

*République Algérienne Démocratique et Populaire* Ministère  
*de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA – Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico chimique  
Spécialité : Pharmaco-toxicologie.



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Activité anti-oxydante des extraits  
De *Mentha spicata L.***

Présenté par :

**Melle Hakem Sara & Melle Benidir Nabila**

Soutenu le mercredi 29 septembre 2021

Devant le jury composé de :

**Mr Boudjouan F.**

**MCB**

**Président**

**Melle Adrar S.**

**MAA**

**Encadreur**

**Mme Laib Djemaa Y.**

**MAA**

**Examinatrice**

**Année universitaire : 2020 / 2021**

# *Dédicaces*

*Mes très chers parents que Dieu les protège, qui sont pour moi l'exemple d'amour, de confiance et de sacrifice. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien.*

*A mes sœurs : Lynda, Zahoua et mon frère : Hocine qui ont toujours été présentes pour moi ;*

*A mon mari : Mahmoud ;*

*A ma chère binôme Sara et sa famille ;*

*A notre promotrice Mlle ADRAR qui a été toujours avec nous ;*

*A tous les étudiants de notre promotion*

*Enfin, à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

*NABILA .B*

# *Dédicaces*

*Je Dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents pour leurs innombrables sacrifices*

*A mon très chère frère : Madjid ;*

*A ma chère binôme Nabila et sa famille ;*

*A notre promotrice Mlle ADRAR qui a été toujours avec nous ;*

*A tous mes chères amie(s) ;*

*À toute la promotion de pharmaco-toxicologie*

*Et pour toutes les personnes qui m'ont soutenu jusqu'à la fin.*

*Sara. H*

# Liste des abréviations

**AAPH:** [2,2'-azobis(2- amidinopropane)] .

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

**AGPI :** acides gras polyinsaturé

**BAP:** [2,2-azo-bis(2-amidinopropane) chlorhydrate] .

**CAT :** Catalase .

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

**EAA :** Espèces azotés actives .

**EOA :** Espèces oxygénés actives .

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

**FRAP:** Ferric Reducing Ability of Plasma .

**GPx :** Glutathion peroxydase .

**MFC :** Concentration minimale fongicides .

**MIC :** concentrations minimales d'inhibition .

**ORAC:** Oxygen Radical Absorbance Capacity .

**ROS :** Réactive Oxygène Species .

**SOD :** Superoxyde dismutase .

**TEAC :** Trolox Equivalent Antioxidant Capacity .

**TRAP:** Telomeric Repeat Amplification Protocol .

# Liste des figures

<b>Figure 01</b> : <i>Menthaspicata L</i> (Menthe verte) .....	<b>04</b>
<b>Figure 02</b> : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant .....	<b>08</b>
<b>Figure 03</b> : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie .....	<b>09</b>
<b>Figure 04</b> : Le stress oxydant est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les capacités antioxydantes de l'organisme (enzymes antioxydantes et systèmes antioxydants non enzymatiques) .....	<b>10</b>
<b>Figure 05</b> : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants .....	<b>11</b>
<b>Figure 06</b> : illustration d'un mode d'action des radicaux hydroxyles (addition sur les doubles liaisons) sur une base de l'ADN, la guanine. Deux radicaux libres sont formés : R <sub>1</sub> (centré sur l'atome de carbone 5) et R <sub>2</sub> (centré sur l'atome d'azote 7). Ce dernier (R <sub>2</sub> ) donne naissance à la 8-oxo-guanine, un des principaux marqueurs du stress oxydant dans l'ADN .....	<b>14</b>
<b>Figure 07</b> : Structure tridimensionnelle de la Glutathion peroxydase .....	<b>16</b>
<b>Figure 08</b> : Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase.....	<b>16</b>
<b>Figure 09</b> : Structure tridimensionnelle de la catalase .....	<b>17</b>
<b>Figure 10</b> : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques .....	<b>17</b>
<b>Figure 11</b> : Structure chimique de la vitamine .....	<b>18</b>
<b>Figure 12</b> : Structure chimiques des vitamines E .....	<b>18</b>
<b>Figure 13</b> : Oligoéléments nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes .....	<b>19</b>
<b>Figure 14</b> : Différentes classes de polyphénols .....	<b>20</b>
<b>Figure 15</b> :Structure chimique des acides phénoliques : l'acide hydroxybenzoïque (A), et hydroxycinnamique (B) .....	<b>21</b>
<b>Figure 16</b> : structure de base des flavonoïdes.....	<b>21</b>
<b>Figure 17</b> : structures chimiques des tannins .....	<b>26</b>
<b>Figure 18</b> : Structure chimique de l'ion phenoxyde .....	<b>27</b>
<b>Figure 19</b> : Piégeage des ERO par les flavonoïdes .....	<b>28</b>
<b>Figure 20</b> : La complexation métallique par les flavonoïdes .....	<b>28</b>
<b>Figure 21</b> : Modification du DPPH• lors du transfert électronique .....	<b>29</b>

<b>Figure 22</b> : Structure chimique du Trolox.....	<b>30</b>
<b>Figure 23</b> : Modification de l'ABTS • lors du transfert électronique .....	<b>31</b>
<b>Figure 24</b> : Modification de l'AAPH• lors du transfert électronique .....	<b>32</b>
<b>Figure 25</b> : Structure chimique de la fluorescéine.....	<b>32</b>
<b>Figure 26</b> : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH).....	<b>33</b>

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b> Classification botanique de <i>Menthaspicata</i> .....	<b>04</b>
<b>Tableau II :</b> Composition biochimique de <i>Menthaspicata L.</i> algérienne .....	<b>05</b>
<b>Tableau III :</b> Principales espèces réactives oxydantes organique.....	<b>09</b>
<b>Tableau IV :</b> principales affections liées à la production des radicaux libres et des EOR..	<b>15</b>
<b>Tableau V :</b> Différentes classes des flavonoïdes .....	<b>23</b>

# Table de matière

I.1	<a href="#">Historique</a>	3
I.2	<a href="#">Définition</a>	3
I.3	<a href="#">Description morphologique</a>	3
I.4	<a href="#">Habitat</a>	4
I.5	<a href="#">Classification botanique</a>	4
I.6	<a href="#">Composition biochimique</a>	5
I.7	<a href="#">Usage médical</a>	5
I.8	<a href="#">Activités biologiques</a>	5
<b>II.</b>	<b><a href="#">Radicaux libres et antioxydants</a></b>	<b>7</b>
II.1	<a href="#">Radicaux libres</a>	7
II.1.1	<a href="#">Définition</a>	7
II.1.2	<a href="#">radicaux libres en biologie</a>	7
II.1.3	<a href="#">Stress oxydant</a>	9
II.1.4	<a href="#">Facteurs du stress oxydant :</a>	9
II.1.5	<a href="#">Conséquences du stress oxydant</a>	10
II.1.5.1	<a href="#">Peroxydation lipidique</a>	10
II.1.5.2	<a href="#">Oxydation des protéines</a>	12
II.1.5.3	<a href="#">Oxydation de l'ADN</a>	12
II.1.6	<a href="#">Pathologies liées au stress oxydatif</a>	13
II.2	<a href="#">Les antioxydants</a>	14
II.2.1	<a href="#">Définition</a>	14
II.2.2	<a href="#">Types d'antioxydants</a>	14
II.2.2.1	<a href="#">Les antioxydants enzymatiques</a>	15
II.2.2.2	<a href="#">Les antioxydants non enzymatiques</a>	17
<b>III.</b>	<b><a href="#">Composés phénoliques</a></b>	<b>21</b>
III.1	<a href="#">Définition</a>	21
III.2	<a href="#">Classification</a>	21
III.2.1	<a href="#">Acides phénoliques</a>	21
III.2.2	<a href="#">Flavonoïdes</a>	22
III.2.3	<a href="#">Tannins</a>	26
III.2.3.1	<a href="#">Tannins condensés</a>	26
III.2.3.2	<a href="#">Tannins hydrolysables</a>	27
III.3	<a href="#">Propriétés chimiques majeures des polyphénols</a>	28
III.4	<a href="#">Mode d'action des composés phénoliques anti-oxydants</a>	28
<b>IV.</b>	<b><a href="#">Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante</a></b>	<b>30</b>
IV.1	<a href="#">Test DPPH</a>	30
IV.2	<a href="#">Test TEAC</a>	31



<a href="#">IV.3</a>	<a href="#">Test ORAC</a>	32
<a href="#">IV.4</a>	<a href="#">Test FRAP</a>	34
<a href="#">IV.5</a>	<a href="#">Test TRAP</a>	35
<b><a href="#">Conclusion</a></b>		<b>36</b>
<b><a href="#">Liste de références</a></b>		<b>38</b>

# *Introduction*

## Introduction

---

Le stress oxydatif est défini, au sein d'un même organisme, comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydants. Ce déséquilibre est étroitement associé à la production en excès des espèces réactives oxygénées (ERO). Les ERO sont des espèces chimiques oxygénées produites dans l'organisme par divers mécanismes et sont impliquées dans des processus physiologiques à de faibles quantités. Les ERO sont rendues chimiquement très réactives par la présence d'un électron non apparié dans l'orbitale externe. En effet, les ERO représentent à la fois des radicaux libres et des espèces réactives son radicalaires **(Sies, 2019)**.

Cependant, en raison de leur potentiel hautement réactif, l'excès de leur production peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques.

Ces dommages peuvent aboutir à de nombreuses maladies chroniques et dégénératives telles que le cancer, le diabète, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives **(Liguori et al., 2018)**.

Pour cela, l'organisme dispose d'un système de défense antioxydants qui consiste en un réseau enzymatique et non enzymatique agissant en synergie pour rétablir l'équilibre proxydant/antioxydant, afin de réduire les conséquences du stress oxydant et préserver ainsi les performances physiologiques **(Neha et al., 2019)**.

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une source importante et inépuisable de substances ayant des activités biologiques et pharmacologiques très variées **(Reid et al., 2018; Emilie et al., 2019)**.

Il est largement démontré que ces propriétés thérapeutiques sont fortement corrélées à la présence de centaines de composés bioactifs. Connues sous la dénomination de métabolites secondaires, ces composés constituent une large gamme de biomolécules, telles que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, etc... **(Neha et al., 2019)**.

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans les plantes et les produits végétaux. La reconnaissance des composés phénoliques comme antioxydants naturels est maintenant bien acquise et pour une part à l'origine du regain d'intérêt que l'on porte à ces composés dans le domaine de la nutrition et de la pharmacologie **(Watson et al., 2019)**.

Dans ce contexte, cette étude a été menée sur *Mentha spicata* ; plante médicinale de la pharmacopée algérienne. Notre travail portera sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Mentha spicata* et qui sera présenté comme suit :

Chapitre I : il englobe des généralités sur la plante *Mentha spicata* ainsi que les effets néfastes de

## Introduction

---

radicaux libre sur l'organisme et les antioxydants qui sont destinés à la neutralisation de ce dernier d'une part et le déséquilibre entre le radicaux libre et les antioxydants qui cause le stress oxydant d'autre part .

Chapitre II : il résumera les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

# *Chapitre I*

*Mentha spícata L*

## I.1 Historique

La découverte et l'utilisation de la menthe verte remonte aux XIII<sup>e</sup> et XVII<sup>e</sup> siècles. Les Egyptiens ont utilisé cette plante pour la conservation des momies, probablement en raison de son fort arôme ; ils l'ont utilisée avec le myrte et le romarin durant les cérémonies funéraires, afin de masquer l'odeur des cadavres (Teuscher *et al.*, 2005).

## I.2 Définition

La menthe verte (*Mentha spicata*) est une plante vivace de la famille des Lamiacées et qui porte aussi différents noms comme la « menthe en épi », la « menthe douce » (EL-Haoud *et al.*, 2018). Les plantes de cette famille sont une source riche en polyphénols et possèdent donc de fortes propriétés antioxydantes (bimakr, 2011). Ses noms vernaculaires : en arabe « Naànaa », en anglais « spearmint » (Zekri, 2016), en français « menthe verte » et en kabyle « Naanaa » (Selles *et al.*, 2018).

## I.3 Description morphologique

*Mentha spicata* L. est une plante vivace, herbacée et aromatique, robuste, de moins d'un mètre de hauteur. Elle est d'une odeur agréable, forte et très caractéristique et d'un goût plus sucré que les autres menthes sauvages (Teuscher, 2005). C'est une herbe à rhizomes traçants servant à la propagation de la plante, ses tiges sont quadrangulaires droites, rameuses, glabres, de couleur pourpre (Bensabahet *et al.*, 2013), portant des feuilles opposées persistantes, subsessiles, ovales-lancéolées ou oblongues-lancéolées de 3 à 5 cm de long et de 1 à 2 cm de large. Elles sont fortement dentées en scie, sans poils et habituellement de couleur verte sombre sur les deux faces (figure 1) (Grosjean, 1990 ; Ait-Ouahioune, 2005).



**Figure 01 :** *Mentha spicata* L (Abootalebian et al., 2016 )

#### I.4 Habitat

La menthe verte pousse dans les lieux humides particulièrement dans les montagnes (Polese, 2006). Elle est retrouvée essentiellement sur les terrains riches et frais, ensoleillés à semi ombragés surtout, en basse altitude dans les régions tempérées entre 400 et 1800 m (Douay, 2008). Elle est cultivée en général dans les jardins potagers ou en pots près des maisons (Walter et Lebot, 2003).

#### I.5 Classification botanique

Le tableau suivant représente la classification de *Mentha spicata* L. :

**Tableau I :** Classification botanique de *Mentha spicata* (Benabdallah., 2017).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Mentha</i>
<b>Espèce</b>	<i>Mentha spicata</i>

## I.6 Composition biochimique

Le tableau suivant montre la composition biochimique de la plante *Mentha spicata L.*

Algérienne :

**Tableau II :** Composition biochimique de *Mentha spicata L.* algérienne (Kanatt et al., 2007)

Composés phénoliques	Teneur
Acides phénoliques : l'ériocitrine, Acide rosmarinique, Acide caféique	25,62 ± 3,14 mg
Flavonoïdes Flavones aglycones : thymonine, diosmétine	13,5 ± 1,38 mg

## I.7 Usage médical

La menthe occupe une place privilégiée dans la phytothérapie. Elle est cultivée et utilisée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales (Laghouiteret al., 2015). La menthe verte est réputée pour être hépato-stimulante, vasoconstrictrice, tonique, analgésique, calmante, cholagogue, cholérétique, cicatrisante, expectorante, anti-inflammatoire, stomachique, anti-spasmodique et fébrifuge (Fortin et al., 1996 ; Douay, 2008 ; Dhifiet al., 2013 ; Aye keet al., 2017). Elle est utilisée pour soigner de nombreux troubles dont voici quelques-uns des plus courants : affections similaires aux bronchites, troubles urinaires, toux, rhume, maux de tête et d'estomac ainsi que, douleurs biliaires et douleurs liées aux piqûres d'insectes et d'animaux (Beloued, 2001 ; Kothe, 2007).

## I.8 Activités biologiques

### ❖ Activité antifongique

Les concentrations minimales d'inhibition (MIC) et minimales fongicides (MFC) ont été mesurées dans une étude sur l'huile essentielle de menthe verte (Sokovic, 2009), et ont montré que celle-ci possède une plus grande activité fongistatique. En effet, la MFC de la menthe verte, obtenue après une méthode de microdilution dans l'éthanol et dans le Tween, est respectivement de 1.0 -2.5 µL/ml et 0.5-2.5 µL/ml.

La carvone, le composé majoritaire de notre menthe verte, montre la meilleure activité antifongique en comparaison avec les autres composants ce qui précise que celle-ci peut être utilisée en toute sécurité en thérapeutique et remplacer les fongicides synthétiques dans la



prévention et le traitement des maladies chez les humains, les plantes et les animaux (**Sokovic, 2009**).

#### ❖ **Activité antibactérienne**

L'ensemble des études montre que les menthes possèdent un réel potentiel antibactérien. De fortes concentrations de carvone peuvent être utilisées pour expliquer l'usage traditionnel des huiles essentielles de *M.spicata* dans le traitement des maladies bactériennes. L'augmentation des résistances aux antibiotiques et des maladies infectieuses, associées aux effets indésirables des antibiotiques place cette huile essentielle comme une bonne alternative au traitement allopathique. Cependant, de nouvelles études sont à mener pour mieux comprendre les bases scientifiques de la phytothérapie appliquée (**Boukhebt, 2011**).

#### ❖ **Activité antioxydante**

D'après Martins 2012 et l'étude des compositions de différentes plantes, la propriété antioxydante est due à la présence, pour la menthe verte, de limonène et de carvone.

Des études mettent en avant le fait que les meilleurs antioxydants naturels montrent une grande activité par synergie entre les composants pour créer un spectre large et donc un système de défense efficace contre les attaques de radicaux libres (**Chauhan, 2011**).

Le pouvoir antioxydant de l'huile de menthe pourrait être le résultat d'une capacité de donner d'hydrogène d'un composant, généralement associé à la présence d'un agent réducteur dans l'huile.

#### ❖ **Activité anti-inflammatoire**

(**Arumugam et al., 2008**) ont évalué, *in-vivo*, l'effet anti-inflammatoire des extraits aqueux du chloroforme, d'éthyle acétate et hénanique de l'espèce *M. spicata* L. Les deux extraits, aqueux et d'éthyle acétate sont les plus efficaces dans la réduction de l'inflammation aigue et chronique chez les rats.

## *Chapitre II*

# *Radicaux libres et antioxydants*

## II. Radicaux libres et antioxydants

### II.1 Radicaux libres

#### II.1.1 Définition

Par définition, un radical libre est toute molécule ou atomes possédant un ou plusieurs électrons non appariés, capables d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe. Cela augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Figure 2) (Finaud *et al.*, 2006; Maclaren, 2007).

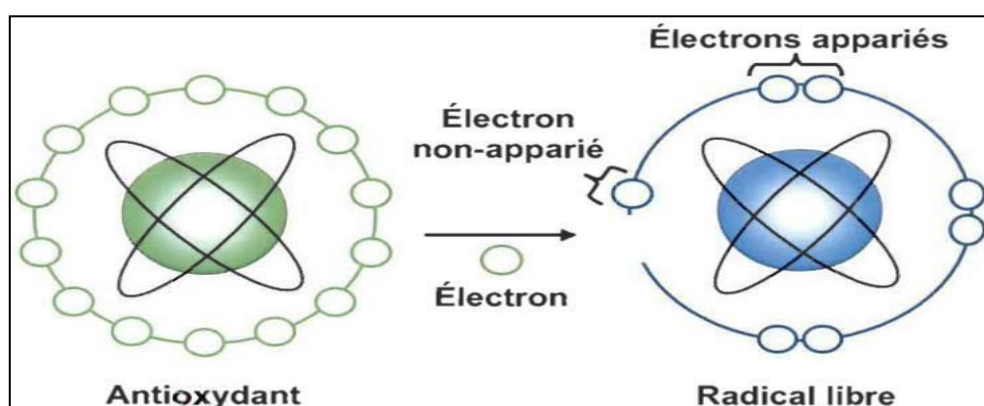


Figure 02 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Carange, 2010).

#### II.1.2 radicaux libres en biologie

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont les radicaux les plus abondants. Cette classe de radicaux libres regroupe des radicaux qui dérivent de l'oxygène comme le radical hydroxyle (OH.), le radical superoxyde ( $O\bullet^-$ ) et sa forme protonnée ( $HO_2 \cdot$ ), le radical peroxy ( $ROO\cdot$ ) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) sont des molécules hautement réactives produites dans les organismes vivant sous des conditions physiologiques et pathologiques (Patterson *et al.*, 2019)(figure 3).

Les ERO jouent un rôle dans le contrôle des processus cellulaires physiologiques (croissance, sénescence, apoptose ou survie des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses).

D'autres espèces radicalaires dérivent de l'azote nommés les espèces réactives du nitrogène incluent le radical monoxyde (NO.), l'anion peroxynitrite ( $ONOO^-$ ), le radical dioxyde d'azote ( $NO_2\cdot$ ) et d'autres oxydes d'azote sont produits par la réaction du monoxyde d'azote avec  $O_2$ .(Singh *et al.*, 2019)

qui joue un rôle important dans la vasodilatation endothéliale (Bonfont *et al.*, 2002)les plus courants sont résumés dans le tableau III.

Tableau III : principales espèces réactives oxydantes organique

ERO	Abréviaton
<b>Espèces oxygénés actives</b> Radical (ion, anion) superoxyde Radical hydroxyproyle Peroxyde d'hydrogène Radical hydroxyle Singulet oxygène Ozone	<b>EOA</b> $O_2^{\bullet-}$ $H_2O^{\bullet}$ $H_2O_2$ $OH^{\bullet}$ $^1O_2$ $O_3$
<b>Espèces azotés actives</b> Monoxyde d'azote Dioxyde d'azote peroxydinitrite	<b>EAA</b> $NO^{\bullet}$ $NO_2^{\bullet}$ $ONOO^-$

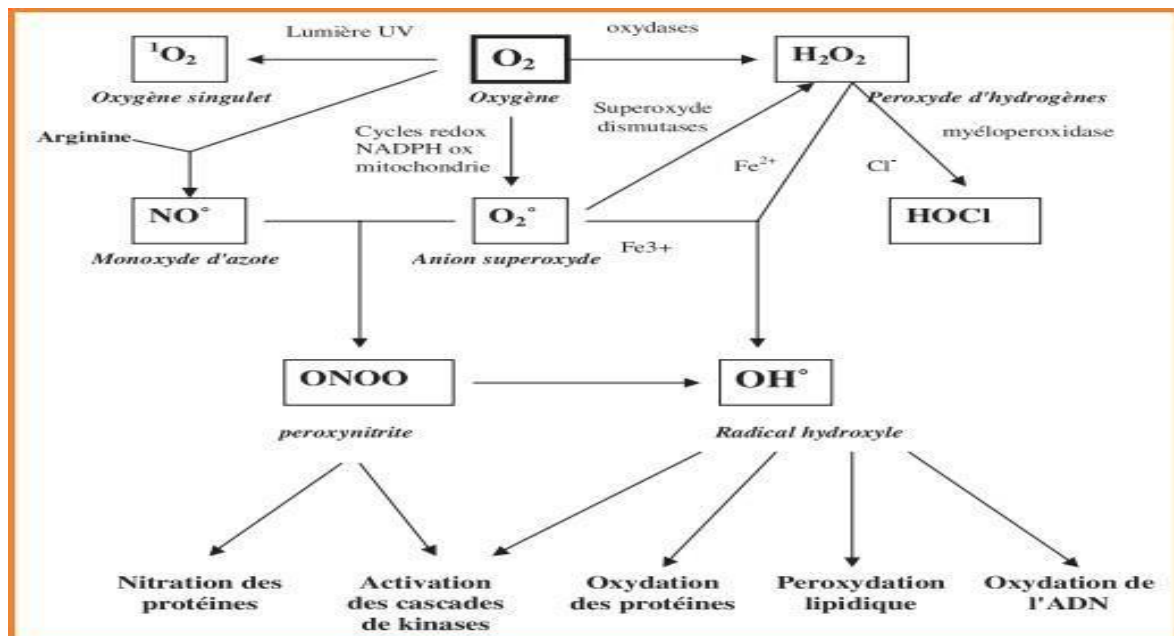
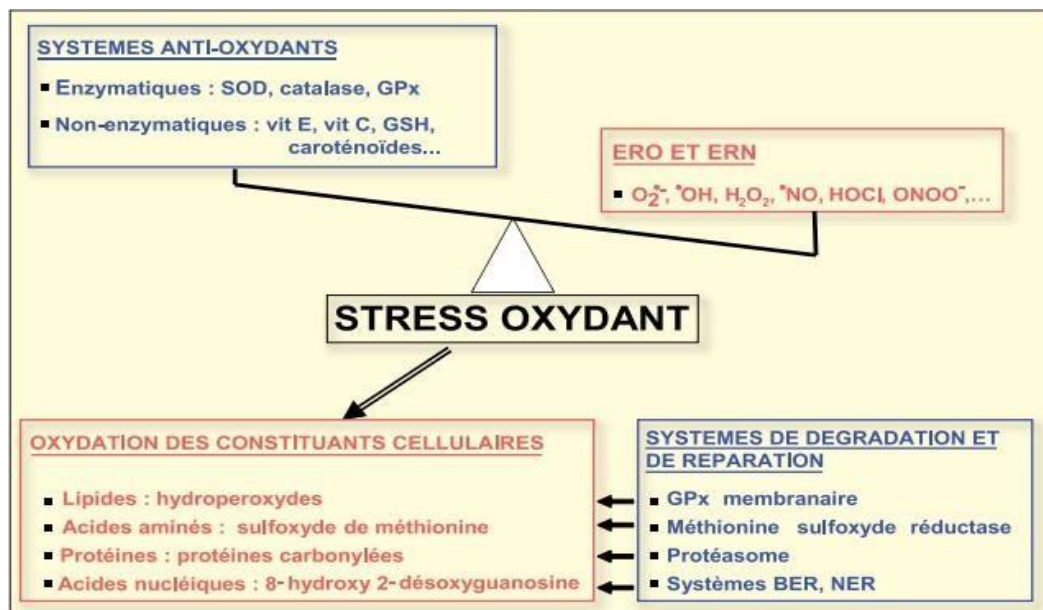


Figure 03 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Yoshikawa et al ., 2000).

### II.1.3 Stress oxydant

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. Produits de façon continue et élevée, les ERO sont à l'origine d'un stress oxydant avec modifications irréversibles de lipides, de protéines et d'acides nucléiques (figure 4)(Bruno, 2020).



**Figure 04 :** Le stress oxydant est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les capacités antioxydantes de l'organisme (enzymes antioxydantes et systèmes antioxydants non enzymatiques)(Junqueira et al., 2004)

### II.1.4 Facteurs du stress oxydant :

- ✚ Un déficit en antioxydants tel que les vitamines ou les oligoéléments (Cu, Zn, Se, etc) apporté par la nutrition.
- ✚ Anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamme – glutamyl synthétase produisant le glutathion) ou régénérant un antioxydant.
- ✚ Une activation des enzymes (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase).
- ✚ Une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices de métaux ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobines, catécholamines) (figure 5) (Pincenail et al., 2002).

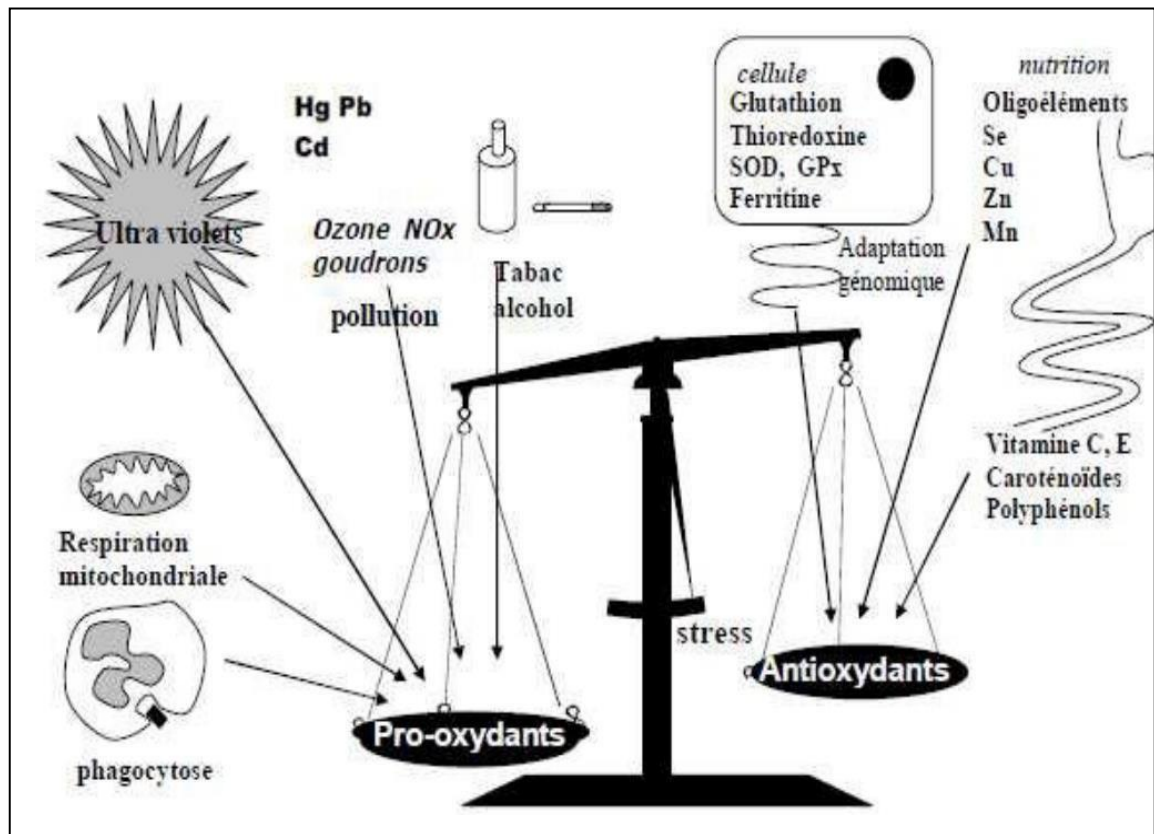


Figure 05 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

## II.1.5 Conséquences du stress oxydant

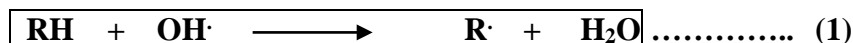
### II.1.5.1 Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique est un phénomène général qui se produit en présence d'oxygène. Tous les lipides contenant des acides gras insaturés quel que soit leur origine (huiles végétales, huiles de poissons, graisses animales, membranes cellulaires, lipoprotéines) sont concernés.

L'étude des mécanismes de la peroxydation lipidique et des moyens de la prévenir par les antioxydants connaît depuis les dernières décennies un regain d'intérêt dû aux implications de ces phénomènes dans les domaines de la nutrition et de la santé. La caractéristique de l'autooxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) par l'oxygène à l'état fondamental ( $^3\text{O}_2$ ) est d'être une réaction en chaîne radicalaire qui se déroule en trois étapes : initiation, propagation et terminaison (Cillard et Cillard, 2006).

• **Initiation :**

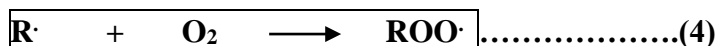
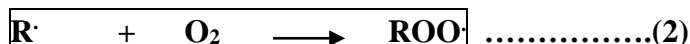
L'initiation consiste en l'abstraction par un radical libre d'un atome d'hydrogène d'un groupement méthylène (-CH<sub>2</sub>-) surtout s'il est adjacent à une double liaison. Le radical formé se stabilise, sous forme de diène conjugué, par résonance (Baudin, 2006 ; Levasseuret *al.*, 1995).



• **Propagation :**

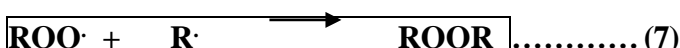
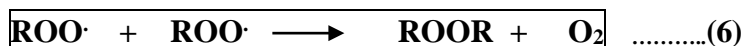
Le radical alkyle formé dans l'étape d'initiation réagit très rapidement avec le <sup>3</sup>O<sub>2</sub> pour donner un radical peroxy. Cette étape est très rapide comparée à la réaction suivante où il y a transfert d'un atome d'hydrogène d'une molécule d'acide gras voisine pour former un hydroperoxyde. C'est l'étape de propagation de la peroxydation car l'acide gras qui vient de donner son hydrogène est transformé en radical alkyle qui retourne dans le cycle pour réagir avec le <sup>3</sup>O<sub>2</sub> et donner un radical peroxy.

Il a été calculé que lorsqu'un radical initie la peroxydation, environ 25 molécules d'acides gras sont oxydées dans la phase de propagation. Il est à noter que l'oxydabilité des acides gras augmente avec le nombre de doubles liaisons (Cillard et Cillard, 2006 ; Levasseuret *al.*, 1995).



• **Terminaison**

Elle correspond à la disparition des peroxydes, à l'accumulation des composés secondaires d'oxydation, c.à.d. à l'oxydation complète du substrat (Judde, 2004 ; Rahmani, 2007).



Il existe de nombreux marqueurs de la peroxydation lipidique, dont le malondialdéhyde (MDA). Il résulte de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des AGPI (figure 02) (Guichardant *et al.*, 2006).

### II.1.5.2 Oxydation des protéines

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes des protéines, altérant ainsi leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, sur lesquels le radical OH $\cdot$  s'additionne, modifiant la conformation de la protéine.

Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines. Les ERO sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques (Koechlin, 2006).

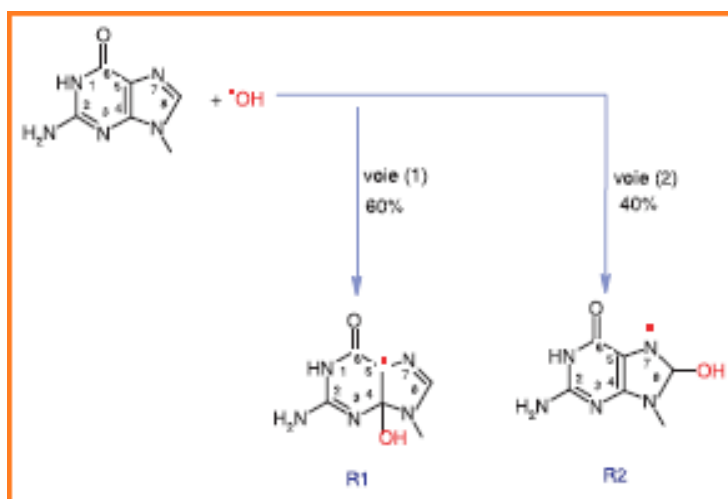
Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, anti-enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome (Favier, 2003).

### II.1.5.3 Oxydation de l'ADN

Les ERO peuvent provoquer des lésions des acides nucléiques susceptibles d'entraîner des mutations ou d'altérer l'expression des gènes. Il peut y avoir jusqu'à 70 modifications oxydatives différentes des acides nucléiques, certaines affectant les bases d'autres induisant des cassures dans les brins (Ré *et al.*, 2005).

Dans les conditions physiologiques, on estime que l'ADN nucléaire présente une base modifiée par les ERO pour 130000 bases, et même une pour 8000 dans l'ADN mitochondrial particulièrement vulnérable. Le radical OH $\cdot$  est le plus réactif envers les bases azotées et les sucres des acides nucléiques (figure 6). Par exemple, la guanine peut être oxydée en 8-hydroxy-guanine ; les atomes 4 et 5 peuvent aussi être touchés et des attaques semblables ont été retrouvées sur les mêmes atomes de l'adénine ainsi que sur les carbones du noyau ou du groupement méthyle de la thymine, par exemple pour former du thymidine-glycol. Le ribose et le désoxyribose peuvent être oxydés en dérivés mono ou dicarbonylés (Baudin, 2006).





**Figure06** : illustration d'un mode d'action des radicaux hydroxyles (**Gardèsset *al*, 2003**).

### II.1.6 Pathologies liées au stress oxydatif

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de différentes pathologies humaines, allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète (Tableau IV). Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement. De plus, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (**Poprac *et al.*, 2017; Liguori *et al.*, 2018**).

Tableau IV : Les principales affections liées à la production des radicaux libres et des EOR.

Pathologie	Références
Maladies inflammatoires	(Qu et <i>al.</i> ,2019)
Diabète	(Oguntibeju, 2019)
Cancer	(Nichols et <i>al.</i> , 2017)
Les maladies cardiovasculaires	(Incalza et <i>al.</i> , 2017)
Alzheimer, Parkinson	(Van Raamsdonk et <i>al.</i> , 2017)
Arthrite rhumatoïde	(Pradhan et <i>al.</i> , 2019)
Allergie et Maladies auto-immunes	(Colucci et <i>al.</i> , 2015)
Viellissement	(Liguori et <i>al.</i> , 2018)
Athérosclérose	(Bryk et <i>al.</i> , 2017)

## II.2 Les antioxydants

### II.2.1 Définition

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. (Wainsten , 2009). Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydant primaires et secondaires).

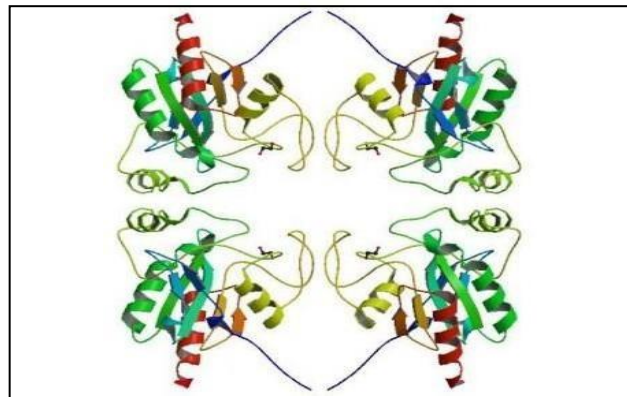
### II.2.2 Types d'antioxydants

L'organisme possède un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydantes dans l'organisme. Ce système est divisé en deux grandes catégories :

### II.2.2.1 Les antioxydants enzymatiques

#### ➤ Glutathion peroxydase (GPx)

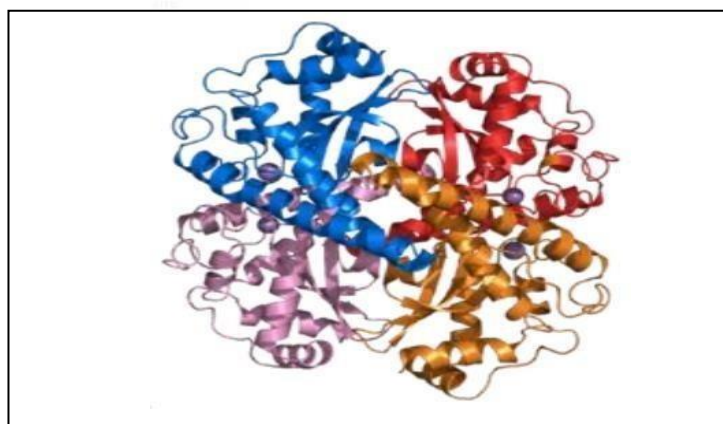
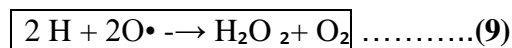
La Glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. Elle assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type ROOH en ROH (figure 07) (Belkhiri, 2010).



**Figure 07 :** Structure tridimensionnelle de la Glutathion peroxydase (Belkhiri, 2010)

#### ➤ Superoxyde dismutase (SOD)

C'est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) en oxygène et peroxyde d'hydrogène (figure 08) (Zerargui, 2015).



**Figure 08 :** Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase (Belkhiri, 2010)

➤ La catalase

La catalase (CAT) est une enzyme qui catalyse la décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>, elle se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules (figures 09 et 10) (Tokarz et Kaarniranta, 2013).

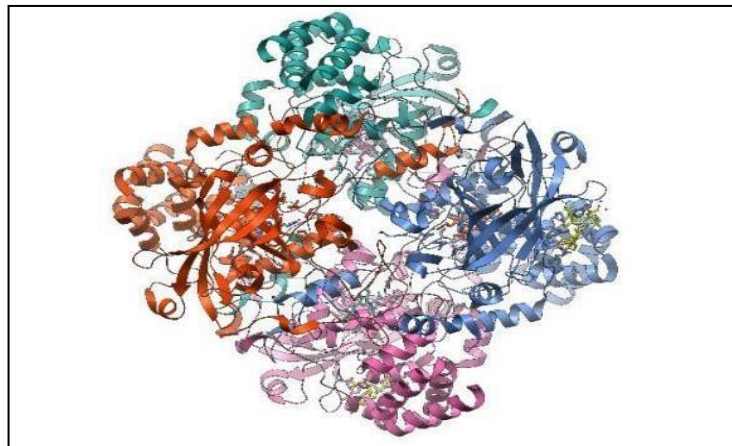
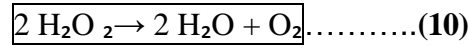


Figure 09 : Structure tridimensionnelle de la catalase (Belkhiri, 2010)

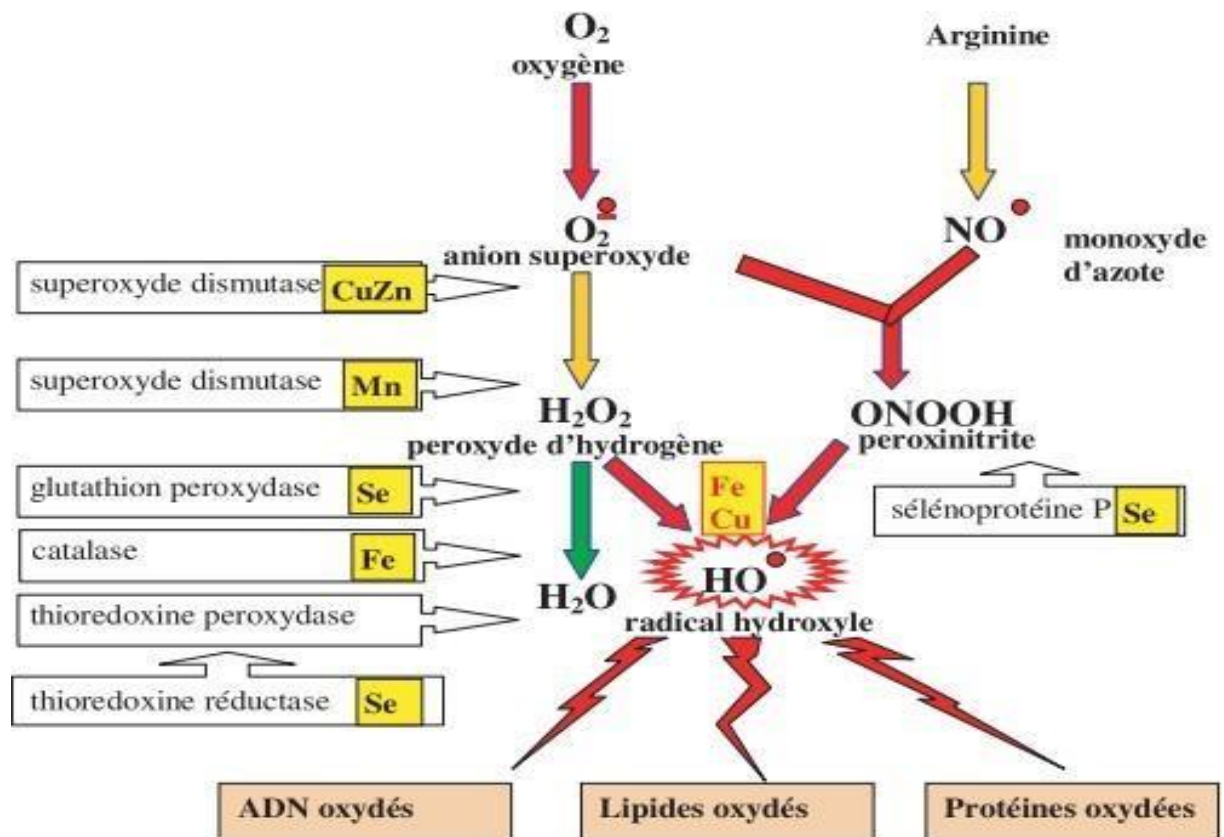


Figure 10 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003)

### II.2.2.2 Les antioxydants non enzymatiques

#### ➤ Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C, acide L-ascorbique, est un composé organique hydrosoluble, actif à faible dose dans l'organisme et participe au maintien de l'équilibre vital. La vitamine C est connue pour son pouvoir antioxydant contre les radicaux libre (figure 11) (Schwartz, 2016).

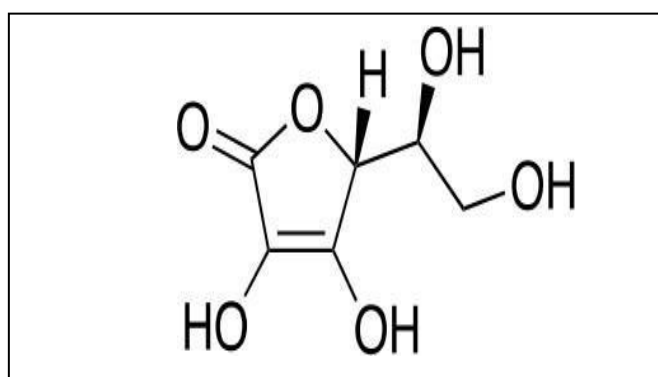


Figure 11 : Structure chimique de la vitamine C (Fabre et al ., 2015)

#### ➤ Vitamine E (tocophérol)

C'est un antioxydant liposoluble trouvé principalement sur les membranes cellulaires. Il est donc impliqué dans la réduction de la peroxydation lipidique (figure 12) (Guillouty, 2016).

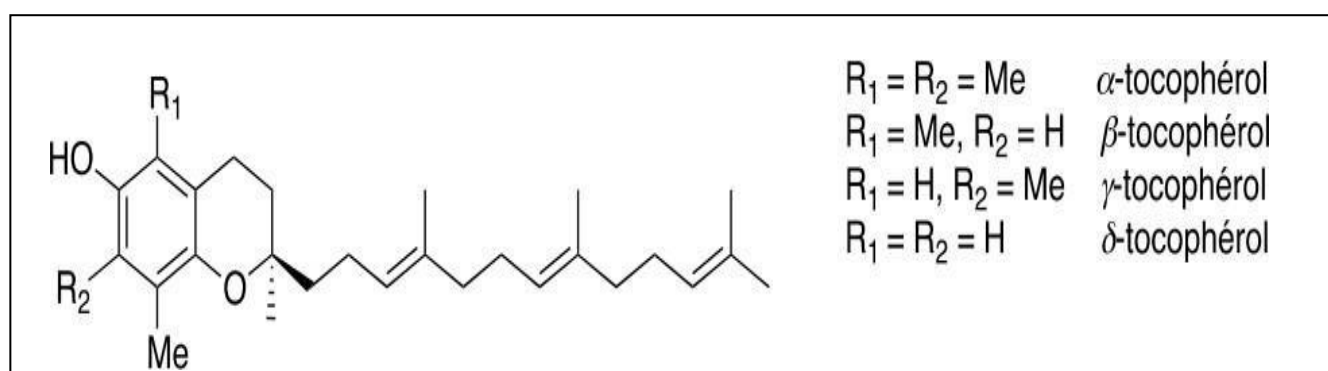


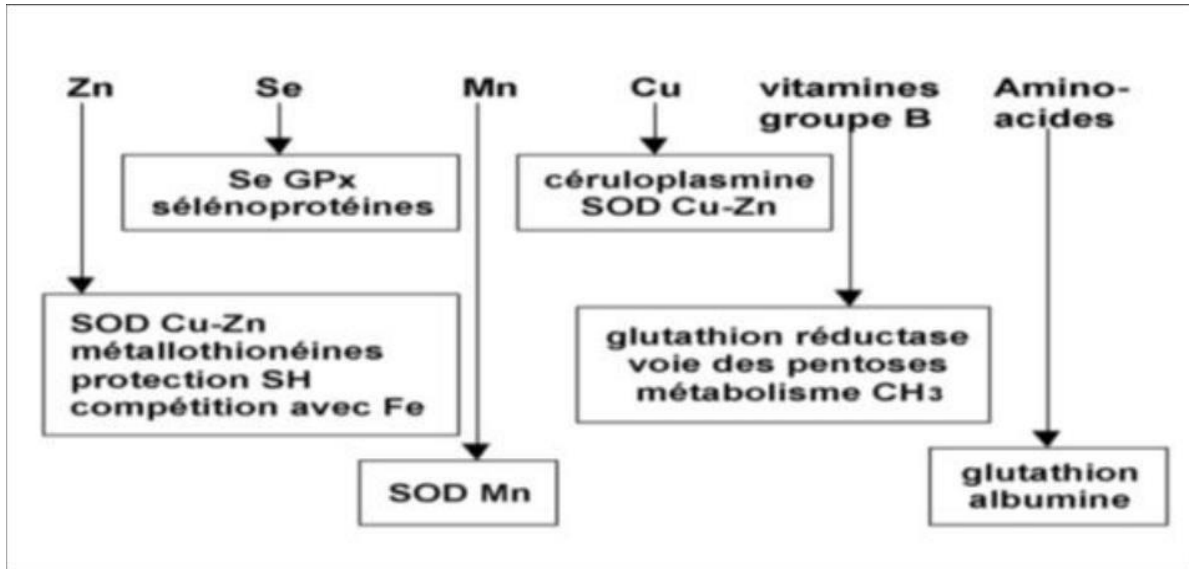
Figure 12 : Structure chimiques des vitamines E (Fabre et al ., 2015)

#### ➤ Les oligoéléments

Les oligoéléments ou les éléments-trace (zinc, sélénium, cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (figure 13). D'autres constituants de l'alimentation, comme les vitamines du groupe B, le chrome ou le magnésium agissent comme des antioxydants indirects via la régulation de l'homocystéinémie (vitamines

du groupe B), l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (chrome) ou la lutte contre l'inflammation (magnésium).

La synthèse du glutathion, un des antioxydants le plus important de l'organisme, dépend fortement de l'apport nutritionnel en acides aminés tels que la méthionine (Roussel, 2009).



**Figure 13** : Oligoéléments nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (Roussel,2009).

*Chapitre III*  
*Composés Phénoliques*

### III. Composés phénoliques

#### III.1 Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal. Les composés phénoliques naturels sont caractérisés par au moins un cycle aromatique et par un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés (Watson, 2018).

#### III.2 Classification

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction du nombre et de la disposition de leurs atomes de carbone en plusieurs groupes (Figure 14).

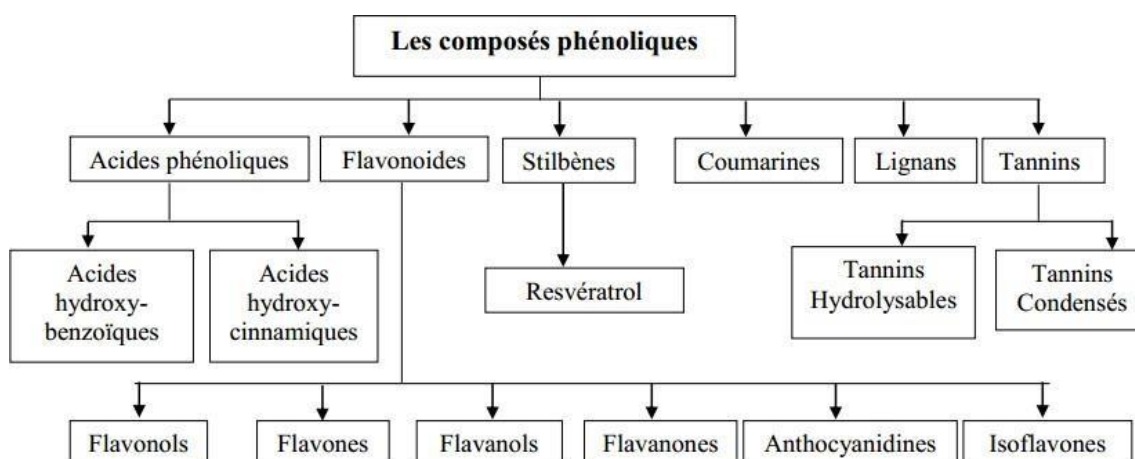


Figure 14 : Différentes classes de polyphénols (Watson, 2018).

#### III.2.1 Acides phénoliques

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Singlaet *al.*, 2019). Les acides phénoliques sont divisés en deux classes :

- ✓ **Les acides hydroxybenzoïques** : sont dérivés de l'acide benzoïque (dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque) et ont une formule de base de type C6-C1 (figure 15 A). Les dérivés substitués des acides hydroxybenzoïques sont les acides phénoliques prédominants dans les plantes. Les acides hydroxybenzoïques qui se produisent fréquemment dans les aliments comme des esters simples avec de l'acide quinique ou du glucose sont : l'acide protocatéchique, vanillique, ellagique, gallique, syringique, salicylique et l'acide gentisique (Călinoiu et Vodnar, 2018).



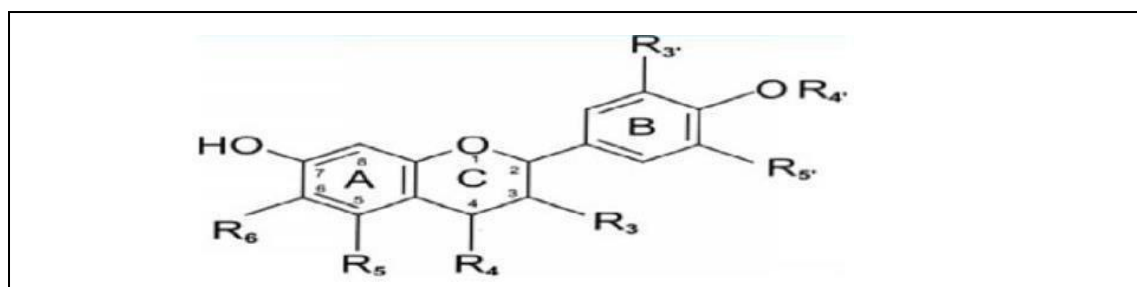
- ✓ **Les acides hydroxycinnamiques** : sont des dérivés appartenant à la famille des phénylpropanoïdes, qui représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) provient de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques sont l'acide caféique, p-coumarique, ferulique et l'acide sinapique (figure 15 B). Ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides (Bijalwan et al., 2016).



**Figure 15** : Structure chimique des acides phénoliques : l'acide hydroxybenzoïque (A), et hydroxycinnamique (B) (Călinoiu et Vodnar, 2018).

### III.2.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des feuilles et des fruits. Ils sont responsables de certaines colorations de nombreux végétaux (Vania et al., 2014). Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (figure 16) ; le noyau flavane constitué de 15 atomes de carbone (C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>) assemblés en 3 cycles A, B et C (A et B sont des noyaux aromatiques et C est un hétérocycle oxygéné central (Kim et al., 2004).



**Figure 16** : structure de base des flavonoïdes (vania et al, 2014).

#### Classification

##### ➤ Les flavonols

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempferol et la quercétine. Cette dernière est connue pour posséder un très fort pouvoir antioxydant en raison de sa structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres. A des concentrations de l'ordre de 15 à 30 mg/kg de matière fraîche

rencontre dans l'oignon, les brocolis, les poireaux et les myrtilles. La glycosylation avec un glucose ou un rhamnose est très fréquente (Manach *et al.*, 2004).

➤ **Les flavones**

De tous les flavonoïdes, cette sous-classe est la moins abondante dans les fruits et légumes. Ils sont essentiellement constitués de lutéoline et apigénine glycosylés. Les seules denrées comestibles connues à ce jour qui en possèdent sont le persil et le céleri (Manach *et al.*, 2004).

➤ **Les flavanones**

Dans l'alimentation, les flavanones se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents à des quantités importantes dans le citron. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'hespéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron. La position 7 est le siège de la glycosylation (El Gharras, 2009).

➤ **Les isoflavones**

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation, qui peuvent être glycosylés ou non. On les rencontre aussi dans les légumineuses.

➤ **Les flavanols**

Les flavanols existent sous forme de monomères, dont l'unité la plus simple est la catéchine, et sous forme polymérique appelés les proanthocyanidines. La catéchine est présente dans de nombreux fruits comme la pomme, mais le chocolat et le thé sont les principales sources de ce composé (El Gharras, 2009).

➤ **Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires.

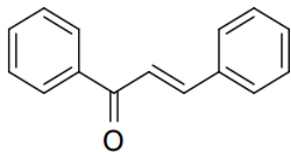
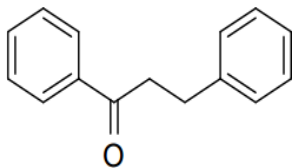
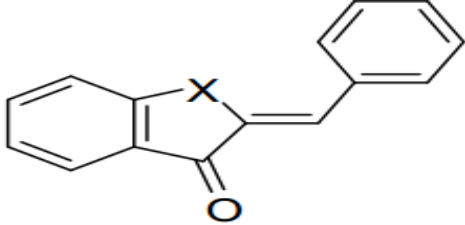
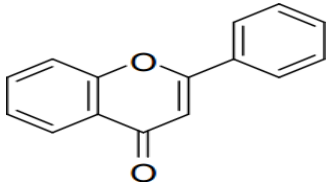
Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner (Castaneda *et al.*, 2009).

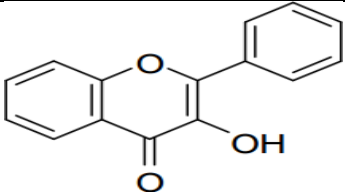
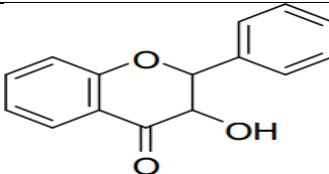
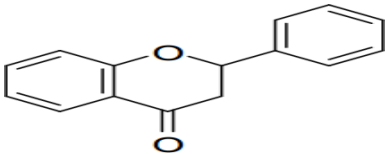
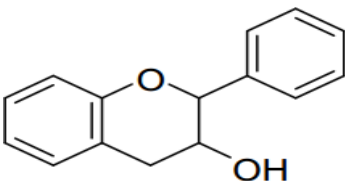
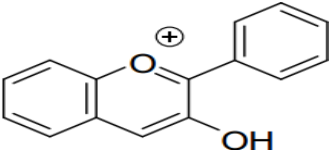
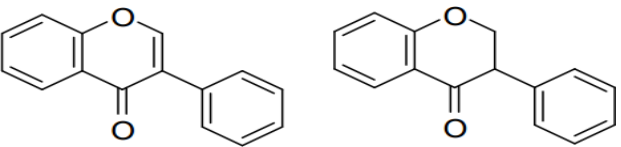
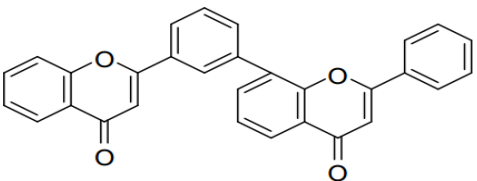
➤ Les proanthocyanidines

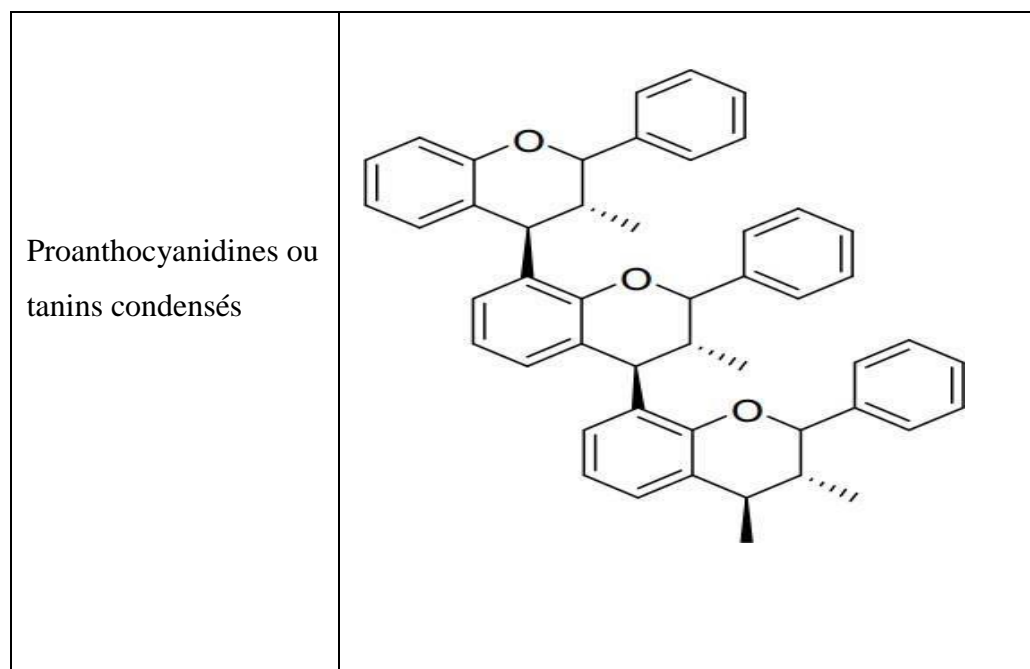
Connus sous le nom de tanins condensés, ils peuvent être des dimères, des oligomères et polymères de catéchine qui sont liés entre eux en position C4, C8 ou encore C6 (Tarascou et al., 2011). Ils entrent en grande partie dans la composition des raisins où ils sont localisés dans les graines et la peau. Le degré de polymérisation de ces composés varie en fonction de l'organe végétal : entre 1 et 20 pour la graine et en moyenne 30 pour la peau. L'aptitude de ces composés à s'associer avec les protéines salivaires leur confère la propriété d'astringence que l'on retrouve chez certains fruits (raisin, pomme, poire) et certaines boissons (thé, vin, bière) (Prieur et al., 1994; El Gharras, 2009).

Les différentes classes des flavonoïdes sont représentées dans le tableau V

**Tableau V** : Différentes classes des flavonoïdes (Sartori-Thiel, 2003; Hallgas et al., 2004)

Flavonoïdes	Structure de base
Chalcones	
Dihydrochalcones	
Aurones	 X = O, S, SO <sub>2</sub> ou NH
Flavones	

<p>Flavonols</p>	
<p>Dihydroflavonols</p>	
<p>Flavanones</p>	
<p>Flavanols</p>	
<p>Anthocyanidines</p>	
<p>Isoflavonoïdes</p>	
<p>Biflavonoïdes</p>	



### III.2.3 Tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques de poids moléculaire élevé produits par le métabolisme secondaire des plantes (Bossu *et al.*, 2006). Les tannins sont divisés en tannins condensés et tannins hydrolysables (Cai *et al.*, 2006).

#### III.2.3.1 Tannins condensés

Ces composés consistent en des unités de flavan-3ol liées par des liaisons C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> ou C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>. Ces polyflavonoïdes contiennent des cycles A de phloroglucinol ou de résorcinol et des cycles B de catéchol ou de pyrogallol. La liaison interflavonoïdique C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> prédominant chez les tannins est le plus souvent composée d'unités répétées de fisétinidine (cycle A : résorcinol, cycle B : catéchol) et de robinétidine (cycle A : résorcinol, cycle B : pyrogallol). La liaison interflavonoïdique C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> de l'autre côté prédominant chez les tannins, est composée d'unités répétées de catéchine (cycle A : phloroglucinol, cycle B : catéchol) et de gallocatéchine (cycle A : phloroglucinol, cycle B : pyrogallol). Lorsque les tannins polymériques sont composés d'unités de fisétinidine ou de robinétidine les polymères sont respectivement appelés profisetinidine ou probinétidine ; lorsqu'ils sont composés de catéchine ou de gallocatéchine les polymères sont appelés procyanidines ou prodelphinidine, respectivement (Rahim *et al.*, 2008).

### III.2.3.2 Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont formés par un cœur hydrocarbure, usuellement le D-Glucose, dont les groupements hydroxyles peuvent présenter des liaisons esters avec les groupements phénoliques. Les tannins hydrolysables peuvent être appelés ellagitannins, lorsque seulement les acides ellagiques sont les groupements polyphénoliques liés au cœur hydrocarbure. Les gallotannins se présentent lorsque seulement les acides galliques sont liés au cœur hydrocarbure, et les tannins mixtes lorsque les deux, les acides ellagiques et galliques sont liés au même cœur hydrocarbure (figure 17) (Bossu *et al.*, 2006).

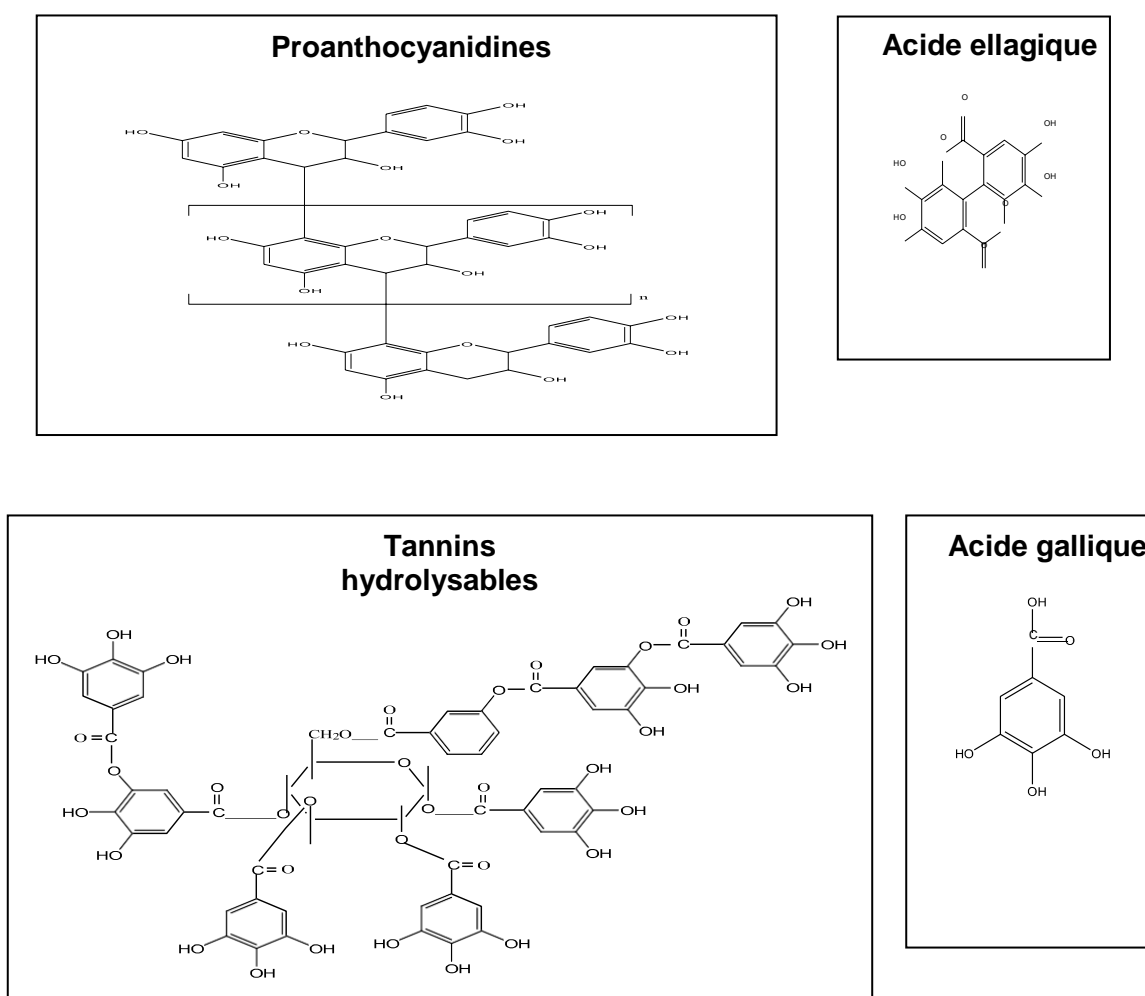


Figure 17 : structures chimiques des tannins (Naczk et Shahidi, 2004).

### III.3 Propriétés chimiques majeures des polyphénols

Une propriété importante des groupements hydroxyles des phénols est leur acidité due à la labilité des protons acides, qui entraîne la formation d'anionsphénoxydes (figure 18) stabilisés par résonance. Cet anion a la possibilité de perdre un électron pour former un radical a (Sartori, 2003) ; l'électron, lui, pouvant être récupéré par un radical libre. La structure aromatique du radical phénoxydeainsi formé lui confère une certaine stabilité, donc une réactivité plus faible, en raison de la délocalisation du radical (Leopoldini et al.,2011). Il peut, ensuite, réagir avec un autre radical libre (Korkina et al., 2012).

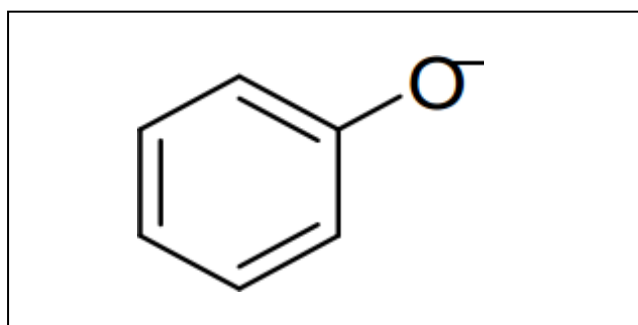


Figure 18 : Structure chimique de l'ion phénoxyde (Sartori, 2003)

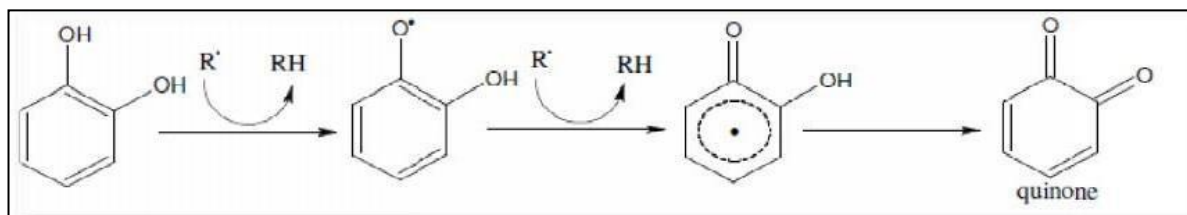
Les substitutions les plus rencontrées sur les phénols des végétaux sont principalement la méthylation et la conjugaison avec des esters et des glycosides, lesquels peuvent être acylés. Les polyphénols sont généralement glycosylés dans leur état naturel (Sartori, 2003).

Par conséquent, l'aptitude de certains polyphénols à être naturellement présents sous forme glycosidique dans l'aliment leur octroie une biodisponibilité toute relative. En effet, il a été montré que la glycosylation, la conjugaison et la polymérisation tendaient à diminuer leur absorption intestinale (Manach et al., 2004).

### III.4 Mode d'action des composés phénoliques anti-oxydants

#### ✓ Piégeage des radicaux libres

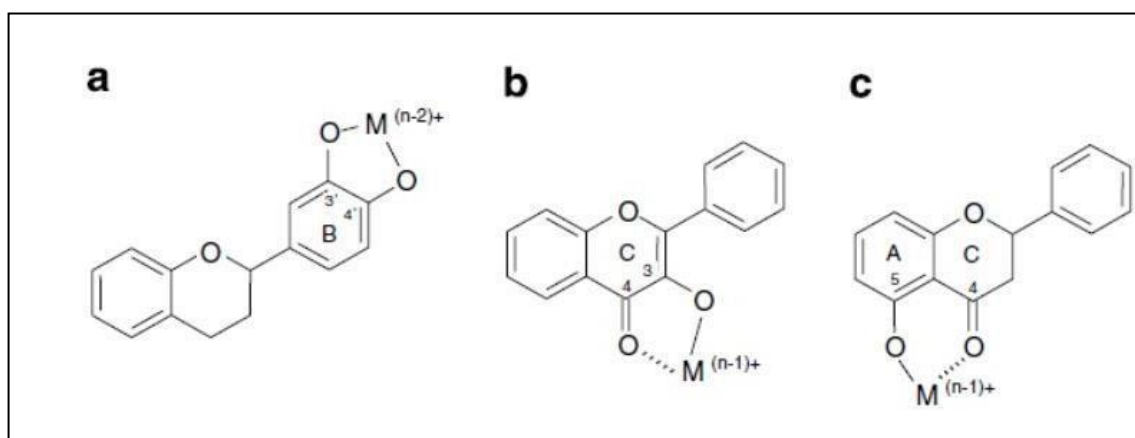
Les flavonoïdes (FI-OH) sont capables de réduire les radicaux libres oxydants par transfert d'hydrogène s attachés aux structures cycliques (Heim et al., 2002).Le radical flavonoxy (FL-O.) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (figure 19) (Marfak, 2003).



**Figure 19** : Piégeage des ERO par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

#### ✓ Chélation des métaux de transition

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques peut s'exercer par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet, ces derniers accélèrent la formation des ROS. Pour les flavonoïdes, les deux points d'attache des ions de transition sont le groupe O-diphénolique dans la position 3', 4' di hydroxy du cycle B (Figure 20 a), et entre la fonction 4 cétone et l'hydroxyle 3 (Figure 20 b) ou la fonction cétone et l'hydroxyle 5 du cycle A (Figure 20 c) (Laguerre *et al.*, 2007).



**Figure 20** : La complexation métallique par les flavonoïdes (Laguerre *et al.*, 2007)

#### ✓ L'activité inhibitrice d'enzymes

Les flavonoïdes sont connus pour leur pouvoir d'inhibition d'enzyme dont, en particulier, les oxydo-réductases qui font intervenir au cours de leur cycle catalytique des espèces radicalaires (lipoxygénase, cyclo-oxygénase, monooxygénase, xanthine oxydase, phospholipase A2, protéine kinase) (Ghedira, 2005).



*Chapitre IV*  
*Méthodes d'évaluation de*  
*l'activité antioxydante*

## IV. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Depuis ces dernières décennies, les tests d'activité antioxydante ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés. De nombreuses méthodologies sont disponibles, permettant d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions. Dans cette section, les méthodes expérimentales les plus répandues seront décrites.

### IV.1 Test DPPH

Le DPPH• (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante et de couleur violette caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons  $\pi$  le long de la molécule. Il est l'un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques (Brand et al., 1995). 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 (e.g., après ajout d'électron) absorbe à 515-518 nm alors que sa forme oxydée ne présente pas de pic d'absorption.

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 21).

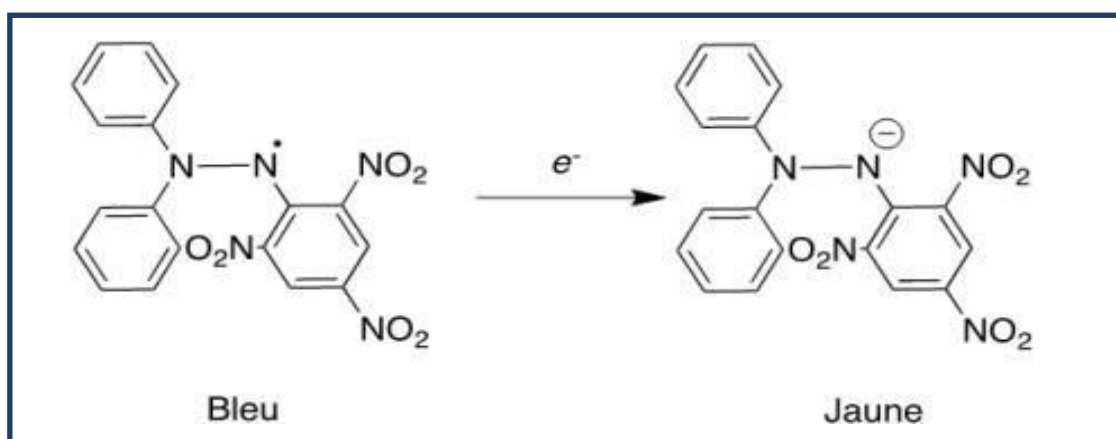


Figure 21 : Modification du DPPH• lors du transfert électronique (Huang et al., 2005)

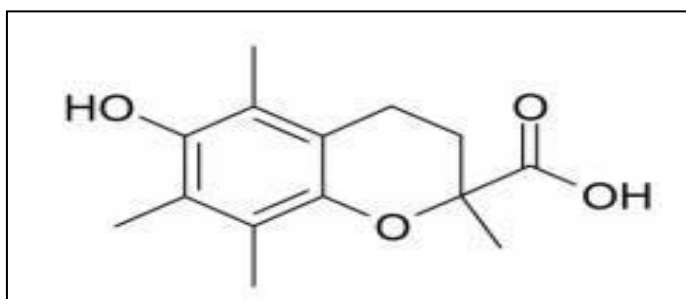
Cette propriété peut dorénavant être quantifiée par spectroscopie UV/Visible en se focalisant sur l'absorption à 515-518 nm. Ce test est encore fréquemment utilisé pour évaluer le

potentiel antioxydant de polyphénols. 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.

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. D'autre part, le transfert d'électron aurait une cinétique lente comme montré dans le cas de dérivés glycosylés et des anthocyanes (**Huang et al.,2005**) . 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 rapide que celles d'un transfert d'atome (**DiMeo et al., 2013**).

## IV.2 Test TEAC

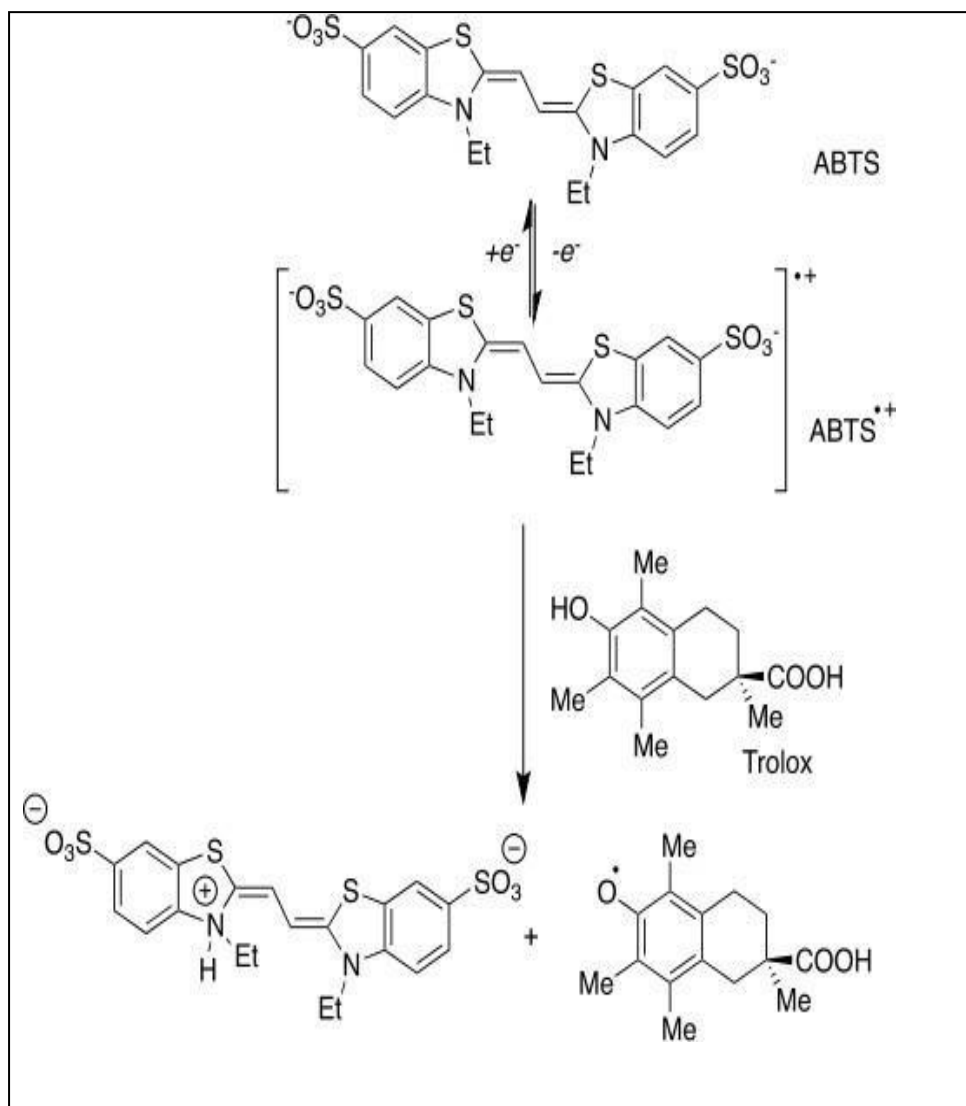
La méthode TEAC (Trolox Equivalent AntioxidantCapacity) permet de mesurer la capacité d'un candidat à piéger le radical cation ABTS $\bullet$ + (obtenu à partir de sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La particularité de cette méthode est l'aspect compétitif puisque la mesure sera comparée à la capacité d'un antioxydant de référence le Trolox (pallegrini et all, 2003) .Il est important de noter que le Trolox est un analogue chimique de la vitamine E (figure 22).



**Figure 22** : Structure chimique du Trolox (**Pellegrini et al.,2003**).

Le test TEAC est également une méthode colorimétrique où une décoloration de la solution bleu-vert contenant ABTS $\bullet$ + 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 (figure 23).

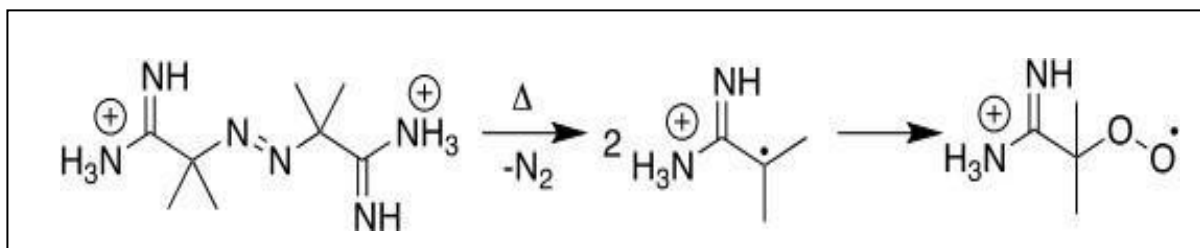


**Figure 23 :** Modification de l'ABTS  $\bullet$  lors du transfert électronique (Huang et al., 2005)

### IV.3 Test ORAC

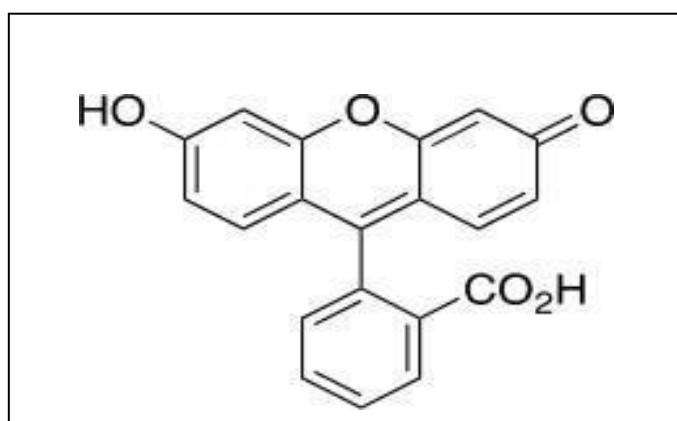
Le test ORAC (ou Oxygen Radical Absorbance Capacity) est une méthode de mesure de la capacité antioxydante des échantillons biologiques *in vitro* (Ou et al., 2001). Cette méthode mesure la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après ajout d'un générateur de

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 (figure 24)



**Figure 24 :** Modification de l'AAPH• lors du transfert électronique (Nimse et Pal, 2015).

Deux systèmes révélateurs sont fréquemment utilisés : la fluorescéine et la  $\beta$ - phycoérythrine. La dernière est particulièrement pertinente des tests in vitro puisque c'est une fluoroprotéine (figure 25).



**Figure 25 :** Structure chimique de la fluorescéine (Nimse et Pal, 2015).

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.

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 détecter une latence d'action. Ce point est particulièrement intéressant pour étudier des extraits végétaux, aliments ou des compléments alimentaires

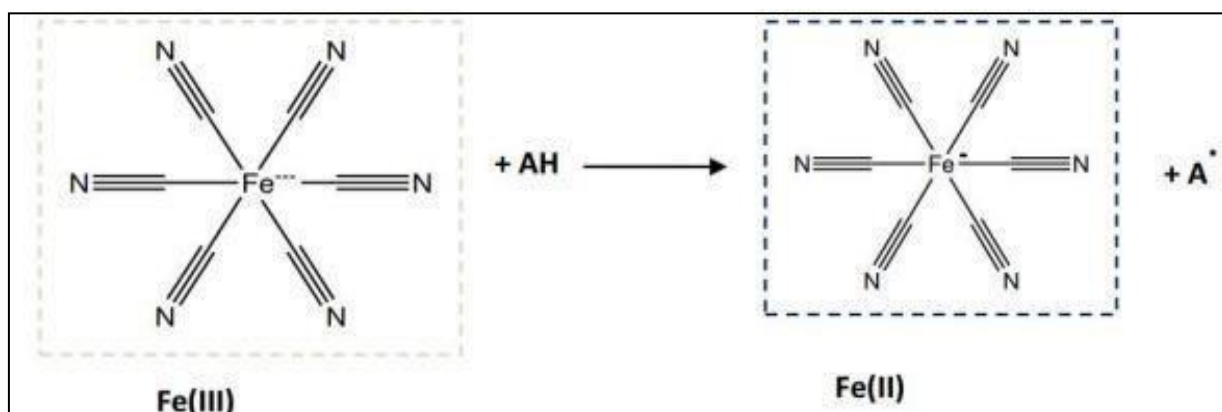
contenant plusieurs antioxydants à action rapide et à action retardée, ces effets combinés ne pouvant que difficilement être prédits.

Cette méthode a également des inconvénients. Elle ne va mesurer l'activité antioxydante que sur des radicaux peroxydes. 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 corrélérer les données in vitro avec des résultats physiologiques in vivo (Cao et al.,1993). Les aliments ayant eu les meilleurs résultats avec cette méthode sont le pruneau, les haricots et les myrtilles.

#### IV.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, e.g. de l'ion ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) à l'ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant (figure26) (Pellegrini et al.,2003). 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.

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



**Figure 26 :** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH) (Pellegrini et al ., 2003)

## **IV.5 Test TRAP**

Ce test TRAP (ou Telomeric Repeat Amplification Protocol) est spécifique de l'action des antioxydants sur les radicaux peroxydes ROO•. 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. (**Pellegrini et al ., 2003**)

# *Conclusion*



### Conclusion

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, les plantes constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien-être des populations surtout des plus démunies.

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à l'étude d'une plante aromatique très utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses vertus thérapeutiques en établissant une relation entre ses compositions chimiques et ses activités biologiques.

A l'issue de l'étude de l'activité antioxydante et le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux, il ressort que la partie aérienne de notre plante appartenant au genre *Mentha* est douée d'une activité antioxydante considérable et en teneur importante en polyphénols et flavonoïdes. Ceci est dû au fait que les polyphénols sont des composés qui présentent des propriétés d'oxydoréduction conduisant à l'inhibition des radicaux libres (**Bartosz 2003**).

En conséquence, la présence des composés phénoliques dans les extraits d'une plante contribue de manière significative à leurs propriétés antioxydantes, c'est ce qui conduit selon (**Bidie et al. 2011**) à conclure que les plantes qui possèdent une bonne activité antioxydante contiennent de fortes teneurs en groupements phénoliques.

Il est également noté dans cette étude que cette plante constitue de puissants capteurs de radicaux libres, possédant ainsi diverses propriétés biologiques liées à cette activité antioxydante. Ces sources potentielles d'antioxydants naturels peuvent être exploitées dans des préparations alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

La capacité de la Menthe à piéger les radicaux libres (prouvée par le test du DPPH, ABTS) confère à la menthe un grand intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires, les cancers, les diabètes, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement (**Talbi et al. 2015**).

Ces résultats apportent des éléments de validation scientifique de l'utilisation traditionnelle des membres de la famille des Lamiaceae, plus particulièrement des espèces du genre *Mentha* (*Mentha spicata*).

## *Conclusion*

---

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Elargir le panel des activités antimicrobiennes et antioxydantes in vitro et in vivo.
- Elargir le travail pour d'autres activités biologiques tel que : l'activité anti-inflammatoire, l'activité cytotoxique, anti-tumorale et hépatoprotectrice.
- Caractériser et isoler les principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques.

# *Liste de références*

**A**

- Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F. and Abdinian, M. (2016). Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Science*, 61: 175-179.
- Ait-Ouahioune C.H.( 2005). Contribution à l'étude de l'effet du substrat sur la composition quantitative et qualitative de l'huile essentielle de *Mentha viridis* L (menthe verte). Thèse d'ingénieur en Agronomie, UMMTO.
- Arumugam P., Priya N. G., Subathra M. et Ramesh A. (2008). Anti- inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of *Mentha spicata* L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. *Environ .Toxicol.Pharm*, 26(1): 92- 95.
- Aye kee L., Bakr Shori A., Baba H.A.S.( 2017). Bioactivity and health effects of *Mentha spicata*. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 5(1), 1-2p

**B**

- Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt Cardio*, 2 (1) :43-52.
- Belkhiri N.( 2010). these de doctorat. Derivés phénoliques a activités antiatherogenes. Toulouse III - Paul Sabatier.
- Beloued A. (2001) *Plantes médicinales d'Algérie*.Ed. OPU, Ben Aknoun, Alger, 277p
- Benabdallah A. (2016). Etude écophysiologique, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le parc national d'El-Kala (Nord -Est-Algérie). Thèse de doctorat en vue de l'obtention du grade de Docteur en sciences, filière Biologie Végétale, p.41-54
- Bensabah F., Houbairi S., Essahli M., Lamiri A., Naja J. (2013). Chemical composition and inhibitory effect of the essential oil from *Mentha spicata* irrigated by wastewater on the

## *Liste de références*

---

corrosion of aluminum in 1 molar hydrochloric acid. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 31(4),195-206p

- Bijalwan V., Ali U., Kesarwani A.K., Yadav K. & Mazumder K. (2016). Hydroxycinnamic acid bound arabinoxylans from millet brans-structural features and antioxidant activity. *Int J Biol Macromol.*88: 296-305.
- Bonnefont-Rousselot, D., Peynet,J., Beaudeau, J., Théron,P., Legrand,A. and Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16 : 260-267.
- Bossu, C. M. ; Ferreira, E. C. ; Chaves, F. S. ; Menezes, E. A. and Nogueira, A. R. A. (2006). Flow injection system for hydrolysable tannin determination. *Microchemical Journal*, 84: 88-92.
- Brahmi, F., Adjaoud, A., Marongiu, B., Procedda, S., Piras, A., Falconieri, D., Yalaouni-Guellal, D., Elsebai, M. F., Madani, K. and Chiban, M. (2016). Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium L.* and *Mentha rotundifolia (L.)* Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*.10.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol.* 1995;28(1):25-30.
- Bryk D., Olejarz W. & Zapolska-Downar D. (2017). The role of oxidative stress and NADPH oxidase in the pathogenesis of atherosclerosis. *Postepy Hig Med Dosw.* 71: 57-68.
- Boukhebt H, Chaker AN, Belhadj H, Sahli F, Ramdhani M, Laouer H, Harzallah D. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium L.* and *Mentha spicata L.* essential oils, *Der Pharmacie Lettre* 3, 4, p267-275

## *C*

- Cai, Y.-Z.; Sun, M.; Xing, J.; Luo, Q. and Corke, H. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 2872-2888.

## *Liste de références*

---

- Călinoiu L. & Vodnar D. (2018). Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. *Nutrients*. 10(11): 1615-1624.
- Carange, J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection . Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières.
- Cao G, Alessio HM, Cutler RG. (1993) Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* ,14(3):303-11.
- Castaneda-Ovando, A., M. d. L. Pacheco-Hernandez, M. E. Paez-Hernández, J. A. Rodriguez et C. A. Galan-Vidal (2009). "Chemical studies of anthocyanins: A review." *Food Chemistry* 113(4): 859-871.
- Chauhan SS, Prakash O, Padalia RC, Vivekanand, Pant AK, Mathela CS. (2011). Chemical composition in *Mentha spicata* : Antioxydant and potato sprout inhibition activity of its essential oils, *Natural Product Communications*, 6(9), p1373-1378 .
- Cillard, J. and Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 13 (1) : 24-29.
- Colucci R., Dragoni F. & Moretti S. (2015). Oxidative stress and immune system in vitiligo and thyroid diseases. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2015: 631927.

## *D*

- Dhifi W., Jelali N., Mnif W., Litaïem M., Hamdi N. (2013). Chemical composition of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Tunisia and its biological activities. *Journal of Food Biochemistry*, 37(3), 362-368p
- Di Meo F, Lemaur V, Cornil J, Lazzaroni R, Duroux J-L, Olivier Y. (2013). Free Radical Scavenging by Natural Polyphenols: Atom versus Electron Transfer. *J Phys Chem A*.117(10):2082-92.
- Douay S, Dhifi W., Jelali N., Mnif W., Litaïem M., Hamdi N. (2013). Chemical composition of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Tunisia and its biological activities. *Journal of Food Biochemistry*, 37(3), 362-368p

*E*

- El Gharras, H. (2009). "Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review." *International Journal of Food Science and Technology* 44(12): 2512-2518.
- Emilie A., François C., Geneviève B., Mayoura B., Jérémy J., Jaime L. et al. (2019). Herbal medicine for epilepsy seizures in Asia, Africa and Latin America: A systematic review. *J Ethnopharmacol.*234:119-153.
- E.Teuscher,R.AntonetA. Lobstein .Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentiels (2005) : Edition Tec et Doc, Lavoisier. P310-318.2005.

*F*

- Fabre G, Bayach I, Berka K, Paloncýová M, Starok M, Rossi C. (2015). Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *CheCommun.*;51(36):7713-6.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*: 108-115.
- Favier, A. (2006). Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy* SAGE Journal, Vol 64, pp. 390-396.

Finaud J., Lac G., Filaire E. (2006). Oxidative stress. Relationship with exercise and training. *Sports Med.* 36 (4): 327-58.

- Fortin R., fortin O.R.,;Amico S.(1996).The visual food encyclopedia: the definitive practical guide to food and cooking. Edition : Québec/Amérique, 685p

*G*

- Gardès-Albert, M. ; Bonnefont-Rousselot, D. ; Abedinzadeh, Z. and Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *L'actualité chimique*: 91-96.

## *Liste de références*

---

- Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 4: 162-169.
- Grosjean F. (1990). Etude botanique, physicochimique et pharmacologique de *Mentha pulegium* L. et *Mentha viridis* L. var Nahnah ; comparaison de l'activité antifongique des huiles essentielles. Thèse de doctorat, Université de Besançon, France, 165p
- Guichardant, M. ; Bacot, S. ; Molière, P. and Lagarde, M. (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 13 (1) : 31-34.
- Guillouty A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Pharmacie. pour le diplôme d'état de docteur, université Toulouse III Paul Sabatier, France. 101.

### *H*

- Hallgas, B., T. Patonay, A. Kiss-Szikszai, Z. Dobos, F. Hollosy, D. Eros, L. Orfi, G. Kéri et M. Idei. (2004). "Comparison of measured and calculated lipophilicity of substituted aurones and related compounds." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 801(2): 229-235.
- Heim K. E., Tagliaferro A. R. et Bobilya D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572-584.
- H.EL-Haoud, M. Boufellous, A. Berrani, H. Tazougart, R. Bengueddour. (2018). Phytochemical Screening of A medicinal plant: *Mentha Spicata* L. - *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, Maroc
- Huang D, Ou B, Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* ;53(6):1841-56.

### *I*

- Incalza M.A., D'Oria R., Natalicchio A., Perrini S., Laviola L. & Giorgino F. (2017). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol*. 100:1-19.



*J*

- Judde, A. (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanisme, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications? *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 11 (6) : 414-418.
- JUNQUEIRA V.B.C., BARROS S.B.M., CHAN S.S., RODRIGUES L., GIAVAROTTI L., ABUD R.L., DEUCHER G.P.( 2004). Aging and oxidative stress. *Mol. Aspects Med.* 25, 5-16.

*K*

- Kanatt S.R., Chande R.et Sharma A. (2007).Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata.L*) in radiation –processed lamb meat. *Food Chemistry*, 100:454-456.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H. W and Kong, S. S. (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *Journal of Pharmacology . Science*, 96, 229-254.
- 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 : 165-177.
- Korkina, L., C. De Luca et S. Pastore (2012). Plant polyphenols and human skin: Friends or foes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1259: 77-86.
- Kothe H. (2007).1000 plantes aromatiques et médicinales : plantes aromatiques et médicinales de A à Z propriétés et usages. Terre édition, 335p

*L*

- Laghouiter O.K., Gherib A., Laghouiter H. (2015). Etude de l'activité antioxydant des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa. *ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, 8(1), 84-93p
- Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods. *New trends and challenges progress in lipid research* 46:244-282.

## *Liste de références*

---

- Leopoldini, M., N. Russo et M. Toscano (2011). "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food Chemistry* 125(2): 288-306.
- Levasseur-Acker, G.; Zalma, R.; Copin, E.; Fournier, I.; Pezerat, H. and Jankowski, R.(1995). Peroxydation de l'acide linoléique en présence des fibres d'amiante ou de némalite. Résultats préliminaires avec des cellules épithéliales. *Canadian Journal of Chemistry*, 73: 453-459.
- Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L. Della M. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 13: 757-772.

### *M*

- Maclaren D. (2007). Advances in sports and exercise science series. In Close GL and Mc Ardle F, eds. *Nutrition and sport. Antioxidants and free radicals*. Elsevier's Health Sciences Rights Department. 153-175.
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy et L. Jimenez (2004). "Polyphenols: Food sources and bioavailability." *American Journal of Clinical Nutrition* 79(5): 727-747.
- Marfak A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. P 1-220.

### *N*

- Naczki, M. and Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur J Med Chem*. 178: 687-704.
- Nichols H.B., Anderson C., White A.J. Milne G.L. & Sandler D.P. (2017). Oxidative stress and breast cancer risk in premenopausal women. *Epidemiology*. 28(5):667-674.
- Nimse SB, Pal D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*;5(35):27986-8006.

### *O*

## *Liste de références*

---

- Oguntibeju O.O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 11(3): 45-63.
- Ou B, 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):4619-26.

### *P*

- Patterson J.C., Joughin B.A., van de Kooij B., Lim D.C., Lauffenburger D.A. & Yaffe M.B. (2019). ROS and oxidative stress are elevated in mitosis during asynchronous cell cycle progression and are exacerbated by mitotic arrest. *Cell Syst.* 8 (2):163-167.
- 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):2812-9.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. and Defraigne J. O., (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolique*, 16 :233-239.
- Polese J.M. (2006). La culture des plantes aromatiques. *Artémis*, 94p
- Poprac P., Jomova K., Simunkova M., Kollar V., Rhodes C.J. & Valko M. (2017). Targeting Free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 38(7): 592-607.
- Pradhan A., Bagchi A., De S., Mitra S., Mukherjee S., Ghosh P. & Chatterjee M. (2019). Role of redox imbalance and cytokines in mediating oxidative damage and disease progression of patients with rheumatoid arthritis. *Free Radic Res.* 53(7):768-779.
- Prieur, C., J. Rigaud, V. Cheynier et M. Moutounet (1994). "Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds." *Phytochemistry* 36(3): 781-784.

### *Q*

## *Liste de références*

---

- Qu J., Mei Q. & Niu R. (2019). Oxidative CaMKII as a potential target for inflammatory disease. *Mol Med Rep.*20(2): 863-870.

### **R**

- Rahim, A. A.; Rocca, E.; Steinmetz, J.; Kassim, M. J.; Ibrahim, M. S. and Osman, H. (2008). Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chemistry*, 107: 200-207.
- Rahmani, M. (2007). Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. *Les Technologies de Laboratoire*, 2: 18-21.
- Ré, D. B. ; Nafia, I. ; Nieoullon, A. ; Le Goff, L. K. and Had-Aissouni, L. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24 : 502-509.
- Reid A.M., Oosthuizen C.B., Fibrich B.D., Twilley D., Lambrechts I.A., de Canha M.N. & Lall N. (2018). Traditional Medicine: The ancient roots of modern practice. In *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being* (pp. 1-11). Academic Press.
- Roussel A M (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir ? *Cahiers de nutrition et de diététique*, pp: 7.

### **S**

- Sartori-Thiel, A. (2003). "Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols." *Science et Agronomie ED 380 Doctorat*: 177.
- Schwartz E. (2016). *La Vitamine C. Dess De Cosmetologie Monographie*. 27 p.
- Selles S.M.A., Kouidri M., Bellik Y., Ait Amrane A., Belhamiti B.T., Benia A.R., Hammoudi Si.M., Boukraa L.(2018).Chemical composition, antioxidant and in vitro antibacterial activities of essential oils of *Mentha spicata* leaf from Tialet Area (Algeria).*Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*,17(1) 87-96p

## *Liste de références*

---

- Shang H. M., Zhou H. Z., Yang J. Y., Li R., Song H., Wu H. X. (2018). In vitro and in vivo antioxidant activities of inulin. PLoS ONE 13(2): 1-12.
- Sies H. (2019). Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. In Stress: Physiology, Biochemistry and Pathology (pp. 153-163). Academic Press.
- Singh A., Kukreti R., Saso L. & Kukreti S. (2019). Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. Molecules. 4(8): 1583.
- Singla R.K., Dubey A.K., Garg A., Sharma R.K., Fiorino M., Ameen S.M. & Al-Hiary M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. J AOAC Int. 102: 1-5.
- Sokovic Marina D, Vukojevic Jelena, Marin Petar D, Brkic Dejan D, Vajs Vlatka, Van Griensven Leo JLD. (2009). Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their antifungal activities, Molecules, 14, p238-249 .

### *T*

- Tarascou, I., J. P. Mazauric, E. Meudec, J. M. Souquet, D. Cunningham, S. Nojeim, V. Cheynier et H. Fulcrand (2011). "Characterisation of genuine and derived cranberry proanthocyanidins by LC-ESI-MS." Food Chemistry 128(3): 802-810.
- Teuscher E., Anton R., Lobstein A. (2005). Plantes aromatique : épices, aromates, condiments et huiles essentiels. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 544p
- Tokarz P. et Kaarniranta K. (2013). Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). 461–482.

### *V*

- Vania, M., nakajima, G., abriela,a., julianaalves,m. (2014). Citrus bioactive phenolic: role in the obesity treatment volume 59(2), 2p
- Van Raamsdonk J.M., Vega I.E. & Brundin P. (2017). Oxidative stress in neurodegenerative disease: causation or association?. Oncotarget. 8: 10777-10778.

### *W*

## *Liste de références*

---

- WAINSTEN, J. (2009). Le Larousse Médical. Paris : Larousse
- Walter A., Lebot V, 2003, Jardin d & Océanie. IRD Editions, Paris, 320p
- Watson, R. R. (2 Ed.). (2018). Polyphenols in plants: isolation, purification and extract preparation. Academic Press.
- Watson R.R., Preedy V.R., Zibadi S. (2018). Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease. 2 Eds., Academic press. 484

### *Y*

- Yoshikawa T., Yamamoto Y., Naito Y. (2000). Free radicals in chemistry, Biology and Medicine, Ed. Oica International, Londres.

### *Z*

- Zekri, N., Elazzouzi, H., Drioche, A., Satrallah, A., Belghiti, M. A. and Zair, T. (2016). Effect of Geographic Locations on Chemical Composition of *M. Spicata* L. Essential oils from Moroccan Middle-Atlas. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (4):146-150.
- Zerargui, F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives, Thèse Doctorat en Sciences. Ferhat Abbas Sétif 1. 126 p.

## Résumé

Le stress oxydant se définit quand il y a un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants endogènes ayant pour conséquence des dommages intracellulaires. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies.

Les antioxydants jouent un rôle fondamental dans l'élimination de l'excès toxique en espèces réactives de l'oxygène à l'origine de diverses maladies dégénératives. Ainsi, l'exploitation des molécules végétales naturelles serait très bénéfique pour la santé humaine.

cette étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques extraits à partir d'une plante médicinale locale, *Mentha spicata L.* Le dosage des composés phénoliques (phénol totaux, flavonoïdes, et tanins condensés) est réalisé pour pouvoir faire une appréciation qualitative et quantitative ; puis, la mesure de l'activité anti-oxydante des extraits en réalisant cinq tests : DPPH , TEAC , ORAC , FRAP, TRAP.

A l'issue de l'étude de l'activité antioxydante et le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux, il est révélé que les extraits de *Mentha spicata L* sont doués d'une activité antioxydante considérable et en teneur importante en polyphénols et flavonoïdes.

La capacité de la Menthe à piéger les radicaux libres (prouvée par le test du DPPH, ABTS ) confère un grand intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires, les cancers, les diabètes, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement. Ces constatations nous laissent imaginer des études plus poussées sur des extraits d'une panoplie de plantes médicinales afin d'en bénéficier d'avantage.

**Mots clés :** *Mentha spicata L.*, radicaux libres, antioxydants, composés phénoliques, DPPH•.

## Abstract

Oxidative stress is defined like an imbalance between the pro-oxidant and endogenous antioxidant systems resulting in intracellular damage. It is involved in many pathologies.

Antioxidants play a fundamental role in the elimination of the toxic excess of reactive oxygen species at the origin of various degenerative diseases. Thus, the exploitation of natural plant molecules would be very beneficial for human health.

This study aim to evaluate the antioxidant activity of phenolic compounds extracted from a local medicinal plant, *Mentha spicata L.* The dosage of phenolic compounds (total phenol, flavonoids, and condensed tannins) is carried out to be able to make a qualitative and quantitative appreciation; then, the measurement of the antioxidant activity of the extracts by carrying out five tests: DPPH, TEAC, ORAC, FRAP, TRAP.

At the end of the study of the antioxidant activity and the dosage of total polyphenols and flavonoids, it is revealed that the extracts of *Mentha spicata L* are endowed with a considerable antioxidant activity and in important content in polyphenols and flavonoids.

The ability of Mint to trap free radicals (proven by the DPPH test, ABTS) give it a great interest in the prevention of cardiovascular diseases, cancers, diabetes, neurodegenerative diseases, inflammation and aging. These findings lead us to imagine further studies on extracts of a wide range of medicinal plants in order to benefit from them.

**Key words:** *Mentha spicata L.*, free radicals, antioxidants, phenolic compounds, DPPH•.