

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE: 2016

2016/TOU3/2103

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

GUILLOUTY Amandine

Plantes médicinales et antioxydants

Le 9 décembre 2016

Directeur de thèse : EL BABILI Fatiha

JURY

Président : BAZIARD Geneviève, Professeur
1er assesseur : LAJOIE Barбора, Maître de Conférences
2ème assesseur : MARTINET Stéphanie, Docteur en Pharmacie
3ème assesseur : EL BABILI Fatiha, Chercheur

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2015

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G	Physiologie
M. CHAVANT L	Mycologie
Mme FOURASTÉ I	Pharmacognosie
M. MOULIS C	Pharmacognosie
M. ROUGE P	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CHATELUT E	Pharmacologie
M. FAVRE G	Biochimie
M. HOUIN G	Pharmacologie
M. PARINI A	Physiologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique
M. SIÉ P	Hématologie
M. VALENTIN A	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A	Biologie
Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. BENOIST H	Immunologie
Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B	Biochimie
M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. FABRE N	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
Mme MULLER-STAUMONT C	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F	Chimie analytique
M. SALLES B	Toxicologie
M. SÉGUI B	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P	Chimie analytique
Mme TABOULET F	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires	Universitaires
M. CESTAC P	Mme ARÉLLANO C. (*)
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Mme AUTHIER H
Mme JUILLARD-CONDAT B	M. BERGÉ M. (*)
M. PUISSET F	Mme BON C
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	M. BOUJILA J (*)
Mme THOMAS F	Mme BOUTET E
	M. BROUILLET F
	Mme CABOU C
	Mme CAZALBOU S (*)
	Mme CHAPUY-REGAUD S
	Mme COSTE A (*)
	M. DELCOURT N
	Mme DERAÈVE C
	Mme ÉCHINARD-DOUIN V
	Mme EL GARAH F
	Mme EL HAGE S
	Mme FALLONE F
	Mme FERNANDEZ-VIDAL A
	Mme GIROD-FULLANA S (*)
	Mme HALOVA-LAJOIE B
	Mme JOUANJUS E
	Mme LAJOIE-MAZENC I
	Mme LEFEVRE L
	Mme LE LAMER A-C
	M. LEMARIE A
	M. MARTI G
	Mme MIREY G (*)
	Mme MONTFERRAN S
	M. OLICHON A
	M. PERE D
	Mme PORTHE G
	Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)
	M. SAINTE-MARIE Y
	M. STIGLIANI J-L
	M. SUDOR J
	Mme TERRISSE A-D
	Mme TOURRETTE A
	Mme VANSTEELANDT M
	Mme WHITE-KONING M

(*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires	
Mme COOL C	Physiologie
Mme FONTAN C	Biophysique
Mme KELLER L	Biochimie
Mme PALUDETTO M.N (**)	Chimie thérapeutique
M. PÉRES M.	Immunologie
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2015

Remerciements

En tout premier lieu, je souhaite remercier Mme Geneviève Baziard, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider cette thèse. Merci pour ces enseignements que vous m'avez inculqué depuis la première année.

A ma directrice de thèse, Mme Fatiha El Babili, merci de m'avoir proposé ce sujet. Merci aussi pour tous vos précieux conseils, votre patience et votre accompagnement tout au long de ce projet.

A Mme Barbora Lajoie, pour m'avoir orienté et considérablement aidé dans les tests réalisés avec une remarquable efficacité.

A Mme Stéphanie Martinet, tu m'as appris énormément et j'ai beaucoup apprécié de travailler à tes côtés durant cette dernière année. Je suis très heureuse que tu aies accepté de faire partie de mon jury !!

A ma Maman, merci d'avoir toujours été derrière moi et de m'avoir soutenue toutes ces années. A mon Papa, merci d'avoir été là et de m'avoir poussé à persévérer dans cette voie. Vous avez toujours cru en moi et sans vous je ne serai pas là aujourd'hui ! J'espère que vous êtes fiers de moi, si je suis arrivée jusque-là c'est grâce à vous. Merci, vous êtes des parents formidables.

A ma sœur, ma moitié, merci d'être toujours là, de me comprendre et de m'avoir toujours soutenue quoi qu'il arrive. Tu as toujours cru en moi bien plus que moi et je ne changerai de sœur pour rien au monde !! Merci aussi pour toutes ces corrections et toutes ces relectures ;) A Manu, merci d'être là, je sais que je pourrai toujours compter sur toi !! A Lolo, mon petit rayon de soleil du week-end !

A Mamie Clémence, tu es une des personnes les plus courageuses que je connaisse et j'ai toujours admiré ta patience. A Mamie Lydie, j'espère que de tout là-haut tu es fière de moi...

A Lucie, on se connaît depuis le collège, il y aurait bien trop de choses à dire ;) !!! Tellement de bons souvenirs partagés et d'autres à venir !! Merci pour ta présence dans les bons et les mauvais moments, tu es une amie en or.

Il y a la famille puis il y a les amis qui deviennent la famille, Vincent, Bastien, Marine, Clément, Audrey, Shivani, Soumit et Jérémy, vous êtes des amis formidables. Merci pour tous ces moments partagés, même si on est loin j'espère vraiment qu'on restera amis pour la vie !

A mes amis de la fac, Clémentine mon chatou des bois je suis heureuse d'avoir partagé toutes ces années avec toi, même si tu me forçais à venir travailler chez toi alors que je n'avais aucune motivation ;) !! Laura, mon chat, merci de m'avoir embarqué dans cette folle aventure argentine, je suis contente d'avoir appris à te connaître !! Je vous souhaite toutes les deux le meilleur et même si vous êtes loin j'espère qu'on ne s'oubliera pas ! A Arthur, mon bibi, merci d'avoir assuré les TP toutes ces années !! Tu as été le meilleur des binômes !

A mes amis de Colonel Roche, à ma Lisa qui me comprend tellement bien, à mon positon Lauren la reine des plans foireux 😊, et à Loric, merci pour tous ces fous rires mémorables, je suis heureuse de vous avoir rencontré, ces années Colonel resteront toujours gravées dans mes meilleurs souvenirs !

A toute l'équipe de la pharmacie de la Mairie, Anne et Marie-Odile, Céline, Sophia, Angéline et Steph. Quand je suis arrivée, je ne connaissais rien, c'est vous qui m'avez tout appris durant ces années. Merci pour tout ! Vous allez tellement me manquer !

Table des matières

Liste des abréviations.....	9
Liste des figures.....	10
Introduction.....	12
1 Généralités sur les antioxydants	14
1.1 Les radicaux libres	14
1.1.1 Définition des radicaux libres.....	14
1.1.2 Formation des radicaux libres.....	14
1.1.2.1 Réaction d'oxydoréduction	14
1.1.2.2 Rupture homolytique	15
1.1.3 Cas particulier de l'oxygène	15
1.1.3.1 Interaction de l'oxygène avec la matière vivante.....	15
1.1.3.2 Les principales espèces réactives de l'oxygène	16
1.1.3.2.1 Les ERO radicalaires	16
1.1.3.2.1.1 Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$	16
1.1.3.2.1.2 Radical perhydroxyle HO_2^{\bullet}	17
1.1.3.2.1.3 Radical hydroxyle OH^{\bullet}	17
1.1.3.2.1.4 Radical peroxyde RO_2^{\bullet}	17
1.1.3.2.2 Les ERO non radicalaires	18
1.1.3.2.2.1 Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	18
1.1.3.3 Les espèces réactives de l'azote.....	18
1.2 Le stress oxydant.....	18
1.2.1 Définition	18
1.2.2 Origine du stress oxydant	19
1.2.2.1 Endogène.....	19
1.2.2.1.1 Respiration mitochondriale	19
1.2.2.1.2 Phagocytose	20
1.2.2.1.3 Facteurs externes	21
1.2.2.1.3.1 UV.....	21
1.2.2.1.3.2 Pollution, ozone.....	21
1.2.2.1.3.3 Fumée de tabac, alcool.....	22
1.2.2.1.3.4 Herbicides, Pesticides	22
1.2.3 Effets sur l'organisme du stress oxydant	22
1.2.3.1 Effets moléculaires	23
1.2.3.1.1 Altération des membranes lipidiques	23
1.2.3.1.2 Altération de l'ADN	23
1.2.3.1.3 Altération des protéines	23
1.2.3.2 Effets sur le système immunitaire.....	23
1.2.3.2.1 Inflammation	23
1.2.3.2.2 Phagocytose	24
1.2.3.3 Principales affections liées au stress oxydant	24
1.2.3.3.1 Athérosclérose	24
1.2.3.3.2 Cancers	25
1.2.3.3.3 Diabète de type 2	25

1.2.3.3.4	Maladies neurodégénératives	25
1.2.3.3.5	Maladies rhumatismales	25
1.3	Les antioxydants	26
1.3.1	Les différents types et sources d'antioxydants	26
1.3.1.1	Endogène : Les systèmes de défense enzymatiques des radicaux libres	26
1.3.1.1.1	Superoxyde dismutases	26
1.3.1.1.2	Catalases	27
1.3.1.1.3	Glutathion peroxydases	27
1.3.1.2	Exogène	27
1.3.1.2.1	Les polyphénols	27
1.3.1.2.1.1	Les acides-phénoliques (C6-C1 ou C6-C3)	28
1.3.1.2.1.2	Les flavonoïdes (C6-C3-C6)	28
1.3.1.2.1.3	Les lignanes (C6-C2-C6)	30
1.3.1.2.1.4	Les stilbènes (C6-C2-C6)	30
1.3.1.2.1.5	Conclusion sur les polyphénols	30
1.3.1.2.2	Les vitamines	31
1.3.1.2.2.1	Vitamine E	31
1.3.1.2.2.2	Vitamine C ou acide L-ascorbique	32
1.3.1.2.2.3	Rétinol ou vitamine A	33
1.3.1.2.2.4	Caroténoïdes	33
1.3.1.2.3	Les oligoéléments	34
1.3.1.2.3.1	Cuivre	34
1.3.1.2.3.2	Manganèse	34
1.3.1.2.3.3	Sélénium	35
1.3.1.2.3.4	Zinc	36
1.3.2	Les effets des antioxydants sur la santé	37
2	Antioxydants et plantes médicinales	42
2.1	Méthodes d'évaluation de la présence d'antioxydants dans les plantes	42
2.1.1	Présentation du test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)	42
2.1.2	Protocole du test au DPPH	44
2.2	Monographies des plantes tropicales étudiées au jardin botanique Henri Gaussen	46
2.2.1	<i>Passiflora quadrangularis</i> L.	46
2.2.1.1	Éléments de botanique	46
2.2.1.1.1	Nom scientifique	46
2.2.1.1.2	Partie utilisée	46
2.2.1.1.3	Monographies disponibles	46
2.2.1.1.4	Importance économique	46
2.2.1.2	Constituants chimiques	47
2.2.1.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles	47
2.2.1.4	Effets indésirables	47
2.2.1.5	Pharmacologie	47
2.2.1.6	Toxicologie	48
2.2.2	<i>Annona reticulata</i> L.	48
2.2.2.1	Éléments de botanique	48
2.2.2.1.1	Nom scientifique	48
2.2.2.1.2	Partie utilisée	48
2.2.2.1.3	Monographies disponibles	48
2.2.2.2	Constituants chimiques	49

2.2.2.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	49
2.2.2.4	Travaux de recherche de pharmacologie	50
2.2.2.5	Toxicologie.....	51
2.2.3	<i>Psidium cattleianum</i> Afzel. ex Sabine	51
2.2.3.1	Éléments de botanique.....	51
2.2.3.1.1	Nom scientifique	51
2.2.3.1.2	Partie utilisée	51
2.2.3.1.3	Monographies disponibles	51
2.2.3.1.4	Importance économique	52
2.2.3.2	Constituants chimiques	52
2.2.3.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	52
2.2.3.4	Travaux de recherche de pharmacologie	52
2.2.3.5	Toxicologie.....	53
2.2.4	<i>Psidium guajava</i> L.	53
2.2.4.1	Éléments de botanique.....	53
2.2.4.1.1	Nom scientifique	53
2.2.4.1.2	Partie utilisée	54
2.2.4.1.3	Monographies disponibles	54
2.2.4.1.4	Importance économique	54
2.2.4.2	Constituants chimiques	54
2.2.4.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	55
2.2.4.4	Indications thérapeutiques et allégations revendiquées dans les compléments alimentaires	56
2.2.4.5	Pharmacologie	56
2.2.4.5.1	Travaux de recherche	56
2.2.4.5.2	Etudes cliniques	57
2.2.4.6	Toxicologie.....	58
2.2.5	<i>Coccoloba uvifera</i> L.	58
2.2.5.1	Éléments de botanique.....	58
2.2.5.1.1	Nom scientifique	58
2.2.5.1.2	Partie utilisée	59
2.2.5.1.3	Monographies disponibles	59
2.2.5.1.4	Importance économique	59
2.2.5.2	Constituants chimiques	59
2.2.5.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	59
2.2.5.4	Travaux de recherche de pharmacologie	60
2.2.5.5	Toxicologie.....	60
2.2.6	<i>Cocos nucifera</i> L.	60
2.2.6.1	Éléments de botanique.....	60
2.2.6.1.1	Nom scientifique	60
2.2.6.1.2	Partie utilisée	62
2.2.6.1.3	Monographies disponibles	62
2.2.6.1.4	Importance économique	62
2.2.6.2	Constituants chimiques	62
2.2.6.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	63
2.2.6.4	Travaux de recherche de pharmacologie	63
2.2.6.5	Toxicologie.....	64
2.2.7	<i>Hydnophytum formicarum</i> Jack.	64
2.2.7.1	Éléments de botanique.....	64
2.2.7.1.1	Nom scientifique	64
2.2.7.1.2	Partie utilisée	65
2.2.7.1.3	Monographies disponibles	65
2.2.7.2	Constituants chimiques	65
2.2.7.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	66

2.2.7.4	Travaux de recherche de pharmacologie	66
2.2.7.5	Toxicologie.....	66
2.2.8	<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav	67
2.2.8.1	Éléments de botanique.....	67
2.2.8.1.1	Nom scientifique	67
2.2.8.1.2	Partie utilisée	67
2.2.8.1.3	Monographies disponibles	67
2.2.8.2	Constituants chimiques	67
2.2.8.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	68
2.2.8.4	Travaux de recherche de pharmacologie	68
2.2.8.5	Toxicologie.....	68
2.2.9	<i>Curcuma longa</i> L.....	68
2.2.9.1	Éléments de botanique.....	68
2.2.9.1.1	Nom scientifique	68
2.2.9.1.2	Partie utilisée	69
2.2.9.1.3	Monographies disponibles	69
2.2.9.1.4	Importance économique	69
2.2.9.2	Constituants chimiques	69
2.2.9.3	Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles.....	70
2.2.9.4	Indications thérapeutiques et allégations revendiquées dans les compléments alimentaires	70
2.2.9.5	Effets indésirables	71
2.2.9.6	Contre-indications et précautions d'emploi	71
2.2.9.7	Interactions médicamenteuses et autres formes d'interactions	71
2.2.9.8	Pharmacologie	71
2.2.9.9	Toxicologie.....	71
3	Conclusion	72
3.1	Résultats	72
3.2	Discussion.....	77
	Bibliographie	81
	Annexes : résultats détaillés des tests au DPPH	95

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2'-Azino-Bis(3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulphonique)
AcOEt : Solution d'acétate d'éthyle
ADN : Acide DésoxyRibonucléique
ANC : Apports Nutritionnels Conseillés
ATP : Adénosine TriPhosphate
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
BHT : Butyl-Hydroxy-Toluène
BPCO : BronchoPneumopathie Chronique Obstructive
Caco-2 : Lignée cellulaire de carcinome rénal humain
CRP : C-Reactive Protein
CV : Cardiovasculaire
DPPH : 2,2-DiPhényl-PicrylHydrazyle
EA : Extrait Aqueux
EPO : Erythropoïétine
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
FDA : Food Drug Administration
FRAR : Ferric ion Redicing Antioxidant Parameter
HA : HydroAlcoolique
HEK : Lignée cellulaire de carcinome rénal humain
Hep G2 : Lignée cellulaire de carcinome hépatocellulaire humain
HIF : Hypoxia Inducible Factor
HRV : Antigène anti-rotavirus humain
IL-2 : Interleukine 2
IL-8 : Interleukine 8
IM : Infarctus du myocarde
LDL : Low-Density Lipoprotein
MDA-MB : Lignée cellulaire épithéliale de tumeur mammaire humaine
MCV : Maladies Cardiovasculaires
MeOH : Méthanol
NADH : Forme réduite du Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NF-KB : Nuclear Factor-Kappa B
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity
RBP : Retinol Binding Protein
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
ROS : Reactive Oxygen Species
RR : Risque Relatif
SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique
SOD : SuperOxyde Dismutase
TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α
TRAP : Total Reactive Antioxidant Potential
UV : UltraViolet
UVA : UltraViolet A

Liste des figures

Figure 1-1 : Principales espèces réactives de l'oxygène.....	16
Figure 1-2 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	19
Figure 1-3 : Schéma des principaux sites de production des ROS par Nox2 : membrane plasmique, membrane du phagocyte, organites intracellulaires non phagocytaires.....	21
Figure 1-4 : Structure de l'acide gallique.....	28
Figure 1-5 : Structure chimique des flavonoïdes	28
Figure 1-6 : Tableau récapitulatif des six classes de flavonoïdes.....	29
Figure 1-7 : Molécule d'α-tocophérol, biologiquement la molécule la plus active de la vitamine E.....	31
Figure 1-8 : Schéma du processus de régénération de la vitamine E par la vitamine C.....	31
Figure 1-9 : Structure de la vitamine C.....	32
Figure 1-10 : Oxydation des groupes énoles de la vitamine C à l'air par la présence de Cu ²⁺	32
Figure 1-11 : Principales sources et teneurs des aliments en sélénium	35
Figure 1-12 : Les implications du zinc en tant qu'antioxydant.....	36
Figure 1-13 : Tableau récapitulatif des études de supplémentation en antioxydants sur les pathologies cardiovasculaires	40
Figure 2-1 : Structure du DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant.....	42
Figure 2-2: Structure du Trolox	43
Figure 2-3 : Exemple d'une courbe de cinétique de consommation du DPPH	45
Figure 2-4 : Schéma de fonctionnement d'un spectromètre d'absorption	45
Figure 2-5 : Photographie de feuilles de <i>Passiflora quadrangularis</i> L.	46
Figure 2-6 : Photographie de feuilles d' <i>Annona reticulata</i> L.	48
Figure 2-7 : Photographie des feuilles de <i>Psidium cattleianum</i> Afzel. ex Sabine	51
Figure 2-8 : Photographie des feuilles de <i>Psidium guajava</i> L.	53
Figure 2-9 : Structures chimiques des différents composés retrouvés dans <i>Psidium guajava</i> L	55
Figure 2-10 : Photographie de <i>Coccoloba uvifera</i> L.	59
Figure 2-11 : Feuilles de <i>Cocos nucifera</i> L.	61
Figure 2-12 : Photographie d'une noix de coco	62
Figure 2-13 : Principales utilisations du cocotier à travers le monde.....	63
Figure 2-14 : Photographie d' <i>Hydnophytum formicarum</i> Jack.	65
Figure 2-15 : Stéroïdes, flavonoïdes et composés phénoliques extraits par l'hexane à partir d' <i>Hydnophytum formicarum</i> Jack	65
Figure 2-16 : Photographie de feuilles de <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.....	67
Figure 2-17 : Photographie de feuilles de <i>Curcuma longa</i> L.	69
Figure 3-1 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>P. quadrangularis</i> L.	72
Figure 3-2 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles d' <i>Annona reticulata</i> L.	73
Figure 3-3 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>P. cattleianum</i> Afzel ex. Sabine	73
Figure 3-4 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>C. uvifera</i> L.	74

Figure 3-5 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>P. guajava</i> L.	74
Figure 3-6 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>C. nucifera</i> L.	75
Figure 3-7 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles d' <i>H. formicarum</i> Jack.	75
Figure 3-8 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>P. crocatum</i> Ruiz & Pav.	76
Figure 3-9 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de <i>C. longa</i> L.	76
Figure 3-10 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH du Trolox.....	77
Figure 3-11 : Tableau récapitulatif des CE ₅₀ de chaque plante.....	77
Figure 3-12 : Comparaison de la valeur de CE ₅₀ des différentes plantes étudiées.....	78
Figure 3-13 : Tableau récapitulatif des utilisations liées à l'activité antioxydante des plantes étudiées.....	80

Introduction

L'oxygène est indispensable à la vie. En effet, c'est cette molécule qui permet l'apport d'énergie à l'être humain par son rôle d'accepteur final d'électron au sein de la mitochondrie. Pourtant, elle est fortement impliquée dans l'initiation du stress oxydant qui, bien qu'il soit utile à l'organisme, peut être délétère et entraîner des pathologies variées dans certaines situations. En effet, ce paradoxe de l'oxygène entraîne la formation de radicaux libres très réactifs : superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde et peroxyde d'hydrogène qui sont regroupés sous le terme d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO).

Les radicaux libres sont en général très instables et vont donc réagir rapidement avec les molécules biologiques qui se trouvent à proximité. Par conséquent, ils sont capables d'interagir avec les lipides, l'ADN, les protéines ainsi que sur le système immunitaire par l'intermédiaire des cellules phagocytaires ou des médiateurs de l'inflammation comme les cytokines pro-inflammatoires.

Les ERO sont produites physiologiquement en continu par les organismes aérobies notamment par la respiration mitochondriale et la phagocytose. Elles peuvent aussi être le résultat de facteurs externes comme les rayonnements UV, la pollution, le tabac et l'alcool ainsi que certains herbicides et pesticides. Cependant, cette production est contrôlée par des enzymes à activité antioxydante qui sont naturellement présentes dans notre corps : la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. L'équilibre entre les ERO et ces antioxydants est fragile et un déséquilibre peut emmener à un stress oxydant.

Le stress oxydant est lié à de nombreuses pathologies, par exemple l'athérosclérose, les cancers, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et rhumatismales. C'est pour cela que la recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années, afin de permettre de trouver les meilleurs antioxydants possibles dans l'espoir de protéger notre santé et même guérir ces différentes maladies.

D'autre part, l'alimentation joue un rôle très important dans l'apport en antioxydants exogènes qui vont venir soutenir l'effet des antioxydants endogènes. En effet, les antioxydants sont principalement apportés par les végétaux, on y retrouve notamment les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, lignanes, stilbènes), les vitamines (vitamine E, vitamine C et vitamine A) ainsi que les oligoéléments (cuivre, manganèse, sélénium et zinc).

C'est en ce sens que l'étude de l'activité antioxydante des plantes est aujourd'hui devenue importante, car on peut retrouver dans les végétaux de puissants antioxydants. Neuf plantes de la serre tropicale du Jardin Botanique Henri Gaussen à Toulouse, ont été sélectionnées pour leurs utilisations médicinales pouvant être en lien avec leurs propriétés antioxydantes : *Passiflora quadrangularis* L., *Annona reticulata* L., *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine, *Psidium guajava* L., *Coccoloba uvifera* L., *Cocos nucifera* L., *Hydnophytum formicarum* Jack., *Piper crocatum* Ruiz & Pav. et *Curcuma longa* L.

Dans cette thèse, nous avons pour objectif de mettre en relation l'utilisation traditionnelle de ces 9 plantes médicinales avec leur éventuelle activité antioxydante mesurée par le test au

DPPH (2,2-DiPhényl-PicrylHydrazyle). Ce radical libre est largement utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Le DPPH possède un électron non apparié qui permet la couleur bleue-violette caractéristique de la solution de molécules de DPPH. Le contact du DPPH avec des molécules oxydantes se traduit par une décoloration qui marque ainsi la capacité anti-radicalaire du composé étudié. A partir de ces tests, une CE_{50} ou concentration effective de l'antioxydant qui correspond à une réduction de 50% de l'activité du DPPH dans le milieu réactionnel est mise en évidence pour chacune des plantes étudiées. Plus la CE_{50} d'un composé est faible, plus il a une capacité antioxydante élevée. L'antioxydant de référence dans cette étude sera le Trolox, qui est un analogue de la vitamine E.

Dans une première partie, nous définirons chaque type de radicaux libres en s'intéressant à leur formation et leur action au niveau biologique. Ensuite, nous nous intéresserons au stress oxydant : son origine ainsi que les principaux effets que cela peut engendrer au niveau pathologique. Puis nous détaillerons les différents antioxydants endogènes et exogènes pouvant agir sur l'organisme et leur effet sur la santé. Pour terminer nous présenterons nos résultats des tests au DPPH réalisés sur chaque plante à différentes concentrations et leur interprétation avant de conclure sur l'intérêt de l'utilisation traditionnelle des plantes sélectionnées.

1 Généralités sur les antioxydants

Les réactions radicalaires sont omniprésentes chez les êtres vivants, et sont impliquées plus ou moins directement dans la reproduction, la modification des gènes et la défense contre les maladies.

1.1 Les radicaux libres

1.1.1 Définition des radicaux libres

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins. **(1, 2)**

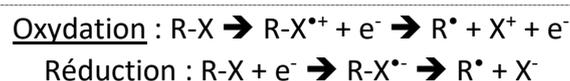
Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde **(3)**, car le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable. **(4)** Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire.

Les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme. En effet, ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à l'apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes. **(5)** L'organisme en produit en continu.

1.1.2 Formation des radicaux libres (6)

1.1.2.1 Réaction d'oxydoréduction

Les radicaux libres les plus courants possèdent un seul électron célibataire. Ils peuvent être formés depuis une espèce radicalaire qui subit une réaction d'oxydoréduction. Il y a alors perte ou gain d'électron.



Le signe « • » représente l'électron célibataire.

Un des exemples les plus connus est la réaction de Fenton qui fait réagir le fer ferreux et le peroxyde d'hydrogène :



1.1.2.2 Rupture homolytique

La production de radicaux libres peut se faire également par rupture homolytique d'une liaison covalente, ce qui entraîne la formation de deux entités ayant chacune un électron célibataire.



La rupture homolytique est le partage symétrique du doublet de valence commun, par opposition à la rupture hétérolytique qui donne naissance à des ions de charge opposée. Celle-ci intervient le plus communément en phase gazeuse ou en phase liquide pour les molécules ayant des liaisons peu polarisées.

La molécule de dioxygène est représentative de ce type de rupture. L'énergie de liaison qui relie les deux atomes d'oxygène (150 kJ mol^{-1}) est relativement faible par rapport à la liaison carbone-carbone (346 kJ mol^{-1}). (7) Cette liaison étant fragile, elle est plus apte à subir une rupture homolytique.

1.1.3 Cas particulier de l'oxygène

L'oxygène, ou dioxygène, est apparu il y a plus de 2 milliards d'années par la photosynthèse des cyanobactéries. Ces dernières, également appelées algues bleues, en capturant le carbone du dioxyde de carbone furent capable de rejeter du dioxygène. (6)

L'oxygène est nécessaire aux organismes aérobies. En effet, ceux-ci l'utilisent comme source d'énergie par son rôle d'accepteur final d'électron au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'oxygène entraîne ainsi la production d'énergie par oxydation de la matière organique par la fabrication d'ATP.

L'eau représente en moyenne 70% de notre organisme. Ainsi, les radicaux libres les plus présents sont issus de l'oxydation des molécules d'eau. C'est ce que l'on appelle le mécanisme de radiolyse de l'eau. (3)

Dans les milieux biologiques, les phénomènes de stress oxydant interviennent par les atomes d'oxygène essentiellement. Cela représente les ROS (Reactive Oxygen Species) ou ERO (Espèces Réactives de l'Oxygène). Le métabolisme normal de l'oxygène en produit continuellement en faible quantité. L'oxygène est le receveur universel d'électrons à la fin de la chaîne respiratoire cellulaire. Lors d'un déséquilibre entre la production de ces radicaux libres et le système de défense antioxydant qui permet leur destruction, on observe un stress oxydatif qui peut être délétère pour l'organisme.

La molécule d'oxygène ou dioxygène (O_2) a une structure de biradical stable car elle possède deux électrons libres, et possède ainsi une forte affinité électronique. (8)

1.1.3.1 Interaction de l'oxygène avec la matière vivante

L'oxygène est incapable de réagir spontanément envers la plupart des molécules organiques. Cela s'explique par les règles de restriction de spin énoncées par Wigner puis démontrées par Oppenheimer au milieu du XX^e siècle.

Une molécule possédant un électron libre est un radical libre ou « doublet ». La molécule d'oxygène a deux électrons non appariés, c'est un « triplet ». Les molécules ayant tous les électrons appariés sont des « singulets ». Selon la chimie quantique, la réaction entre une molécule triplet (biradical) et une molécule singulet (non radicalaire) est interdite du fait de la barrière énergétique importante qui fait que l'oxygène reste inerte face à la matière vivante et qu'il soit présent en quantité élevée dans l'atmosphère (21%).

Pour franchir la barrière énergétique et réagir avec les singulets, l'oxygène doit passer par des intermédiaires radicalaires et doit donc devenir l'oxygène à l'état doublet (monoradicalaire) ou à l'état singulet (non radicalaire comme l'oxygène singulet). Une autre solution est d'amener les molécules organiques à l'état radicalaire (doublet), l'oxygène peut alors réagir avec le substrat activé.

Les oxydases permettent le passage de l'oxygène de l'état triplet à l'état doublet et les oxygénases font passer les molécules organiques (singulet) à l'état doublet. (8)

1.1.3.2 Les principales espèces réactives de l'oxygène

Les ERO peuvent être radicalaires (radicaux libres de l'oxygène à proprement dit) ou non-radicalaires (certains dérivés oxygénés réactifs ne possédant pas d'électron célibataire).

Les différentes espèces réactives de l'oxygène sont le radical superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde, alkoxyde. (6)

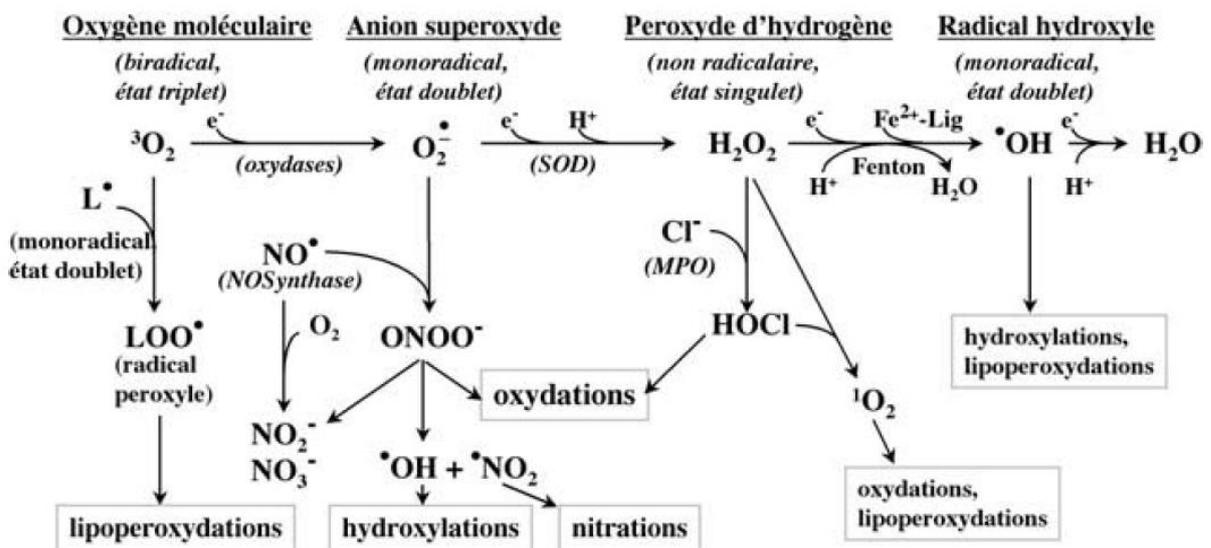


Figure 1-1 : Principales espèces réactives de l'oxygène (8)

1.1.3.2.1 Les ERO radicalaires (6)

1.1.3.2.1.1 Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$

Le radical superoxyde résulte de la réduction monovalente de l'oxygène, soit l'apport d'un électron à la molécule O_2 . Cette réaction se fait dans les mitochondries lors de la respiration cellulaire. Un autre site de production est le polynucléaire neutrophile. Celui-ci utilise les ERO pour son activité phagocytaire. De plus, lors d'un stress (sepsis, ischémie...) des enzymes

comme la NADPH-oxydase et la xanthine-oxydase peuvent produire des radicaux superoxydes. (2)

Il est métabolisé par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD). Celle-ci permet la disparition du radical libre par sa dismutation :



Cela entraîne la formation de peroxyde d'hydrogène qui est métabolisé en eau par la catalase ou la glutathion peroxydase.

Le radical superoxyde est peu toxique par lui-même car il a une relative inertie et une réactivité moyenne. Ses principales cibles sont le cytochrome c, l'acide ascorbique et surtout l'enzyme superoxyde dismutase.

Il possède une courte durée de vie en milieu aqueux, mais celle-ci est plus longue en milieu hydrophobe, cela lui permet de désaturer les molécules lipidiques et particulièrement les phospholipides membranaires.

1.1.3.2.1.2 [Radical perhydroxyle HO₂•](#)

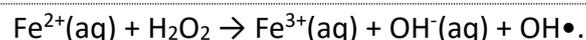
Celui-ci est obtenu après protonation du radical superoxyde en milieu pH < 4,8. Le radical perhydroxyle est plus réactif que le superoxyde car le potentiel standard d'oxydoréduction est plus élevé ainsi que ses constantes de vitesse, notamment vis-à-vis des acides gras polyinsaturés (acides linoléique, linoléique, arachidonique). (9)

1.1.3.2.1.3 [Radical hydroxyle OH•](#)

Il s'agit du radical le plus toxique, il n'a pas de rôle physiologique connu.

Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, le peroxyde d'hydrogène peut réagir directement avec des ions métalliques (fer ou cuivre) par la réaction de Fenton. Il s'agit d'une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH• qui est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le Fluor.

Au cours de la réaction de Fenton, le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée) oxyde le fer ferreux (ou ion fer II) selon la réaction d'oxydo-réduction :



Le mélange fer ferreux et peroxyde d'hydrogène est appelé réactif de Fenton et constitue un très bon oxydant pour de nombreux composés organiques et joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et dans la destruction du matériel génétique.

1.1.3.2.1.4 [Radical peroxyde RO₂•](#)

La radiolyse ou l'irradiation de solvants comme l'éthanol (CH₃CH₂OH) permet de générer des radicaux peroxydes (CH₃CH(O₂•)OH).

Ces radicaux peuvent être captés par l'ascorbate, qui devient alors le radical ascorbyle, qui est relativement inerte par rapport aux matériaux biologiques. La vitamine E capte aussi les

radicaux peroxydes lipidiques qui propagent les chaînes de peroxydation. Pour cela, le d- α -tocophérol (α -TH) perd un atome d'hydrogène pour se transformer en radical α -tocophéryle (α -T•), alors que le peroxyde est réduit en hydroperoxyde (RO_2H) :



1.1.3.2.2 Les ERO non radicalaires

1.1.3.2.2.1 Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène est obtenu à partir de l'anion superoxyde par dismutation spontanée ou par l'enzyme superoxyde dismutase. **(10)**

Le H_2O_2 est métabolisé par la glutathion peroxydase et la catalase. S'il existe une modification de ces enzymes antioxydantes, on peut observer l'arrivée d'un stress oxydatif. **(11)**

H_2O_2 n'est pas un radical au sens propre mais permet la formation du radical hydroxyle en présence de métaux de transition (réactions de Fenton et d'Haber-Weiss). Le radical hydroxyle est très toxique car très réactif et présente une grande probabilité de réagir à proximité immédiate de son lieu de production.

1.1.3.3 Les espèces réactives de l'azote (12)

Les espèces réactives sont principalement issues de l'oxygène mais certaines proviennent également de l'azote.

Le radical NO est produit par différents types cellulaires, phagocytes et cellules endothéliales vasculaires. L'enzyme NO-synthase est un catalyseur dans la réaction qui produit du monoxyde d'azote ou oxyde nitrique ($NO\bullet$) à partir d'arginine et d'oxygène. **(13)** Le $NO\bullet$ joue un rôle physiologique dans le tonus vasculaire. Néanmoins, lorsqu'il est produit en quantité importante, il est délétère pour les cellules et peut réagir avec l'anion superoxyde pour former le peroxynitrite ($ONOOH$) possédant un puissant potentiel oxydant ($E^\circ (ONOOH, H^+/NO_2\bullet, H_2O) = 1,4 \text{ V}$). **(14, 15)**

NO^- (anion nitroxy) est la forme réduite, elle dimérise rapidement pour donner l'oxyde nitreux N_2O . Sous sa forme protonée HNO , il réagit avec des thiols, avec l'ADN ou avec les hèmes ferriques. **(16)** Le NO^+ (cation nitrosonium) est la forme oxydée, c'est un agent nitrosant. **(17)** Il participe à des réactions d'additions ou de substitutions électrophiles, la plus courante étant la S-nitrosylation des thiols (glutathion, cystéine).

N_2O_3 et N_2O_4 (trioxyde et tétraoxyde d'azote) peuvent faire aussi des réactions de S-nitrosation par transfert de NO^+ sur des groupements thiols. Et enfin, NO_2^+ (cation nitrile) ou $\bullet NO_2$ (dioxyde d'azote) sont aussi capables de réagir avec des protéines ou des thiols.

1.2 Le stress oxydant

1.2.1 Définition

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. **(18)** La production

d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré. (19) Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose.

1.2.2 Origine du stress oxydant

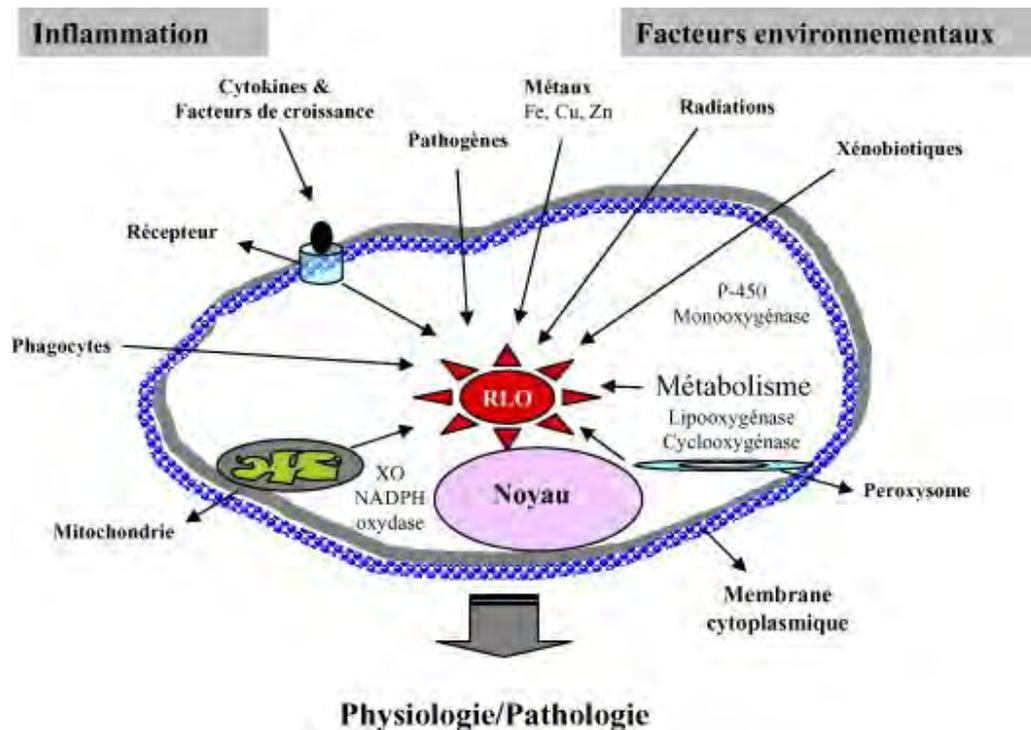


Figure 1-2 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (20)

1.2.2.1 Endogène

1.2.2.1.1 Respiration mitochondriale

Les mitochondries sont des organites intracellulaires qui permettent principalement la synthèse d'énergie cellulaire par la production d'ATP. Elles convertissent de l'énergie issue des oxydations en molécule d'ATP (Adénosine TriPhosphate) qui est nécessaire à la cellule.

La production d'ATP se fait en plusieurs étapes dont trois importantes :

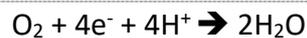
- Dégradation des glucides et lipides entraînant la formation d'acétylCoA
- Passage de l'AcétylCoA dans le cycle de Krebs
- Couplage du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire, ce qui forme l'ATP.

Cet organite est également impliqué dans la thermogénèse, dans l'homéostasie ionique (notamment du calcium et du potassium) et dans l'apoptose. Aussi, les mitochondries participent à la synthèse des stéroïdes et de l'hème et à la production d'espèces radicalaires de l'oxygène.

La chaîne respiratoire mitochondriale est composée de cinq complexes (I : NADH-ubiquinone réductase, II : succinate-ubiquinone réductase, III : UQH2-cytochrome c réductase, IV : cytochrome oxydase, V : ATP synthase) comprenant chacun des sous-unités protéiques.

Dans cette chaîne, il y a un transfert d'électrons du NADH jusqu'à l'oxygène, ce qui a pour conséquence un déplacement de protons de la matrice mitochondriale jusqu'à l'espace intermembranaire. Cela crée alors un gradient de pH entre la matrice et l'espace intermembranaire ainsi que la génération d'un potentiel de membrane au niveau de la membrane mitochondriale interne de -180mV. Cette énergie emmagasinée dans le gradient permet la phosphorylation de l'ADP en ATP par le complexe V. C'est en fait un enchaînement de réactions d'oxydoréduction. **(21)**

Chez la plupart des organismes eucaryotes, l'accepteur final d'électrons est l'oxygène : il s'agit de la respiration aérobie par opposition à la respiration anaérobie qui ne nécessite pas d'oxygène. La majorité de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente, ce qui conduit à la production d'eau, cette réaction est catalysée par l'enzyme cytochrome oxydase :



Cette réaction peut cependant laisser fuir des électrons qui vont produire des espèces radicalaires de l'oxygène. Ces électrons réagissent avec les molécules d'oxygène, créant ainsi des radicaux superoxydes. Des ERO sont produites en continu par les complexes mitochondriaux I et III, notamment des anions superoxydes (0,4 à 4% de l'oxygène consommé).

Lors d'une hypoxie, on a une diminution de l'oxygène au niveau du complexe IV donc une diminution de l'activité de ce complexe, ce qui entraîne une surproduction d'ERO au niveau du complexe III. **(22)** De plus, la mitochondrie perçoit les variations de concentration en oxygène dans la cellule. Elle permet alors de réguler la réponse à l'hypoxie en libérant une quantité plus importante d'ERO. **(23)**

L'élévation d' O_2^- permettrait d'induire un signal d'adaptation à l'hypoxie par *hypoxia inducible factor* (HIF). Elle agirait également sur la synthèse d'EPO, de facteurs de croissance vasculaires, ainsi que de transporteurs du glucose (GLUT-1) **(24, 25, 26)**

1.2.2.1.2 Phagocytose

Lorsqu'un agent étranger a réussi à traverser les barrières naturelles de l'organisme, le système immunitaire se met en action afin d'assurer la défense de l'organisme.

Dans un premier temps, se met en place de façon rapide et locale une réponse immédiate et non spécifique. Il s'agit de la phagocytose, c'est un processus cellulaire qui permet l'ingestion et l'élimination de particules étrangères, notamment des bactéries, des débris cellulaires ou des cellules mourantes. **(27)** Celle-ci se fait par certains leucocytes et en particulier les macrophages. Les polynucléaires neutrophiles circulants sont attirés par chimiotactisme sur le lieu d'agression. Les micro-organismes sont alors absorbés puis digérés par des enzymes

digestives. Un autre mécanisme coopère : c'est une dégranulation indépendante de l'oxygène qui permet le déversement de substances bactéricides dans le phagosome.

La NADPH-oxydase (Nox2) est composée de différentes sous-unités cytosoliques et membranaires qui s'assemblent à la membrane du phagosome. L'activation du système enzymatique de la NADPH-oxydase dans l'explosion oxydative entraîne la production de formes réactives de l'oxygène.

Une fois phagocytée, les ERO synthétisées par la NADPH-oxydase vont détruire l'agent responsable puis les déchets sont expulsés.

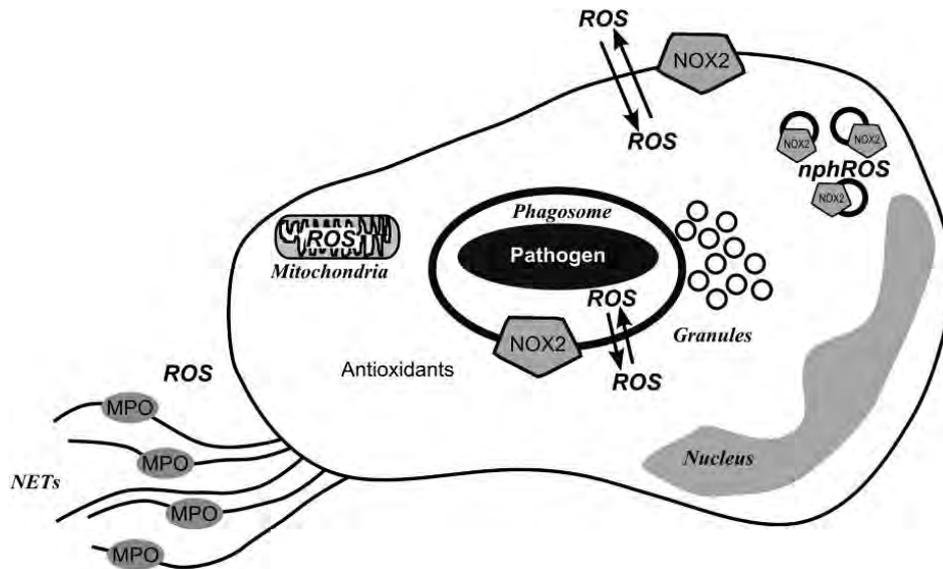


Figure 1-3 : Schéma des principaux sites de production des ROS par Nox2 : membrane plasmique, membrane du phagocyte, organites intracellulaires non phagocytaires (28)

1.2.2.1.3 Facteurs externes

1.2.2.1.3.1 UV

Les UVA (320-400 nm) sont absorbés par des chromophores qui vont alors être excités pour fournir un oxygène singulet. Ils réduisent également l' O_2 en anion superoxyde (O_2^-) qui sera rapidement transformé par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui sera réduit à son tour en radical hydroxyle (OH) par la réaction de Fenton. OH réagit alors avec les protéines, les lipides et l'ADN. (3)

1.2.2.1.3.2 Pollution, ozone

L'ozone O_3 est un gaz très réactif formé par réaction photochimique dans l'air à partir d'oxydes d'azote (NOx) et de composés organiques volatiles. L'ozone possède deux électrons libres et interagit avec les composés du fluide périciliaire qui recouvre l'épithélium bronchique. L'ozone est peu hydrosoluble et interagit avec les antioxydants présents dans le fluide comme la vitamine C, l'acide urique et le glutathion réduit donnant le glutathion oxydé.

O_3 favorise aussi la migration des polynucléaires neutrophiles à la surface de l'épithélium respiratoire par chimioattraction, cela favorise la production d'espèces réactives de l'oxygène.

L'ozone est également à l'origine d'une réponse inflammatoire favorisant le stress oxydant. **(29)**

1.2.2.1.3.3 Fumée de tabac, alcool

La fumée de cigarette est un mélange complexe d'éléments réactifs aussi bien dans la phase gazeuse que particulaire. Chaque bouffée inhalée correspond à de la libération de molécules oxydantes donc 1014 sont des radicaux libres de l'oxygène. **(30, 31)**

De plus, la fumée de tabac diminuerait le taux de vitamine A circulante qui est antioxydante. Il en résulte alors une diminution de la protection naturelle contre les ERO.

Les radicaux libres provenant de la fumée de cigarette provoquent un stress oxydatif qui entraîne la séquestration des macrophages et des polynucléaires neutrophiles, la peroxydation lipidique et une activation des cytokines pro-inflammatoires. On observe à partir de là une augmentation de la perméabilité de l'épithélium ainsi qu'une inflammation. En effet, des études chez le patient fumeur atteint de BPCO (Bronchopneumonie chronique obstructive) ont démontré une augmentation des concentrations en TNF- α et IL-8 dans les expectorations. Il y a aussi une plus grande concentration des macrophages et des polynucléaires neutrophiles dans la muqueuse de l'arbre bronchique de fumeurs. **(32)**

Les fumeurs ont une élévation du taux plasmatique de produits issus de la peroxydation lipidique. **(33)** Cela peut être suivi par les isoprostanes F₂ qui appartiennent à la famille des eicosanoïdes et sont issus de la peroxydation de l'acide arachidonique. Il peut être mesuré dans les urines et il est considéré comme le marqueur de référence de la peroxydation lipidique *in vivo* **(34, 35)**

1.2.2.1.3.4 Herbicides, Pesticides

L'exemple le plus connu est le paraquat, utilisé comme herbicide. Il s'agit d'une molécule stable comprenant deux pyridiniums. **(36)**

En présence de NADPH-cytochrome P450 réductase, ce composé toxique passe sous forme radicalaire qui est stabilisée par la délocalisation de l'électron célibataire sur les structures pyridiniques composant le paraquat. Il y a ensuite régénération par le transfert de l'électron libre à une molécule d'oxygène, ce qui produit le radical superoxyde. **(37,38)**

La toxicité du paraquat est donc due à la production de radicaux libres qu'il entraîne d'autant plus qu'il a une capacité à se régénérer. Si les quantités de ce radical sont trop importantes, les voies de détoxification enzymatiques sont saturées et il y a alors développement d'un stress oxydatif. Le radical superoxyde va agir en oxydant les acides gras insaturés et notamment ceux des membranes cellulaires. **(39)**

1.2.3 Effets sur l'organisme du stress oxydant

Les Espèces Réactives de l'Oxygène réagissent avec de nombreuses molécules, ce qui entraîne certaines modifications de ces dernières. Elles perdent alors leur activité au sein de la cellule et cela a un impact sur le fonctionnement cellulaire physiologique.

1.2.3.1 Effets moléculaires

1.2.3.1.1 Altération des membranes lipidiques

Lors de la peroxydation lipidique, les radicaux libres peuvent arracher un atome d'hydrogène aux chaînes latérales d'acides gras des lipides pour former des radicaux alkyles. Ceux-ci vont ensuite réagir avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxydes. La peroxydation lipidique entraîne notamment une désorganisation des lipides membranaires, ce qui peut mener à une lyse cellulaire.

1.2.3.1.2 Altération de l'ADN

Les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN ainsi que les désoxyriboses peuvent être la cible des radicaux libres, notamment le radical hydroxyle OH•. Par exemple, la guanine peut réagir avec ce radical pour former la 8-OH-désoxyguanosine qui va s'apparier à l'adénine au lieu de s'associer normalement à la cytosine. Cela entraîne des mutations au sein de l'ADN. **(40)**

Il existe des systèmes de réparation de l'ADN mais lorsqu'ils sont débordés, ces systèmes ne sont plus suffisants et cela entraîne des altérations du matériel génétique qui peuvent engendrer des mutations, des cancers...

1.2.3.1.3 Altération des protéines

Les protéines sont formées d'acides aminés qui peuvent réagir avec les radicaux libres. Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. **(40)**

Les radicaux libres peuvent interagir avec différents types de protéines : celles de soutien comme le collagène (vieillesse), les protéines circulantes (transferrine, albumine), les enzymes protéiques... les acides aminés les plus sujets à des attaques radicalaires sont ceux possédant des chaînes latérales aromatiques (phénylalanine, tyrosine, histamine, tryptophane) et les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine).

1.2.3.2 Effets sur le système immunitaire

1.2.3.2.1 Inflammation

Les macrophages produisent des radicaux libres pour lutter contre les microorganismes mais ces radicaux libres peuvent également favoriser des réactions inflammatoires. Le stress oxydant semble entraîner une augmentation de la synthèse de cytokines inflammatoires comme le TNF- α , ou l'IL-1. **(41)**

De plus, les ERO comme le peroxyde d'hydrogène sont capables d'activer des facteurs de transcription comme la protéine NF-KB (Nuclear Factor-Kappa B) qui est impliquée dans la réponse inflammatoire. Egalement, les produits avancés de l'oxydation des protéines précurseurs de l'amyloïde agissent comme médiateurs du stress oxydatif. On retrouve aussi une corrélation entre l'inflammation et le stress oxydatif par une augmentation parallèle entre le taux de CRP (C-reactive protein) et de malonyl-dialdéhyde.

1.2.3.2 Phagocytose

La fonction principale des ERO dans la phagocytose est l'activité microbicide. Les ERO sont produits en partie par les NADPH-oxydase. Or, si par exemple une protéine constituant la NADPH-oxydase du phagocyte est déficiente ou absente dans une pathologie on peut observer une granulomatose septique chronique. Cette pathologie entraîne des infections graves et répétées causées par des bactéries et des champignons qui sont liées à une anomalie de la NADPH-oxydase. Cela montre l'effet microbicide des ERO.

Les radicaux libres peuvent moduler la signalisation intracellulaire. Ils régulent les fonctions des cellules présentes au site inflammatoire (exemple la production de cytokines pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires, les réponses prolifératives des lymphocytes et l'apoptose) pour les polynucléaires neutrophiles. Ces derniers ont une activité microbicide et cytotoxique. Ceci est lié à la libération d'enzymes protéolytiques et à la production d'ERO. Il s'agit du processus d'explosion oxydative. **(42)** Les radicaux libres sont également impliqués dans l'apoptose du phagocyte.

1.2.3.3 Principales affections liées au stress oxydant

1.2.3.3.1 Athérosclérose

La formation de plaques athéromateuses est partiellement liée à la peroxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL). Après oxydation, les LDL entraînent la transformation des macrophages en cellules spumeuses.

En effet, les LDL natives ne sont pas capables d'induire la formation de cellules spumeuses mais c'est seulement après oxydation que les LDL captées par les macrophages entraînent la formation de cellules spumeuses qui constituent des stries lipidiques qui est la première étape de formation de la plaque d'athérome. **(43)** L'oxydation des LDL est une étape clef de la formation des plaques d'athérome. Il semble que ce soit l'élément déclencheur du processus inflammatoire impliqué dans l'athérosclérose. L'oxydation des LDL débute par l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Les radicaux libres sont capables de capter un atome d'hydrogène d'une double liaison d'un acide gras insaturé, provoquant ainsi un réarrangement qui conduit à un diène conjugué. Celui-ci va pouvoir capter une molécule d'oxygène et donner un radical peroxyde ($\text{ROO}\bullet$) très réactif. Il peut à son tour réagir avec un acide gras insaturé, ce qui permet la propagation de l'oxydation.

Les LDL oxydés semblent transformer le NO qui agit comme relaxant vasculaire en peroxynitrite (ONOO^-) qui est un pro-oxydant et cytotoxique. De plus, ce radical libre est dénué d'activité relaxante sur le système vasculaire. **(44)**

Les LDL possèdent des antioxydants lipophiles qui empêchent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (alpha-tocophérol, bêta-carotène...). L'effet bénéfique de la vitamine E a été établi chez l'homme. Elle améliore la vasorelaxation endothélium-dépendante des coronaires chez des patients ayant de l'athérosclérose. **(45)** De plus, la vitamine E qui empêche l'oxydation des LDL rend impossible l'entrée de ces derniers dans les macrophages et donc ainsi, la formation de cellules spumeuses est évitée. **(46)**

1.2.3.3.2 Cancers

Le radical hydroxyle HO• semble être le principal responsable des dommages oxydatifs sur l'ADN. Ces espèces étant très réactives, celles-ci sont donc générées sur le site de réaction. Certaines portions de l'ADN présentent des métaux de transition (Fe, Cu) et ne sont pas protégées par les histones donc ces zones peuvent être le siège des réactions qui sont catalysées par les métaux de transition.

De nombreux facteurs étant retenus comme cancérigènes agissent en produisant des espèces radicalaires. Cela peut se faire directement comme pour le tabac, après phagocytose comme l'amiante, par réaction de Fenton par des métaux carcinogènes comme le nickel, par photolyse comme les UV A et B, comme par redox-cycling lors du métabolisme comme le benzopyrène. **(47)**

1.2.3.3.3 Diabète de type 2

Les radicaux libres sont indispensables pour certaines réactions biologiques, notamment la transduction du signal de l'insuline. Cependant, les radicaux libres peuvent être impliqués dans l'insulinorésistance. L'insulinorésistance est une diminution de l'action de l'insuline à deux niveaux : la capture cellulaire du glucose par le muscle et le tissu adipeux et l'inhibition de la production hépatique du glucose. **(48)**

L'hyperglycémie, les dyslipidémies et les anomalies hémodynamiques sont à l'origine d'une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène. Cela mène à un stress oxydant et une diminution de la compliance vasculaire, ce qui peut conduire à des micro-angiopathies et macro-angiopathies qui caractérisent le diabète de type 2, à savoir la rétinopathie et l'insuffisance coronaire.

Les concentrations plasmatiques de manganèse sont plus élevés dans les populations diabétiques de type 2. La transferrine transporte le fer mais aussi le manganèse, il y a donc une compétition entre les deux. Or, le fer sous forme libre est pro-oxydant, à l'inverse du manganèse. Le diabétique présente donc un équilibre fragile entre les forces oxydantes et réductrices. **(49)**

1.2.3.3.4 Maladies neurodégénératives

Après avoir subi des stress oxydatifs, l'alpha-synucléine (protéine neuronale) semble être à l'origine de pathologies neurodégénératives. Dans les démences à corps de Lewy et dans les lésions cérébrales neurodégénératives, l'alpha-synucléine est retrouvée principalement sous forme nitrée, ce qui résulte de sa réaction avec des espèces radicalaires. **(50)** De plus, l'augmentation des radicaux libres seraient impliqués plus ou moins directement dans le vieillissement cognitif. **(51)**

1.2.3.3.5 Maladies rhumatismales

Le stress oxydant active des voies de signalisation (protéine kinase C, kinases de stress) et des facteurs de transcription redox-sensibles comme NF-KB. Aussi, ces gènes sont impliqués dans les processus inflammatoires.

Parmi les facteurs impliqués dans l'arthrose, l'IL-1 β est l'une des cytokines les plus actives. Elle diminue l'expression du collagène et stimule la production de monoxyde de carbone qui

aboutit à la formation de ONOO^- qui attaque directement les télomères de l'ADN du chondrocyte. **(20)**

1.3 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. **(52)** 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 (antioxydants primaires et secondaires).

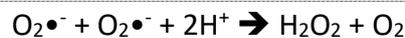
Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation.

1.3.1 Les différents types et sources d'antioxydants

1.3.1.1 Endogène : Les systèmes de défense enzymatiques des radicaux libres

1.3.1.1.1 Superoxyde dismutases

Les superoxydes dismutases sont des métalloenzymes (ce sont des enzymes utilisant des métaux comme cofacteurs). Il s'agit d'une des premières lignes de défense contre les ERO. Leur cible privilégiée est l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) qu'elle transforme en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :



Il existe plusieurs isoformes selon le métal utilisé par l'enzyme (cuivre/zinc, manganèse, fer, nickel). Chez l'Homme, on retrouve seulement trois isoformes de l'enzyme SOD **(53)** :

- SOD1 : celle-ci est présente dans le cytoplasme, le compartiment nucléaire et l'espace intermembranaire des mitochondries. Elle utilise le cuivre et le zinc comme cofacteurs. Chez l'homme, des mutations génétiques de la SOD1 sont impliquées dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA). **(54)**

Une surproduction de $\text{TNF-}\alpha$ notamment au cours de l'inflammation peut influencer négativement sur l'expression de la SOD1. Cette répression est mise en place par la voie JNK/AP-1. Ainsi, on comprend qu'au cours de l'inflammation on puisse observer la présence de l'ion superoxyde parallèlement à la disparition de l'enzyme antioxydante SOD1. **(55)**

- SOD2 : elle est localisée dans les mitochondries et utilise le manganèse comme cofacteur. Lors d'un déficit de cet enzyme, on observe une augmentation de la production de l'ion superoxyde qui va inhiber les complexes I et II de la chaîne respiratoire mitochondriale.

La SOD2 est activée par les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-4, IL-6, $\text{TNF-}\alpha$)

- SOD3 : elle est retrouvée au niveau extracellulaire et utilise le cuivre et le zinc tout comme SOD1.

La répartition variée de ces isoformes permet d'agir directement au niveau de production des anions superoxydes et d'ainsi éviter une accumulation de ces radicaux libres qui pourraient entraîner des stress oxydants trop importants.

1.3.1.1.2 Catalases

Les catalases sont localisées dans les peroxysomes et sa cible principale est le H₂O₂. Cette place est stratégique puisque c'est ici que des enzymes comme les flavines, l'urate oxydase, la glucose oxydase et les D-amino-oxydases produisent des radicaux libres H₂O₂. L'activité de la catalase est coordonnée avec la concentration en H₂O₂. (56)



1.3.1.1.3 Glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries. Elles permettent de réduire H₂O₂ en H₂O en parallèle de l'oxydation du glutathion.



Quatre glutathion peroxydases à sélénium ont été identifiées : cellulaire, extracellulaire, intestinale et la phospholipide glutathion peroxydase. (57)

1.3.1.2 Exogène

1.3.1.2.1 Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate. Cette voie métabolique est présente uniquement chez les bactéries, champignons et les plantes. C'est pourquoi l'alimentation apporte des acides aminés essentiels non synthétisés par le corps humain. (58)

Les polyphénols naturels forment un ensemble de molécules comportant au moins un groupe phénolique dans leur structure et sont en général de haut poids moléculaire. On retrouve plusieurs sous-groupes caractérisés par la structure de leur squelette carboné.

Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations. Ils sont cependant présents en faible concentration dans le plasma et sont principalement retrouvés sous forme conjuguée et donc n'ont probablement que des effets indirects *in vivo*. Il paraît néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti-cancérigènes. (59)

Les polyphénols sont classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes. Les composés flavonoïdes sont regroupés en diverses familles : flavonols, flavanols, flavones, isoflavones, flavanones et anthocyanes. Les non flavonoïdes sont divisés en acides phénols et dérivés, lignanes et stilbènes.

1.3.1.2.1.1 Les acides-phénoliques (C6-C1 ou C6-C3)

Ce sont des composés simples formés par un seul noyau phénolique et au moins un groupement dont un parmi eux se termine par une fonction acide. Le nombre de carbones dans la chaîne renfermant la fonction acide définit le type d'acide phénolique : l'acide gallique, l'acide caféique par exemple.

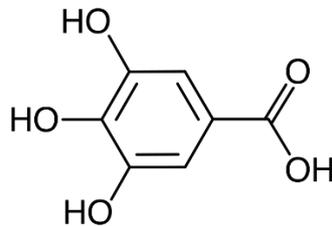


Figure 1-4 : Structure de l'acide gallique

L'acide gallique a pour effet *in vivo* chez le rat soumis à un régime riche en graisses et supplémenté en acide gallique de réduire significativement le poids du foie et du tissu adipeux par rapport aux rats non supplémentés. Aussi, on observe une diminution des taux sériques en triglycérides, phospholipides, cholestérol total, LDL-cholestérol, insuline et leptine. *In vitro*, l'acide gallique inhibe la prolifération des pré-adipocytes en augmentant le nombre de cellules apoptotiques. (60, 61)

1.3.1.2.1.2 Les flavonoïdes (C6-C3-C6)

Ces composés représentent le groupe le plus vaste et le plus distribué dans le règne végétal.

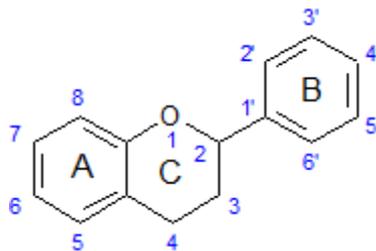


Figure 1-5 : Structure chimique des flavonoïdes

Le nom flavonoïde est issu du latin « Flavus » qui signifie jaune. Ce sont des pigments qui sont responsables de la coloration des fruits et des fleurs. Les différentes couleurs dépendent de la structure mais également du pH du milieu. Ils peuvent avoir comme rôle d'attirer les insectes pollinisateurs.

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone, flavanol.

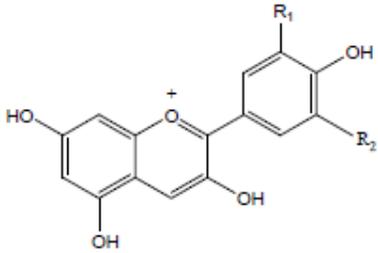
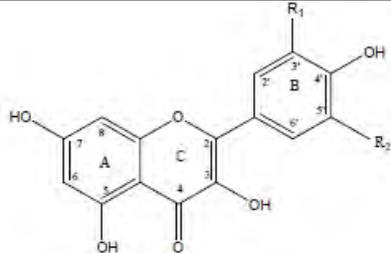
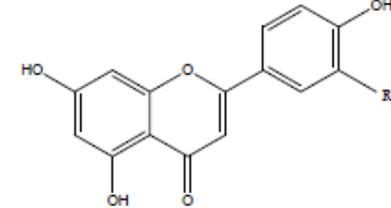
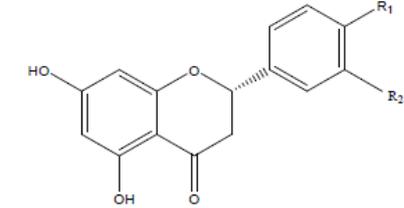
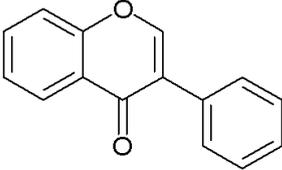
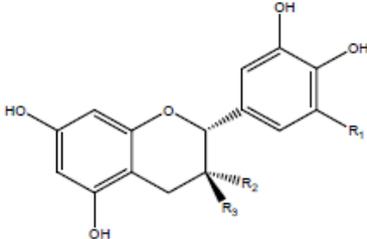
	Structure de base	Formule chimique	Origine	Principales molécules
Anthocyane			Baies, fruits rouges, vin	Cyanidine, pélagonidine, malvidine, delphinidine
Flavonol		3-hydroxy-2-phénylchromen-4-one	Oignons, brocolis, tomate, thé	Quercétine, kaempférol, myricétine
Flavone		2-phénylchromen-4-one	Tisanes, plantes aromatiques	Apigénine, lutéoline
Flavanone		2,3-dihydro-2-phénylchromen-4-one	Agrumes	Herpérétine, naringénine, ériodictyol
Isoflavone			Soja, légumineuses	Daïdzéine, génistéine
Flavanol		2-phényl-3-chromanol	fruits, cacao, thé, vin	Catéchines, gallocatéchines (monomères), proanthocyanidines (polymères)

Figure 1-6 : Tableau récapitulatif des six classes de flavonoïdes (62, 63)

Les anthocyanes sont des hétérosides oxygénés dont la partie aglycone est appelée anthocyanidine. Les anthocyanidines ont pour structure de base l'ion flavylum. Ils sont faiblement solubles dans l'eau froide et leur couleur varie selon le pH du bleu jusqu'au rouge. Ils sont relativement instables lors de l'exposition à la lumière, lors de variation de température ou lors d'un changement de pH. Ils forment des conjugués avec des sucres et des acides organiques ce qui entraîne la formation de molécules d'anthocyanes. **(64)** La prise journalière d'anthocyane est estimée en France entre 10 à 100mg/j, sachant qu'une portion de 100 grammes de baies peut fournir jusqu'à 500 mg d'anthocyanes. **(65)**

Les flavonoïdes sont retrouvés dans les fruits et légumes sous forme glycosylée, ce qui rend la molécule plus hydrosoluble. Les sucres couramment rattachés aux flavonoïdes sont le glucose, le galactose, le rhamnose, la xylose, l'arabinose et des dissaccharides comme la rutinose. **(66)** Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Leur extraction est donc réalisée le plus souvent par le méthanol dilué ou non dans de l'eau.

1.3.1.2.1.3 Les lignanes (C6-C2-C6)

Il s'agit de composés naturels, décrits la première fois par Haworth en 1936 comme un ensemble de deux molécules ayant un squelette phénylpropane, liées par leur carbone 8 et 8'. Les lignanes sont en fait issus de l'union de deux unités monolignols. Les monolignols sont des dérivés de l'alcool cinnamique et ont en commun un squelette 1-phénylpropane.

Les lignanes sont répandus dans le règne végétal, c'est dans les graines de sésame et de lin que l'on en retrouve le plus : sésame 1000 à 2000 µg/g et lin 347 à 1140 µg/g. **(67)**

1.3.1.2.1.4 Les stilbènes (C6-C2-C6)

Les stilbènes se différencient par le nombre et les positions des fonctions hydroxyles sur les cycles phénoliques, la conjugaison avec des sucres et des groupements fonctionnels divers (méthyles, méthoxyles...) et la formation d'oligomères résultant de la condensation oxydative des monomères.

Ces composés sont principalement retrouvés dans des familles comme les Melanthiaceae, Polygonaceae, Moraceae, Vitaceae... et sont également retrouvés dans le raisin, les fruits rouges, les cacahuètes ou la rhubarbe pour une teneur allant de quelques milligrammes à plusieurs centaines de milligrammes par kilogrammes de matière sèche. **(68)**

1.3.1.2.1.5 Conclusion sur les polyphénols

Cette catégorie est largement retrouvée dans les végétaux et très diversifiée.

Les phénols réagissent rapidement avec les radicaux libres, notamment les peroxydes en donnant un radical phénoxy incapable de propager la réaction radicalaire. De plus, les polyphénols circulants sont majoritairement des formes conjuguées avec des sucres, ce qui laisse supposer que ce sont les métabolites conjugués des polyphénols qui sont biologiquement actifs.

1.3.1.2.2 Les vitamines

1.3.1.2.2.1 Vitamine E

Les antioxydants liposolubles comme l' α -tocophérol (vitamine E), l'ubiquinol (Coenzyme Q réduit) sont retrouvés principalement sur les membranes cellulaires. Ils sont liposolubles donc impliqués dans la réduction de la peroxydation lipidique contrairement par exemple à la vitamine C qui est hydrosoluble et qui agira donc plutôt dans les milieux hydrosolubles.

La vitamine E est un mélange de molécules comptant principalement α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol ou encore δ -tocophérol.

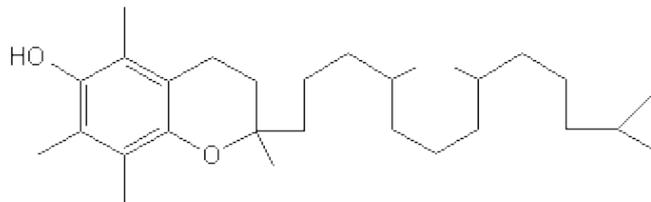


Figure 1-7 : Molécule d' α -tocophérol, biologiquement la molécule la plus active de la vitamine E

La molécule d' α -tocophérol est biologiquement la plus active. Celle-ci est oxydée au niveau de l'hydroxyle en une forme régénérable. Cette régénération se fait par l'intervention de la vitamine C à la surface des membranes cellulaires. En effet, cette dernière s'oxyde en régénérant la molécule d' α -tocophérol puis à son tour, la vitamine C oxydée est régénérée par le glutathion réduit.

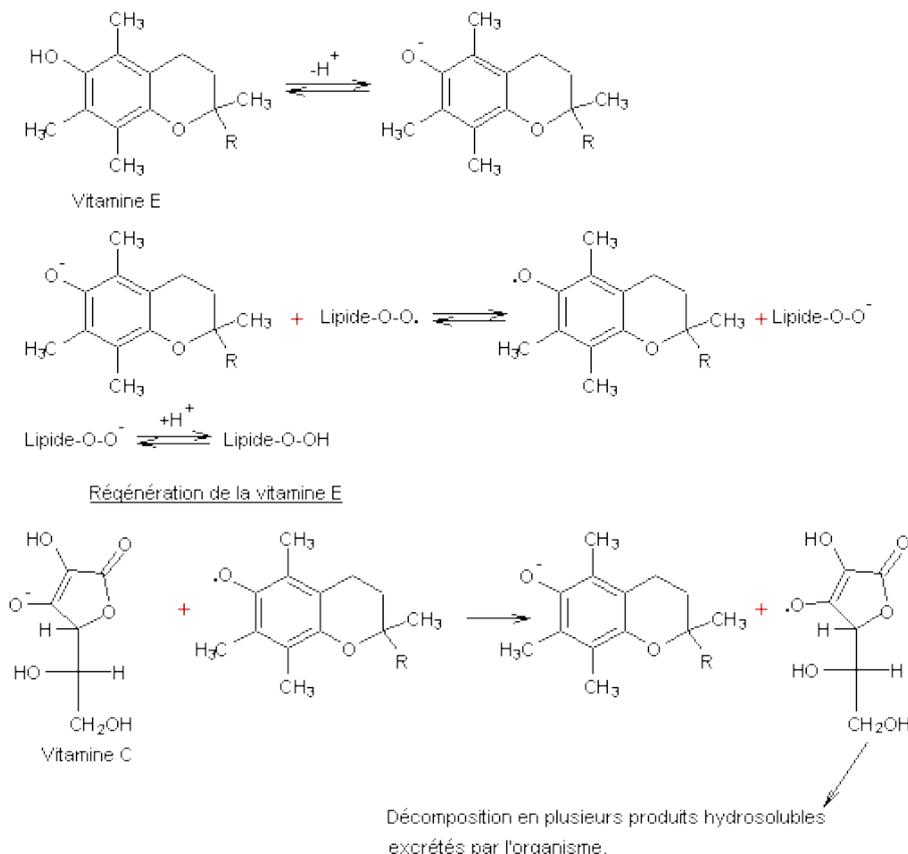


Figure 1-8 : Schéma du processus de régénération de la vitamine E par la vitamine C (69)

La vitamine E est très peu métabolisée dans l'organisme, et est apportée par les huiles de germe de blé, de tournesol, de céréales, de colza, d'arachide ou encore d'olive. Il n'y a pas de symptômes spécifiques de carence chez les humains.

Cette vitamine liposoluble montre les propriétés anticoagulantes et antioxydantes. Il s'agit d'un agent réducteur car elle protège les lipides qui se trouvent dans les membranes cellulaires pour les empêcher d'être détruits par oxydation. C'est l'antioxydant majeur des milieux lipidiques (membrane plasmique, lipoprotéine). Elle réduit les intermédiaires radicalaires, ce qui bloque la chaîne d'oxydation.

L'implication de la vitamine E dans la prévention cardio-vasculaire semble être établie. En effet, la vitamine E prévient de l'oxydation du cholestérol LDL (low-density lipoprotein) qui provoquerait les plaques d'athérosclérose. **(70)** La prise journalière de 200mg de vitamine E augmente de 80% la teneur plasmatique en vitamine E, de 60% la teneur des LDL et d'environ 15 à 30 % la résistance à l'oxydation. **(71, 72, 73)** La résistance à l'oxydation est observée à partir du seuil de 50mg/j. L'effet préventif de la vitamine E par rapport aux maladies cardiovasculaire semble effectif pour un apport de 100mg/j. **(74, 75)**

L'apport nutritionnel recommandé pour un adulte est compris entre 10 et 15mg. La vitamine E de source naturelle contient uniquement du d- α -tocophérol alors que la vitamine E synthétique contient du dl- α -tocophérol qui est un mélange de 8 isomères. **(76)** C'est ce qui expliquerait que la supplémentation en vitamine E de synthèse n'ait pas les effets attendus par rapport à la vitamine E naturelle.

L'action bénéfique de la vitamine E est évoquée dans le cas du cancer de la prostate **(77)**, mais n'est cependant pas entièrement établi.

1.3.1.2.2.2 [Vitamine C ou acide L-ascorbique](#)

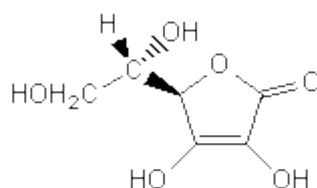


Figure 1-9 : Structure de la vitamine C

L'acide L-ascorbique de formule $C_6H_8O_6$ présente deux carbones asymétriques, une fonction lactone, deux fonctions alcool puis une fonction éne-diol ($HO - C = C = OH$). C'est cette dernière fonction qui est responsable de son activité biologique par ses propriétés réductrices. Après oxydation, l'acide ascorbique devient l'acide déhydroascorbique. C'est l'anion ascorbate qui est prédominant au pH physiologique.



Figure 1-10 : Oxydation des groupes énoles de la vitamine C à l'air par la présence de Cu^{2+}

Il est présenté sous forme de cristaux blancs. Les apports en vitamine C se font principalement par les fruits frais (kiwi, agrumes) et par certains légumes comme les tomates, poivrons, brocolis **(78)** ... C'est une vitamine très fragile qui peut facilement être dégradée lors des modes de cuisson par exemple. **(79)**

La vitamine C intervient dans de nombreux métabolismes et renforce les défenses naturelles de l'organisme. La carence en vitamine C provoque le scorbut, mais on peut aussi observer une diminution de l'effet antioxydant, une augmentation du risque de développement d'un cancer et de cataracte.

En effet, plusieurs études rapportent un effet protecteur de la consommation de la vitamine C sur l'incidence des cancers, dont ceux de la cavité buccale, du pharynx, de l'œsophage, de l'estomac et du pancréas. **(80, 81)** L'effet antioxydant de l'acide ascorbique pourrait inhiber les processus d'oxydation et les radicaux libres qui jouent un rôle dans l'initiation et la promotion du processus néoplasique.

1.3.1.2.2.3 Rétinol ou vitamine A

Dès 1984, Kligman et Kligman sont les premiers à relever l'amélioration du vieillissement photo-induit chez la souris. Depuis, un grand nombre d'études a été mené chez l'homme pour confirmer la réparation du vieillissement de la peau par notamment la diminution des rides et ridules, ou encore l'amélioration de l'aspect de la peau. L'acide rétinoïque qui est un dérivé de la vitamine A est d'ailleurs actuellement utilisé contre l'acné en topique ou en voie orale.

La vitamine A est stockée dans le foie et distribuée au tissu par une protéine de transport sanguin : RBP (retinol binding protein)

1.3.1.2.2.4 Caroténoïdes (82, 83, 84, 85)

Les caroténoïdes dont le bêta-carotène qui est le plus connu sont des précurseurs de la vitamine A. Ils jouent le rôle de pigments colorés jaunes à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes.

Il existe principalement deux groupes de caroténoïdes qui sont des puissants neutraliseurs des ERO : ceux porteurs de substituants oxygénés (lutéine, zéaxanthine et la cryptoxanthine) et ceux qui n'ont pas d'oxygène (α -carotène, β -carotène et lycopène). Ils sont présents dans les compartiments lipidiques car ils sont plutôt lipophiles.

Ils sont apportés par l'alimentation, les aliments les plus riches sont la carotte (α -carotène, β -carotène), la tomate et le melon (lycopène), les agrumes (β -cryptoxanthine), les épinards et endives (β -carotène et lutéine) et le maïs (zéaxanthine). On en retrouve aussi dans le foie et les huiles de foie de poisson, le lait entier et les œufs.

Finalement, la « vitamine A » représente un ensemble de molécules proches et biologiquement interconnectées parmi lesquelles on trouve le rétinol (forme alcool) et ses formes oxydées, le rétinol (forme aldéhyde) et l'acide rétinoïque (forme acide). Il s'agit aussi d'un antioxydant liposoluble dont la forme la plus active serait le rétinol.

Il a été démontré que le β -carotène est présent dans les LDL et il est capable d'inhiber leur oxydation *in vitro*. **(86)** De plus, chez l'Homme et les animaux, la supplémentation en β -carotène permet de réduire la peroxydation lipidique. **(87)** Chez des sujets ayant présenté un infarctus du myocarde, des niveaux plus faibles de β -carotène ont été rapportés. **(88)** On peut donc dire que la vitamine A a un effet cardioprotecteur et lutte contre l'athérosclérose.

L'effet protecteur du β -carotène contre le cancer est lié à ses capacités immunostimulantes. Cela a été démontré chez le rat par un apport de vitamine A. **(89)** De plus, la supplémentation protège contre les cancers induits par un rayonnement UV. La vitamine A est donc impliquée dans la prévention de certains cancers.

1.3.1.2.3 Les oligoéléments

Le terme oligoélément vient du grec « oligos » signifiant « petit » ou « peu abondant ». Effectivement, les oligoéléments sont des éléments chimiques présents dans le corps humain en concentration inférieure à 0.01%. Ce sont des éléments qui doivent être apportés par l'alimentation.

Les oligoéléments antioxydants sont des micronutriments qui sont fortement impliqués dans l'homéostasie énergétique. Ce sont des cofacteurs indispensables pour des réactions métaboliques d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. Il s'agit principalement du cuivre, du manganèse, du sélénium et du zinc.

1.3.1.2.3.1 Cuivre (90)

Le cuivre d'origine alimentaire est absorbé au niveau digestif par l'intermédiaire de protéines spécifiques.

Il a un rôle essentiel au sein du corps humain et plus particulièrement du métabolisme cellulaire car il est le cofacteur de nombreuses enzymes. Il agit au niveau de la synthèse érythropoïétique en agissant sur la libération du fer, c'est un stimulant neuropsychique car il favorise la synthèse des catécholamines au niveau du système nerveux. Il présente aussi une activité antiinflammatoire en déviant le métabolisme des prostaglandines et des leucotriènes, entraînant à la place des métabolites dénués de toute activité antiinflammatoire.

Il se comporte également comme un antioxydant en stimulant la superoxyde dismutase, protégeant ainsi la cellule contre l'effet toxique des radicaux libres.

Les principales sources alimentaires de cuivre sont le foie, les crustacés, le chocolat, les noix, les céréales et les fruits. Les apports recommandés sont entre 1 et 2 mg/j chez l'adolescent et l'adulte, quel que soit le sexe.

1.3.1.2.3.2 Manganèse

Le manganèse est présent en grande quantité dans les mitochondries du muscle squelettique, du foie, du pancréas et du rein.

Il est impliqué dans la synthèse, la sécrétion et l'action de l'insuline en association au zinc et au cuivre. Il est également indispensable pour la maturation des os et du cartilage. Il participe aussi à la synthèse des vitamines E et B₁. **(91)**

Le manganèse est retrouvé principalement dans le quinoa, le seigle, le riz complet, le soja, l'avocat, le jaune d'œuf, les haricots verts, les épinards, le thé vert, les huîtres, l'huile d'olive et les noix. En France, la carence en manganèse est rare. Elle peut entraîner une hypocholestérolémie, une hypocoagulabilité ainsi qu'une atteinte cutanée. En revanche, l'excès de manganèse entraîne une toxicité lorsqu'elle est localisée dans le cerveau car elle peut entraîner un syndrome pseudo-parkinsonien. **(92)**

Le manganèse est inclus dans le cycle de l'urée et permet la formation d'arginine en s'associant à l'arginine synthétase. L'arginine est un précurseur de la formation du monoxyde d'azote (NO).

Lorsque l'on observe un déficit ou une diminution de la biodisponibilité du manganèse dans les tissus riches en mitochondries, on observe parallèlement une inactivation de la SOD-Mn, ce qui peut augmenter le stress oxydant.

1.3.1.2.3.3 Sélénium

Le sélénium est un oligoélément retrouvé dans tous les organes du corps humain mais il est principalement localisé dans le foie, les reins, le sang, le cerveau, le muscle cardiaque et les testicules.

Selon les « apports nutritionnels conseillés » ou ANC, le sélénium doit être apporté à hauteur de 1 mg/kg/j sans dépasser 5 mg/kg/j. **(93)** Les apports quotidiens en France sont situés aux alentours de 40 – 55 µg/j. L'apport se fait principalement par l'alimentation.

Aliments	Teneur (µg/100 g)
Poissons	29 à 35
Coquillages	30 à 50
Œufs	19
Viandes	5 à 20
Fromages	4 à 9
Légumes, céréales	Variable selon la teneur des sols (10 à 3 000)

Figure 1-11 : Principales sources et teneurs des aliments en sélénium **(57)**

Les principales fonctions biologiques du sélénium en font un élément antioxydant. En effet, le sélénium a un effet immunostimulant, notamment en stimulant l'expression des récepteurs à l'IL-2 à la surface des lymphocytes activés et des cellules *natural killer*. **(94, 95)** Il évite aussi la survenue, la virulence ou la progression de certaines infections virales. De plus, chez l'animal, il semble que la supplémentation en sélénium à fortes doses réduit l'incidence des cancers. Chez l'homme, les études vont également dans le sens de la protection vis-à-vis de certains cancers, dont le cancer du foie **(96)**, du poumon ou de la prostate **(97)**. Enfin, cet oligoélément

possède un effet antioxydant par l'optimisation de l'activité glutathion peroxydase en s'incorporant à cette dernière. (57)

La sélénose, ou intoxication chronique au sélénium, est très rare et peut entraîner la chute des cheveux et des ongles. (98) *A contrario*, un déficit en sélénium entraîne une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase. Un déficit sévère peut être responsable de faiblesses musculaires et de cardiomyopathies (maladie de Keshan ou de Kashin-Beck en Chine). (99)

1.3.1.2.3.4 Zinc

Le zinc est principalement retrouvé dans les os, les muscles et les liquides riches en protéines du fait de ses liaisons, comme par exemple dans le plasma ou le liquide céphalorachidien.

L'apport en zinc se fait principalement par les viandes et poissons puis dans les fruits de mer, les céréales, les légumes secs. (100) Les besoins en zinc sont établis aux alentours de 15 mg/j chez l'adulte.

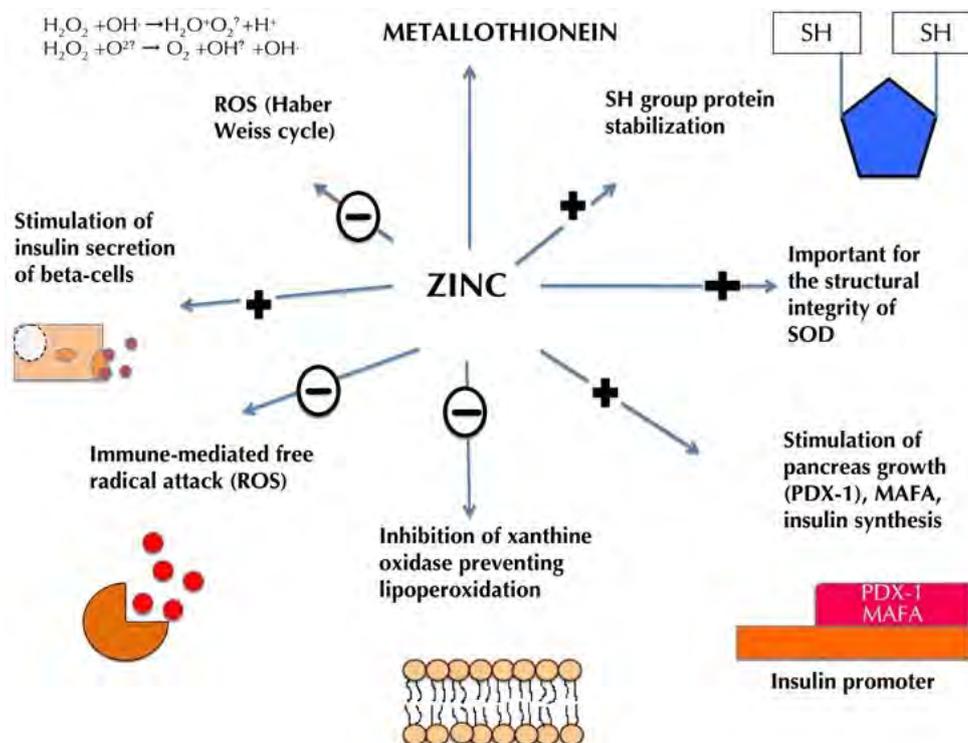


Figure 1-12 : Les implications du zinc en tant qu'antioxydant (101)

Le zinc se complexe facilement avec les groupements thiols, amine ou imidazole et il n'existe quasiment pas de zinc libre dans l'organisme. Du fait de la liaison avec des protéines, le zinc est impliqué dans de nombreuses réactions métaboliques par l'intermédiaire de métalloenzymes, notamment l'anhydrase carbonique ou la superoxyde dismutase qui est un *scavenger* capital des ions superoxydes, précurseurs de la chaîne des radicaux libres. C'est en ce sens que le zinc a des propriétés antioxydantes.

1.3.2 Les effets des antioxydants sur la santé

Nous avons vu que le stress oxydant avait un réel impact négatif sur la santé, notamment par la favorisation de la survenue de pathologies telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et les maladies rhumatismales. Ainsi, il est légitime de penser que si l'on supplémente la population en antioxydants, toutes ces pathologies pourraient tendre à disparaître.

Le régime méditerranéen riche en fruits et légumes a démontré ses effets sur le système cardiovasculaire. Une des hypothèses avancées pour justifier ce mécanisme protecteur est la richesse en antioxydants des fruits et légumes. En effet, de nombreuses études conseillent une alimentation variée riche en fruits et légumes afin de prévenir l'apparition de nombreuses pathologies, notamment les cancers, les maladies cardio-vasculaires et le diabète de type 2. Certaines études confèrent également un rôle important aux polyphénols dans ses effets bénéfiques, ceci étant lié au caractère antioxydant de ces molécules.

De nombreuses autres études ont été réalisées sur des populations différentes et sur la supplémentation en un ou plusieurs antioxydants, et notamment la vitamine E au niveau cardioprotecteur (Figure 2-13). Ces différentes études ont mené à des résultats différents mais avec une tendance bénéfique à la supplémentation.

Études	Population	Résultats
Études d'observation		
Études écossaises (Riemersma et al. Ann NY Acad Sci 1989 ; 570 : 291-5 ; [5])	6 000 hommes, âgés de 35 à 54 ans.	Association inverse significative entre la concentration de vitamine E plasmatique standardisée par rapport aux lipides et MCV (angor). La vitamine C et le carotène sont aussi protecteurs mais moindres corrélations après ajustement sur le tabagisme.
EURAMIC (European community multicenter study on antioxidants, myocardial infarction, and breast cancer) study (Kardinaal et al. Lancet 1993 ; 342 : 1379-84)	683 sujets avec infarctus du myocarde (IM), versus 727 témoins.	Les taux bas de vitamine E ne sont pas associés à un risque accru d'IM. La supplémentation par la vitamine E est associée à un bas risque d'IM. Effet protecteur des concentrations de β -carotène dans le tissu adipeux.
Études prospectives de cohortes		
Nurses' health study (NHS) (Stampfer et al. N Engl J Med 1993 ; 328 : 1444-9)	87 245 infirmières, âgées de 34 à 59 ans.	Après 8 ans de régime riche en antioxydant et utilisation de suppléments vitaminiques, les femmes ayant consommé le plus de vitamine E ont un risque abaissé de 34 % d'IM non mortel et de mortalité par maladie coronarienne comparé aux autres. Cette association inverse

		est seulement observée avec les suppléments vitaminiques.
Health professionals follow-up study (HPFS) (Rimm et al. N Engl J Med 1993 ; 328 : 1450-6)	39 310 hommes professionnels de santé, âgés de 40 à 75 ans.	Risque relatif de maladie coronarienne de 0,60 pour les sujets situés dans le quintile le plus élevé de prise de vitamine E versus le plus bas quintile. Plus forte action protectrice pour les suppléments.
Finnish cohort study (Knekt et al. Am J Epidemiol 1994 ; 139 : 1180-9)	5 133 hommes et femmes, âgés de 30 à 69 ans.	Après 14 ans, corrélation inverse significative entre la prise alimentaire de vitamine E et la mortalité coronarienne.
Iowa women's health study	34 486 femmes ménopausées, âgées de 55 à 69 ans.	Après 7 ans, la prise de vitamine E d'origine alimentaire -mais non celle de suppléments de vitamine E- est fortement associée avec un risque plus bas de mortalité par maladie coronarienne.
Étude sur des hommes franco-canadiens (Meyer et al. Can J Cardiol 1996 ; 12 : 930-4)	2 313 hommes.	Après 5 ans, les hommes prenant des suppléments de vitamine E présentent un risque significativement inférieur de maladie ischémique cardiaque et d'IM.
Established populations for epidemiologic studies of the elderly (EPSE) (Losonczy et al. Am J Clin Nutr 1996 ; 64 : 190-6)	11 178 hommes et femmes, âgés de 67 à 105 ans.	Après 9 ans, risque diminué de mortalité par maladie coronarienne (RR = 0,53) et mortalité globale (RR = 0,66) chez les sujets prenant des suppléments de vitamine E.
Étude Rotterdam (Klipstein-Grobusch et al. Am J Clin Nutr 1999 ; 69 : 261-6)	4 802 hommes et femmes, âgés de 55 à 95 ans.	Après 4 ans, pas d'association entre la prise de vitamine E et la survenue d'IM.
Essais cliniques randomisés		
Prévention primaire		
Étude SU.VI.MAX (Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants) (Herberg et al. Control Clin Trials 1998 ; 19 : 336-51 ; Herberg et al. Arch Intern Med 2004 ; 164 : 2335-42)	13 017 hommes et femmes, âgés de 35-60.	Après un suivi de 8 ans, pas de réduction du risque de MCV chez les sujets prenant un cocktail incluant 30 UI/j de vitamine E, 6 mg/j de β -carotène, 120 mg/j de vitamine C, 0,1 mg/j de sélénium et 20 mg/j de zinc.
Étude Alpha-tocopherol, beta-carotene (ATBC) (The ATBC prevention Study Group, N Engl J Med 1994 ; 330 : 1029-35 ; Rapola et al. J Am Med Assoc 1996 ; 275 : 696-8 ; Virtamo et	29 133 hommes fumeurs, âgés de 50 à 69 ans.	Suivi de 6,1 ans, supplémentation par 50 mg/j de vitamine E de synthèse, 20 mg/j de β -carotène, par les 2 antioxydants ou par aucun. La supplémentation par la vitamine E est associée à une faible diminution de

al. J Am Med Assoc 2003 ; 290 : 476-85)		l'incidence de l'angor (RR = 0,91). Le β -carotène n'a pas d'effet préventif et est associé à une légère augmentation du risque d'angor (RR = 1,13).
Primary prevention project (PPP) (De Gaetano. Lancet 2001 ; 357 : 89-95)	4 495 hommes et femmes avec au moins un facteur de risque de MCV, d'âge moyen 64,4 ans.	Après 3,6 ans, pas d'effet de la vitamine E de synthèse (300 UI/j) et/ou de 100 mg/j d'aspirine sur la réduction de l'incidence d'événements CV.
Women's health study (WHS) (Lee et al. J Am Med Assoc 2005 ; 295 : 56-65).	39 876 femmes en bonne santé, \geq 45 ans.	Effet d'un essai randomisé en cours sur 12 ans avec 600 UI de vitamine E ou 100 mg d'aspirine en alternance. Effet sur l'IM, les accidents vasculaires cérébraux et la mortalité par MCV.
Physicians' health study II (PHS II) (Christen et al. Ann Epidemiol 2000 ; 10 : 125-34)	15 000 médecins recrutés jusqu'à présent, \geq 55 ans.	Évaluation de plusieurs antioxydants incluant 400 UI de vitamine E et 50 mg de β -carotène en alternance, et 500 mg/j de vitamine C pendant 8 ans.
<u>Prévention secondaire</u>		
Cambridge heart antioxidant study (CHAOS) (Stephens et al. Lancet 1996 ; 347 : 781-6)	2 002 patients avec maladie coronarienne.	Période moyenne de 510 jours, les patients randomisés pour recevoir la vitamine E (400 ou 800 IU/j) présentent un risque abaissé d'IM non fatal (RR = 0,23) mais augmentation non significative de la mortalité CV (RR = 1,18). La vitamine E réduit le risque d'IM non mortel et de morts par MCV (RR = 0,53)
Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardio (GISSI) Prevention Trial (The GISSI-Prevention investigators, Lancet 1999 ; 354 : 447-55)	11 324 patients avec antécédent d'IM aigu au cours des 3 derniers mois. Pas de limite d'âge.	Après 3,5 ans de randomisation à 300 mg/j de vitamine E, à 1 g/j d'AGPI n-3, aux 2, ou à aucun des 2, la vitamine E n'a pas d'effet sur un critère combiné comportant les morts CV, les IM et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) non mortels (RR = 0,98), mais a un effet sur le critère de jugement secondaire pour les événements CV (RR = 0,80).
Heart Outcome Prevention Evaluation (HOPE) Study (Yusuf	9 541 patients (2 545 femmes et 6 996	Après une moyenne de 4,5 ans de randomisation à la vitamine E (400 UI/j), au ramipril (inhibiteur de

et al. N Engl J Med 2000 ; 342 : 154-60)	hommes) ≥ 55 ans, MCV, diabète et au moins un facteur de risque CV.	l'enzyme de conversion de l'angiotensine), aux 2 médicaments ou à aucun, la vitamine E n'a pas eu d'effet sur le critère de jugement primaire combiné comportant les IM, les AVC, ou les morts CV (RR = 1,05).
Secondary prevention with antioxydants of CVD in endstage renal disease (SPACE) (Boaz et al. Lancet 2000 ; 356 : 1213-8)	196 patients hémodialysés avec MCV préexistante, 40 à 75 ans.	Après une période médiane de suivi de 519 jours, le traitement par 800 IU/j de vitamine E (randomisation vitamine E versus placebo) diminue l'IM aigu.
MRC/BHF Heart protection study (HPS) (Heart Protection Study Collaborative Group, Lancet 2002 ; 360 : 23-33)	20 536 adultes âgés de 40 à 80 ans avec maladie coronarienne, autres maladies artérielles occlusives, ou diabète.	Après 5 ans de supplémentation vitaminique randomisée (600 mg/j de vitamine E synthétique, 250 mg/j de vitamine C, et 20 mg/j de β-carotène) ou placebo, aucune réduction significative de la mortalité ou de l'incidence de maladies vasculaires, cancer, ou autre.

Figure 1-13 : Tableau récapitulatif des études de supplémentation en antioxydants sur les pathologies cardiovasculaires (102)

Prenons l'exemple de l'étude épidémiologique longitudinale française SUVIMAX avec essai contrôlé randomisé en double insu qui a testé, sur plus de 12 000 sujets présumés sains âgés entre 45 et 60 ans, l'impact pendant 8 ans d'un apport quotidien d'antioxydants (β-carotène : 6mg ; vitamine C : 120 mg ; vitamine E : 30 mg ; sélénium : 100 µg ; zinc : 20 mg) sur l'incidence des cardiopathies ischémiques et des cancers, et sur la mortalité en général. Les principaux résultats montrent qu'aucun effet de la supplémentation en antioxydant, à dose nutritionnelle, n'a été observé sur l'incidence des cardiopathies ischémiques. Une diminution de 31% de la mortalité par cancer chez les hommes a été observée mais aucun effet bénéfique n'a été montré chez les femmes. Sur la mortalité globale, une diminution de 37% du risque de décès chez les hommes du groupe antioxydant est observée, mais toujours aucun effet chez les femmes. Cette différence entre les sexes s'explique selon les auteurs en partie par le fait que les femmes présentaient un taux plus élevé en antioxydant, surtout en β-carotène et vitamine C, au début de l'étude car il y a généralement une habitude de consommation en fruits et légumes plus élevée chez les femmes que les hommes. Ainsi, pour les hommes, on a pu voir une différence entre l'entrée dans l'étude et la supplémentation. Après sept ans de prises d'une dose d'antioxydants et minéraux, les hommes avaient des concentrations sanguines proches des femmes à l'inclusion, avant le début de la supplémentation. Ainsi, l'étude conclut qu'il n'y a pas nécessairement besoin de supplémentation de synthèse en antioxydant mais seulement d'une alimentation de bonne qualité, riche en fruits et en légumes. (103)

Le débat sur la supplémentation en antioxydants est toujours ouvert car il existe des études contradictoires, pouvant être expliquées par le choix des populations, les différentes doses

utilisées, le nombre de nutriment testé et surtout le type d'administration, à savoir antioxydant seul ou dans le cadre d'une association équilibrée. Dans tous les cas, une condition ressort pour assurer l'efficacité de telles suppléments nutritionnelles : les sujets doivent présenter une carence ou une faiblesse du système antioxydant, et des dommages oxydatifs liés à un stress oxydatif majeur.

En conclusion, la meilleure supplémentation en antioxydant reste celle par une alimentation variée, équilibrée et riche en végétaux et donc celle par des antioxydants naturels. C'est en cela que l'on s'intéresse de plus en plus aux antioxydants présents dans les plantes.

2 Antioxydants et plantes médicinales

2.1 Méthodes d'évaluation de la présence d'antioxydants dans les plantes

Les antioxydants présentent une grande diversité moléculaire agissant contre les processus d'oxydation de différentes manières. Ainsi, afin de mesurer l'activité antioxydante d'une molécule, on peut coupler plusieurs tests. Par exemple, on retrouve le test au radical libre DPPH• (2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyle) ainsi que le test au radical libre ABTS• qui est obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylBenzoThiazoline-6-Sulfonique)). Ces deux tests sont les plus utilisés mais on peut également retrouver d'autres méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) et FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter).

Dans cette thèse, pour étudier la capacité d'antioxydant des extraits des plantes, le test au DPPH a été utilisé.

2.1.1 Présentation du test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable qui agit en se combinant avec d'autres radicaux libres. Ce composé a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité des composés phénoliques. Il s'agit d'un test largement utilisé car il est simple et relativement reproductible. **(104)**

Le radical possède un électron libre sur un atome du pont d'azote. La délocalisation de cet électron se traduit par la coloration bleu-violette caractéristique du réactif ($\lambda_{\text{max MeOH}} = 515 \text{ nm}$, $\epsilon = 10870 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Cette délocalisation permet également au DPPH• de rester sous forme de monomères et d'être stable à température ambiante. **(105)**

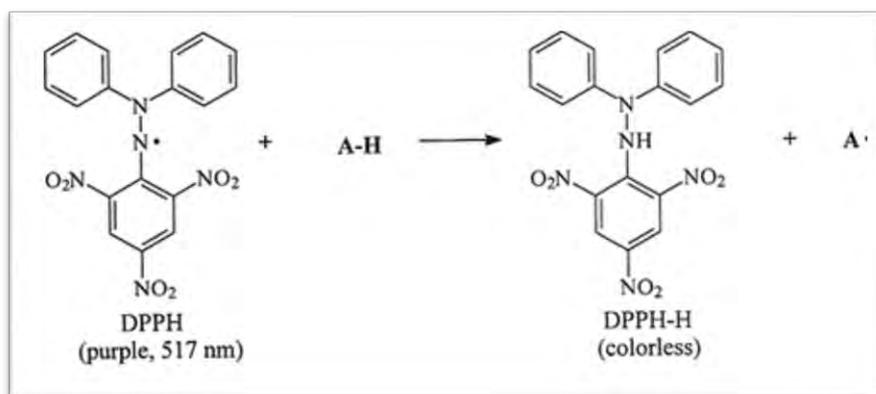


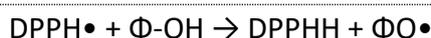
Figure 2-1: Structure du DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant **(106)**

Le test au radical DPPH est généralement utilisé pour les composés, qui contiennent les groupements donneurs d'hydrogène, comme R₂-NH, R-OH et R-SH. Lorsque le DPPH• réagit avec un antioxydant, un atome d'hydrogène vient se fixer sur le radical, ce qui entraîne une perte de couleur (Figure IV-1). C'est ce qui permet le suivi de l'efficacité d'un antioxydant par spectrophotométrie. **(107)**

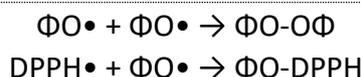
Plusieurs facteurs peuvent entrer en jeu lors de la réaction, en particulier les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/DPPH•, type de solvant, pH). Le test s'effectue à température ambiante afin d'éviter tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. **(108)**

Il existe deux mécanismes de piégeage des radicaux libres : la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certains acides et dérivés phénoliques) et la libération d'un électron (cinétique lente des dérivés glycosylés et des anthocyanes). **(105, 109)**

La première réaction :



DPPHH est la forme réduite et $\Phi\text{O}\bullet$ est un radical libre. Il va dans un second temps réagir à nouveau selon l'équilibre stœchiométrique entre le nombre de molécules DPPH réduites (décolorées) et le nombre de réducteur. Il peut alors se produire plusieurs réactions :



La capacité anti-radicalaire est la capacité à fixer des radicaux libres et donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne.

L'évaluation de l'activité antioxydante peut être exprimée ensuite soit par la détermination de la réduction relative du radical DPPH• à un temps donné (pourcentage de DPPH consommé) en mesurant l'absorbance du mélange réactionnel par rapport à un témoin, soit par la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de DPPH (CE_{50}). Egalement, les mesures de la cinétique de la réduction du radical DPPH• (diminution de l'absorbance DPPH) permettent d'évaluer la vitesse de transfert de l'hydrogène de l'antioxydant vers le radical DPPH et de le neutraliser. Ainsi, les études de la cinétique nous permettent de calculer le temps nécessaire pour diminuer la concentration initiale de DPPH de 50% (T CE_{50})

La capacité antioxydante est rapportée par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique, le BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique), correspond à l'analogue de la vitamine E soluble en milieu aqueux. Dans cette thèse, la comparaison se fait par rapport au Trolox.

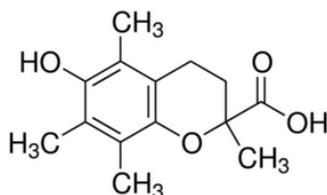


Figure 2-2: Structure du Trolox

2.1.2 Protocole du test au DPPH (110, 111)

Matériel utilisé : DPPH (Sigma), Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthyl-chroman-2-carboxylique) (Acros), méthanol HPLC grade (Acros). Cuves 1 cm (Plastibrand), Spectromètre Helios Beta, Thermospectronic.

Préparation de la solution de DPPH : La solution mère de DPPH à 375 mM est fraîchement préparée dans le méthanol. Le Trolox est solubilisé dans du méthanol à une concentration de $0,0376 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($150 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). La solution est conservée au réfrigérateur.

Préparation de l'extrait : Les différentes plantes étudiées sont issues de la serre tropicale du jardin botanique Henri Gaussen de Toulouse (*Passiflora quadrangularis* L., *Annona reticulata* L., *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine, *Coccoloba uvifera* L., *Psidium guajava* L., *Cocos nucifera* L., *Hydnophytum formicarum* Jack, *Piper crocatum* Ruiz & Pav et *Curcuma longa* L.). Pour chacune de ces plantes, les feuilles ont été ramassées puis mises à sécher à 25°C pendant au moins une semaine. Elles ont ensuite été réduites à l'état de poudre à l'aide d'un mortier et d'un moulin à café. 50 mg de poudre pesés précisément sont extraits dans 100 mL d'éthanol à 50°C pendant 30 minutes. Ensuite, la solution est filtrée et le solvant est évaporé au rotavapor. L'extrait sec obtenu est ensuite dissous dans 25 mL de méthanol et on obtient ainsi la solution mère S1 correspondant à 2 mg de poudre séchée par mL de solution. Pour les certains extraits la solution mère S1 a été encore diluée dix fois pour obtenir une solution S2 ($0,2 \text{ mg de plante séchée}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Mesures spectrométriques : Toutes les mesures spectrométriques sont effectuées en triplicata à 25°C à 515 nm (λ_{max} de DPPH dans le méthanol). Pour chaque expérience, une solution de DPPH est testée comme témoin (blanc), afin d'en estimer sa décomposition en absence d'extrait étudié (A sans extrait).

D'abord, pour chaque extrait à analyser, des essais de la capacité de diminution de la concentration de DPPH avec différentes dilutions de la solution mère S1 ont été réalisés. Grâce à ces résultats, les concentrations ont été ajustées pour obtenir une gamme des concentrations d'extraits pour lesquelles la courbe du pourcentage de DPPH consommé par rapport à la concentration d'extrait soit dans le domaine de linéarité. Les solutions mère de DPPH (1 mL) et d'extrait à doser sont ajoutés dans une cuve spectrophotométrique afin d'obtenir la solution (3 mL) de concentration finale de DPPH à $125 \text{ }\mu\text{M}$ et d'antioxydant entre $1,4 - 0,02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Les cuves sont placées à l'obscurité à 25°C pendant 40 minutes où l'on considère que la réaction est complète. La valeur d'absorbance en présence d'antioxydant est ensuite relevée (Absorbance avec antioxydant).

Afin d'estimer le temps nécessaire pour que la réaction de la solution à analyser avec le DPPH (épuisement total d'antioxydant) soit complète, nous avons réalisé une mesure de cinétique. La diminution de l'absorbance de la solution de DPPH en présence d'extrait est mesurée chaque 5 minutes jusqu'à la stabilisation de la valeur (Exemple figure 3-3).

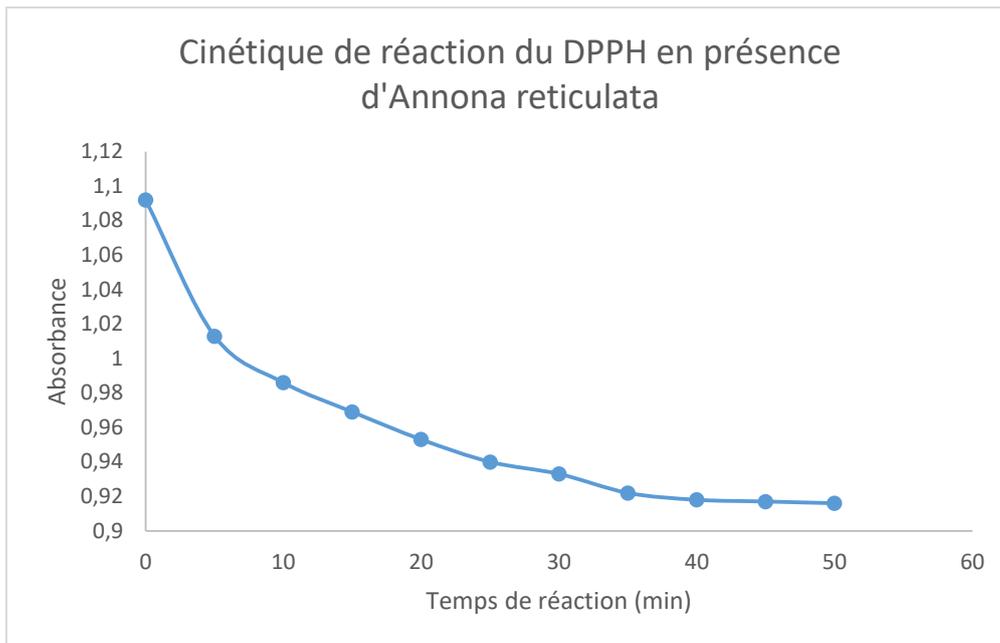


Figure 2-3 : Exemple d'une courbe de cinétique de consommation du DPPH

La spectrophotométrie permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée. L'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des substances en solution. En effet, lorsqu'un rayonnement monochromatique traverse une solution, une partie de son énergie est absorbée, à condition de se placer à la longueur d'onde à laquelle la substance absorbe les rayons lumineux.

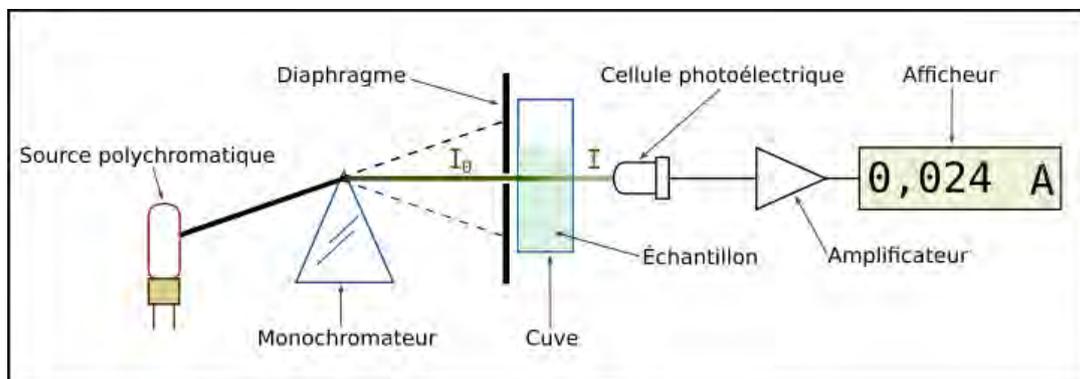


Figure 2-4 : Schéma de fonctionnement d'un spectromètre d'absorption

L'absorption d'une longueur d'onde λ par un produit en solution est décrite par la loi de Beer-Lambert :

$$A = l \cdot c \cdot \epsilon$$

- Avec
- A = absorption
 - l = longueur de la cuve (cm)
 - c = concentration (mol.L⁻¹)
 - ϵ = coefficient d'extinction molaire (cm⁻¹.mol⁻¹.L)

2.2 Monographies des plantes tropicales étudiées au jardin botanique Henri Gaussen

2.2.1 Passiflora quadrangularis L.

2.2.1.1 Éléments de botanique

2.2.1.1.1 Nom scientifique

La Passiflore quadrangulaire (*Passiflora quadrangularis* L.) est aussi appelée Barbadine ou Grenadille géante. Elle fait partie de la famille des Passifloraceae et est originaire d'Amérique du Sud et d'Amérique centrale. **(112)** C'est un arbuste lianescent, à tige quadrangulaire, à feuillage semi-persistant dont les feuilles sont lobées et les fruits oblongs vert jaune (voir brun) à maturité.



Figure 2-5 : Photographie de feuilles de Passiflora quadrangularis L.

2.2.1.1.2 Partie utilisée

Les feuilles sont retrouvées en infusion. Les fruits comestibles peuvent être utilisés pour la confection de boissons, sorbets et confitures.

2.2.1.1.3 Monographies disponibles

Il n'y a pas de données disponibles dans la pharmacopée européenne. En revanche, dans la pharmacopée française, il est signifié qu'il peut y avoir une confusion avec *P. incarnata* qui est utilisée en homéopathie. La différence est faite par la présence de feuilles lobées qui sont caractéristiques de *P. quadrangularis* L.

Dans les pharmacopées de l'OMS, thaïlandaise, polynésienne, japonaise, indienne, argentine et ayurvédique on ne retrouve pas de données.

2.2.1.1.4 Importance économique

Les fruits des passiflores sont les fruits de la passion. Ils sont également cultivés pour leurs jolies fleurs, ainsi que pour la production du jus, notamment *Passiflora edulis* Sims, *Passiflora quadrangularis* L. et *Passiflora ligularis* Juss. **(113)**

2.2.1.2 Constituants chimiques

Différentes familles chimiques sont retrouvées dans cette plante comme des **flavonoïdes**, **alcaloïdes**, **tannins** et **saponines** dans les extraits aqueux et hydroalcoolique. Des **triterpènes** et des **stéroïdes** sont seulement retrouvés dans l'extrait hydroalcoolique. (114)

Dans les feuilles, des études ont révélé la présence de quadranguloside qui est un **glycoside triterpénique**. (115, 116) Y sont retrouvées également d'autres molécules comme la passiflorine et oleanolic acid-3-sophoroside, ainsi que des **monoterpénoïdes** : acide (2E)-2,6-dimethyl-2,5 heptadienoïque, (2E)-2,6 ester d'acide-beta-d-glucopyranosyl dimethyl-2,5 hepta dienoïque, (5E)-2,6-dimethyl-5,7-octadiene-2,3-diol et (3E)-3,7 dimethyl-3-octene-1,2,6,7-tetrol. (117)

Les feuilles de *P. quadrangularis* L. ont une concentration importante en flavones, notamment l'isoorientine ainsi que l'isovitexine. (118)

2.2.1.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Les différentes espèces du genre Passiflora contiennent dans toutes les parties de la plante des alcaloïdes ayant un effet hypotenseur, antispasmodique et sédatif. Les feuilles bouillies sont utilisées pour leurs propriétés sédatives et anxiolytiques, (114) et soignent donc l'insomnie et le surmenage. Dans les caraïbes, *P. quadrangularis* L. est utilisé comme sédatif et contre les maux de tête. Aussi, les infusions de feuilles sont utilisées dans l'hypertension ainsi que dans le diabète. (117)

La grenadille géante est aussi utilisée pour son action antihelminthique ainsi que pour traiter la bronchite, l'asthme et la coqueluche car elle possède une activité antimicrobienne. (113)

2.2.1.4 Effets indésirables

Il apparait que les feuilles de *P. quadrangularis* L. possèdent une activité hémolytique. Ce sont des molécules thermostables, résistantes à la trypsine, avec une activité dose-dépendante. Il s'agit de saponines. (119, 120)

2.2.1.5 Pharmacologie

Les feuilles sont séchées à l'étuve à 55°C pendant 24h puis moulues. 10g de poudre sont introduits dans 400ml d'eau distillée puis filtrés. Le liquide obtenu est mis à sécher à l'étuve 72h à 55°C et on obtient ainsi l'extrait aqueux. Pour l'extrait hydroalcoolique, la procédure est identique, hormis que la poudre est extraite dans l'éthanol à 45°C pendant 24h. (114, 121)

Les deux extraits (hydroalcoolique HA et aqueux EA) ont eu des effets au niveau comportemental chez les souris. En comparaison au diazépam qui est une molécule anxiolytique, les souris traitées avec *P. quadrangularis* L. présentent une tranquillité et une activité locomotrice minimale. (114) Cela traduit donc une **activité anxiolytique** de *P. quadrangularis* L.

Des études ont révélé la présence d'inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ainsi que d'inhibiteur de l'enzyme d'aldose réductase. (122, 123) Cette plante pourrait donc

faire l'objet de recherche quant à un éventuel **effet hypotenseur**, qui serait en accord avec les propriétés calmantes qui lui sont déjà reconnues.

2.2.1.6 Toxicologie

La Food Drug Administration (FDA), basée aux Etats-Unis a rapporté quinze cas de toxicité due à la consommation d'un mélange de plantes contenant des espèces de passiflores. Les symptômes retrouvés sont : tachycardie, maux de tête sévères, embolie pulmonaire, hépatite, diarrhée, pneumonie, hémorragie cérébrale. Cependant, étant donné qu'il s'agissait d'un mélange de plantes, on ne peut associer avec certitudes ces effets et la passiflore. **(117)**

2.2.2 *Annona reticulata* L.

2.2.2.1 Eléments de botanique

2.2.2.1.1 Nom scientifique

Annone réticulée (*Annona reticulata* L.) est également appelée Anone cœur-de-bœuf ou cachiman et fait partie de la famille des Annonaceae.

Il s'agit d'un arbre pouvant atteindre 6 à 7,5 mètres de hauteur. Les feuilles sont oblongues, lancéolées, et la face supérieure est glabre. Deux à quatre fleurs peuvent être présentes sur la tige. **(112)**

Cette plante tropicale est originaire de l'ouest de l'Inde et d'Amérique du Sud, ainsi que des régions tropicales et subtropicales. **(112)**



Figure 2-6 : Photographie de feuilles d'Annona reticulata L.

2.2.2.1.2 Partie utilisée

Les feuilles sont réputées antipyrétiques, antihelminthiques, analgésiques et hyperglycémiantes. Les écorces sont utilisées comme analgésique, dépresseur du système nerveux central et anti-inflammatoire. Les activités antiproliférative, anticancéreuse, antioxydante et antimicrobienne sont retrouvées principalement dans les racines. Enfin, les graines sont utilisées dans la cicatrisation. **(124)**

2.2.2.1.3 Monographies disponibles

Annona reticulata L. est disponible dans la pharmacopée ayurvédique.

2.2.2.2 Constituants chimiques

Les feuilles contiennent différentes molécules et notamment des **sesquiterpènes** (spathénelol, muurolène, copaène, eudesmol, acétogénine squamone, solamine, annomonicine, rolliniastatin 2, annoréticuïn-9-one) ainsi qu'un **triterpénoïde** (annonarétine A). On note également la présence de dopamine, salsolinol, coclaurine.

Dans l'écorce on trouve des **diterpènes** (acide (e)-kau-M-en-19-oïque et methyl 1b, 17-dihydro-(e)-kauran-19-oate), des **alcaloïdes** (liriodénine, copaène, patchoulane et 1H-cycloprop (e) azulène, acide (-)kau-16-en-19-oïque, bistétrahydrofurone acétogénine, bullatacine), une acétogénine et la réticulatacine.

L'écorce de tige contient aussi des **diterpènes** (acide (e)-kaur-16-en-19-oïque, 16-a-hydroxy-acide (e)-kauran-19-oïque, méthyl-17-hydroxy-16-b-(e)-kauran-19-oate, réticullacinone, rolliniastatin-2 (¼bulatacin ¼annonine-VI), molvizarine) et comme les feuilles, on retrouve la présence de dopamine, salsolinol, coclaurine.

La racine renferme un **alcaloïde aporphine** (liriodénine), des **sesquiterpènes** (spathénelol, muurolène, copaène, eudesmol) ainsi que d'autres molécules (norushinsunine, réticuline, acétogénine neoannonine).

Les graines comprennent des **huiles volatiles** (α -pinène, b-pinène, myrcène, limonène, terpinen-4-ol, et germacrène D), des **acétogénines** (cis and transisomurisolenin, annoreticuïn, bullatacin, squamosine et rolliniastatin), des **acétogénines d'Annonaceae** (annonaréticine, 2, 4-cis-isoannonaréticine, 2, 4-trans-isoannonaréticine, solamine, murisoline, réticulacinone, annoréticuline, annomonicine, sitostérol, daucostérol, sucrose, acide palmitique, acide stéarique et 2, 4-cis-isoan-nonaréticine).

Dans le fruit on retrouve les huiles volatiles qui étaient présentes dans la graine (pinène, myrcène, limonène, terpinen-4-ol, germacrène D).

Toute la plante est riche en différents minéraux notamment en calcium, phosphore, potassium, magnésium, sodium, chlore, soufre, manganèse, zinc, fer, cuivre, sélénium, cobalt, nickel et chrome. **(124)**

2.2.2.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Annona reticulata L. est traditionnellement utilisé dans le traitement de l'épilepsie, des diarrhées, des problèmes cardiaques, des infestations par les parasites et vers, de la constipation, des hémorragies, des infections bactériennes, des dysuries, de la fièvre, des ulcères et comme insecticide.

L'écorce est un puissant astringent et tonique. La plante est utilisée comme antiinflammatoire (comparé à aspirine), contre l'anxiété et le stress. Elle a aussi une activité antimutagène et antispasmodique. Les extraits de tiges et de feuilles montrent une activité inotropique, chronotropique positive et spasmodique. Dans l'Inde de l'ouest, et Amérique du Sud et centrale, le fruit est utilisé comme antidiysentérique et antihelminthique. **(125)**

Dans le nord-est de l'Inde, la plante est utilisée dans le traitement des maladies inflammatoires et pour lutter contre le diabète. (126)

2.2.2.4 Travaux de recherche de pharmacologie

Les travaux réalisés sur *Annona reticulata* L. ont démontré de nombreuses propriétés. (124)

On note parmi elles une **activité antipyrétique** des extraits aqueux des feuilles d'annone réticulée qui a été évaluée chez le rat en comparaison avec le paracétamol. En effet, une dose de 200 à 400 mg/kg est favorable à une activité antipyrétique significative. (127)

Une **activité antisécrétoire** a été mise en évidence dans une étude étudiant le pH gastrique sur des rats ayant eu un ulcère de l'estomac puis ayant reçu comme traitement une solution d'extrait aqueux de feuilles d'*Annona reticulata* L. (128)

Il existe aussi une **activité antihelminthique** qui a été analysée sur des vers de terre indiens, *Pheretima posthuma*. En effet, l'utilisation de poudre de feuilles extraite à l'éthanol montre une paralysie du ver et cette activité est semblable à l'albendazole qui est un antihelminthique. (129)

Une autre étude réalisée sur des souris a montré une diminution significative du taux de glycémie de souris ayant reçu une solution méthanolique de de feuilles d'*A. reticulata* L. Dans cette étude, le groupe contrôle reçoit 1% de tween-80 à 10 ml/kg, un groupe reçoit le traitement standard, le glibenclamide à 10 mg/kg. Les autres groupes sont traités par des solutions d'extrait méthanolique de feuilles d'*A. reticulata* L. allant de 50 à 400 mg/kg. Une heure après l'injection, les souris reçoivent 2g/kg de glucose puis une prise de sang est réalisée pour observer l'effet des solutions sur la glycémie sanguine. Cela traduit une potentielle **activité hypoglycémiante** des feuilles d'*Annona reticulata* L. (130)

Aussi, une **activité cytotoxique et d'inhibition de l'activité de la caspase recombinante *in vitro*** a pu être observée à partir d'extrait de feuilles d'*A. reticulata* L. sur des lignées cellulaire cancéreuses : Caco-2 (adénocarcinome colorectal humain), Hep G2 (carcinome hépatocellulaire humain) et HEK (carcinome rénal humain). L'étude a effectivement conclut que l'extrait était actif et cytotoxique contre les cellules cancéreuses. (131) L'extrait de racines aussi a montré un potentiel antiprolifératif sur des lignées cellulaires (A-549 : adénocarcinome humain des cellules épithéliales bronchiques ; K-562 : leucémie chronique myéloïde humaine ; HeLa : cellules métastatiques d'un cancer du col de l'utérus humain ; MDA-MB : cellules épithéliales de tumeur mammaire humaine). (132) Enfin, les feuilles extraites dans du méthanol sont utilisées contre les cellules du cancer du sein. L'administration de ces extraits sur les cellules T-47D (lignée cellulaire de cancer du sein) entraîne leur entrée en apoptose. (133)

Une autre propriété mise en évidence est l'**activité anti-nociceptive** sur des souris, (134) ainsi qu'une **action analgésique, dépresseur du SNC et antiinflammatoire** des extraits d'écorce d'*Annona reticulata* L. qui entraîne une dépression du système nerveux central qui semble être due à une augmentation du GABA dans le cerveau. (135, 125, 136)

Une autre étude montre l'effet d'*Annona reticulata* L. sur la **cicatrisation et l'atténuation des plaies (137)** et enfin le **potentiel antimicrobien** d'extrait de racines a été analysé sur des bactéries à gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*) et à gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) en comparaison à l'utilisation de pénicilline. Les extraits étudiés ont montré leur capacité à inhiber les souches étudiées. L'activité antifongique est évaluée sur les champignons *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium moneliforme*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma viride*, et *Candida albicans*. Les extraits montrent une remarquable efficacité notamment sur *T. viride* et *C. albicans*. (138, 139)

2.2.2.5 Toxicologie

Aucune donnée de toxicologie n'a été retrouvée dans la bibliographie.

2.2.3 *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine

2.2.3.1 Éléments de botanique

2.2.3.1.1 Nom scientifique

Le Goyavier de Chine (*Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine) également appelé goyavier-fraise fait partie de la famille des Myrtaceae.

Il s'agit d'un arbre de 6 à 12m de haut à l'écorce brune et lisse. Les feuilles sont opposées et persistantes. Les fleurs sont blanches et les fruits sont des baies sphériques, ovoïdes ou oblongues qui pèsent une vingtaine de grammes. Le fruit peut être jaune ou rouge, ce qui distingue 2 espèces. (112)

Cette myrtaceae est originaire d'Amérique du Sud et du Mexique. (140) Cependant, *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine est une plante invasive qui pose aujourd'hui des problèmes de bioinvasion, notamment à Madagascar.



Figure 2-7 : Photographie des feuilles de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine

2.2.3.1.2 Partie utilisée

Les feuilles sont utilisées en tant qu'anti diarrhéique. (141)

2.2.3.1.3 Monographies disponibles

Aucune monographie de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine n'a été retrouvée dans la littérature.

2.2.3.1.4 Importance économique

Psidium cattleianum Afzel. ex Sabine est une plante à usage multiple. A Madagascar par exemple, on utilise son bois pour la fabrication de manches de couteau, de hache, de canne car il est très résistant et dur. De plus, ses fruits sont très appréciés pour leur goût et leur teneur élevée en vitamine C. Ainsi, pour certains villages, l'abondance de cette espèce est une vraie richesse. (142)

2.2.3.2 Constituants chimiques

Le fruit de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine est riche en vitamine C, il en contient quatre fois plus que l'orange. Il possède également un large panel de **composés phénoliques** comme l'épicatéchine et l'acide gallique. (143) Le fruit contient aussi des **esters aliphatiques** et d'autres molécules (α -pinène, (Z)-3-hexenol, (E)-betacaryophyllène et acide hexadécanoïque). On retrouve aussi des carotènes, l'acide ascorbique et des anthocyanines.

Dans l'extrait eau-éthanol des feuilles, on retrouve de nombreuses **isoflavones** (glycitine, glycitine, ononine, sissotrine).

L'huile essentielle de fruits contient des **sesquiterpènes hydrocarbonés** (α -copaène, β -caryophyllène, α -humulène, β -chamigrène, γ -himachalène, β -selinène, α -selinène, trans- β -guaïène, δ -cadinène), des **sesquiterpènes oxygénés** ((E)-nérolidol, caryophyllène oxide, humulène oxide I, 1-épi-cubénol, t-cadinol, cubénol, neo-intermédeol, α -eudesmol). (144)

2.2.3.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Au Brésil, le Goyavier de Chine est fortement utilisé, notamment dans la prise en charge des douleurs.

En Polynésie française et au Brésil, cette plante est utilisée pour ses propriétés astringentes, hépato-protectives, anti-diarrhéiques et analgésiques. (143)

Elle est utilisée dans de nombreux endroits dans le monde pour le traitement de nombreuses pathologies, notamment dans l'inflammation, le diabète, l'hypertension.

2.2.3.4 Travaux de recherche de pharmacologie

De nombreuses études ont démontré les différentes utilisations possibles de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine. Parmi elles, on retrouve l'**activité antiproliférative** sur différentes lignées cellulaires à partir d'extraits de feuilles, où l'induction de l'apoptose a été confirmée. Les feuilles sont actives sur le carcinome gastrique humain, alors que les extraits de fruits sont plus efficaces sur les cancers colorectaux. En conclusion, les feuilles et les fruits du goyavier-fraise ont des effets sur différentes formes de tumeurs malignes. (141)

L'**activité analgésique** a été retrouvée sur l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine. En effet, des souris ont reçu de l'acide acétique qui provoque des douleurs et donc des contractions abdominales. En administrant des extraits de plante, on voit que les contractions diminuent. L'extrait de plante montre un effet analgésique non dose-dépendant. L'étude conclut que ce n'est pas un analgésique central mais l'action se fait au niveau périphérique, et cela peut être lié à l'activité antioxydante qui inhibe les médiateurs

de l'inflammation et de la douleur. **(143)** L'activité antiinflammatoire a été mise en évidence par Patel *et al.* (2015) sur l'extrait de fruit par l'hexane, qui a montré une activité inhibitrice des cyclo-oxygénases à une concentration de 250 µg/ml.

Concernant l'**activité antioxydante**, elle est absente lors de l'analyse de l'huile essentielle mais les extraits alcooliques et aqueux montrent des effets antioxydants. **(145)** Etant donné sa composition riche en phénols, proanthocyanidines, flavonoïdes et vitamine C, l'activité antioxydante de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine semble établie. Les flavonoïdes, principaux acteurs de l'activité antioxydante de la plante, sont absents de l'huile essentielle ce qui explique sa faible activité antioxydante. Différentes études ont confirmé l'activité antioxydante des feuilles par les tests DPPH, TRAP, ABTS et ORAC. **(146)** Cette activité a même été comparée à une autre plante de la même espèce, *Psidium guajava* L. mais elle possède un meilleur pouvoir antioxydant que cette dernière. **(141)**

Enfin, l'**effet antimicrobien** de *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine a été évalué et concluant sur la bactérie *Streptococcus mutans*, sur laquelle l'extrait de feuilles est bactéricide dose-dépendante. **(147)**

2.2.3.5 Toxicologie

Aucune donnée toxicologique n'a été retrouvée dans la littérature.

2.2.4 *Psidium guajava* L.

2.2.4.1 Éléments de botanique

2.2.4.1.1 Nom scientifique

Le Goyavier (*Psidium guajava* L.) est dans la classification phylogénétique placé dans la famille des Myrtaceae.

C'est un petit arbre légèrement noueux, très robuste. Il peut atteindre 10m de hauteur mais généralement retrouvé sous forme d'arbuste en culture. Les jeunes branches sont quadrangulaires.

Les feuilles sont opposées, oblongues-elliptiques à ovales, la face dorsale est recouverte d'un duvet fin.



Figure 2-8 : Photographie des feuilles de Psidium guajava L.

Les fleurs blanches mesurent 2,5 cm de diamètre. Elles présentent de nombreuses étamines, et sont individuelles ou groupées à 2 ou 3 sur un pédoncule.

Les fruits sont sphériques, ovoïdes et peuvent atteindre 10 cm de longueur. L'épicarpe lisse est le plus souvent de couleur jaune. Le calice est persistant, on retrouve de nombreuses graines sous une enveloppe rugueuse. La chair est d'épaisseur variable, blanche, rose ou saumon, de consistance légèrement crémeuse, de saveur douce à acide et plus ou moins résineuse.

Psidium guajava L. est originaire du Mexique et sa présence s'est étendue jusqu'au Brésil et dans tous les pays tropicaux. **(112)**

2.2.4.1.2 Partie utilisée

Les fruits savoureux sont comestibles et très riches en vitamine C (100 mg pour 100g de fruit **(140)**). Ils ne se mangent que rarement crus, même dans les tropiques. Lorsqu'ils ne sont pas bien mûrs, les fruits sont indigestes et sont responsables de vomissements et de fièvre.

Les feuilles sont administrées lors de troubles intestinaux et principalement en tant qu'anti-diarrhéique du fait de leurs propriétés astringentes. On retrouve une autre utilisation pour lutter contre les troubles menstruels et dans les cas de stress chronique ou d'anxiété.

2.2.4.1.3 Monographies disponibles

P. guajava L. est retrouvé dans la monographie thaïlandaise en tant qu'antiseptique et astringent, emménagogue, laxatif et sédatif. Cette plante est également retrouvée dans les monographies caribéennes et africaines en tant qu'anti-diarrhéique.

2.2.4.1.4 Importance économique

Le goyavier est un arbre fruitier d'une grande importance économique. En effet, son fruit est consommé dans de nombreux pays pour sa richesse en vitamine C.

2.2.4.2 Constituants chimiques

En détection UV, des **anthocyanines** (delphinidin-3-O-glucoside et cyanidin-3-O-glucoside) ont été identifiés, ainsi qu'une dizaine de **flavonoïdes** (myricetine-3-O-arabinoside, myricetine-3-O-xyloside, isorhamnetine-3-O-galactopyranoside, quercétine et isorhamnetine). On retrouve des **proanthocyanidines** (gallocatéchine-(4a-8)-gallocatéchol et gallocatéchine-(4a-8)-catéchine), des **sesquiterpénoïdes** (acide abscisique et turpinionosides A), des **triterpènes** (pinfaensine, pedunculoside, acide guavenoïque, acide madécassique et acide asiatique). **(148)**

Le fruit qui n'est pas mûr est riche en tannins et astringent. Il a tendance à constiper. **(149)** La peau du fruit contient principalement de la vitamine C.

L'huile essentielle de feuilles contient de nombreuses molécules (α -pinène, β -pinène, limonène, menthol, terpenyl acétate, alcool isopropyl, longicyclène, caryophyllène, β -bisabolène, cinéol, caryophyllène oxyde, β -copanène, farnesène, humulène, selinène, cardinène et curcumène). Des **saponines** ont été isolés des feuilles, ainsi que des **acides triterpéniques** (acide 20 β -acetoxy-2 α ,3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oïque ou acide guavanoïque et acide 2 α ,3 β -dihydroxy-24-p-z-coumaroyloxyurs-12-en-28-oïque ou acide

guavacoumarique) et des **flavonoïdes** (myricétine, quercétine, luteoline et kaempférol). La plus forte concentration de ces flavonoïdes a été retrouvée dans les feuilles matures au mois de juin.

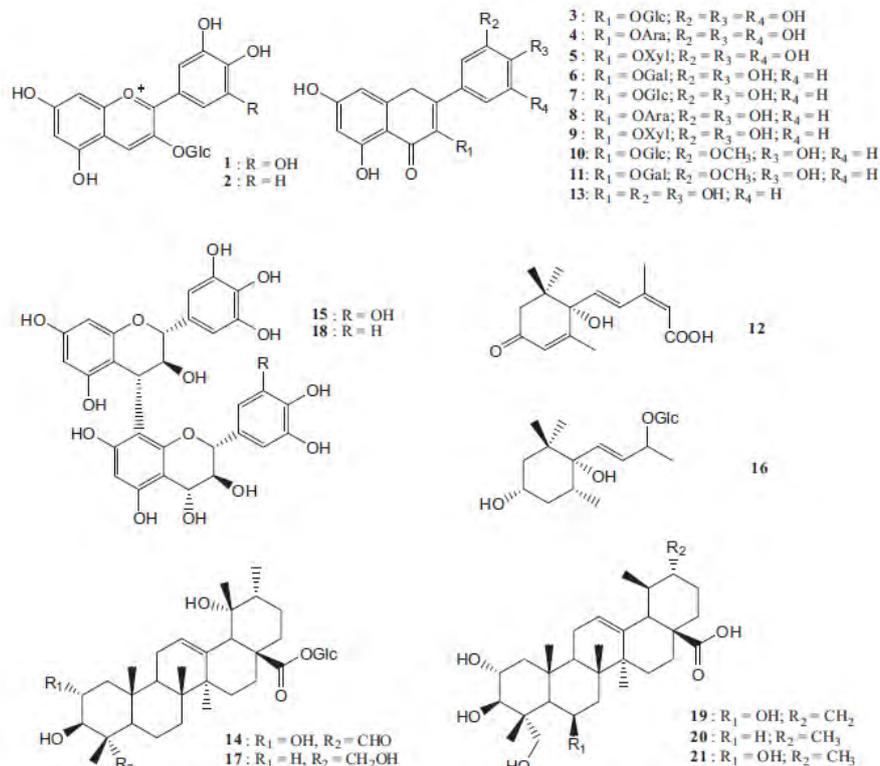


Fig. 1. Chemical structures of compounds identified in the seven *P. guajava* cultivars. Delphinidin 3-O-glucoside (1), cyanidin 3-O-glucoside (2), myricetin-3-O-β-D-glucoside (3), myricetin-3-O-arabinoside (4), myricetin-3-O-xyloside (5), quercetin-3-O-galactoside (6), quercetin-3-O-glucoside (7) quercetin-3-O-α-L-arabinopyranoside (guajaverin) (8), quercetin-3-O-arabinoside (avicularin) (9), isorhamnetin-3-O-glucoside (10), isorhamnetin-3-O-galactoside (11), abscisic acid (12), quercetin (13), pinfaensin (14), galocatechin-(4α-8)-galocatechol (15), turpinionosides A (16), pedunculoside (17), galocatechin-(4α-8)-catechin (18), guavenoic acid (19), madecassic acid (20), and asiatic acid (21).

Figure 2-9 : Structures chimiques des différents composés retrouvés dans *Psidium guajava* L. (148)

2.2.4.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Dans la monographie thaïlandaise, les feuilles sont chauffées puis on réalise une décoction durant 3 heures. La poudre peut aussi être faite à partir de fruits immatures séchés, et broyés. Pour un effet plus doux, le fruit immature peut être mangé frais, trempé dans un mélange de sucre, sel et poudre de chili. Enfin, le fruit immature peut être pressé puis bu avec une pincée de sel.

Psidium guajava L. est utilisé dans le monde entier. Les populations indigènes aux alentours du Mexique leur ont reconnu des vertus dans le traitement des perturbations gastro-intestinales et respiratoires. Ainsi, la plante est utilisée dans le traitement des diarrhées et gastroentérites. Les feuilles sont appliquées sur les plaies, les ulcères ou les rhumatismes. On retrouve aussi une utilisation d'extrait aqueux de feuilles contre le diabète.

En Afrique du Sud, les feuilles sont utilisées dans le traitement du diabète et de l'hypertension.

En Amérique Latine et dans les Caraïbes, *P. guajava* L. est utilisé contre les diarrhées et les douleurs stomacales par l'utilisation d'une décoction de feuilles, écorces et racines. Cet usage est retrouvé au Panama et au Venezuela.

En Uruguay, les décoctions de feuilles servent à nettoyer le vagin et l'utérus lors d'apparition de leucorrhées, et au Costa Rica, celles-ci servent comme remède anti-inflammatoire.

La médecine chinoise utilise les feuilles de *P. guajava* L. pour traiter les diarrhées et en tant qu'antiseptique. (140)

2.2.4.4 Indications thérapeutiques et allégations revendiquées dans les compléments alimentaires

Au journal officiel, l'arrêté du 24 juin 2014 établissant la liste des plantes, autres que les champignons, autorisées dans les compléments alimentaires et les conditions de leur emploi stipule en ce qui concerne *Psidium guajava* L. que seule l'utilisation des extraits aqueux et alcooliques de titre faible (25% v/v) est autorisée.

Forté Pharma commercialise un complément alimentaire dont la composition est : eau purifiée, purée de goyave rose bio équivalent à 567 mg de plante (*Psidium guajava* L.), extrait de pépins de pamplemousse bio équivalent à 1500 mg de plante (*Citrus paradisi*), extrait d'acérola bio équivalent à 1162 mg de plante (*Malpighia puniceifolia*). La goyave est considérée comme un « superfruit gorgé en vitamine C qui contribue à soutenir votre système de défenses et à maintenir votre organisme en forme ».

Les laboratoires Arkopharma ont développé un complément alimentaire contenant : sorbitol (issu de céréales), poudre de jus de baie d'acérola (*Malpighia puniceifolia* L. ou *Malpighia glabra* L.), concentré d'extraits végétaux titré en vitamines et minéraux [fruit d'amlâ (*Phyllanthus emblica* L.), goyave (*Psidium guajava* L.), feuille de basilic sacré (*Ocimum tenuiflorum* L.), feuille d'arbre à curry (*Murraya koenigii* (L.) Spreng.), citron (*Citrus limon* (L.) Burm. f.)] et stéarate de magnésium (issu d'huiles végétales). « Arkovital® Pur'Énergie est un complément alimentaire qui aide à garder forme et vitalité. Il est recommandé en cas de surmenage ou de fatigue passagère, pour la reprise du sport ou lors des changements de saison. »

2.2.4.5 Pharmacologie

2.2.4.5.1 Travaux de recherche

De nombreux travaux de recherche ont été réalisés à propos de *Psidium guajava* L. (140) Les principaux effets retrouvés sont l'effet **anti-diarrhéique** des extraits aqueux et éthanoliques de feuilles. Une dose de 0,2 ml/kg de feuilles fraîches montre une diminution de 65% des mouvements intestinaux en comparaison à la morphine qui est connue pour ses propriétés anti-sécrétoires au niveau intestinal. Cette activité anti-diarrhéique semble due à la diminution des sécrétions aqueuses retrouvées au cours des diarrhées. Les extraits méthanoliques ont un effet préventif sur les diarrhées causées par *Escherichia coli* ou par le Rotavirus, qui font partie des principales causes des diarrhées, car ils empêchent l'adhésion de ces microorganismes à la paroi intestinale. L'utilisation des feuilles dans le traitement des diarrhées induites par des microorganismes est aussi justifiée par l'effet antibactérien de *P. guajava* L. qui a été démontré sur différentes bactéries et notamment *Streptococcus mutans* et *Escherichia coli*.

Une étude testant un extrait méthanolique des feuilles de *P. guajava* L. rapporte la diminution de la fréquence des quintes de toux, causées par des aérosols de capsaïcine par rapport à un groupe témoin. Sur des trachées isolées de rat, cette même étude rapporte une diminution de la contraction des muscles ce qui traduit une **action antitussive** des feuilles.

Ensuite au niveau cardiovasculaire, une étude réalisée sur des cœurs isolés de rats a montré qu'un extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* L. apportait un **effet cardioprotecteur** sur les dommages causés par l'ischémie et la reperfusion myocardique. Aussi, l'effet de l'écorce, des feuilles et des fruits de *P. guajava* L. en tant qu'agent antidiabétique a été étudiée à plusieurs reprises. Par exemple, l'effet de l'extrait éthanolique de l'écorce de tige a été évalué sur des rats ayant une glycémie normale et d'autres ayant une hyperglycémie induite. Il apparaît que cet extrait provoque une **hypoglycémie** significative dans le groupe ayant une hyperglycémie induite. Enfin, l'effet **hépatoprotecteur** d'extrait aqueux de feuilles a été étudié sur des foies de rats ayant subi des altérations par l'administration de cholestérol, de lipides, de transaminases. Des extraits de feuilles à 500 mg/kg ont montré une significative hépatoprotection.

Une étude a montré que l'extrait aqueux de la plante entière apporte une protection contre la mitomycine C, l'acide nalidixique et le peroxyde d'hydrogène, qui sont connus pour être génotoxiques (150) ce qui montre un **effet antigénotoxique et antimutagénique**. Un extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* L. a montré une diminution dose-dépendante de la viabilité de la lignée tumorale prostatique DU-145. En effet, à 1,0 mg/ml, l'extrait a permis de réduire la viabilité à 36,1% après 48h et à 3,6% après 72h d'incubation. (151)

Enfin, l'extrait aqueux de poudre de feuille présente un remarquable taux de phénols totaux (acide protocatéchique, acide ferulique, quercétine, guanine B, quercétine, acide ascorbique, acide gallique et acide caféique) mis en évidence par le réactif de Folin. Des tests au DPPH d'extrait de feuilles par un mélange hydroalcoolique montrent que l'acide ascorbique présente un **pouvoir antioxydant** légèrement supérieur à *Psidium guajava* L. Ces propriétés antioxydantes sont cohérentes avec les nombreux phénols retrouvés.

2.2.4.5.2 Etudes cliniques

Des études cliniques ont aussi été effectuées afin de confirmer les effets pharmacologiques présentés plus haut et les utilisations traditionnelles.

- **Gastroentérites infantiles dues à rotavirus**

Une étude a été menée dans un hôpital chinois, où une décoction de feuilles de goyavier a été donnée à 62 enfants atteints de diarrhée due à rotavirus. La durée des symptômes, le taux sanguin de sodium et le taux de conversion négative de l'antigène anti-rotavirus humain (HRV) ont été comparés avec un traitement classique. Au bout de trois jours, le taux de récupération des individus traités était de 87,1% alors qu'il était de 58,1% pour le groupe témoin. La durée de symptômes était significativement écourtée avec le traitement par *P. guajava* L. Enfin, le taux de conversion négative de l'antigène était également plus élevé dans le groupe traité par l'extrait étudié. Le traitement par le goyavier est donc une bonne alternative pour le traitement des diarrhées infantiles du au rotavirus.

- **Effets cardiovasculaires**

Deux groupes de patients ont été suivis pendant 12 semaines. Chaque groupe a reçu un extrait de fruit de goyave avant chaque repas. A la fin de l'expérience, près de la moitié des patients présentent une diminution du cholestérol total sérique, des triglycérides et de la pression sanguine. Une autre étude en simple aveugle, randomisée a examiné 145 patients hypertendus. Après 4 semaines, la pression artérielle ainsi que les taux de cholestérol et de triglycérides ont diminué dans le groupe traité par *P. guajava* L. par rapport au groupe ayant gardé son alimentation classique.

- **Effet hypoglycémiant**

En Chine, une étude multicentrique randomisée a mis en évidence l'effet sur la glycémie de *Psidium guajava* L. sur des patients d'âge moyen de 59,6 ans diabétiques depuis 5,4 ans. Ils ont reçu des capsules contenant 500 mg d'extrait aqueux de feuilles de goyavier. Les résultats montrent une hypoglycémie mais qui est moindre par rapport à la chlorpropamide et à la metformine. *Psidium guajava* L. pourrait donc être utilisé dans la prévention du diabète. **(152)**

2.2.4.6 Toxicologie

L'étude de toxicité réalisée sur des souris et rats n'a pas démontré de toxicité ni de létalité à dose élevée de *P. guajava* L. Aucune mort n'a été observée.

2.2.5 Cocoloba uvifera L.

2.2.5.1 Eléments de botanique

2.2.5.1.1 Nom scientifique

Raisinier de mer (*Coccoloba uvifera* L.), également appelé « Raisinier bord de mer » fait partie de la famille des polygonaceae.

Il s'agit d'un arbre ou arbuste persistant, tassé, de 6 à 8 m de haut, souvent à plusieurs troncs remarquablement tachetés.

Les feuilles sont alternes, simples, très coriaces et lisses, rondes à réniformes larges pouvant atteindre 20 cm de long. Les nervures sur les feuilles fraîches forment des lignes blanches marquées.

Les fleurs sont unisexuées, blanc jaunâtre, disposées dans de longues inflorescences pendantes de 15 à 20 cm de longueur. Les fleurs femelles sont individuelles et les fleurs mâles sont groupées jusqu'à 7.

Les fruits sont bacciformes, violet-rouges lorsqu'ils sont mûrs, d'environ 1 cm de diamètre. Ils se forment à partir de sépales pétaloïdes devenant charnus au moment de la maturation. Les fruits réunis en grappes plus ou moins serrées sont comestibles mais leur goût est assez acide.

Cet arbre est originaire des plages sablonneuses des zones tropicales de la Floride, des Bermudes, des Bahamas et de l'Inde occidentale, du Mexique, de l'Amérique centrale et du nord de l'Amérique du Sud. **(112)**



Figure 2-10 : Photographie de *Coccoloba uvifera* L.

2.2.5.1.2 Partie utilisée

L'écorce et les racines sont les parties qui sont utilisées.

2.2.5.1.3 Monographies disponibles

Aucune monographie n'a été retrouvée pour *Coccoloba uvifera* L.

2.2.5.1.4 Importance économique

Coccoloba uvifera L. est très retrouvé sur les côtes vénézuéliennes, il est utilisé pour stabiliser les plages. **(153)**

2.2.5.2 Constituants chimiques

Des composants phénoliques sont présents dans les graines de *Coccoloba uvifera* L. Ceux-ci peuvent être repérés par la coloration marron qui se fait en présence d'une solution de chlorure de fer (III) $FeCl_3$.

On observe également la présence de tannins gallique et catéchique. Pour cela, l'échantillon est dissout dans un mélange eau-méthanol. A cette solution, on ajoute du réactif de Stiasny qui met en évidence la présence de tannins catéchiques par l'apparition d'un précipité marron. Si on rajoute quelques gouttes de solution de chlorure de fer (III), il apparaît une couleur bleue caractéristique de tannins galliques. **(153)**

2.2.5.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

En médecine populaire au Venezuela, les racines et l'écorce sont astringentes et sont donc utilisées comme antidiarrhéique. **(153)**

L'écorce et les racines sont plongées dans de l'eau chaude puis amenées à ébullition pour traiter les diarrhées.

2.2.5.4 Travaux de recherche de pharmacologie

Les graines de *C. uvifera* L. extraites dans une solution de méthanol ont montré un **effet antibactérien** contre les bactéries *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus*. Cet extrait n'a cependant pas démontré d'effet antifongique. Lorsque les graines sont extraites dans une solution d'acétate d'éthyle (AcOEt), on a aussi un effet antibiotique retrouvé pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* et *F. decencellulare*. (153)

L'extrait méthanolique de feuilles *C. uvifera* L. a une activité **d'inhibition de l'activité tyrosinase** un peu moins élevée que celle de l'acide kojique qui est considéré comme la référence (CE₅₀ de l'extrait est de 90,4 µg/l contre 20,2 µg/l pour l'acide kojique). Cette activité est impliquée notamment dans le développement cancéreux. Ainsi, *Coccoloba uvifera* L. semble avoir des propriétés anticancéreuses intéressantes.

Dans la même étude, il a été réalisé sur des cellules de cerveaux de rats un test pour mesurer la peroxydation lipidique afin d'obtenir le **potentiel antioxydant** de la plante étudiée. L'expérience est réalisée en parallèle avec la quercétine, un flavonoïde qui sert ici de référence. Les résultats montrent que l'activité antioxydante du *Coccoloba uvifera* L. semble limitée par rapport à la molécule de référence. (154)

2.2.5.5 Toxicologie

Aucune donnée de toxicologie n'a été retrouvée dans la littérature.

2.2.6 *Cocos nucifera* L.

2.2.6.1 Éléments de botanique

2.2.6.1.1 Nom scientifique

Le cocotier (*Cocos nucifera* L.) fait partie de la famille des Arecaceae.

Botaniquement parlant, le cocotier n'est pas un arbre mais une plante herbacée monocotylédone. De ce fait son « tronc » disparaît au profit d'une structure rigide appelée stipe. Ses feuilles souples et coriaces, de grande taille (7 m long et 1.5 m de large), insérées en couronne au sommet du stipe sont pennatipartites et très fibreuses. Il n'y a pas de folioles mais des déchirures du limbe. Après leur chute, les anciennes feuilles laissent des cicatrices circulaires le long du tronc. Le stipe est fin et cylindrique, légèrement renflé et incliné dans la partie inférieure. Le diamètre et la hauteur dépendent de la variété et des conditions de culture. Selon les cultures, il existe des variétés naines et des grandes variétés. Les variétés naines sont de hauteur maximum de 12 m et les premières fructations sont précoces avec des noix de grosse taille. Les grandes variétés peuvent atteindre 25 à 30 m de haut et produisent des noix plus petites et plus tardivement.



Figure 2-11 : Feuilles de Cocos nucifera L.

Les inflorescences apparaissent à l'aisselle des feuilles et sont entourées d'une spathe. Elles se composent d'un axe principal sur lequel sont attachés des épis. Chacun des épis portent à la fois des fleurs femelles (grosses, peu nombreuses, situées à la base des inflorescences) et des fleurs femelles (petites, peu nombreuses, situées au bout des inflorescences)

Les fleurs sont situées dans des panicules entourées d'une courte spathe et d'une très grande spathe naviculaire et ligneuse lorsqu'elles sont jeunes. Elles sont regroupées par trois avec respectivement une fleur femelle et deux fleurs mâles. Elles sont présentes toute l'année.

Le fruit est une drupe, appelé « noix de coco ». Il y a 10 à 15 drupes par infrutescence. Les fruits sont entourés d'une peau coriace (exocarpe). Le mésocarpe est une épaisse couche de fibres contenant de l'air, cette partie est le « coïr ». C'est un coussin amortisseur pour éviter que la noix ne se brise lors de sa chute. Et c'est aussi un flotteur pour être transportée par les courants marins. La graine elle-même est plus ou moins sphérique, à coque très dure. Les fruits ayant terminé leur croissance mais non encore murs contiennent un liquide riche en féculé, d'abord limpide puis trouble appelé « lait de coco ». Ce liquide est la réserve d'eau douce de la noix, lui permettant de germer quelles que soit les conditions. **(112, 155)**



Figure 2-12 : Photographie d'une noix de coco

L'origine exacte est inconnue mais il semble que ce soit dans le Pacifique Sud.

La noix de coco est capable de conserver son pouvoir germinatif sur de très longues distances ce qui a permis de coloniser la plupart des plages tropicales.

2.2.6.1.2 Partie utilisée

Différentes parties (à composition chimique variée) du cocotier sont utilisées.

2.2.6.1.3 Monographies disponibles

Cocos nucifera L. est retrouvé dans la pharmacopée thaïlandaise. L'huile de coco raffinée (coprah) est inscrite à la pharmacopée européenne.

2.2.6.1.4 Importance économique

Il s'agit selon la pharmacopée thaïlandaise, d'une des plantes les plus utilisées en Thaïlande. La coque est utilisée pour faire des tapis, des balais et des cordes. Les jeunes noix sont prisées pour leur eau sucrée qui sert à la confection de la crème de coco. L'huile de coco est un indispensable de la cosmétique du fait de ses propriétés émoullientes ainsi que pour la cuisine.

2.2.6.2 Constituants chimiques (156)

L'étude phytochimique de l'extrait éthanolique de fibre de noix de coco (mésocarpe) révèle la présence de phénols, tannins, anthocyanidines, flavonoïdes, triterpènes, stéroïdes et alcaloïdes. L'extrait au butanol montre la présence de triterpènes, saponines et tannins condensés.

Les extraits aqueux lyophilisés des fibres de *Cocos nucifera* L. sont riches en catéchine, épicatechine, tannins et flavonoïdes.

Les constituants de l'albumen liquide ont été identifiés comme étant des vitamines B, de l'acide nicotinique, de l'acide pantothénique, de la biotine, de la riboflavine, de l'acide folique avec des traces de vitamines B1, B6 et C, de pyroxidine, de thiamine et d'acides aminés.

L'huile extraite de l'albumen solide révèle la présence d'alpha-tocophérol et d'acide laurique.

Les racines sont riches en flavonoïdes et saponines.

2.2.6.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Dans la pharmacopée thaïlandaise, le cocotier est reconnu comme ayant une action diurétique, émoulliente et fortifiante.

La crème de coco est fréquemment consommée pour ses propriétés toniques dans le cadre d'un déficit d'immunité ou d'énergie, de cachexie. Elle sert aussi de substitut au lait pour les intolérants au lactose. Cette crème est faite à partir de noix de coco râpée.

Partie utilisée	Préparation	Usage populaire	Pays
Fibres de coque de noix de coco	Infusion	Diarrhée	Brésil
		Aménorrhées	Haïti
		Maladies vénériennes	Trinité
	Extrait	Antipyrétique, inflammation rénale	Guatemala
		Diurétique, gonorrhée	Pérou
		Inflammation urogénitale (<i>Trichomonas vaginalis</i>)	Mexique
		Aménorrhées, dysménorrhées	Trinité
		Diabète	Jamaïque
Asthme	Haïti, Pérou		
Crème	Abcès, dermatite, plaies infectées	Haïti	
Racine	Infusion	Diarrhée et douleurs de l'estomac	Papouasie Nouvelle-Guinée
Albumen solide de la noix de coco	Huile	Prévention de la chute de cheveux, cicatrisation des plaies	Fiji, Indonésie
	Lait	Diarrhée	Ghana
	Pulpe	Aphrodisiaque	Mozambique
		Soulagement des rashes causés par l'infection HIV	Kenya
Décoction de la pulpe	Fièvre et Malaria	Malaisie	
Eau de la noix de coco	Eau	Traitement de l'insuffisance rénale	Fiji
Inflorescence	Infusion	Perturbations du cycle menstruel	Inde

Figure 2-13: Principales utilisations du cocotier à travers le monde (156)

2.2.6.4 Travaux de recherche de pharmacologie

Les tannins condensés présentent une **activité antihelminthique** en se liant aux protéines présentes dans la cuticule, la cavité orale et l'œsophage des nématodes. (157) Dans le Sud de l'Inde, les fibres de noix de coco sont utilisées pour l'hygiène dentaire. Dans ce contexte, les effets antimicrobiens de *Cocos nucifera* L. ont été explorés et l'**activité antimicrobienne** serait

potentiellement due au tocophérol, à l'alcool palmitoléique, au cycloarténol, et au beta-sitosterol.

La noix de coco est composée d'acide gras, dont l'acide caprylique, l'acide caprique, l'acide laurique... Ces acides gras participent au bon fonctionnement cardiovasculaire. La noix de coco est riche en ions minéraux dont le potassium, ce qui favorise aussi **l'effet cardioprotecteur**, notamment lors d'infarctus du myocarde. Il a été montré que la noix de coco baisse le taux de cholestérol, de triglycérides et de phospholipides et augmente le taux de HDL. **(158)**

Une étude sur des animaux montre que l'extrait aqueux de l'enveloppe fibreuse de *Cocos nucifera* L. réduit **l'inflammation et l'œdème**. En effet, les souris recevant 1 mg/kg d'extrait bénéficient d'une diminution d'apparition de l'histamine et la sérotonine, médiateurs de l'inflammation.

Un acide aminé, la L-arginine est présent dans le lait de coco. Cet acide aminé permet de réduire la génération de radicaux libres. Il y a aussi présence de vitamine C, qui réduit significativement la peroxydation lipidique chez les rats. Plusieurs parties de la plante ont été évaluées afin de déterminer leur **activité antioxydante**, notamment à l'aide du test DPPH. L'extrait éthanolique a été préparé à partir d'inflorescence de *Cocos nucifera* L. et montre une activité antioxydante ($CE_{50} = 11,02$) mais qui est inférieure à celle de l'acide gallique ($CE_{50} = 4,30$) utilisé comme référence dans ce test. **(159)**

2.2.6.5 Toxicologie

Plusieurs études ont évalué les propriétés toxicologiques de *Cocos nucifera* L. Le mésocarpe a été administré à des souris à une dose de 500 mg/kg. Aucune toxicité n'a été observée. D'autres souris ont reçu 500 mg/kg des extraits d'endocarpe et le résultat est similaire, aucune toxicité n'est révélée. Le cocotier ne semble pas entraîner d'effets toxiques. **(156)**

2.2.7 *Hydnophytum formicarum* Jack.

2.2.7.1 Éléments de botanique

2.2.7.1.1 Nom scientifique

Hydnophytum (*Hydnophytum formicarum* Jack.) fait partie de la famille des Rubiaceae.

Munie d'un caudex (hypocotyle (*partie basse de la tige*) renflé) cette plante est une épiphyte myrmécophile de 10 à 50 cm de hauteur. Elle possède de petites feuilles sessiles ovales.

Les cavités dans son caudex lui permettent l'absorption d'eau et de nutriments essentiels à partir de matières fécales et de débris apportés par les fourmis. En retour, les plantes fournissent de la nourriture pour les fourmis en nectar riche en protéines.

Cette plante est communément retrouvée dans l'est et le sud de la Thaïlande, l'Asie du Sud-Est, la Papouasie Nouvelle-Guinée et les îles du Pacifique.



Figure 2-14: Photographie d'*Hydnophytum formicarum* Jack.

2.2.7.1.2 Partie utilisée

Le tubercule est utilisé en Thaïlande.

2.2.7.1.3 Monographies disponibles

Hydnophytum formicarum Jack. est utilisé en médecine traditionnelle thaïlandaise.

2.2.7.2 Constituants chimiques

L'extrait hexanique révèle différents stérols, flavonoïdes et composés phénoliques par détection UV et RMN (stigmasterol : **1**, isoliquiritigenin : **2**, protocatechualdéhyde : **3**, butin : **4** et butein : **5**).

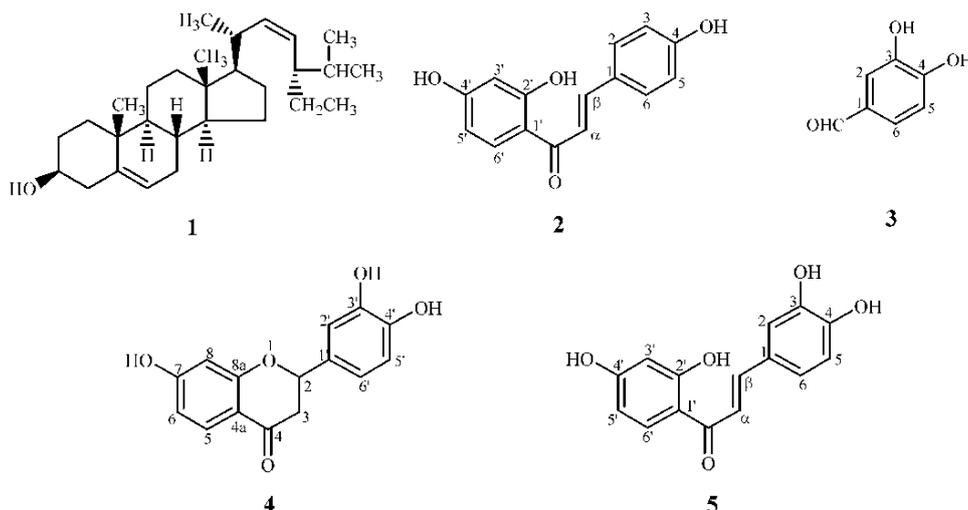


Figure 2-15: Stérols, flavonoïdes et composés phénoliques extraits par l'hexane à partir d'*Hydnophytum formicarum* Jack (160)

2.2.7.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

C'est une plante médicinale myrmécophile couramment retrouvée dans l'Est et le Sud de la Thaïlande, l'Asie du Sud-Est, la Papouasie Nouvelle-Guinée et des îles du Pacifique. Son tubercule possède des activités cardiovasculaires, anti-inflammatoires et antiparasitaires. Il est utilisé pour le soulagement des éruptions cutanées et comme neurotonique pour le traitement des céphalées, l'hépatite, le rhumatisme et la diarrhée.

La plante est utilisée depuis longtemps en médecine thaïlandaise en mélange avec d'autres extraits de plantes pour le traitement du diabète. Cependant aucune étude phytochimique (isolement et caractérisation moléculaire) n'a été rapportée. Elle inhiberait la xanthine oxydase (161) et possède une activité antiproliférative contre des cellules de fibrosarcomes HT-1080 humaines. (160)

2.2.7.4 Travaux de recherche de pharmacologie

Une étude a évalué l'**activité antimicrobienne** et **antioxydante** de la plante. (160)

En effet, les extraits de l'hypocotyle renflé (appelé à tort tubercule) avec de l'hexane, du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle et du méthanol sont tous efficaces contre la bactérie *Corynebacterium diphtheriae* avec une concentration inhibitrice minimale de 256 µg/ml. D'autres microorganismes comme *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus pyogenes* sont inhibés par l'extrait d'acétate d'éthyle. Le composé 3 (Figure 3-15) est très actif contre *Plesiomonas shigelloides* avec une concentration inhibitrice minimale de 60 µg/ml. En comparaison, l'ampicilline l'inhibe à une concentration de 10 µg/ml. Cela fait donc de cette plante un antimicrobien intéressant.

Ces mêmes extraits sont étudiés pour leurs propriétés antioxydantes grâce au test DPPH. Les extraits sont dilués puis placés à l'obscurité pendant 30 minutes. Les résultats sont positifs pour chacun d'eux, avec un pouvoir antioxydant modéré à élevé excepté pour l'extrait à l'hexane qui présente un faible pouvoir antioxydant par rapport aux autres. La molécule de référence est l' α -tocophérol. Par exemple, l'extrait avec l'acétate d'éthyle a une CE_{50} = 8,40 µg/ml et l' α -tocophérol a une CE_{50} = 6,67 µg/ml. Il s'agit donc d'un fort potentiel antioxydant.

Une autre étude a montré que l'extrait éthanolique de l'hypocotyle renflé avait un effet sur des cellules tumorales T47D en inhibant leur prolifération. En effet, l'extrait alcoolique de l'hypocotyle renflé montre une inhibition de 53,45% des cellules T47D à une concentration de 100 µg/ml. Cela emmène à la conclusion qu'*Hydnophytum formicarum* Jack. pourrait avoir des **propriétés anticancéreuses** intéressantes. (162)

2.2.7.5 Toxicologie

Aucune donnée de toxicologie n'a été retrouvée dans la littérature.

2.2.8 Piper crocatum Ruiz & Pav



Figure 2-16: Photographie de feuilles de Piper crocatum Ruiz & Pav.

2.2.8.1 Éléments de botanique

2.2.8.1.1 Nom scientifique

Poivre magnifique (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), également connu sous le nom de Célèbre poivre, est une plante lianescente appartenant à la famille des Piperaceae. Ses feuilles sont ovales, verts marbrés de blanc. Cette plante est originaire du Pérou. **(163)**

2.2.8.1.2 Partie utilisée

Piper crocatum Ruiz & Pav est généralement utilisé sous forme de décoction de feuilles fraîches.

2.2.8.1.3 Monographies disponibles

Aucune monographie n'a été retrouvée pour *Piper crocatum* Ruiz & Pav.

2.2.8.2 Constituants chimiques

La décoction de feuilles fraîches de *P. crocatum* Ruiz & Pav dans l'éthanol permet de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes. **(164)** Les feuilles sont riches en flavanols (pinocembrin et pinostrobin). **(165)**

Deux molécules (β -sitosterol et 2-(5',6'-dimethoxy-3',4'-methylenedioxyphenyl)-6-(3'',4'',5''-trimethoxyphenyl)-dioxabicyclo[3,3,0]octane) ont été mises en évidence dans la poudre de plante extraite avec du méthanol. Cette solution a ensuite été étudiée par chromatographie avec différents solvants : hexane, acétate d'éthyle et butanol qui ont amené à la découverte de ces molécules. **(166)**

A l'aide de la chromatographie, d'autres molécules ont été mises en évidence dans les feuilles de *Piper crocatum* Ruiz & Pav : benzofuran,2,3-dihydro-2-methyl-7-phenyl, 4,4-ethynedioxy-2-hexadecen-15-15 olide 1,4,9-trioxaspiro [4,15]eic os-6-en-8-one, 10 methyl ; phytol ; caryophyllene bicyclo [5.2.0] none, 2 methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl ; 5,9-propano-5H-benzocycloheptene, 6,7,8,9-tetrahydro-7,11- bis(methylene) ; 1H-1,2,4-triazole-5(H)-thione,4-allyl-3-(3-furyl). La première molécule semble inhiber l'inflammation due à l'athérosclérose. **(165)**

2.2.8.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Cette plante médicinale traditionnellement utilisée par les populations locales à Yogyakarta en Indonésie pour les cérémonies. Elle est largement utilisée par les Javanais pour guérir diverses maladies : hépatite, insuffisance rénale, AVC, hypertension, candidose (167) et le cancer du sein. (168)

En Indonésie, les feuilles de *Piper crocatum* Ruiz & Pav sont utilisées pour soigner le diabète, car elles diminuent le taux de glucose sanguin. (169) Une dizaine de jours de traitement à base de cette plante peut réduire le taux de glucose sanguin de 10 à 38%.

2.2.8.4 Travaux de recherche de pharmacologie

Une étude a testé un extrait méthanolique de feuille sur des cellules tumorales lymphocytaires T47D. La viabilité des cellules a été déterminée dans les groupes ayant des concentrations de feuilles de *Piper crocatum* Ruiz & Pav. allant de 5 à 50 µg/ml en comparaison à des groupes témoins. Le contrôle positif est réalisé par H₂O₂. Les résultats montrent une diminution de la viabilité cellulaire, qui semble dose-dépendante et donc une **activité anticancéreuse**. (168)

La décoction de feuilles fraîches est un **agent hypoglycémiant** chez les rats diabétiques. En effet, un traitement de dix jours a permis de diminuer le taux de glucose sanguin de 10 à 38% selon la dose administrée. Les résultats montrent une activité identique au glibenclamide. (164)

L'athérosclérose est souvent étroitement liée à l'hypercholestérolémie est une pathologie multifactorielle, souvent corrélée à l'augmentation de cytokines pro-inflammatoires, notamment IL-6 et TNF-α. Une étude récente a montré **l'activité anti-inflammatoire** des feuilles de *Piper crocatum* Ruiz & Pav. dans cette pathologie. Cela peut s'expliquer par le taux important de flavonoïdes présents dans *Piper crocatum* Ruiz & Pav. (165)

2.2.8.5 Toxicologie

L'administration d'une dose élevée (1890 mg/kg) chez le rat sur une période de 28 jours n'a pas montré de toxicité d'une solution de feuilles séchées de *Piper crocatum* Ruiz & Pav. et *Cinnamomum burmannii*. L'administration répétée d'extraits de plantes ne montre pas de modification notable des érythrocytes, de l'hémoglobine, de l'hématocrite, du taux de plaquettes donc cela n'interfère pas sur les cellules sanguines circulantes donc cette plante n'est pas hématotoxique. Il n'y a pas eu non plus de démonstration de toxicité rénale ni hépatique. (170)

2.2.9 *Curcuma longa* L.

2.2.9.1 Éléments de botanique

2.2.9.1.1 Nom scientifique

Curcuma (*Curcuma longa* L.) aussi appelé Safran des Indes (112) appartient à la famille des Zingiberaceae et est originaire de l'Inde.

C'est une plante herbacée de 1 à 1,5 mètres de hauteur et une rhizomateuse vivace. Les rhizomes sont cylindriques, charnus de couleur orangée. Les feuilles sont alternes, simples, avec des gaines formant des « pseudo-tiges » courtes. L'inflorescence est un épi terminal atteignant 20 cm de long, apparaissant entre les gaines des feuilles. Les fleurs sont par paires à l'aisselle des bractées mais une seule s'ouvre à la fois. **(171)**



Figure 2-17: Photographie de feuilles de Curcuma longa L.

2.2.9.1.2 Partie utilisée

D'après les pharmacopées ci-après, la partie principalement utilisée est le rhizome.

2.2.9.1.3 Monographies disponibles

D'après la pharmacopée française, le *Curcuma longa* L. est utilisé en médecine traditionnelle européenne et chinoise. Cette plante est aussi retrouvée dans la pharmacopée thaïlandaise, polynésienne et japonaise.

2.2.9.1.4 Importance économique

En Inde, le curcuma est largement produit et utilisé. C'est une des principales épices présentes dans le curry, caractérisant la cuisine indienne. Cette épice est aussi utilisée comme teinture ou cosmétique. **(172)** D'après la pharmacopée polynésienne, la teinture au curcuma est largement utilisée. Les racines sont séchées puis râpées avec un coquillage pour ensuite être écrasées dans un plat en bois avec un pilon de corail. La masse humectée d'eau est ensuite filtrée puis mise à sécher. On y ajoute plus tard de l'huile de coco purifiée puis chauffée et ensuite séchée.

La curcumine est extraite des rhizomes broyés de *Curcuma longa* L. Il s'agit de l'additif E100, utilisé comme colorant alimentaire jaune. **(173)**

2.2.9.2 Constituants chimiques

Les rhizomes jaunâtres ont une odeur agréablement aromatique, un goût légèrement amer et piquant **(112)** et contiennent jusqu'à 5% d'huile volatile, des substances amères, de la résine et de la curcumine, un pigment jaune sensible à la lumière. D'après la pharmacopée japonaise, le rhizome séché contient entre 1 et 5 % de curcuminoïdes (curcumine, demethoxycurcumine, bisdemethoxycurcumine). Les rhizomes contiennent aussi un sesquiterpène, le zingibérène et ses dérivés cétoniques, la turmérone et l'ar-turmérone. **(171)**

L'huile essentielle de curcuma se compose de monoterpènes et de sesquiterpènes (ar-turmerone, α -turmerone, β -turmerone, curlone, zongiberene et curcumène).

2.2.9.3 Formes pharmaceutiques ou formes d'utilisations traditionnelles

Selon les pharmacopées, il peut être utilisé en décoction de poudre de rhizome pour être utilisé par voie orale, ou bien en pâte pour une application externe.

La pharmacopée thaïlandaise lui prête une action analgésique, antihelminthique, antiinflammatoire, antiseptique, antiprurigineuse, antirhumatismale, antitussive, astringent, tonique sanguin, carminative, cholagogue, digestive, emménagogue, stomachique, tonique, vulnéraire.

En décoction de rhizome frais ou de feuilles séchées après le repas, c'est un stimulant digestif, souvent utilisé pour les douleurs gastro-intestinales, contre les flatulences, ulcères peptidiques, indigestions, intestins irritables et les gastrites. Le curcuma est aussi utilisé pour le diabète car il permet de réguler la glycémie. Il est aussi utilisé comme remède à la toux, l'arthrite, la lombalgie chronique et les douleurs menstruelles. Les feuilles de curcuma peuvent être utilisées comme antidote des intoxications alimentaires et comme traitement des hépatites, et détoxification du sang, du tractus digestif et hépatique et il régule la sécrétion hormonale.

On peut aussi l'utiliser en tant que topique : le rhizome frais, moulu au mortier, pilé ou pulvérisé est mélangé avec de petites quantités d'eau pour faire une pâte à appliquer sur les zones affectées. Il est utilisé contre les démangeaisons, les œdèmes et comme antiseptique léger. Il peut être utilisé également contre les piqûres d'insectes, les rashes, les réactions allergiques, les urticaires et les plaies superficielles. Il est aussi employé comme antiinflammatoire dans les entorses et contusions.

2.2.9.4 Indications thérapeutiques et allégations revendiquées dans les compléments alimentaires

Les laboratoires Arkopharma ou Naturactive par exemple commercialisent des gélules contenant de la poudre de rhizome de curcuma pour contribuer à maintenir la flexibilité et le confort articulaire mais également pour le confort digestif.



2.2.9.5 Effets indésirables

Bien que le *Curcuma longa* L. soit non-toxique, des études ont montré une légère inhibition de l'agrégation plaquettaire. **(174)**

Des dermatites allergiques ont été recensées, ce qui est plus susceptible d'arriver chez des personnes présentant des réactions allergiques connues aux plantes du genre *Curcuma*. **(175)**

2.2.9.6 Contre-indications et précautions d'emploi

Le Curcuma est utilisé pour potentialiser certaines chimiothérapies mais peut également interagir avec certaines d'entre elles. Ainsi, l'utilisation de cette épice doit se faire au cas par cas, sous avis médical obligatoire.

Etant donné que la famille des Zingiberaceae peut induire des réactions allergiques **(176)**, le curcuma ne doit pas être utilisé pour ces personnes.

2.2.9.7 Interactions médicamenteuses et autres formes d'interactions

Etant donné que le curcuma peut avoir des effets anticoagulant, il est préférable d'éviter la prise concomitante de traitements antiagrégant plaquettaire ou anticoagulant comme la warfarine, l'aspirine, le clopidogrel, les héparines.

Nous avons vu ci-dessus que le curcuma pouvait avoir un impact sur la glycémie en l'abaissant, donc la prise chez des patients diabétiques peut être déconseillée, ou du moins à surveiller.

2.2.9.8 Pharmacologie

L'utilisation de la curcumine potentialise les effets des agents chimiothérapeutiques et augmente leur tolérance (gemcitabine, paclitaxel, docétaxel, oxaliplatine). Cependant, certaines molécules voient leurs effets diminués par la prise de curcuma (camptothécine, doxorubicine, méchloréthamine, cyclophosphamide, vincristine). **(177, 178, 179)**

2.2.9.9 Toxicologie

La curcumine n'a pas démontré d'effet toxique sur le corps humain, même à une dose élevée (8000 mg/j). **(180, 181)**

3 Conclusion

3.1 Résultats

Tous les extraits de plantes étudiés montrent une capacité à diminuer l'absorbance à 515 nm, et donc à diminuer la concentration du radical DPPH en solution. On a vu précédemment qu'en présence d'un antioxydant, le radical DPPH est réduit : on observe une décoloration de la solution.

Les résultats des mesures de diminution de l'absorbance peuvent être représentés sous forme de pourcentage :

$$\% \text{ DPPH consommé} = 1 - (\text{Absorbance}_{\text{en présence d'antioxydant}} / \text{Absorbance}_{\text{sans antioxydant}}) * 100$$

➤ *Passiflora quadrangularis* L.

Concentration (mg.ml ⁻¹)	1,344	1,210	1,075	0,941	0,806	0,672
Pourcentage de DPPH consommé	83,76	76,51	71,23	65,01	58,62	52,31
Ecart-type	0,22	1,08	0,39	0,35	0,35	0,73

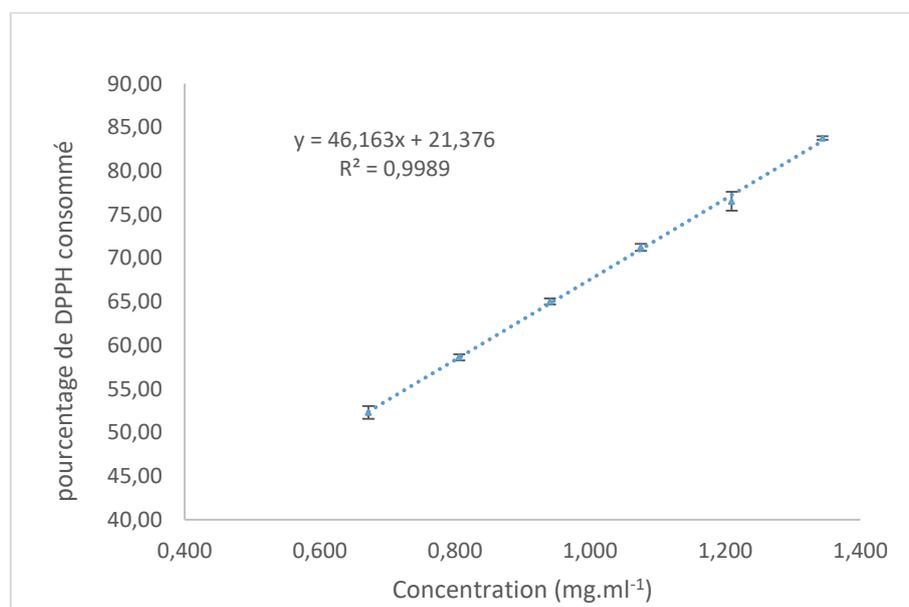


Figure 3-1 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *P. quadrangularis* L.

➤ **Annona reticulata L.**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,335	0,268	0,201	0,134	0,067
Pourcentage de DPPH consommé	46,21	35,75	24,11	14,17	2,87
Ecart-type	0,51	0,53	1,18	0,22	0,51

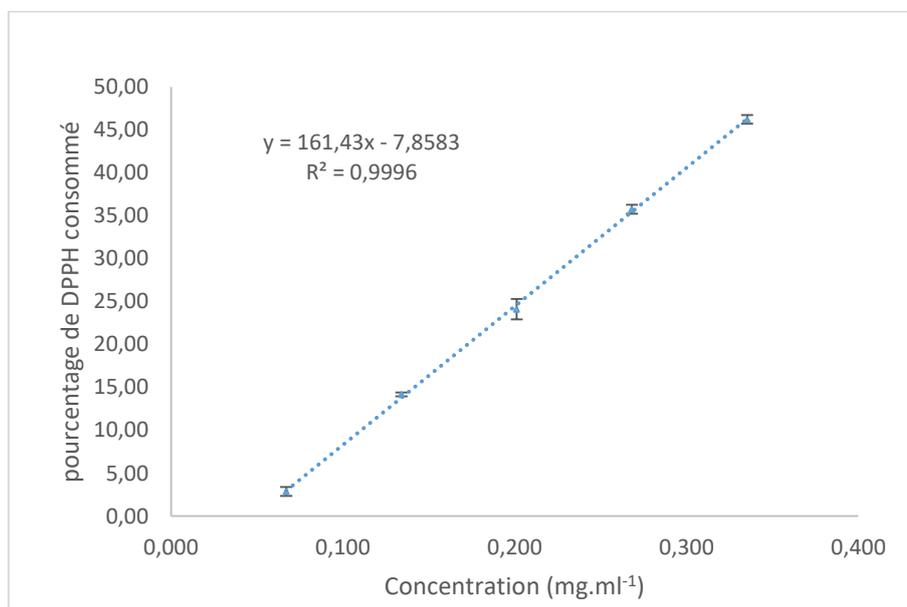


Figure 3-2 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles d'*Annona reticulata L.*

➤ **Psidium cattleianum Afzel. ex Sabine**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,416	0,277	0,208	0,139	0,069
% DPPH consommé	84,51	83,31	76,84	40,19	34,12
Ecart-type	0,18	0,08	1,04	1,45	0,34

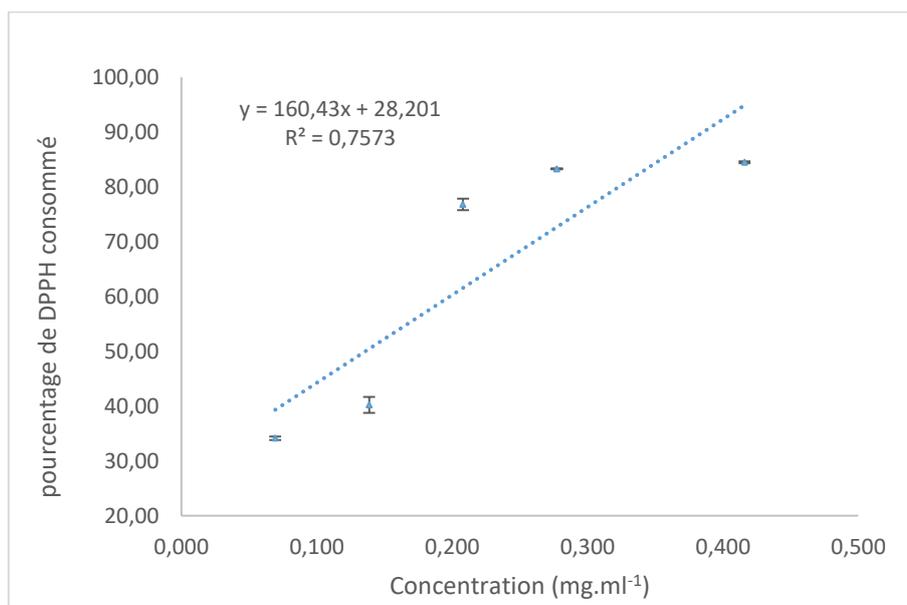


Figure 3-3 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *P. cattleianum Afzel ex. Sabine*

➤ **Coccoloba uvifera L.**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	1,371	1,302	1,234	1,165	1,097
Pourcentage de DPPH consommé	46,04	42,10	40,73	38,25	36,28
Ecart-type	0,22	0,91	0,08	0,39	0,13

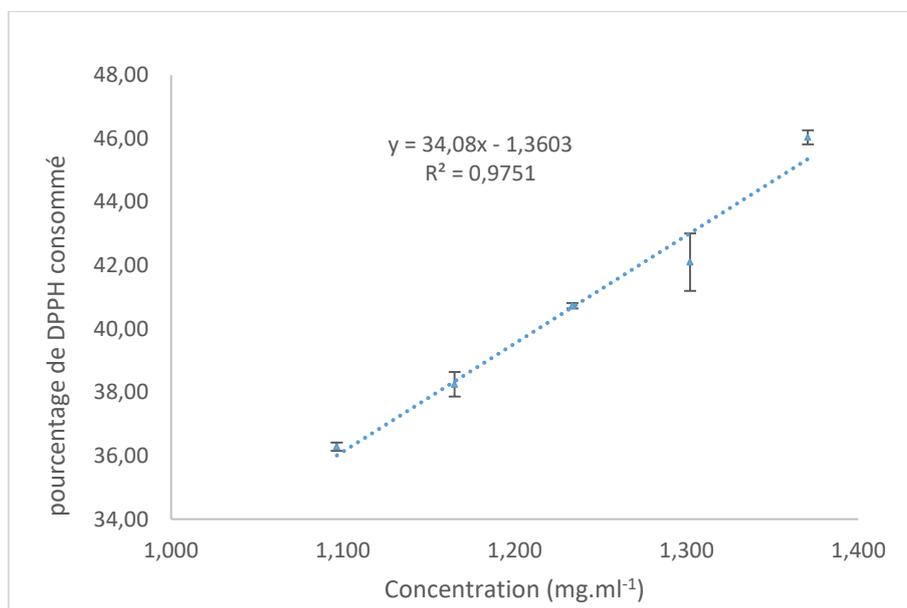


Figure 3-4 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *C. uvifera L.*

➤ **Psidium quajava L.**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,135	0,102	0,088	0,068	0,047
Pourcentage de DPPH consommé	45,24	31,90	27,26	20,70	17,85
Ecart-type	1,03	0,13	0,15	0,18	1,18

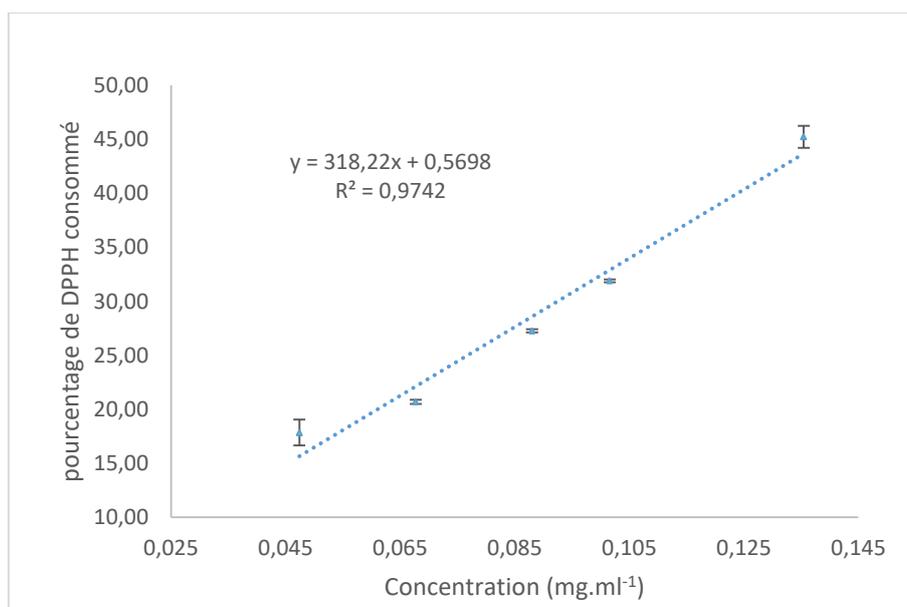


Figure 3-5 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *P. quajava L.*

➤ **Cocos nucifera L.**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,299	0,150	0,112	0,097	0,075	0,052
Pourcentage de DPPH consommé	83,87	54,78	44,88	38,81	30,47	20,60
Ecart-type	0,10	1,09	2,06	1,95	1,48	1,23

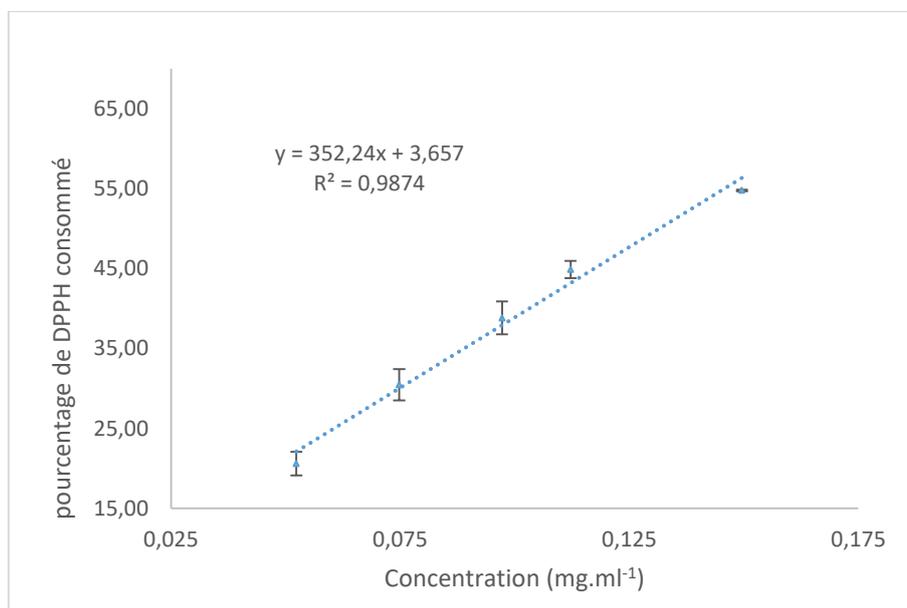


Figure 3-6 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *C. nucifera L.*

➤ **Hydnophytum formicarum Jack**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,067	0,047	0,040	0,034	0,027
Pourcentage de DPPH consommé	74,74	60,33	52,14	44,32	35,56
Ecart-type	1,52	1,08	0,37	1,37	0,42

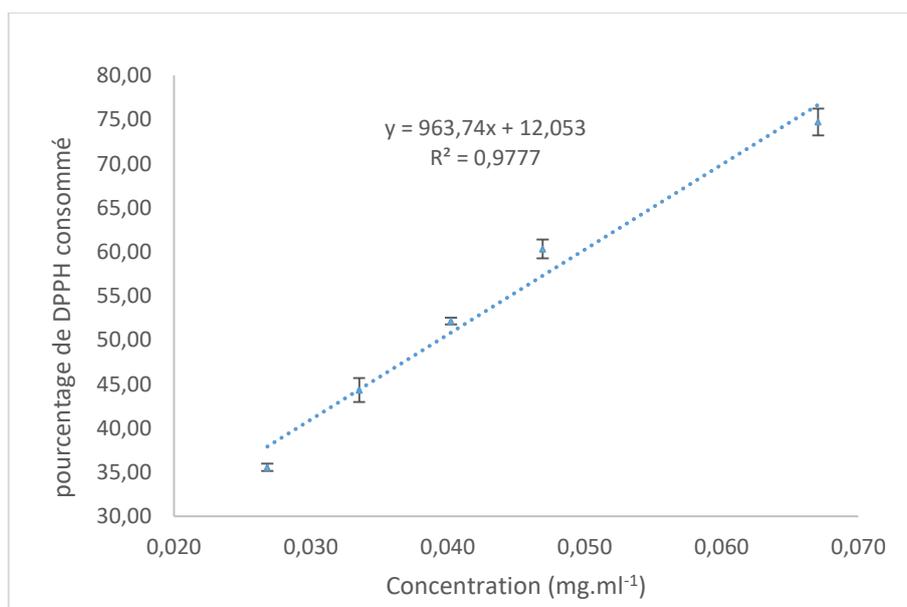


Figure 3-7 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles d'*H. formicarum Jack.*

➤ **Piper crocatum Ruiz & Pav**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,667	0,533	0,400	0,267	0,133
Pourcentage de DPPH consommé	81,20	81,76	63,72	41,77	18,13
Ecart-type	0,17	0,19	0,26	0,95	0,00

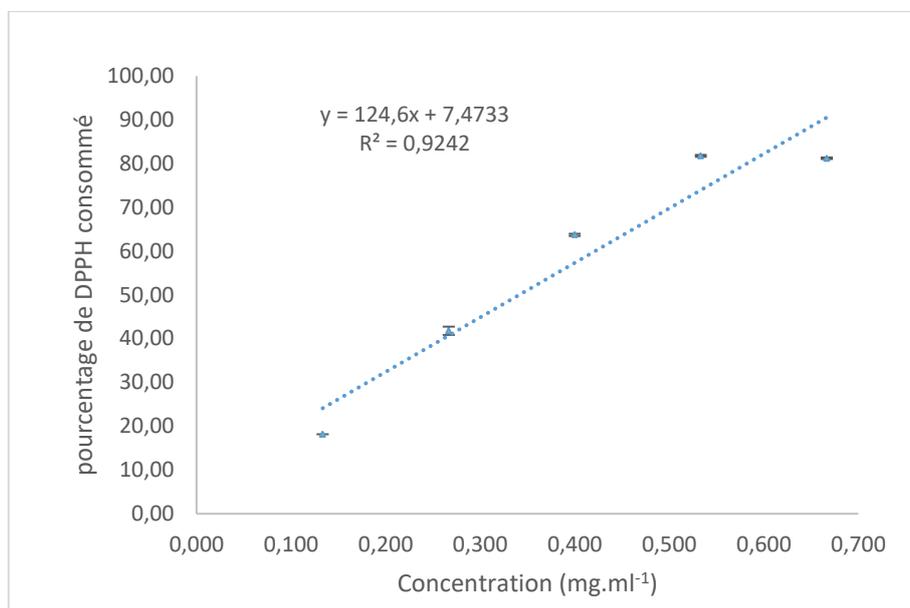


Figure 3-8 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *P. crocatum* Ruiz & Pav.

➤ **Curcuma longa L.**

Concentration (mg.ml ⁻¹)	1,341	1,207	1,073	0,939	0,805
Pourcentage de DPPH consommé	59,98	56,01	51,66	46,96	41,96
Ecart-type	0,77	0,39	0,13	0,22	0,42

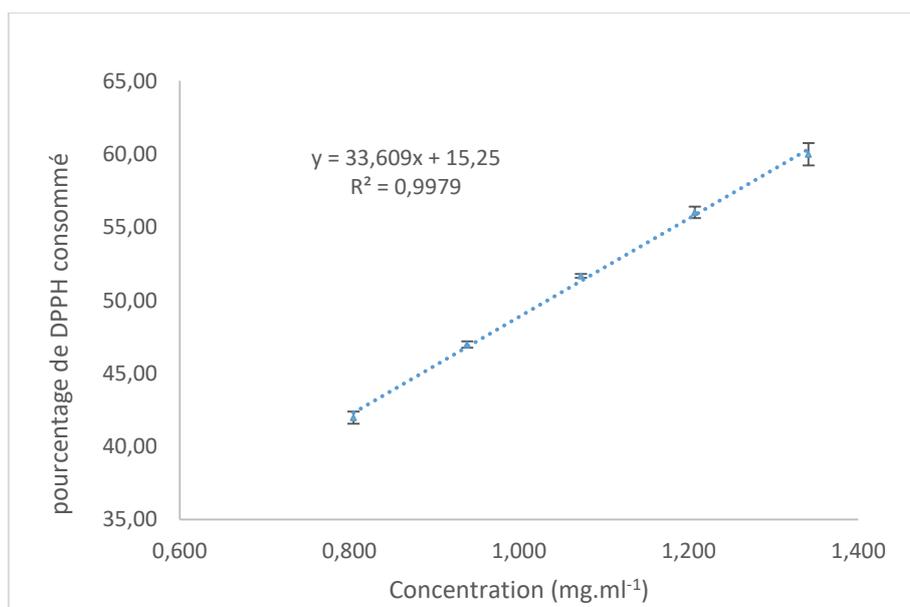


Figure 3-9 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH des feuilles de *C. longa* L.

➤ Trolox

Concentration (mg.ml ⁻¹)	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125
Pourcentage de DPPH consommé	7,22	25,86	44,43	63,47	83,02
Ecart-type	0,54	0,34	0,48	0,20	0,94

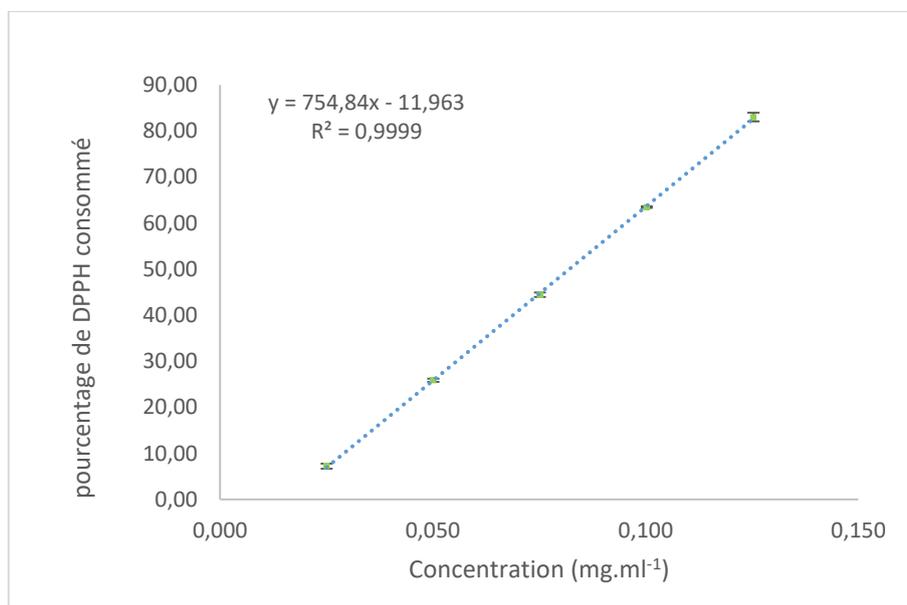


Figure 3-10 : Test de neutralisation des radicaux du DPPH du Trolox

3.2 Discussion

Les propriétés antioxydantes sont mesurées et mises en évidence par la concentration efficace CE₅₀. Cela correspond à la réduction de 50% de la concentration du DPPH• dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CE₅₀ est petite.

Extrait étudié	CE ₅₀ (mg.ml ⁻¹)
<i>Passiflora quadrangularis</i> L.	0,62
<i>Annona reticulata</i> L.	0,36
<i>Psidium cattleianum</i> Afzel. ex Sabine	0,14
<i>Coccoloba uvifera</i> L.	1,51
<i>Psidium guajava</i> L.	0,16
<i>Cocos nucifera</i> L.	0,13
<i>Hydnophytum formicarum</i> Jack	0,04
<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav	0,34
<i>Curcuma longa</i> L.	1,03
Trolox	0,08

Figure 3-11: Tableau récapitulatif des CE₅₀ de chaque plante

Nos résultats permettent de mettre en évidence par le test du DPPH que toutes les plantes tropicales étudiées possèdent une activité antioxydante donneur d'hydrogène. Cependant, les valeurs de la CE₅₀ varient de 0,04 à 1,51 mg.ml⁻¹. Le Trolox a été utilisé comme un antioxydant de référence avec une CE₅₀ trouvé de 0,08 mg.mL⁻¹.

En comparant les concentrations efficaces de chacune des plantes, on s'aperçoit que les poudres de feuilles étudiées n'ont pas le même pouvoir antioxydant. Effectivement, certaines plantes comme *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine, *Cocos nucifera* L., *Psidium guajava* L. et *Hydnophytum formicarum* Jack possèdent une forte activité antioxydante : l'effet antioxydant de ces plantes est observable jusqu'à des concentrations de l'ordre de dizaines de microgrammes de plante sèche·mL⁻¹. *Hydnophytum formicarum* Jack révèle même un indice CE₅₀ égal à 40 µg·mL⁻¹, inférieur à celui de l'antioxydant de référence, le Trolox (CE₅₀ = 80 µg·mL⁻¹). En revanche, *Coccoloba uvifera* L., *Curcuma longa* L. et *Passiflora quadrangularis* L. semblent avoir une activité antioxydante plus faible. Nous n'observons plus l'effet de neutralisation du radical DPPH en dessous de concentrations d'environ 500 µg de plante sèche·mL⁻¹.

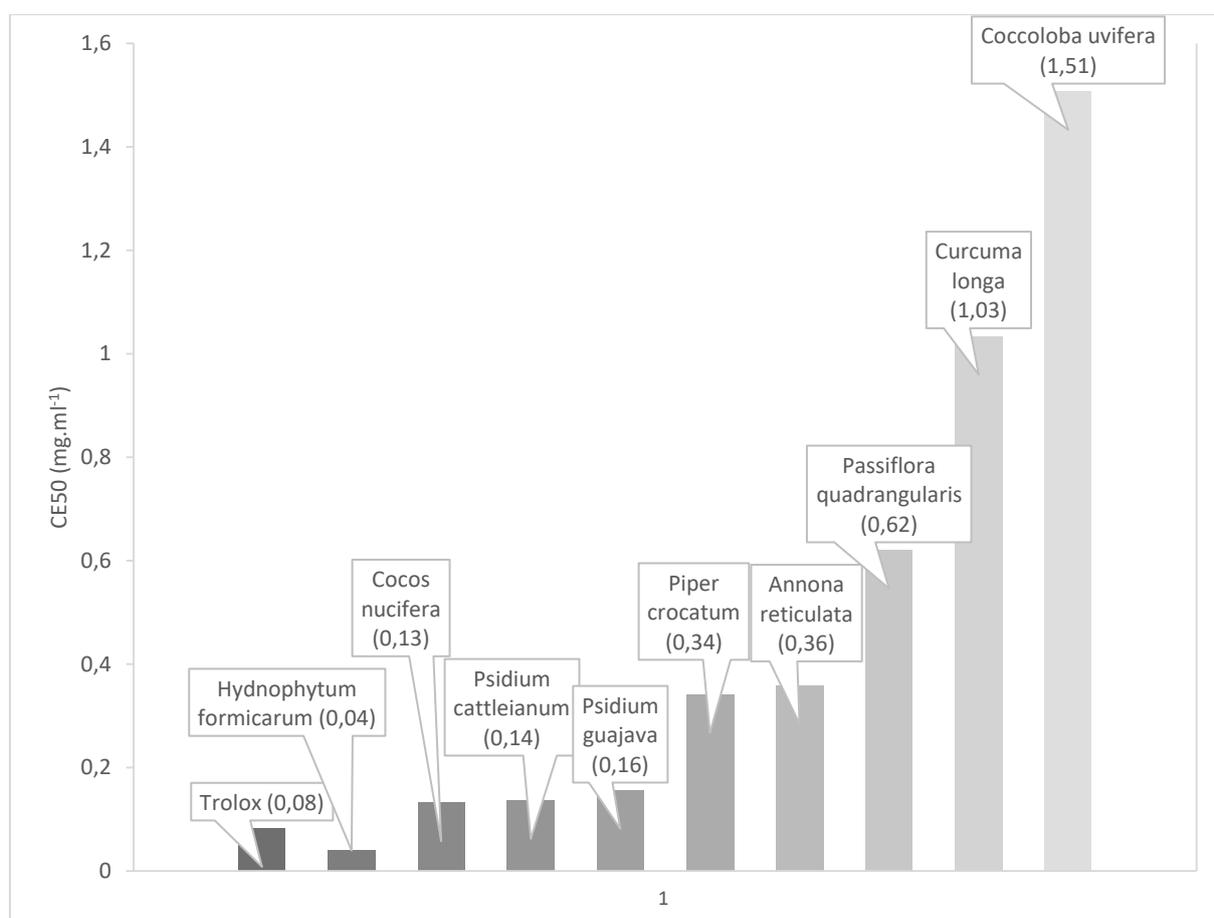


Figure 3-12: Comparaison de la valeur de CE₅₀ des différentes plantes étudiées

En comparant les résultats obtenus avec les utilisations décrites ci-dessus, on voit que les trois plantes présentant les résultats les moins bons sont tout de même utilisées pour leurs propriétés antioxydantes.

Passiflora quadrangularis L. est traditionnellement utilisée dans le traitement du diabète. Cette utilisation pourrait être due à son activité antioxydante. En effet, bien qu'elle semble plutôt relativement faible dans les feuilles, on pourrait éventuellement supposer qu'elle agit directement sur l'insuline. De plus, sachant que c'est l'infusion de feuilles qui est utilisée pour traiter le diabète, on pourrait refaire les tests antioxydants sur un extrait aqueux de feuilles,

en modifier le protocole d'extraction avec un autre solvant, ou en augmentant par exemple le temps d'extraction.

Coccoloba uvifera L. présente une activité d'inhibition de la tyrosine kinase, enzyme impliquée dans le développement de certains cancers. En comparaison avec l'acide kojique qui est la référence du test l'activité, bien qu'un peu plus faible reste tout de même importante, ce qui en fait un anticancéreux potentiel. Dans les études retrouvées dans la littérature, le potentiel antioxydant a été testé par rapport à un flavonoïde et est inférieur à celui-ci, ce qui en fait un antioxydant limité. Nos résultats permettent de montrer une activité antioxydante 20 fois moins élevée que celle du Trolox. La médecine traditionnelle utilise comme drogue les racines et les écorces, il est fort possible que ces parties soient donc plus riches en antioxydants que les feuilles, et expliquerai ainsi l'écart retrouvé.

Curcuma longa L. en revanche est utilisé en tant qu'anti-inflammatoire, antidiabétique, antirhumatismal et même en tant qu'adjuvant dans certains traitements anticancéreux. Cependant, la drogue traditionnellement utilisée est le rhizome qui semble bien plus riche en antioxydants que les feuilles que nous avons étudié. C'est ce qui peut expliquer que dans les tests réalisés, on retrouve une activité antioxydante qui reste peu exceptionnelle par rapport aux autres plantes étudiées, avec une CE_{50} 12 fois plus élevée que celle du Trolox.

Pour les plantes ayant des résultats intermédiaires (*Annona reticulata* L. et *Piper crocatum* Ruiz & Pav), on retrouve aussi de nombreuses utilisations en médecine traditionnelle. *Annona reticulata* L. est utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires, antidiabétiques, et cytotoxiques envers les cellules cancéreuses. Ces effets peuvent s'expliquer par les propriétés antioxydantes observées dans les tests au DPPH. Sa CE_{50} est 4,5 fois plus élevée que le Trolox, on peut donc dire que c'est un bon antioxydant. En ce qui concerne *Piper crocatum* Ruiz & Pav., les décoctions de feuilles fraîches dans l'éthanol ont permis de mettre en évidence de nombreux antioxydants (flavonoïdes, tanins...), qui font que la plante a un effet anticancéreux, hypoglycémiant et anti-inflammatoire. La CE_{50} est également 4,5 fois plus élevée que celle du Trolox. Nos résultats permettent donc de corroborer les utilisations traditionnelles pour ses propriétés antioxydantes.

Les deux *Psidium*s sont connus pour avoir une teneur importante en antioxydants phénoliques et en vitamine C. Les résultats obtenus par les tests au DPPH montrent une activité antioxydante importante, avec des CE_{50} qui sont deux fois plus élevées que celle du Trolox. Pour rappel, les activités retrouvées pour *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine. sont principalement une activité analgésique, antimicrobienne et antiproliférative. L'activité antioxydante a été validée sur l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles. L'utilisation est donc confirmée par rapport aux résultats retrouvés. Des études cliniques concernant les feuilles de *Psidium guajava* L. ont montré notamment un effet cardioprotecteur et hypoglycémiant, ce qui montre bien les effets antioxydants de la plante dans ces pathologies.

Le cocotier est utilisé de différentes façons. En effet, la partie utilisée varie selon les usages et les pays : on peut retrouver le lait de coco, l'enveloppe de la noix de coco, la racine ou l'inflorescence. Cependant, l'utilisation des extraits de feuilles n'est pas retrouvée dans la

littérature. Cependant, au vu des résultats du test au DPPH, celles-ci semblent avoir leur place dans la thérapie antioxydante, avec une CE₅₀ deux fois plus élevée que celle du Trolox.

Hydnophytum formicarum Jack. contient des flavones à fort pouvoir antioxydant. On a vu dans la littérature que les activités antioxydantes et anticancéreuses ont déjà été démontrées. Cependant, les études ont été réalisées sur l'hypocotyle renflé alors que dans cette thèse ce sont les feuilles qui ont été étudiées. Etant donné que les résultats ont été très concluants car l'activité antioxydante est supérieure à celle du Trolox, d'autres études restent à être réalisées sur des extraits différents (solvants : eau, acétate d'éthyle... ; mode d'extraction). Au vu de nos résultats qui restent à compléter, cette plante pourrait dans l'avenir être un très bon candidat pour les traitements anticancéreux ou encore pour le diabète, les maladies cardiovasculaires...

	Anti-inflammatoire	Protecteur cardiovasculaire ou diminution du cholestérol	Anti-diabétique	Anti-rhumatismal	Antiprolifératif ou anticancéreux
<i>Passiflora quadrangularis</i> L.			X		
<i>Annona reticulata</i> L.	X		X		X
<i>Psidium cattleianum</i> Afzel. ex Sabine	X		X		X
<i>Coccoloba uvifera</i> L.		X			
<i>Psidium guajava</i> L.			X	X	X
<i>Cocos nucifera</i> L.	X	X	X		
<i>Hydnophytum formicarum</i> Jack	X	X	X	X	X
<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav	X		X		X
<i>Curcuma longa</i> L.	X		X	X	X

Figure 3-13: Tableau récapitulatif des utilisations liées à l'activité antioxydante des plantes étudiées

Pour conclure, chacune des neuf plantes médicinales tropicales sélectionnées possède une activité antioxydante. Le taux d'antioxydants varie selon de nombreux facteurs. Nous avons vu que selon la drogue sélectionnée (feuille, rhizome, écorce...) l'utilisation est souvent très différente du fait de la différence de composition chimique. De plus, le lieu et la saison de récolte, les conditions de séchage, le choix du solvant utilisé, le mode de préparation des extraits, sont autant de facteurs qui peuvent également influencer sur les différences de composition.

Bibliographie

- (1)** LEVERVE, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), pp.219-224.
- (2)** ROCHETTE, L. (2008). Stress oxydant et sepsis. Réanimation, 17(6), pp.1-4.
- (3)** GAMBINI, J., GRANIER, R. (2013). Effets indésirables des rayons X. EMC - RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE : Principes et techniques – Radioprotection : 1-20.
- (4)** FONTAINE, E., BARNOUD, D., SCHWEBEL, C. AND LEVERVE, X. (2002). Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. Réanimation, 11(6), PP.411-420.
- (5)** FAVIER A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, l'actualité chimique, P 108- 115.
- (6)** GARDES-ALBERT, M., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., ABEDINZADEH, Z., JORE, D. (2003) Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique, n°277-278, p 57- 64.
- (7)** MERCIER, J. AND GODARD, P. (1995). Chimie organique. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes.
- (8)** DEBYDUPONT, G., DEBY, C. AND LAMY, M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène : Current data on the toxicity of oxygen. Réanimation, 11(1), pp.28-39.
- (9)** DELATTRE, J., BEAUDEUX, J. AND BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. 1st ed. Paris: Éditions Tec & doc.
- (10)** DEBY, C. AND GOUTIER, R. (1990). New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. Biochemical Pharmacology, 39(3), pp.399-405.
- (11)** AFONSO, V., CHAMPY, R., MITROVIC, D., COLLIN, P. AND LOMRI, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. Joint Bone Spine, 74(4), pp.324-329.
- (12)** PACHER, P., BECKMAN, J. and LIAUDET, L. (2007). Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. Physiological Reviews, 87(1), pp.315-424.
- (13)** SPECKMANN, B., STEINBRENNER, H., GRUNE, T. AND KLOTZ, L. (2016). Peroxynitrite: From interception to signaling. Archives of Biochemistry and Biophysics, 595, pp.153-160.
- (14)** KOPPENOL, W., MORENO, J., PRYOR, W., ISCHIROPOULOS, H. AND BECKMAN, J. (1992). Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide. Chem. Res. Toxicol., 5(6), pp.834-842.)

- (15)** FONTAINE, É. (2007). Radicaux libres et vieillissement. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42(2), pp.110-115.
- (16)** MIRANDA, K., NIMS, R., THOMAS, D., ESPEY, M., CITRIN, D., BARTBERGER, M., PAOLOCCI, N., FUKUTO, J., FEELISCH, M. AND WINK, D. (2003). Comparison of the reactivity of nitric oxide and nitroxyl with heme proteins. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 93(1-2), pp.52-60.
- (17)** STAMLER, J., SINGEL, D. AND LOSCALZO, J. (1992). Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*, 258(5090), pp.1898-1902.
- (18)** BEAUDEUX J-L, DURAND G. (2011). "Biochimie médicale - Marqueurs actuels et perspectives (2e ed.)" . ; MÉDECINE SCIENCES PUBLICATIONS / LAVOISIER ,Année 9/2011.
- (19)** BELAÏCH, R. and BOUJRAF, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), pp.38-42.
- (20)** AFONSO, V., CHAMPY, R., MITROVIC, D., COLLIN, P. and LOMRI, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7), pp.636-643.
- (21)** NEVIERE, R. (2008). Physiopathologie mitochondriale et syndrome septique. *Réanimation*, 17(3), pp.185-191.
- (22)** GUZY, R. AND SCHUMACKER, P. (2006). Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Experimental Physiology*, 91(5), pp.807-819.
- (23)** DUPIC, L., HUET, O., HARROIS, A. AND DURANTEAU, J. (2010). Hypoxie et fonction mitochondriale. *Réanimation*, 19(5), pp.399-405.
- (24)** DURANTEAU, J. (1998). Intracellular Signaling by Reactive Oxygen Species during Hypoxia in Cardiomyocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 273(19), pp.11619-11624.
- (25)** THERADE-MATHARAN, S. (2004). Reoxygenation after hypoxia and glucose depletion causes reactive oxygen species production by mitochondria in HUVEC. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(5), pp.R1037-R1043.
- (26)** BUDINGER, G. (1998). Hibernation during Hypoxia in Cardiomyocytes : Role of mitochondria as the O₂ sensor. *Journal of Biological Chemistry*, 273(6), pp.3320-3326.
- (27)** INSERM.FR. (2016). Phagocytose. [online] Available at: <http://www.inserm.fr/dossiers-d-information/phagocytose>.
- (28)** DUPRE-CROCHET, S., ERARD, M. AND NUSSE, O. (2013). ROS production in phagocytes: why, when, and where?. *Journal of Leukocyte Biology*, 94(4), pp.657-670.
- (29)** BAEZA, A. and MARANO, F. (2007). Pollution atmosphérique et maladies respiratoires. *médecine/sciences*, 23(5), pp.497-501.

- (30)** RAHMAN, I. AND MACNEE, W. (1996). Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(5), pp.669-681.
- (31)** PINCEMAIL J, MEURISSE M, LIMET R, DEFRAIGNE JO. (1998). Fumée de cigarette : une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées. *Médiasphère*; 78 : 37-9.
- (32)** SELBY, C., DROST, E., WRAITH, P. AND MACNEE, W. (1991). Neutrophil Traffic Through the Lungs in Man. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 624(1), pp.353-354.
- (33)** PETRUZZELLI, S., HIETANEN, E., BARTSCH, H., CAMUS, A., MUSSI, A., ANGELETTI, C., SARACCI, R. AND GIUNTINI, C. (1990). Pulmonary Lipid Peroxidation in Cigarette Smokers and Lung Cancer Patients. *Chest*, 98(4), pp.930-935.
- (34)** JANICKA, M., KOT-WASIK, A., KOT, J. AND NAMIEŚNIK, J. (2010). Isoprostanes-Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), pp.4631-4659.
- (35)** SIGNORINI, C., COMPORTI, M. AND GIORGI, G. (2003). Ion Trap Tandem Mass Spectrometric Determination Of F2-isoprostanes. *Journal Of Mass Spectrometry*, 38(10), PP.1067-1074.
- (36)** HOUZE, P., BAUD, F., MOUY, R., BISMUTH, C., BOURDON, R. AND SCHERRMANN, J. (1990). Toxicokinetics of Paraquat in Humans. *Human & Experimental Toxicology*, 9(1), pp.5-12.
- (37)** BUS, J. AND GIBSON, J. (1984). Paraquat: model for oxidant-initiated toxicity. *Environ Health Perspect*, 55, pp.37-46.
- (38)** BUS, J., AUST, S. AND GIBSON, J. (1974). Superoxide- and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 58(3), pp.749-755.
- (39)** STEFFIN, C. (1996). Paraquat poisoning: Mechanisms, prevention, treatment. *Toxicology*, 106(1-3), p.281.
- (40)** HALENG J, PINCEMAIL J, DEFRAIGNE JO, CHARLIER C, CHAPELLE JP. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. Oct;62(10):628-38.
- (41)** SAHNOUN Z, JAMOSSI K, ZEGHAL KM. (1997). Free radicals and antioxidants: human physiology, pathology and therapeutic aspects. *Thérapie*. Jul-Aug;52(4):251-70.
- (42)** ASSIM.REFER.ORG. (2016). RAISIL. [online] Available at: <http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/raisilf.html>
- (43)** HENRIKSEN, T., MAHONEY, E. AND STEINBERG, D. (1983). Enhanced macrophage degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 3(2), pp.149-159.
- (44)** CHUNG HY, YOKOZAWA T, KIM MS ET AL. (2000). The mechanism of nitric oxide and/or superoxide cytotoxicity in endothelial cells. *Exp Toxicol Pathol*; 52 : 227-33.

- (45)** KINLAY, S., FANG, J., HIKITA, H., HO, I., DELAGRANGE, D., FREI, B., SUH, J., GERHARD, M., CREAGER, M., SELWYN, A. AND GANZ, P. (1999). Plasma α -Tocopherol and Coronary Endothelium-Dependent Vasodilator Function. *Circulation*, 100(3), pp.219-221.
- (46)** RICCIARELLI, R., ZINGG, J. AND AZZI, A. (2000). Vitamin E Reduces the Uptake of Oxidized LDL by Inhibiting CD36 Scavenger Receptor Expression in Cultured Aortic Smooth Muscle Cells. *Circulation*, 102(1), pp.82-87.
- (47)** FAVIER, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), pp.390-396.
- (48)** BONNARD, C., DURAND, A., PEYROL, S., CHANSEAUME, E., CHAUVIN, M., MORIO, B., VIDAL, H. AND RIEUSSET, J. (2008). Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *Journal of Clinical Investigation*.
- (49)** HARANI, H., KOCEÏR, E., ZENATI, A. AND OUADAHI, N. (2014). P115: Stress oxydant et Diabète de type 2 : intérêt du manganèse et du chrome dans le contrôle glycémique chez le patient diabétique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 28, p.S128.
- (50)** GIASSON, B. (2000). Oxidative Damage Linked to Neurodegeneration by Selective α -Synuclein Nitration in Synucleinopathy Lesions. *Science*, 290(5493), pp.985-989.
- (51)** BAROUKI, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences*, 22(3), pp.266-272.
- (52)** WAINSTEN, J. (2009). *Le Larousse Médical*. Paris : Larousse
- (53)** JOHNSON, F. AND GIULIVI, C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), pp.340-352.
- (54)** JAFARI-SCHLUEP, H., KHORIS, J., MAYEUX-PORTAS, V., HAND, C., ROULEAU, G. AND CAMU, W. (2004). Les anomalies du gène superoxyde dismutase 1 dans la sclérose latérale amyotrophique familiale : corrélations phénotype/génotype et implications pratiques. L'expérience française et revue de la littérature. *Revue Neurologique*, 160(1), pp.44-50.
- (55)** AFONSO, V., SANTOS, G., COLLIN, P., KHATIB, A., MITROVIC, D., LOMRI, N., LEITMAN, D. AND LOMRI, A. (2006). Tumor necrosis factor- α down-regulates human Cu/Zn superoxide dismutase 1 promoter via JNK/AP-1 signaling pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 41(5), pp.709-721.
- (56)** LEHUCHER-MICHEL M. P, LESGARDS J. F., DELUBAC O., STOCKER P., DURAND P., PROST M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale*, vol. 30, no21, pp. 1076-1081
- (57)** THÉRON P. (2003). Le sélénium : Un oligo-élément essentiel pour la santé humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 38 (4), p. 250-256
- (58)** HOFFMANN L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA :

shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT).. Biologie cellulaire. Université Louis Pasteur - Strasbourg I,. Français.

(59) STEVENSON, D. AND HURST, R. (2007). Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more?. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22), pp.2900-2916.

(60) HSU, C. AND YEN, G. (2007). Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. *British Journal of Nutrition*, 98(04).

(61) HSU, C., HUANG, S. and YEN, G. (2006). Inhibitory Effect of Phenolic Acids on the Proliferation of 3T3-L1 Preadipocytes in Relation to Their Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.*, 54(12), pp.4191-4197.

(62) *Ars.usda.gov*. (2016). USDA Special Interest Databases on Flavonoids : USDA ARS. [online] Available at: <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md/beltsville-human-nutrition-research-center/nutrient-data-laboratory/docs/usda-special-interest-databases-on-flavonoids>.

(63) RICHARD, T., TEMSAMANI, H., DELAUNAY, J., KRISA, S. AND MÉRILLON, J. (2014). Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), pp.173-180.

(64) DEL RIO, D., RODRIGUEZ-MATEOS, A., SPENCER, J., TOGNOLINI, M., BORGES, G. AND CROZIER, A. (2013). Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), pp.1818-1892.

(65) PEREZ-JIMENEZ, J., FEZEU, L., TOUVIER, M., ARNAULT, N., MANACH, C., HERCBERG, S., GALAN, P. AND SCALBERT, A. (2011). Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93(6), pp.1220-1228.

(66) KÄHKÖNEN, M., HOPIA, A., VUORELA, H., RAUHA, J., PIHLAJA, K., KUJALA, T. AND HEINONEN, M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47(10), pp.3954-3962.

(67) *Sciences-physiques.ac-montpellier.fr*. (2016). [online] Available at: <http://sciences-physiques.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/ORGANIQUE.htm>.

(68) PÉREZ-JIMÉNEZ, J., NEVEU, V., VOS, F. AND SCALBERT, A. (2010). Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Phenol-Explorer Database. *J. Agric. Food Chem.*, 58(8), pp.4959-4969.

(69) *Sciences-physiques.ac-montpellier.fr*. (2016). Les vitamines. [online] Available at: <http://sciences-physiques.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/Famille4/VITAMINES.htm>.

(70) PRYOR, W. (2000). Vitamin E and heart disease : basic science to clinical intervention. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(1), pp.141-164.

(71) LÉGER C. (2000). La vitamine E et la prévention cardiovasculaire. *Ann Biol Clin*, 58 : 527-40

- (72)** PORKKALA-SARATAHO EK, NYSSÖNEN MK, KAIKKONEN JE, POULSEN HE, HAYN EM, SALONEN RM, SALONEN JT (1998). A randomized, single-blind, placebo-controlled trial of the effects of 20 mg alpha-tocopherol on the oxidation resistance of atherogenic lipoproteins. *Am J Clin Nutr*, 68 : 1034-41.
- (73)** MEYDANI SN, MEYDANI M, BLUMBERG JB, LEKA LS, PEDROSA M, DIAMOND R, SCHAEFER EJ (1998). Assessment of the safety of supplementation with different amounts of vitamin E in healthy older adults. *Am J Clin Nutr*, 68 : 311-8.
- (74)** LOSONCZY KG, HARRIS TB, HAVLIK RJ (1996). Vitamin E and vitamin C supplement use and risk of all-cause and coronary heart disease mortality in older persons : the Established Populations for Epidemiologic Studies of the Elderly. *Am J Clin Nutr*, 64 : 190-6
- (75)** MEYER F, BAIRATI I, DAGENAIS GR (1996). Lower ischemic heart disease incidence and mortality among vitamin supplement users. *Can J Cardiol*, 12 : 930-4
- (76)** HOPPE, P. AND KRENNRICH, G. (2000). Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic α -tocopherol in the human: a dispute. *European Journal of Nutrition*, 39(5), pp.183-193.
- (77)** GEY KF (1998). Vitamin E plus vitamin C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors*, 7 : 113-74.
- (78)** MARC, F., DAVIN, A., DEGLENE-BENBRAHIM, L., FERRAND, C., BACCAUNAUD, M. and FRITSCH, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecine/sciences*, 20(4), pp.458-463.
- (79)** LEMOINE, A. (2006). Vitamines dans la pratique clinique de tous les jours. EMC - Traité de médecine AKOS, 1(1), pp.1-7.
- (80)** CARR AC, FREI B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, 69:1086–107.
- (81)** BLOCK G. (1992). Vitamin C status and cancer. Epidemiological of reduced risk. *Ann NY Acad Sci*, 669:280–90.
- (82)** ROCK C. (1997). Carotenoids: biology and treatment. *Pharmacol Ther*; 75 : 185-197.
- (83)** PALACE V.P., KHAPER N., QIN Q., SINGAL P. (1999). Anti-oxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Rad Biol M*, 26 : 746-761.
- (84)** KRINSKY N. (2001). Carotenoids as anti-oxidants. *Nutrition*, 17 : 815-817
- (85)** EDGE R., MCGARVEY D., TRUSCOTT T. (1997). The carotenoids as anti-oxidants - a review. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 41 : 189-200
- (86)** OJIMA, F., SAKAMOTO, H., ISHIGURO, Y. and TERAQ, J. (1993). Consumption of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(4), pp.377-384.

- (87)** ALLARD JP, ROYALL D, KURIAN R, MUGGLI R, JEEJEBHOY KN. (1994). Effects of beta-carotene supplementation on lipid peroxidation in humans. *Am J Clin Nutr.* Apr;59(4):884-90.
- (88)** KARDINAAL, A., VAN'T VEER, P., KOK, F., RINGSTAD, J., GÓMEZ-ARACENA, J., MAZAEV, V., KOHLMEIER, L., MARTIN, B., ARO, A., HUTTUNEN, J., KARK, J., DELGADO-RODRIGUEZ, M., RIEMERSMA, R., MARTIN-MORENO, J., KOK, F., HUTTUNEN, J., KOHLMEIER, L., MARTIN-MORENO, J. and VAN 'T VEER, P. (1993). Antioxidants in adipose tissue and risk of myocardial infarction: the EURAMIC study. *The Lancet*, 342(8884), pp.1379-1384.
- (89)** TOMITA Y, HIMENO K, NOMOTO K, ENDO H, HIROHATA T. (1987). Augmentation of tumor immunity against syngeneic tumors in mice by beta-carotene. *J Natl Cancer Inst.* Apr;78(4):679-81.
- (90)** DUSEK, P., ROOS, P., LITWIN, T., SCHNEIDER, S., FLATEN, T. and 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, pp.193-203.
- (91)** FITSANAKIS, V., ZHANG, N., GARCIA, S. AND ASCHNER, M. (2009). Manganese (Mn) and Iron (Fe): Interdependency of Transport and Regulation. *Neurotoxicity Research*, 18(2), pp.124-131.
- (92)** CHEN, P., CHAKRABORTY, S., MUKHOPADHYAY, S., LEE, E., PAOLIELLO, M., BOWMAN, A. AND ASCHNER, M. (2015). Manganese homeostasis in the nervous system. *J. Neurochem.*, 134(4), pp.601-610.
- (93)** HOET P. (2013). Sélénium et ses composés. *EMC - Pathologie professionnelle et de l'environnement.* 8(2):1-10
- (94)** ROY, M., KIREMIDJIAN-SCHUMACHER, L., WISHE, H., COHEN, M. AND STOTZKY, G. (1994). Supplementation with selenium and human immune cell functions: I. Effect on lymphocyte proliferation and interleukin 2 receptor expression. *Biological Trace Element Research*, 46(1-2), pp.183-183.
- (95)** KIREMIDJIAN-SCHUMACHER, L., ROY, M., WISHE, H., COHEN, M. AND STOTZKY, G. (1994). Supplementation with selenium and human immune cell functions. *Biological Trace Element Research*, 41(1-2), pp.115-127.
- (96)** YU, M., HORNG, I., HSU, K., CHIANG, Y., LIAW, Y. AND CHEN, C. (1999). Plasma Selenium Levels and Risk of Hepatocellular Carcinoma among Men with Chronic Hepatitis Virus Infection. *American Journal of Epidemiology*, 150(4), pp.367-374.
- (97)** YOSHIZAWA, K., WILLETT, W., MORRIS, S., STAMPFER, M., SPIEGELMAN, D., RIMM, E. AND GIOVANNUCCI, E. (1999). Study of Prediagnostic Selenium Level in Toenails and the Risk of Advanced Prostate Cancer. *The Journal of Urology*, p.1388.
- (98)** SCHRAUZER, G. (2001). Nutritional Selenium Supplements: Product Types, Quality, and Safety. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(1), pp.1-4.
- (99)** DUCROS, V. FAVIER, A. (2004). Métabolisme du sélénium. *EMC-Endocrinologie*: 1, 19–28

- (100)** ROUSSEL, A. AND HININGER-FAVIER, I. (2009). Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. EMC - Endocrinologie - Nutrition, 6(2), pp.1-16.
- (101)** BOSCO, M., MOHANASUNDARAM, D., DROGEMULLER, C., LANG, C., ZALEWSKI, P. AND COATES, P. (2010). Zinc and Zinc Transporter Regulation in Pancreatic Islets and the Potential Role of Zinc in Islet Transplantation. *The Review of Diabetic Studies*, 7(4), pp.263-274.
- (102)** BONNEFONT-ROUSSELOT D. (2006). Les antioxydants en pathologie cardiovasculaire. *Sang Thrombose Vaisseaux*.;18(4):192-198.
- (103)** HERCBERG, S., GALAN, P., PREZIOSI, P., BERTRAIS, S., MENNEN, L., MALVY, D., ROUSSEL, A., FAVIER, A. and BRIANÇON, S. (2004). The SU.VI.MAX Study. *Archives of Internal Medicine*, 164(21), p.2335.
- (104)** BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. AND BERSET, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), pp.25-30.
- (105)** POPOVICI C., SAYKOVA I. ET TYLKOWSKI B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. e-Revue de génie industriel [en ligne], Numéro 4. Disponible sur Internet : <http://www.revue-genie-industriel.info/document.php?id=951>. ISSN 1313-8871.
- (106)** Grupiv's Blog. (2016). Método DPPH. [online] Available at: <https://grupiv.wordpress.com/2009/11/03/metodo-dpph>.
- (107)** ALGER, M. (1989). *Polymer science dictionary*. 1st ed. London: Elsevier Applied Science.
- (108)** SALAH, N., MILLER, N., PAGANGA, G., TIJBURG, L., BOLWELL, G. and RICEEVANS, C. (1995). Polyphenolic Flavanols as Scavengers of Aqueous Phase Radicals and as Chain-Breaking Antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 322(2), pp.339-346.
- (109)** HUANG, D., OU, B. and PRIOR, R. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53(6), pp.1841-1856.
- (110)** LOPES-LUTZ, D., ALVIANO, D., ALVIANO, C. AND KOLODZIEJCZYK, P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), pp.1732-1738.
- (111)** ATHAMENA S., CHALGHEM I., KASSAH-LAOUAR A., LAROUI S. ET KHEBRI S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Cuminum cyminum L. *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, No. 1, 2010
- (112)** ROHWER, J. AND DUBOURG-SAVAGE, M. (2002). *Guide des plantes tropicales*. 1st ed. Paris: Delachaux et Niestlé.
- (113)** BENDINI, A., CERRETANI, L., PIZZOLANTE, L., TOSCHI, T., GUZZO, F., CEOLDO, S., MARCONI, A., ANDRETTA, F. AND LEVI, M. (2005). Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of Passiflora spp. extracts. *European Food Research and Technology*, 223(1), pp.102-109.

- (114)** DE CASTRO, P., HOSHINO, A., SILVA, J. AND MENDES, F. (2007). Possible anxiolytic effect of two extracts of *Passiflora quadrangularis* L. in experimental models. *Phytotherapy Research*, 21(5), pp.481-484.
- (115)** COLLIN, S. AND CROUZET, J. (2011). *Polyphénols et procédés*. PARIS: ÉD. TEC & DOC.
- (116)** ORSINI, F., PELLIZZONI, F. AND VEROTTA, L. (1985). Quadranguloside, a cycloartane triterpene glycoside from *Passiflora quadrangularis*. *Phytochemistry*, 25(1), pp.191-193.
- (117)** DHAWAN, K., DHAWAN, S. AND SHARMA, A. (2004). *Passiflora*: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(1), pp.1-23.
- (118)** ANTOGNONI, F., ZHENG, S., PAGNUCCO, C., BARALDI, R., POLI, F. AND BIONDI, S. (2007). Induction of flavonoid production by UV-B radiation in *Passiflora quadrangularis* callus cultures. *Fitoterapia*, 78(5), pp.345-352.
- (119)** YULDASHEVA, L., CARVALHO, E., CATANHO, M. AND KRASILNIKOV, O. (2005). Cholesterol-dependent hemolytic activity of *Passiflora quadrangularis* leaves. *Braz J Med Biol Res*, 38(7).
- (120)** GOME, M., KOUAKOU, K., TOURE, A. AND TRAORE, F. (2012). Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (*Passifloraceae*) chez les rats et les souris. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(5), p.1777.
- (121)** OSORIO, C., DUQUE, C., SUÁREZ, M., EDER SALAMANCA, L. and URUEÑA, F. (2002). Free, glycosidically bound, and phosphate bound flavor constituents of badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp. *Journal of Separation Science*, 25(3), pp.147-154.
- (122)** OKAMOTO, Y., YOSHIZAWA, T., (1994). Angiotensin-converting enzyme inhibitors and aldose reductase inhibitors containing *Passiflora quadrangularis* extracts or vitexin. Patent-Japan Kokai Tokyo Koho-06, 293, 657, 4PP.
- (123)** BARBOSA-FILHO, J., MARTINS, V., RABELO, L., MOURA, M., SILVA, M., CUNHA, E., SOUZA, M., ALMEIDA, R. AND MEDEIROS, I. (2006). Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme (ACE): a review between 1980 - 2000. *Rev. bras. farmacogn.*, 16(3), pp.421-446.
- (124)** JAMKHANDI, P. AND WATTAMWAR, A. (2015). *Annona reticulata* Linn. (Bullock's heart): Plant profile, phytochemistry and pharmacological properties. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(3), pp.144-152.
- (125)** CHAVAN, M., KOLHE, D., WAKTE, P. and SHINDE, D. (2011). Analgesic and Antiinflammatory Activity of Kaur-16-en-19-oic acid from *Annona reticulata* L. Bark. *Phytotherapy Research*, 26(2), pp.273-276.
- (126)** KANDIMALLA, R., DASH, S., KALITA, S., CHOUDHURY, B., MALAMPATI, S., KALITA, K. AND KOTOKY, J. (2016). Bioactive Guided Fractions of *Annona reticulata* L. bark: Protection against Liver Toxicity and Inflammation through Inhibiting Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokines. *Frontiers in Pharmacology*, 7.

- (127)** PATIL S.B., CHAVAN G.M., GHODKE D.S., NAIKWADE N.S., MAGDUM C.S. (2009). Screening of some indigenous plants for their antipyretic activity. *Res J Pharmacol Pharmacodyn.*; 1:143.
- (128)** SINGH J, KUMAR SV, KADAM V. (2012). Antiulcer activity of *Annona reticulata* leaves extract in rats. *Int J Pharm Pharm Sci.*; 4:412-414. 32.
- (129)** NIRMAL S.A., GAIKWAD S.B., DHASADE V.V., DHIKALE R.S., KOTKAR P.V., DIGHE S.S. (2010). Anthelmintic activity of *Annona reticulata* leaves. *Res J Pharm Biol Chem Sci.*; 1:115–118.
- (130)** RAHMAN SM, RASHEDUL MI, RAHMAN S, ET AL. (2011). Antihyperglycemic studies with methanol extract of *Annona reticulata* L. (Annonaceae) and *Carissa carandas* L. (Apocynaceae) leaves in swiss albino mice. *Adv Nat Appl Sci.* ;5:218e222
- (131)** MONDAL SK, MONDAL NB, MAZUMDER UK. (2007). In vitro cytotoxic and human recombinant caspase effect of *Annona reticulata* leaves. *Indian J Pharmacol.* 2007; 39:253–254.
- (132)** SURESH HM, SHIVAKUMAR B, HEMALATHA K, HEROOR SS, HUGAR DS, RAO KR. (2011). In vitro antiproliferative activity of *Annona reticulata* roots on human cancer cell lines. *Pharmacogn Res.*; 3:9-12
- (133)** ROHAM, P., KHARAT, K., MUNGDE, P., JADHAV, M. and MAKHIJA, S. (2016). Induction of Mitochondria Mediated Apoptosis in Human Breast Cancer Cells (T-47D) by *Annona reticulata* L. Leaves Methanolic Extracts. *Nutrition and Cancer*, 68(2), pp.305-311.
- (134)** ISLAM RM, RAHMAN SM, AHMED M, ET AL. (2012). Antinociceptive activity studies with methanol extract of *Annona reticulata* L. (Annonaceae) and *Carissa carandas* L. (Apocynaceae) leaves in Swiss albino mice. *Adv Nat Appl Sci.*; 6:1313-1318.
- (135)** BHALKE RD, CHAVAN MJ. (2011). Analgesic and CNS depressant activities of extracts of *Annona reticulata* Linn. bark. *Phytopharmacology*; 1:160-165.
- (136)** CHAVAN MJ, WAKTE PS, SHINDE DB. (2012). Analgesic and anti-inflammatory activities of the sesquiterpene fraction from *Annona reticulata* L. Bark. *Nat Prod Res.*; 26:1515-1518.
- (137)** ROYAL G. (2012). Formulation and evaluation of herbal ointment for wound healing and anti marking activity by using *Vitis venifera* and *Annona reticulata* seeds extracts. *Pharmatutor Art.* :1349.
- (138)** JAMKHANDE PG, WATTAMWAR AS, PEKAMWAR SS, CHANDAK. (2014). Antioxidant, antimicrobial activity and in silico PASS prediction of *Annona reticulata* Linn. Root extract. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci.*; 3:1-9
- (139)** JAMKHANDE, P., WATTAMWAR, A., KANKUDTE, A., TIDKE, P. and KALASKAR, M. (2016). Assessment of *Annona reticulata* Linn. leaves fractions for in vitro antioxidative effect and antimicrobial potential against standard human pathogenic strains. *Alexandria Journal of Medicine*, 52(1), pp.19-25.

- (140)** GUTIERREZ, R., MITCHELL, S. and SOLIS, R. (2008). Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(1), pp.1-27.
- (141)** PATEL S. (2015). An Underutilized Tropical Plant Psidium cattleianum (Strawberry Guava). Springer International Publishing. pp 7-13.
- (142)** CARRIERE S., RANDRIANASOLO E. ET HENNENFENT J. (2008). « Aires protégées et lutte contre les bioinvasions : des objectifs antagonistes ? Le cas de Psidium cattleianum Sabine (Myrtaceae) autour du parc national de Ranomafana à Madagascar. », *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement [En ligne]*, Volume 8 Numéro 1 | (avril 2008).
- (143)** ALVARENGA, F., MOTA, B., LEITE, M., FONSECA, J., OLIVEIRA, D., DE ANDRADE ROYO, V., E SILVA, M., ESPERANDIM, V., BORGES, A. and LAURENTIZ, R. (2013). In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of Psidium cattleianum Sabine. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(1), pp.280-284.
- (144)** BIEGELMEYER, R., ANDRADE, J., ABOY, A., APEL, M., DRESCH, R., MARIN, R., RASEIRA, M. and HENRIQUES, A. (2011). Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (Psidium cattleianum) and Yellow (Psidium cattleianum var. lucidum) Strawberry Guava Fruit. *Journal of Food Science*, 76(7), pp.C991-C996.
- (145)** SCUR, M., PINTO, F., PANDINI, J., COSTA, W., LEITE, C. AND TEMPONI L. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of Psidium cattleianum Sabine. *Braz. J. Biol.*, 76(1), pp.101-108.
- (146)** HO, R., VIOLETTE, A., CRESSEND, D., RAHARIVELOMANANA, P., CARRUPT, P. and HOSTETTMANN, K. (2012). Antioxidant potential and radical-scavenging effects of flavonoids from the leaves of Psidium cattleianum grown in French Polynesia. *Natural Product Research*, 26(3), pp.274-277.
- (147)** BRIGHENTI FL, LUPPENS SBI, DELBEM ACB, DENG DM, HOOGENKAMP MA, GAETII-JARDIM E JR, DEKKER HL, CRIELAARD W, TEN CATE JM (2008) Effect of Psidium cattleianum leaf extract on Streptococcus mutans viability, protein expression and acid production. *Caries Res* 42:148–154.
- (148)** FLORES, G., WU, S., NEGRIN, A. and KENNELLY, E. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (Psidium guajava) fruits. *Food Chemistry*, 170, pp.327-335.
- (149)** JAIN, N., DHAWAN, K., MALHOTRA, S., SIDDIQUI, S., SINGH, R., (2003). Biochemistry of fruit ripening of guava (Psidium guajava L.). *Compositional and Enzymatic Changes* 58, 309–315.
- (150)** BARTOLOME, A., MANDAP, K., DAVID, K.J., SEVILLA, F., VILLANUEVA, J., (2006). SOS-red fluorescent protein (RFP) bioassay system for monitoring of antigenotoxic activity in plant extracts. *Biosensors and Bioelectronics* 21, 2114–2120.

- (151)** CHEN, K.C., HSIEH, C.L., PENG, C.C., HSIEH-LI, H.M., CHIANG, H.S., HUANG, K.D., PENG, R.Y., (2007). Brain derived prostate cancer DU-145 cells are effectively inhibited in vitro by guava leaf extracts. *Nutrition Cancer* 58, 93–106
- (152)** CHANG, W.S., (1982). Studies on active principles of hypoglycemic effect from *Psidium grajava* (L). Thesis. The Graduate Institute of Pharmacy, Taipei Medical College.
- (153)** MORENO MORALES, S. ET AL. (2008). Three constituents with biological activity from *Coccoloba uvifera* seeds. *Ciencia*. vol.16, n.1, pp. 84-89.
- (154)** SILVEIRA, J., PEREDA, M., EBERLIN, S., DIEAMANT, G. AND DI STASI, L. (2008). Effects of *Coccoloba uvifera* L. on UV-stimulated melanocytes. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 24(6), pp.308-313.
- (155)** ALBANO, P. (2002). *La connaissance des palmiers*. 1st ed. Aix-en-Provence: Édusud.
- (156)** LIMA, E., SOUSA, C., MENESES, L., XIMENES, N., SANTOS JUNIOR, M., VASCONCELOS, G., LIMA, N., PATROCINIO, M., MACEDO, D. and VASCONCELOS, S. (2015). *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Braz J Med Biol Res*, 48(11), pp.953-964.
- (157)** HOSTE H, JACKSON F, ATHANASIADOU S, THAMSBORG SM, HOSKIN SO. (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol*; 22: 253–261.
- (158)** DEBMANDAL, M. and MANDAL, S. (2011). Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(3), pp.241-247.
- (159)** PADUMADASA, C., DHARMADANA, D., ABEYSEKERA, A. and THAMMITIYAGODAGE, M. (2016). In vitro antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of ethyl acetate soluble proanthocyanidins of the inflorescence of *Cocos nucifera* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1).
- (160)** PRACHAYASITTIKUL, S., BURAPARUANGSANG, P., WORACHARTCHEEWAN, A., ISARANKURA-NA-AYUDHYA, C., RUCHIRAWAT, S. and PRACHAYASITTIKUL, V. (2008). Antimicrobial and Antioxidative Activities of Bioactive Constituents from *Hydnophytum formicarum* Jack. *Molecules*, 13(4), pp.904-921.
- (161)** NGUYEN, M. T., AWALE, S., TEZUKA, Y., TRAN, Q. L., WATANABE, H., KADOTA, S. (2004). Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 1414-1421.
- (162)** DARWIS, D., HERTIANI. T., SAMITO. E., (2014). The effects of *Hydnophytum formicarum* ethanolic extract towards lymphocyte, vero and T47d cells proliferation in vitro. *J App Pharm Sci*, 4(06), pp.103-109.
- (163)** BRUNELLO, F. and HICKEY, B. (1973). *The art of dyeing in the history of mankind*. 1st ed. Vicenza: N. Pozza.

- (164)** SAFIHRI, M., FAHMA, F. (2008). Potency of Piper crocatum decoction as an antihyperglycemia in rat strain Sprague dawley. *Hayati Journal Of Biosciences*: 15(1) pp.45-48.
- (165)** WAHJUNI, S., WITA, I. and ASTAWA, I. (2016). Anti-Inflammatory Effect of Red Piper Crocatum Leaves Extract Decrease TNF- α and IL-6 Levels in Wistar Rat with Atherosclerosis. *Bali Medical Journal*, 5(2), p.51.
- (166)** EMRIZAL, FERNANDO, A., YULIANDARI, R., RULLAH, K., INDRAYANI, N., SUSANTY, A., YERTI, R., AHMAD, F., SIRAT, H. and ARBAIN, D. (2014). Cytotoxic Activities of Fractions and Two Isolated Compounds from Sirih Merah (Indonesian red betel), Piper Crocatum Ruiz & Pav. *Procedia Chemistry*, 13, pp.79-84.
- (167)** AZ ADNAN, Z NOER, ZULZANNAH. (2011). Analysis of essential oil components from fresh leaves of Piper crocatum Ruiz & Pav. and Curcuma domestica Val. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15, pp. 17–22.
- (168)** SANDRA, F., WICAKSONO, B., HANDOKO, Y., ARUNG, E., KUSUMA, I., YULIA, D. and PANCAPUTRA, A. (2009). Antiproliferative Effect of the Methanol Extract of Piper crocatum Ruiz & Pav Leaves on Human Breast (T47D) Cells In-vitro. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(4).
- (169)** ALFARABI, M., BINTANG, M., SURYANI, and SAFITHRI, M. (2010). The Comparative Ability of Antioxidant Activity of Piper crocatum in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(4), pp.201-204.
- (170)** SAFITHRI, M., YASNI, S., BINTANG, M. and RANTI, A. (2012). Toxicity Study of Antidiabetics Functional Drink of Piper crocatum and Cinnamomum burmannii. *HAYATI Journal of Biosciences*, 19(1), pp.31-36.
- (171)** JANSEN, P. and CARDON, D. (2005). *Colorants et tanins*. Wageningen: Fondation Prota.
- (172)** KRISHNASWAMY, K. (2006). *Turmeric, the salt of the orient of the spice of life*. 1st ed. New Delhi: Allied Publishers.
- (173)** REYNAL, B. AND MULTON, J. (2009). *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires*. Paris: Éd. Tec & Doc.
- (174)** KIM, D., KU, S., LEE, W. AND BAE, J. (2012). Barrier protective activities of curcumin and its derivative. *Inflammation Research*, 61(5), pp.437-444.
- (175)** SWIERCZYŃSKA MK, KRECISZ B. (1998). Occupational skin changes in persons working in contact with food spices. *Med Pr.*; 49(2): 187-90.
- (176)** COUTEAUX H. (2009). *Plantes et allergies. Jardins, environnement et santé Jardins, environnement et santé*, 11e colloque scientifique de la SNH.
- (177)** JAMES, M., IWUJI, C., IRVING, G., KARMOKAR, A., HIGGINS, J., GRIFFIN-TEAL, N., THOMAS, A., GREAVES, P., CAI, H., PATEL, S., MORGAN, B., DENNISON, A., METCALFE, M., GARCEA, G., LLOYD, D., BERRY, D., STEWARD, W., HOWELLS, L. AND BROWN, K. (2015). Curcumin inhibits cancer stem cell phenotypes in ex vivo models of colorectal liver metastases,

and is clinically safe and tolerable in combination with FOLFOX chemotherapy. *Cancer Letters*, 364(2), pp.135-141.

(178) MORO-BURONZO, A. (2011). *Les incroyables vertus du curcuma*. Genève-Bernex (Suisse): Jouvence éd.

(179) ARNAL-MORVAN, B. AND LAGANIER, M. (2015). *Anticancer du sein*. 1st ed. Eyrolles.

(180) CHENG AL, HSU CH, LIN JK, HSU MM, HO YF, SHEN TS, KO JY, LIN JT, LIN BR, MING-SHIANG W, YU HS, JEE SH, CHEN GS, CHEN TM, CHEN CA, LAI MK, PU YS, PAN MH, WANG YJ, TSAI CC, HSIEH CY. (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or premalignant. *Anticancer Res*. Jul-Aug;21(4B):2895-900.

(181) SHARMA RA, MCLELLAND HR, HILL KA, IRESON CR, EUDEN SA, MANSON MM, PIRMOHAMED M, MARNETT LJ, GESCHER AJ, STEWARD WP. (2001). Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral Curcuma extract in patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 7(7):1894-900.

Annexes : résultats détaillés des tests au DPPH

<i>Psidium cattleinum</i> L.						
	Témoin	S1	S2	S3	S4	S5
Solution (ml)	0	0,6	0,4	0,3	0,2	0,1
MeOH (ml)	2	1,4	1,6	1,7	1,8	1,9
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,416	0,277	0,208	0,139	0,069
Absorbance	1,186	0,182	0,198	0,261	0,706	0,779
		0,183	0,199	0,278	0,694	0,779
		0,186	0,197	0,285	0,728	0,786
Moyenne		0,184	0,198	0,275	0,781	0,709
Ecart-type		0,002	0,001	0,012	0,004	0,017
% consommé		84,65	83,31	77,99	40,47	34,32
		84,57	83,22	76,56	41,48	34,32
		84,32	83,39	75,97	38,62	33,73
Moyenne		84,51	83,31	76,84	40,19	34,12
Ecart-type		0,18	0,08	1,04	1,45	0,34

<i>Coccoloba uvifera</i> L.						
	Témoin	S1	S2	S3	S4	S5
Solution (ml)	0	2	1,9	1,8	1,7	1,6
MeOH (ml)	2	0	0,1	0,2	0,3	0,4
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		1,371	1,302	1,234	1,165	1,097
Absorbance	1,186	0,643	0,699	0,702	0,735	0,756
		0,638	0,679	0,704	0,727	0,754
		0,639	0,682	0,703	0,735	0,757
Moyenne		0,640	0,687	0,703	0,732	0,756
Ecart-type		0,003	0,011	0,001	0,005	0,002
% consommé		45,78	41,06	40,81	38,03	36,26
		46,21	42,75	40,64	38,70	36,42
		46,12	42,50	40,73	38,03	36,17
Moyenne		46,04	42,10	40,73	38,25	36,28
Ecart-type		0,22	0,91	0,08	0,39	0,13

<i>Annona reticulata</i> L.						
	Témoin	S1	S2	S3	S4	S5
Solution (ml)	0	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
MeOH (ml)	2	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,335	0,268	0,201	0,134	0,067
Absorbance	1,186	0,644	0,769	0,906	1,015	1,155
		0,632	0,757	0,884	1,019	1,145
		0,638	0,76	0,91	1,02	1,156
Moyenne		0,638	0,762	0,900	1,018	1,152
Ecart-type		0,006	0,006	0,014	0,003	0,006
% consommé		45,70	35,16	23,61	14,42	2,61
		46,71	36,17	25,46	14,08	3,46
		46,21	35,92	23,27	14,00	2,53
Moyenne		46,21	35,75	24,11	14,17	2,87
Ecart-type		0,51	0,53	1,18	0,22	0,51

<i>Cocos nucifera</i> L.							
	Témoin	S1	S2	S'1	S'2	S'3	S'4
Solution (ml)	0	0,4	0,2	1,5	1,3	1	0,7
MeOH (ml)	2	1,6	1,8	0,5	0,7	1	1,3
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,299	0,150	0,112	0,097	0,075	0,052
Absorbance	1,186	0,192	0,522	0,627	0,699	0,843	0,944
		0,19	0,54	0,659	0,74	0,823	0,955
		0,192	0,547	0,675	0,738	0,808	0,926
Moyenne		0,191	0,536	0,654	0,726	0,825	0,942
Ecart-type		0,001	0,013	0,024	0,023	0,018	0,015
% consommé		83,81	55,99	47,13	41,06	28,92	20,40
		83,98	54,47	44,44	37,61	30,61	19,48
		83,81	53,88	43,09	37,77	31,87	21,92
Moyenne		83,87	54,78	44,88	38,81	30,47	20,60
Ecart-type		0,10	1,09	2,06	1,95	1,48	1,23

Curcuma longa L.						
	Témoïn	S1	S2	S3	S4	S5
Solution (ml)	0	2	1,8	1,6	1,4	1,2
MeOH (ml)	2	0	0,2	0,4	0,6	0,8
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		1,341	1,207	1,073	0,939	0,805
Absorbance	1,186	0,483	0,519	0,572	0,627	0,694
		0,476	0,527	0,573	0,632	0,685
		0,465	0,519	0,575	0,628	0,686
Moyenne		0,475	0,522	0,573	0,629	0,688
Ecart-type		0,009	0,005	0,002	0,003	0,005
% consommé		59,27	56,24	51,77	47,13	41,48
		59,87	55,56	51,69	46,71	42,24
		60,79	56,24	51,52	47,05	42,16
Moyenne		59,98	56,01	51,66	46,96	41,96
Ecart-type		0,77	0,39	0,13	0,22	0,42

Piper crocatum Ruiz & Pav.						
	Témoïn	S1	S2	S3	S4	S5
Solution (ml)	0	1	0,8	0,6	0,4	0,2
MeOH (ml)	2	1	1,2	1,4	1,6	1,8
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,667	0,533	0,400	0,267	0,133
Absorbance	1,186	0,221	0,215	0,427	0,703	0,971
		0,225	0,215	0,433	0,688	0,971
		0,223	0,219	0,431	0,681	0,971
Moyenne		0,223	0,216	0,430	0,691	0,971
Ecart-type		0,002	0,002	0,003	0,011	0,000
% consommé		81,37	81,87	64,00	40,73	18,13
		81,03	81,87	63,49	41,99	18,13
		81,20	81,53	63,66	42,58	18,13
Moyenne		81,20	81,76	63,72	41,77	18,13
Ecart-type		0,17	0,19	0,26	0,95	0,00

<i>Passiflora quadrangularis</i> L.							
	Témoin	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Solution (ml)		2	1,8	1,6	1,4	1,2	1
MeOH (ml)		0	0,2	0,4	0,6	1	1
DPPH (ml)		1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		1,344	1,210	1,075	0,941	0,806	0,672
Absorbance	1,168	0,187	0,288	0,335	0,408	0,481	0,566
		0,192	0,272	0,341	0,413	0,488	0,556
		0,19	0,263	0,332	0,405	0,481	0,549
Moyenne		0,190	0,274	0,336	0,409	0,483	0,557
Ecart-type		0,003	0,013	0,005	0,004	0,004	0,009
% consommé		83,99	75,34	71,32	65,07	58,82	51,54
		83,56	76,71	70,80	64,64	58,22	52,40
		83,73	77,48	71,58	65,33	58,82	53,00
Moyenne		83,76	76,51	71,23	65,01	58,62	52,31
Ecart-type		0,22	1,08	0,39	0,35	0,35	0,73

<i>Psidium guajava</i> L.						
	Témoin	S1	S'1	S'2	S'3	S'4
Solution (ml)	0	0,2	1,5	1,3	1	0,7
MeOH (ml)	2	1,8	0,5	0,7	1	1,3
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,135	0,102	0,088	0,068	0,047
Absorbance	1,137	0,61	0,774	0,826	0,9	0,945
		0,633	0,773	0,826	0,901	0,919
		0,625	0,776	0,829	0,904	0,938
Moyenne		0,623	0,774	0,827	0,902	0,934
Ecart-type		0,012	0,002	0,002	0,002	0,013
% consommé		46,35	31,93	27,35	20,84	16,89
		44,33	32,01	27,35	20,76	19,17
		45,03	31,75	27,09	20,49	17,50
Moyenne		45,24	31,90	27,26	20,70	17,85
Ecart-type		1,03	0,13	0,15	0,18	1,18

Hydnophytum formicarum Jack.						
	Témoïn	S1	S'1	S'2	S'3	S'4
Solution (ml)	0	0,1	0,7	0,6	0,5	0,4
MeOH (ml)	2	1,9	1,3	1,4	1,5	1,6
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,067	0,047	0,040	0,034	0,027
Absorbance	1,168	0,289	0,473	0,562	0,637	0,755
		0,315	0,449	0,554	0,668	0,747
		0,281	0,468	0,561	0,646	0,756
Moyenne		0,295	0,463	0,559	0,650	0,753
Ecart-type		0,018	0,013	0,004	0,016	0,005
% consommé		75,26	59,50	51,88	45,46	35,36
		73,03	61,56	52,57	42,81	36,04
		75,94	59,93	51,97	44,69	35,27
Moyenne		74,74	60,33	52,14	44,32	35,56
Ecart-type		1,52	1,08	0,37	1,37	0,42

Trolox						
	Témoïn	S1	S1	S1	S1	S1
Solution (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
MeOH (ml)	2	1,8	1,6	1,8	1,2	1
DPPH (ml)	1	1	1	1	1	1
Concentration (mg.ml ⁻¹)		0,025	0,050	0,075	0,100	0,125
Absorbance	1,168	1,091	0,870	0,655	0,428	0,207
		1,080	0,862	0,648	0,428	0,186
		1,080	0,866	0,644	0,424	0,202
Moyenne		1,084	0,866	0,649	0,427	0,198
Ecart-type		0,006	0,004	0,006	0,002	0,011
% consommé		6,59	25,51	43,92	63,36	82,28
		7,53	26,20	44,52	63,36	84,08
		7,53	25,86	44,86	63,70	82,71
Moyenne		7,22	25,86	44,43	63,47	83,02
Ecart-type		0,54	0,34	0,48	0,20	0,94

Herbal medicines and antioxidants

Background : The antioxidants allow the neutralization of the free radicals at the origin of molecular damages and numerous pathologies.

Objective : The purpose of this study is to evaluate the antioxidant activity of nine medicinal plants harvested in the tropical greenhouse from the Henri Gaussen Botanical Garden in Toulouse, namely *Passiflora quadrangularis* L., *Annona reticulata* L., *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine, *Psidium guajava* L., *Coccoloba uvifera* L., *Cocos nucifera* L., *Hydnophytum formicarum* Jack., *Piper crocatum* L. et *Curcuma longa* L.

Methods : The dried and pulverized plants are extracted in methanol. Then, these diluted extracts are tested with DPPH. After 40 minutes of reaction in the dark, the absorbance of the solutions is measured. The antioxidizing capacity (CE_{50}) is compared with a reference molecule, the Trolox.

Results and conclusion : The DPPH tests performed are all positive therefore these nine plants tested present proven antioxidant properties. The comparison was made with regard to Trolox ($CE_{50} = 0,08 \text{ mg.ml}^{-1}$). One of the plants stands out for its strong antioxidant activity, it is about *Hydnophytum formicarum* Jack with a CE_{50} of $0,04 \text{ mg.ml}^{-1}$. This relatively little studied plant is nevertheless used traditionally, especially in Thailand as antiinflammatory, antidiabetic and possesses an antiproliferative activity on cancer cells.

RÉSUMÉ

Contexte : Les antioxydants permettent la neutralisation des radicaux libres à l'origine de dégradations moléculaires et de nombreuses pathologies.

Objectifs : Le but de l'étude est d'évaluer l'activité antioxydante de neuf plantes médicinales récoltées dans la serre tropicale du Jardin Botanique Henri Gaussen à Toulouse, à savoir *Passiflora quadrangularis* L., *Annona reticulata* L., *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine, *Psidium guajava* L., *Coccoloba uvifera* L., *Cocos nucifera* L., *Hydnophytum formicarum* Jack., *Piper crocatum* L. et *Curcuma longa* L.

Méthodes : Les plantes séchées et pulvérisées sont extraites au méthanol. Ensuite, ces extraits dilués sont testés au DPPH. Après 40 minutes de réaction, l'absorbance des solutions est mesurée. La capacité antioxydante (CE₅₀) est comparée à une molécule de référence, le Trolox.

Résultats et discussion : Les tests au DPPH réalisés étant tous positifs, les neuf plantes testées présentent des propriétés antioxydantes. La comparaison a été faite par rapport au Trolox (CE₅₀ = 0,08 mg.ml⁻¹). Une des plantes se démarque par sa forte activité antioxydante, il s'agit d'*Hydnophytum formicarum* Jack. avec une CE₅₀ de 0,04 mg.ml⁻¹. Cette plante a été relativement peu étudiée, néanmoins elle est utilisée notamment en Thaïlande en tant qu'anti-inflammatoire, antidiabétique et possède une activité antiproliférative sur des cellules cancéreuses.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : Antioxydant – Plante médicinale – Espèce réactive de l'oxygène – Radicaux libres – *Passiflora quadrangularis* L. – *Annona reticulata* L. – *Psidium cattleianum* Afzel. ex Sabine – *Coccoloba uvifera* L. – *Psidium guajava* L. – *Cocos nucifera* L. – *Hydnophytum formicarum* Jack. – *Piper crocatum* Ruiz & Pav. – *Curcuma longa* L.

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Paul Sabatier – Toulouse III
Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35, chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex 9

Directeur de thèse : EL BABILI Fatiha