pour le doctorat de l'université de Bordeaux. 224p.

Lien E, Bui H, Wang R. (1999) Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, **26** :285-294.

Lopez G.V, Batthyany C, Blanco F, Botti H, Trostchansky A, Migliaro E, Radi R, Gonzalez M, Cerecetto H, Rubbo H. (2005). Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorg. Med. Chem.* **13** : 5787-5796.

Lotito S. B. Frei B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon. *Free Radic. Biol. Med.* **41** (12): 1727–46.

Lurano V, Balzan S. (2015). Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease. *World Journal of Experimental Medicine*. **5** (4) :218.

Lyons M. E. G., Fay H. G., McCabe T., Corish J., Vos J.G., Kelly A.J. (1990). "Charge percolation in electroactive polymers". *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*. **86** : 2905.

Macheix J-J., Fleuriet A. et Jay-allemant C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Les Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lousane. p 1-14.

Machlin L, Bendich A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients, **1**: 441-445.

Mansour EH, Khalil AH.(2000) Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chem* . **69** : 41-135.

Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecine sciences*, **20**(4), 458–463.

Martin K.A., Hwa J. (2012). « Aldose Reductase, Oxidative Stress, and Diabetic Mellitus ». *Frontiers in Pharmacology*. 3.

Martin, S., Andriantsitohaina, R.(2002).Mécanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie. 51 :304-315.

Michael A, Bianca F.(2002) Annals of the new York Academy of Sciences. **957**(1) ,146-161.

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

Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. Phytochemistry Reviews. **3** : 173-193.

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

Mojzer E.B., Hrcic M.K., Skerget M., Knez Z., et Bren U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. Molecules. **21**(901): 1-38

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology. **26**(2): 211-219.

Morand C. et Milenkovic D. (2014). Polyphénols et santé vasculaire : mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. Innovations Agronomiques. **42**: 47-62.

Moumen R, Nouvelot A, Duval D, Lechevalier B, Viader F. (1997). "Plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in sporadic amyotrophic lateral sclerosis". Journal of the Neurological Sciences. **151** : 35.

Moure A, Cruz JM, Franco D.(2001) Natural antioxidants from residual sources. Food Chem . **72** : 45-171.

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.

Nibir Y.M, Sumit A.F, Akhand A.A, Ahsan N et Hossain M.S, (2017). Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **7**: 352-357.

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.

Noori S. (2012). An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. *Open Access Scientific Reports*. **1**(8): 1-9.

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

Opara C .(2002). Oxidative stress, micronutriments, diabetes mellitus and its complication. *The journal of the royal society for the promotion of health*. **122** :28-34.

Papas A.(1999). Antioxidant statut in A.M (ed).Antioxidant status, diet, nutrition and health. Boca raton, London, CRC press.**12** :66-88.

Pasquier C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Rev Fr Lab*. juin (**276**):87-92.

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

Pastre J.(2005).interet de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse doctorat. Ecole nationale veterinaire de toulouse.116p.

Pastre, Justine, et Nathalie Priymenko. 2007. « Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques ». *Revue de médecine vétérinaire* **1**(4): 180- 189.

Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al. (2003) Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr*. **133**(9):9-2812.

Pelli K., Lyly M. (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. *Flair & Flow*. Paris3ème Edition. P : 6-28.

Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., Defraigne, J.O. (2001). Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones – Nutrition, **4**: 158-164.

Pincemail J., Karine B., Karine C., Jean-Olivier D. (2002). Mécanismes Physiologiques de la défense Antioxydante. Physiological Action of Antioxydant Defences. Nutritio Clinique et métabolisme. **16** (6) : 233-239.

Pisoschi A.M et Pop A, (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. European Journal of Medicinal Chemistry, **97** : 55-74.

Puther J.T. (2016). Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. SouthIndian Journal of Biological Sciences. **2**(1): 14-17.

Qutub A.A, Popel A.S. (2008). Reactive oxygen species regulate hypoxia-inducible factor 1 α differentially in cancer and ischemia. Mol Cell Biol. **28** (16) : 5106-19.

Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clinical Interventions in Aging. **2**(2): 219-236.

Rahman T., Hosen I., Towhidul islam M. et Uddin shekhar H. (2012). Oxidative stress and human health. Advances in Bioscience and Biotechnology. **3** : 997-1019.

Reiter R. (1995). Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. FASEB J **9** (7): 33-526

Rice E ,Miller NJ.(1996).Biochemical Society Transaction **24**(3),790-795.

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

Rollin F. (2002). Mise en évidence des carences en oligo-éléments dans les exploitations bovines. Proceedings of the Veterinary Sciences Congress. **10** : 95-106.

Ronald St-Louis. (2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation. Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI Pierre et Marie Curie.

Roussel A, Ferry M.(2002). Stress oxydant et vieillissement. Nutrition clinique et métabolisme.**16**(4) :285-291.

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

Sharma P., Bhuchan jha A., Dubey shanker R. et Pessaraki M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. 1-26.

Shiv K. (2011). Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. *Adv. Appl. Sci. Res.* **2** (1): 129-135.

Sies H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem.* **215** (2) :9- 213.

Sies H.(1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants.(1997) *Exp Physiol.* **82**(2):291-295.

Singleton, V ,Orthofer R.and Lamuela-Raventos R.(1999).Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent.*Methods Enzymo*,17-152.

Skotheim T. A. (1986). "Handbook of Conducting Polymers ». M. Dekker. **2** : 1986 - 1417.

Stahl W., Sies H. (1997). Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes.* **46** (2) : 14-8.

Stahl W., Sies H. (2002). Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* **15** (5) : 291-6.

Stalikas D. (2007). Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science.* **30**: 3268-3295.

Stanner S . A ., Hughes J, Kelly C . N. B uttriss J. (2004). A r eview of t he epidemiological ev idence f or t he 'ant ioxidant hy pothesis. *Public Health Nutr* **7** (3):22- 407.

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

Taibur R., Ismail H., M. M. Towhidul I., HossainUddin S. (2012). Oxidative stress and human health. **3**: 997-1019.

Talbi H., Houmaza A., El-mostafa K., Talbi J. et Hilali A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science.* **6**(4) : 1111-1117.

Turrens J.F. (1997). Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience Rep.* **17** : 3-8.

Uttara V ,Ajay V, Paolo Z , Mahajan Rt. (2009).oxidative stress and neurodegenerative diseases :A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic option.*current neuropharmacology.***7** :65-74.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D, Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* **39** (1) : 44-84.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Int.* **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., Vallee L., Storme L., Gele P. et Bordet R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue.* **18**(1): 16-23.

Vivekananthan D. P. Penn M. S. Sapp S. K. Hsu A. Topol E. J. (2003). Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *Lancet* **361** (9374): 2017–23.

Wang WC, Worsley A, Cunningham EG. (2008) Social ideological influences on reported food consumption and BMI. *Int J Behav Nutr Phys Act.***5**:20.

William R. (2013). Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse. P : 35.

Youdim, K. A., McDonald, J., Kalt, W. (2002). Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J. Nutr Biochem*, **13** (5), 282-288.

Zerargui F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L.* et caractérisation des substances bioactives. Thèse de Doctorat de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. P:18.

RÉSUMÉ

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les systèmes de défense est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules (lipides, protéines, ADN). Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La compréhension du stress oxydant passe par une bonne connaissance de la réactivité des diverses espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des mécanismes d'action des systèmes antioxydants. Pour maintenir l'équilibre entre pro-oxydants et antioxydants une alimentation variée est nécessaire. On trouve de nombreux antioxydants dans l'alimentation, que ce soit dans les fruits, les légumes ou les boissons. Dans ce travail, nous détaillerons les systèmes oxydants et antioxydants cellulaires et présenterons des exemples de maladies liées au stress oxydant. Nous discuterons aussi des études qui semblent mettre en évidence les antioxydants comme un moyen pour lutter contre le stress oxydant.

Mots clé : Stress oxydant, Antioxydants, Radicaux libres, Espèces réactives de l'oxygène, Antioxydants naturels, Maladies multifactorielles.

ABSTRACT

Oxidative stress is an abnormal phenomenon occurring inside our cells or tissues when production of oxygen radicals (endogenous or exogenous) exceeds their antioxidant capacity. Excess of free radicals not neutralized by the defense systems is very damaging for the essential macromolecules of our cells (lipids, proteins, DNA). Oxidative stress is also one of the factors that potentiate the development of multifactorial diseases such as diabetes, Alzheimer's disease, rheumatism and cardiovascular diseases. The understanding of oxidative stress requires a good knowledge of the reactivity of the various reactive oxygen species (ROS) and the mechanisms of action of the antioxidant systems. To maintain the balance between pro-oxidants and antioxidants a varied diet is necessary. Many antioxidants are found in the diet, whether in fruits, vegetables or drinks. In this work, we will detail the cellular oxidant and antioxidant systems and will present examples of diseases related to oxidative stress. We will also discuss studies that seem to highlight antioxidants as a way to combat oxidative stress.

Key words: Oxidative stress, Antioxidants , Free radicals, Reactive oxygen species, , Natural antioxidants, Multifactorial diseases.

المُلخَص

الإجهاد التأكسدي هو ظرف غير طبيعي يمر أحيانا عبر خلايانا أو أحد أنسجتنا عندما يتعرض لإنتاج ، داخلي أو خارجي ، من الجذور الحرة المؤكسجة التي تتجاوز قدراتها المضادة للأكسدة. فائض الجذور الحرة التي لا تحييدها من قبل أنظمة الدفاع هو ضار جدا للجزيئات الكبيرة الأساسية من خلايانا (الدهون والبروتينات والحمض النووي). الإجهاد التأكسدي هو أيضا أحد العوامل التي تؤدي إلى ظهور أمراض متعددة العوامل مثل السكري ومرض الزهايمر والروماتيزم وأمراض القلب والأوعية الدموية. فهم الإجهاد التأكسدي يتطلب معرفة جيدة من التفاعل من مختلف أنواع الأكسجين التفاعلي (ERO) وآليات عمل النظم المضادة للأكسدة. للحفاظ على التوازن بين المواد المضادة للأكسدة ومضادات الأكسدة، من الضروري اتباع نظام غذائي متنوع. توجد العديد من مضادات الأكسدة في النظام الغذائي، سواء في الفواكه والخضروات أو المشروبات. في هذا العمل، سنقوم بتفصيل الأكسدة الخلوية وأنظمة مضادات الأكسدة وتقديم أمثلة على الأمراض المتعلقة بالإجهاد التأكسدي. كما سنناقش الدراسات التي يبدو أنها تسلط الضوء على مضادات الأكسدة كوسيلة لمكافحة الإجهاد التأكسدي.

الكلمات الرئيسية: الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، الجذور الحرة، أنواع الأكسجين التفاعلية، مضادات الأكسدة الطبيعية، الأمراض متعددة العوامل.

Présenté par : KHELIFI ESMA

SID MALEK

Année universitaire 2020-2021

Titre : *L'importance des nutriments comme des antioxydants pour lutter contre le stress oxydatif*

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

Résumé

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les systèmes de défense est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules (lipides, protéines, ADN). Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La compréhension du stress oxydant passe par une bonne connaissance de la réactivité des diverses espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des mécanismes d'action des systèmes antioxydants. Pour maintenir l'équilibre entre pro-oxydants et antioxydants une alimentation variée est nécessaire. On trouve de nombreux antioxydants dans l'alimentation, que ce soit dans les fruits, les légumes ou les boissons. Dans ce travail, nous détaillerons les systèmes oxydants et antioxydants cellulaires et présenterons des exemples de maladies liées au stress oxydant. Nous discuterons aussi des études qui semblent mettre en évidence les antioxydants comme un moyen pour lutter contre le stress oxydant.

Mots clés : Stress oxydant, Antioxydants, Radicaux libres, Espèces réactives de l'oxygène, Antioxydants naturels, Maladies multifactorielles.

Jury d'évaluation :

président : Mr Nacib Youcef (PR- UFM Constantine)

Encadreur : Mme Djemai Zoughlache Soumia (MAA- UFM Constantine)

Examinatrice : Mme Bahi Ahlem (MCA- UFM Constantine)