

## **LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES**

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ATCG** : Adénine, tymine, cytosine, guanine

**DPPH** : 2,2- diphényl- picryl -hydraxyl

**EOA** : Espéces oxygénées activées

**G6PD** : Gluco-6-phospho désydrogénase

**GSH** : Glutathion réduit

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**HOCl** : Hydroxyde de chlore

**KDa** : Kilo daltonne

**LDL**: Low Density Lipoprotein

**NADPH**: Nicotinamideadéninedinucléotide phosphate

**NO**: Monoxyde d'azote

**O<sub>2</sub>**: Oxygène

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**pH** : Potentiel hydrogène

**RCO** : Racines du *Cassia occidentalis*

**RCS**: Reactivchloro species

**RNS**: Reactiv nitro species

**ROS**: Reactiv oxygen species

**SOD**: Superoxyde dismutase

**µg** : Microgramme

**UV** : Ultra-violet

## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1 : Déséquilibre entre les molécules pro-oxydantes et les systèmes de défenses antioxydantes lors du stress oxydant.....	21
Figure 2 : Structure l'acide L-ascorbique ( Floral et al. 2008).....	26
Figure 3 : Plante entière du <i>Cassia occidentalis</i> .....	35
Figure 4 : Feuille et fleur du Cassia occidentalis .....	36
Figure 5 : Action de la solution éthanolique d'acide ascorbique sur le DPPH...	45
Figure 6 : Action de l'extrait éthanolique des racines de <i>Cassia occidentalis</i> sur le DPPH.....	47
Figure 7 : Résultats cumulatifs des effets de l'acide ascorbique et des extraits de <i>Cassia occidentalis</i> sur le radical DPPH.....	48

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau I : Effet piégeur de l'acide ascorbique sur le radical DPPH .....	45
Tableau II : Effet piégeur de l'extrait éthanolique des racines de <i>Cassia occidentalis</i> sur le radicale DPPH. ....	46

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION .....	1
PREMIERE PARTIE: .....	4
REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
Chapitre I :.....	5
Le stress oxydatif.....	5
I. Définition .....	6
II. Origine Du stress oxydant .....	6
II.1 : Origines internes des radicaux libres .....	7
II.1.2. Mécanisme cellulaire de production des radicaux libres .....	9
II.1.2.1. Le radical superoxyde ( $\text{SO}_2^-$ ).....	10
II.1.2.2 Le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).....	10
II.1.2.3. Production de radical hydroxyle ( $\text{OH}_2^-$ ) .....	11
II.2. Origines externes des radicaux libres .....	12
II. 3. Actions biologiques des radicaux libres .....	12
II.2.1. Dans les conditions physiologiques normales.....	13
II.2.2. Dans les conditions pathologiques .....	13
III. Les conséquences pathologies du stress oxydatif .....	14
III.1. Cancer.....	15
III.1.1. Définition.....	15
III.1.2. Stress oxydatif et cancer.....	15
III.2. Les pathologies cardiovasculaires.....	16
III.2.1. Définition.....	16
III.2.2. Rôle du stress oxydatif dans les pathologies cardiovasculaires.....	16
III .3. Le Diabète .....	17
III.3.1. Définition.....	17
III.3.2. Diabète et stress oxydatif .....	17
III .4 Les affections ophtalmiques.....	18
III.4.1 Définition.....	18
III.4.2 stress oxydatif et affections ophtalmique .....	18

III.5 Les maladies du système nerveux .....	19
III.5.1 Définition.....	19
III.5.2 Rôle du stress oxydatif dans les maladies du système nerveux .....	19
III.6 Le vieillissement.....	20
III.6.1Définition.....	20
III.6.2 Rôle du stress oxydatif dans le vieillissement .....	20
I. Les Antioxydants .....	20
IV.1. Historique.....	20
IV.2. Définition .....	21
IV.3. Utilisation des antioxydants .....	22
IV.3.1. Les Antioxydants naturels.....	22
IV.3.1.1.Les antioxydants andogènes .....	22
IV.3.1.1.1. Les Antioxydants enzymatiques .....	22
IV.1.1.2. Les antioxydants non enzymatiques .....	24
IV.3.1.2. Les antioxydants exogènes .....	25
IV.3.1.2.1. Les Vitamines .....	25
IV.3.1.2.2. Les oligoéléments .....	27
IV.3.1.2.3. Les caroténoïdes.....	28
VI.3.1.2.4. Les polyphénols .....	28
IV.3.2. Les Antioxydants synthétiques .....	29
IV.3.3. Autres antioxydants.....	29
Chapitre II : .....	32
Données de la littérature de <i>Cassia occidentalis</i> .....	32
I. Classification.....	33
I.1. Place systématique de l'espèce .....	33
II. Etudes botaniques .....	34
II.1. Habitation et répartitions géographique .....	34
II.2. Descriptions de la plante.....	34
III. Usages .....	35
III.1. Racine .....	35

III.2.tige .....	35
III.3. Feuille .....	36
IV. Chimie de la plante .....	36
V. Etude pharmacologique et toxicologie de la plante .....	37
V.1. Etude pharmacologie .....	37
V.2. Etude toxicologie.....	37
Chapitre 1 : .....	39
Méthodologie Générale .....	39
I. Cadre d'étude et objectifs .....	40
I.1. Cadre d'étude .....	40
I.2. Objectif d'étude.....	40
II. Matériel et réactifs .....	40
II.1. Matériel.....	40
II.2. Réactifs .....	41
III. Méthodes d'étude .....	41
III.1. Extraction .....	41
III.2. Mode opératoire .....	42
Discussion .....	49
Conclusion.....	49
Références bibliographiques .....	49

## **INTRODUCTION**

L'oxygène est indispensable à la vie mais il a une propriété toxique : c'est l'effet paradoxe de l'oxygène. L'oxygène que nous respirons est transporté par les globules rouges pour être distribué pour tous l'organisme. Il diffuse à travers les membranes cellulaires et parvient à la mitochondrie qui est le central énergétique de nos cellules. L'oxygène participe à la fabrication des radicaux libres en captant les électrons libre le long de la chaîne de transport, donc l'oxygène passe dans des formes très toxiques appelées dérives actifs de l'oxygène, les premiers radicaux libres de l'organisme.

Dans les circonstances quotidiennes normales, les ERO sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (**Favier A. et al., 2003**). Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydants/antioxydants est en équilibre. Cette dernière peut être rompue pour diverses raisons en faveur du système pro-oxydant et est alors à l'origine d'un stress oxydant.

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses anti oxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ERO dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires.

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses anti oxydantes qui est composé d'enzymes (supéroxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruleoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases.

A cela s'ajoutent, les antioxydants apportés par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque.

Au cours de ces dernières années, de très nombreuses études épidémiologiques ont montré très clairement que la consommation régulière de fruits et légumes riches en antioxydants permettait de diminuer l'incidence de l'apparition des maladies cardiovasculaires et du cancer. Dès lors la stratégie de mise en œuvre du régime alimentaire avec des antioxydants, en particulier dérivés de sources naturelles, devient de plus en plus convaincante. La présente étude a pour objectif de mettre en évidence l'activité antioxydante *in vitro* d'un extrait éthalonique des racines du *Cassia occidentalis* qui est une plante très utilisée en traditionnelle africaine.

Notre étude comprendra deux grandes parties :

- Une première partie comprenant une revue bibliographique consacrée à une revue bibliographique de *Cassia occidentalis*, aux généralités sur le stress oxydant et les antioxydants.
- Une deuxième partie qui va porter sur l'étude expérimentale des propriétés anti oxydantes de l'extrait éthanoïque des racines du *Cassia occidentalis*.

**PREMIERE PARTIE:  
REVUE DE LA LITTERATURE**

**Chapitre I :**  
**Le stress oxydatif**

## **I. Définition**

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses anti- oxydantes. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipide et acide nucléiques. Les radicaux libres sont une formes particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire(ou non apparié) (**Soares A.F.et al., 2005**).

## **II. Origine Du stress oxydant**

La découvertes d'espèces chimiques radicalaires présente normalement dans l'organisme a boulversé notre compréhension des mècanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produite par divers mècanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organismes à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou resulter de phénomènes toxiques exogène et l'organisme va devoir se proteger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réaction énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense d'ailleurs adaptifs par rapport au niveau des radicaux présents. Dans ces circonstances normales on dit une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation dans les ischémie /reperfusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydant apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo- éléments, présents en quantité limité dans l'alimentation. Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétique responsable d'une mauvaise codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante ; soit synthétisant un antioxydant(comme la

gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion) soit regénérant un antioxydant ; soit couplant la défaillance en énergie (comme la G6PD) ; soit d'un promoteur de ces mêmes gènes que la mutation rendra incapable de réagir à un excès de radicaux. Généralement ; le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis ; objet de la défaillance (**Favier A. et al., 2003**). Les antitoxines oxydantes sont souvent des radicaux libres, c'est-à-dire des espèces chimiques qui possèdent un électron célibataire ou non apparié sur la dernière couche électronique. Cet électron célibataire n'est pas compensé ce qui provoque des dérèglements dans leur champs magnétique ; rendant ainsi ces espèces très instables. Elles vont alors tenter de récupérer des électrons sur d'autres molécules comme des substrats biologiques en les oxydants (**Auberval N. et al., 2010**).

## II.1 : Origines internes des radicaux libres

**Le radical hydroxyl (OH<sup>-</sup>)** : quand ils ne sont pas arrêtés par la couche d'ozone, les rayons gamma du rayonnement solaire cassent les molécules d'eau contenues dans le corps, pour donner le redoutable radical hydroxyl. Qui peut aussi apparaître lors de l'exposition aux rayons X et aux radiations nucléaires.

**Le radical superoxyde (SO<sup>2-</sup>)** : comme déjà vu, 5% de l'oxygène que nous absorbons pour brûler les aliments, s'échappe sous la forme du radical superoxyde. Les globules blancs du système immunitaire utilisent également ce radical pour éliminer bactéries et virus. Au total, nous n'en fabriquons pas loin de 2 kg tous les ans !

**Le radical peroxynitrite (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)** : il est produit par les globules blancs, lors de leur rencontre avec le radical superoxyde.

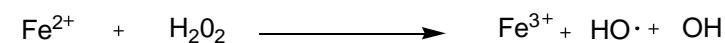
**Le monoxyde d'azote (NO)** : il est généré par les parois des vaisseaux sanguins et par certaines cellules cérébrales.

**Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )** : le superoxyde est décomposé en peroxyde d'hydrogène, qui n'est pas un radical libre, mais qui, en présence de fer, peut créer un radical hydroxyle.

**L'oxygène singulet( $1O_2$ )**: cette forme activée de l'oxygène est produite par les rayons ultraviolets. Elle peut s'attaquer à l'ensemble des constituants de la cellule. Elle est à l'origine des rides, mais aussi des cancers de la peau (**Auberval N. et al., 2010**).

### **II.1.1.La production interne de ROS à partir de chaîne respiratoire**

La naissance d'un radical libre se fait de la façon suivante : 5% de l'oxygène que nous inspirons se transforme en un dangereux radical libre appelé « superoxyde ». En effet, pour fournir de l'énergie à partir des aliments que nous ingérons, nos cellules font intervenir une série de réactions au cours desquelles un électron passe d'une molécule à l'autre, formant une espèce de courant électrique. Une fois sur vingt environ, cet électron échappe à son transporteur pour se coller à l'oxygène, le transformant en super oxyde (**Haleng J. et al .,2007**). Le précurseur des ROS ; l'anion super oxyde  $O_2^-$  peut provenir de plusieurs sources cellulaires. Il est formé après réduction de l'oxygène  $O_2$  par un électron et en présence d'un cofacteur NADPH. Cet anion est très instable et peut traverser la membrane plasmique(**Mao et al., 1992**).Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases ou COX, les lipo-oxygénases, les nitric oxyde synthase (NOS), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse(cytochromeP450) et celles de la chaîne transport des électrons dans la mitochondrie(**Cai et al.,2000**).



Les NOS génèrent normalement du monoxyde d'azote NO, mais lorsque la concentration son cofacteur la tétrahydrobioptéridine (BH4) diminue, elle produit O<sub>2</sub><sup>-</sup> à la place du NO.

Les NOS peuvent réagir avec l'anion superoxyde pour former des peroxynitrites un composé oxydant secondaire. Les superoxydes dismutase (SOD) vont ensuite disputer l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est relativement stable et peut diffuser au travers les membranes. Cette molécule donne ensuite via la réaction de Fenton (non enzymatique) une entité très réactive, le radical hydroxyle OH<sup>-</sup>. Le peroxyde d'hydrogène peut également entrer dans une voie alternative et être converti en eau par les enzymes catalase et le glutathion peroxydase (**Favier A. et al., 2003**).

### II.1.2. Mécanisme cellulaire de production des radicaux libres

Ils existent majoritairement trois grandes familles d'espèces réactives :

- ⊕ Les espèces réactives de l'oxygène ou ROS (reactiv oxygen species) issus de la réduction incomplète de l'oxygène, dont le précurseur est l'anion super oxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Ils sont à l'origine de la formation d'autres ROS comme le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle (•OH). L'oxygène singlet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) est également une entité oxydante.
- ⊕ Les espèces réactives de l'azote ou RNS (reactiv nitrogen species) qui donnent entre autre des poly nitrite (ONOO<sup>-</sup>) ; du monoxyde d'azote NO et le radical peroxyde (ROO<sup>-</sup>)
- ⊕ Les espèces réactives du chlore ou RCS (reactiv chlorine species) comme l'acide hypochlorique, HOCl (**Auberval N. et al., 2010**).

### **II.1.2.1. Le radical superoxyde ( $\text{SO}_2^-$ )**

Il est principalement formé lors de la chaîne de transport des électrons ; au niveau des complexes I et III de la membrane interne des mitochondries ; sous l'influence du coenzyme Q10 ; de l'enzyme NADH-deshydrogénase et en présence d'oxygène (Sayre et al., 2008). Le radical superoxyde est également formé sous l'influence de métalloenzymes endommagées ou altérées par mutation génétique, et peut être produit par des NADPH oxydases au niveau des membranes des cellules du système immunitaire où il contribue à l'action bactéricide. Les enzymes xanthine oxydases rencontrées dans le cytosol de pratiquement tous les tissus sont capables de produire des radicaux superoxydes à partir de la base purique nucléotide hypoxanthine et d'oxygènes, et pourraient avoir des implications particulièrement en cas d'ischémie-reperfusion (Aguilaniu et al., 1998 ; Lamprecht et al., 2004). La réactivité du radical superoxyde est limitée et son action sera plus le résultat des produits beaucoup plus agressifs qui en sont dérivés, en particulier le radical hydroxyle ( $\cdot\text{OH}$ ). Fruit d'études majoritairement *in vitro*, avec toutes les incertitudes qu'elles peuvent comporter quant à leur transposition *in vivo*, il y a encore un manque de connaissance pour déterminer les mécanismes de production des ERO dans les mitochondries et leur importance relative (Clarkson et al., 2000 ; Finaud et al., 2006b ; Sayre et al., 2008 ; Goto et al., 2008). Dans le cadre de l'effort musculaire, la formation de radical super oxyde peut provenir de 3 sources (mitochondriale, NADPH oxydase et xanthine oxydase) dont il est difficile de déterminer la prévalence (Hellsten et al., 2007 ; Chen Q. et al., 1992).

### **II.1.2.2 Le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )**

Au niveau de la mitochondrie, sous l'action catalytique du superoxyde dismutase (SOD), le radical superoxyde ( $\text{SO}_2^-$ ) est réduit en peroxyde d'hydrogène. L' $\text{H}_2\text{O}_2$  bien que n'étant pas un radical libre joue un rôle important

dans le stress oxydant. Il est non ionisé et de faible charge ce qui facilite sa diffusion au travers des membranes mitochondriales et cellulaires, ceci en fait un vecteur important de diffusion du radical hydroxyle ( $\cdot\text{OH}$ ), dont il est précurseur par réaction de Fenton/Haber-Weiss (**Clarkson et al., 2000 ; Van Helden et al., 2009**). Son rôle facilitateur en fait un des agents les plus actifs des dommages causés par oxydation aux macromolécules (**Niess et al., 1996 ;Spiteller et al., 2006 ; Duarte et al., 2007 ; Hempel et al., 2009 ;Van Helden et al. 2009**). Il est également transformé en ERO (HOCl,  $\cdot\text{OH}$ ) par les myéloperoxydases leucocytaires lors de la réaction inflammatoire qui peut accroître son effet toxique (**Finaud et al., 2006b ; de Souza et al., 2006**). D'un autre côté, l' $\text{H}_2\text{O}_2$  peut participer au système antioxydant en étant transformé par deux voies: en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$  par la catalase ou en  $\text{H}_2\text{O}$  par la glutathion peroxydase (**Biesalski et al., 2001**), et à faible concentration il active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire, la régulation du calcium (**Mansart A. et al.,2011**).

### **II.1.2.3. Production de radical hydroxyle ( $\text{OH}_2^\cdot$ )**

Le radical hydroxyle est extrêmement puissant et réagit indifféremment avec toutes les macromolécules, auxquelles il a un accès facilité par l' $\text{H}_2\text{O}_2$  (**Duarte et al., 2007 ; Hempel et al., 2009 ; Van Helden et al., 2009**). Il est produit à partir du  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou de l'oxyde nitrique, la réaction de Fenton/Haber-Weiss et les myéloperoxydases des cellules du système immunitaire en sont les sources principales. Le radical hydroxyle est un des oxydants les plus réactifs du système biologique, toutefois, sa courte  $\frac{1}{2}$  vie d'approximativement 10-9 secondes en réduit considérablement la potentialité (**Clarksson et al., 2000 ; Finaud et al., 2006b ; Vasconcelos et al., 2007 ; Sayre et al., 2008 ;Goto et al., 2008**).

Il est généralement présenté que le peroxyde d'hydrogène serait transformé en radical hydroxyle par une succession de réactions en chaîne initiée par la réaction de Fenton suivie de la réaction de Haber-Weiss en deux étapes. La continuité des réactions se ferait grâce à la régénération du fer ferreux par divers composés toutefois le mécanisme exact de ces réactions, est encore discuté (**Kehrer et al., 2000**).

## **II.2. Origines externes des radicaux libres**

Les radicaux libres de sources externes sont extrêmement nombreux et variés. La respiration : elle absorbe de l'oxygène rejette du gaz carbonique et des radicaux libres. La pollution automobile ou atmosphérique : les citadins ont dans leurs sang ou dans leurs poumons des niveaux de radicaux libres supérieurs à ceux des campagnards Le trou du couche d'ozone et la pollution industrielle et automobiles ils sont responsable d'une plus grande concentration de toxique dans l'atmosphère. Le soleil attention en particulier à la lumière réfléchie lors d'une exposition sur le plage au bord de la piscine.... , qui peut doubler la quantités du rayon reçu par la peau.(Rafal S. et al., 2004) .

### **II. 3. Actions biologiques des radicaux libres**

Les liaisons d'oxygène qui présentent des électrons non appariés tendent à arracher des électrons à d'autres molécules ou atomes. Certes, près de 80% des radicaux sont capturés dans les mitochondries par le superoxyde dismutase. Mais le reste arrive intact dans le cytosol des cellules. Une fois dans le cytosol, les radicaux libres interagissent avec d'autres liaisons et, en leur arrachant des électrons, parviennent à former de nouveaux radicaux. Il s'en suit donc une réaction en chaîne au cours de laquelle les électrons changent de «propriétaire». Au final, cela peut provoquer des mutations ponctuelles, des différenciations cellulaires ou encore des perturbations enzymatiques. Le ROS le plus réactif est le radical hydroxyle ( $\text{HO}^\bullet$ ), qui a une durée de vie extrêmement courte (~10-

8 seconde) dans un milieu de pH physiologique. Plus le pH ne diminue, comme par exemple en cas d'inflammation, plus la durée de vie et la concentration des radicaux hydroxyles augmentent. Et ceci même très rapidement en cas de processus inflammatoire. La peroxydation des lipides par des radicaux hydroxyles peut aussi provoquer, par une autre forme de réaction en chaîne, la formation de nouveaux radicaux hydroxyles. Ils s'attaquent essentiellement à l'ADN et plus précisément à ses bases azotées (A, T, C, G), aux protéines, essentiellement les systèmes enzymatiques, aux lipides et aux : membranes biologiques qu'ils composent (**Delattre J. et al., 2005**).

### **II.2.1. Dans les conditions physiologiques normales**

Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule. Le monoxyde d'azote radicalaire ou  $\text{NO}^\bullet$  est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétase sur la L'arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...) (**Delattre J. et al., 2005**).

### **II.2.2. Dans les conditions pathologiques**

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation massif, soit par un mauvais fonctionnement de ces systèmes de réparation chez des sujets déficients en cofacteurs

(thioredoxines, zinc) ou atteints d'une anomalie génétique. Dans ce cas, les lésions non réparées vont perturber les mécanismes de réPLICATION de l'ADN et entraîner soit des erreurs de lecture et de synthèse par des ADN polymérases translésionnelles infidèles aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome, soit une impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par un mécanisme appelé apoptose. In fine, cette modification de l'ADN induit des mutations par transversions GC(guanine/cytosine) vers TA (thymine/adénine) souvent observées spontanément dans les cellules cancéreuses. Ces sont les premières étapes de la carcinogenèse et ce n'est pas une coïncidence si les agents carcinogènes sont tous des générateurs puissants de radicaux libres (radiations ionisantes et UV, fumée, alcool, fibres d'amiante, métaux carcinogènes, hydrocarbures polycycliques) (**Sohal R.S. et al.,2002**).

### **III. Les conséquences pathologies du stress oxydatif**

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-

carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires(**Montagnier L. et al., 1998** ).

### **III.1. Cancer**

#### **III.1.1. Définition**

Le terme cancer vient du grec (Karkino) est une affection dans laquelle un ensemble de cellules prolifèrent de manière anarchique et incontrôlée. Presque tous les tissus de notre organisme peuvent être atteints. (**WeléA. et al., 2010**)

#### **III.1.2. Stress oxydatif et cancer**

L'étape d'initiation débute lorsque des agents chimiques carcinogènes se fixent sur l'acide désoxyribonucléique (ADN). Des lésions peuvent également se produire sous l'effet de radiations ionisantes ou de rayonnements ultra-violets. Dans ce cas, les espèces oxygénées activées (EOA), dont font partie les radicaux libres et l'oxygène singulet, jouent un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules. Le radical hydroxyle s'attaque à la guanine, base purique constitutive de l'ADN, qui se transforme en 8 hydroxy-2'déoxyguanosine. Ceci a comme conséquence l'apparition d'une mutation au niveau de l'ADN. L'oxygène singulet réagit aussi avec la guanine pour former un autre dérivé oxydé, la 8-oxo-7, 8-dihydroguanine. Les EOA peuvent aussi agir comme messagers secondaires en modifiant dans la cellule la régulation redox du glutathion (GSH) qui est un agent antioxydant important. Il en résulte une activation de la thiorédoxine (TRX) qui active le facteur de transcription qu'est le NF-KB normalement dans un état inactif dans le cytoplasme. Une fois activé, le NF-KB migre dans le noyau de la cellule où il peut transcrire des

gènes cibles. Il participe de la sorte à la synthèse de nombreux médiateurs comme des protéines d'adhésion impliquées dans le processus du développement du cancer. (**Pincemail J.etal., 1999**).

### **III.2. Les pathologies cardiovasculaires**

#### **III.2.1. Définition**

Les maladies cardio-vasculaires sont les maladies qui concernent le cœur et la circulation sanguine. Selon OMS se sont des maladies cardiovasculaires qui constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins.

#### **III.2.2. Rôle du stress oxydatif dans les pathologies cardiovasculaires**

Des études ont montré que le stress oxydant était accru lors de pathologies cardiaques et plus précisément lors d'insuffisance cardiaque. Une production chronique d'ERO au sein de la mitochondrie des cellules cardiaques provoque des dégâts sur l'ADN mitochondrial et l'accumulation de mutations induit des dommages cellulaires aboutissant à des remodelages cardiaques importants. Ces processus interviendraient dans certaines pathologies cardiaques comme les cardiomyopathies hypertrophiques, les cardiomyopathies dilatées, les blocs de conduction ou encore les infarctus chez l'Homme.

Il s'agit d'une pathologie qui affecte essentiellement l'espèce humaine. En effet, le chien est peu sensible à l'athérosclérose car son métabolisme des lipoprotéines est différent de celui qui se produit chez l'Homme. Nous ne nous attarderons pas dessus mais il faut savoir que les ERO et le processus de stress oxydant sont directement impliqués dans la pathogénie de cette maladie .Les lipoprotéines (LDL notamment) oxydées par les neutrophiles activés sont reconnues et phagocytées par les macrophages. La MPO et ses dérivés participent activement à ces oxydations (**Daugherty et al., 1994**). Les LDL oxydées s'accumulent dans le macrophage et forment 99 cellules squameuse ce

qui constitue l'initiation de la formation des plaques d'athérome. (**Babior et al.,2000**). Une surproduction d'ERO (due à une hypertension, une hypercholestérolémie, un diabète, au tabagisme, etc...) intervient dans l'activation des cellules impliquées dans l'athérosclérose, dans la formation et dans la progression de la lésion (on pourra citer l'intervention de la NADPH oxydase vasculaire par exemple (**MongensM. et al., 2013**).

### **III .3. Le Diabète**

#### **III.3.1. Définition**

L'augmentation des radicaux libres dans l'organisme provoque pour la même raison (peroxydation des lipides) et par accumulation du malondialdehyde, une augmentation de la glycosylation des protéines, qui est une complication majeure de l'hyperglycémie présente avec le diabète (**Chugh S.N. et al.,1999**). Ils interviennent comme un facteur non négligeable en causant une augmentation de la résistance à l'insuline chez les individus (**Chugh S.N. et al.,1999**).

#### **III.3.2. Diabète et stress oxydatif**

Le stress oxydatif, un déséquilibre entre les antioxydants et les pro-oxydants en faveur de ces derniers, participe au développement et à la progression de plusieurs maladies y compris le diabète et ses complications.

Les mécanismes de la toxicité du glucose au niveau des tissus cibles des complications du diabète sont multiples (**Benhamouet al., 1991**). Le glucose exerce son effet toxique et forme des ROS par différents mécanismes. Il a été montré chez des rats Goto-Kakizaki (GK), diabétiques de type 2, non obèses, une augmentation des marqueurs du stress oxydant suite à une hyperglycémie (**Ihara et al., 1999**). Les mécanismes conduisant à la formation de ROS sont notamment, le phénomène d'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la

voie de la PKC et la glycation des protéines avec formation des produits avancés de fin de glycation (AGEs).

### **III .4 Les affections ophthalmiques**

#### **III.4.1 Définition**

Les conjonctivites allergiques sont devenues une des plus fréquentes affections oculaires. 95% des rhinites allergiques s'accompagnent d'une conjonctivite. Les signes fonctionnels évocateurs sont communs à l'ensemble des conjonctivites allergiques le prurit est le maître symptôme, faisant suspecter l'allergie. Il est localisé sous les paupières et aux angles externes et internes ; il peut être remplacé par une sensation de picotement, de corps étranger, mais jamais de brûlure ;les œdèmes des paupières sont asymétriques et surviennent par crises, de manière inopinée la rougeur conjonctivale, par dilatation diffuse des vaisseaux conjonctivaux, est constante mais d'intensité variable, pouvant être majorée par d'autres facteurs (alcool, photosensibilisation, collyres vasoconstricteurs...) ; le larmoiement, sans cause locale apparente, est permanent, uni ou bilatéral. Une classification, selon Bloch-Michel (1994), distingue parmi les conjonctivites allergiques.

#### **III.4.2 stress oxydatif et affections ophthalmique**

Plusieurs recherches médicales ont montré que le stress oxydatif a un rôle central dans le développement des pathologies cardiovasculaires. En effet les différents facteurs de risques cardiovasculaires (tabagisme, hypertension artérielle, obésité, excès de cholestérol) provoquent la production des radicaux libres par les cellules de la paroi vasculaire.

En outre les espèces réactives de l'oxygène sont générées par les neutrophiles et les macrophages pendant la phagocytose et la répartition des cellules du tissus ischémique. Les ROS sont aussi produits par d'autres cellules incluant les

cellules musculaires lisses vasculaires, les cellules endothéliales et les cardiomyocytes dans le système cardiovasculaire (**Abe J. et al., 1998**).

### **III.5 Les maladies du système nerveux**

#### **III.5.1 Définition**

Une maladie neurodégénérative correspond à une pathologie progressive qui affecte le cerveau ou plus globalement le système nerveux, entraînant la mort des cellules nerveuses. Les plus célèbres et les plus fréquentes sont la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson mais il en existe d'autres (**selon OMS Mai 2015**)

#### **III.5.2 Rôle du stress oxydatif dans les maladies du système nerveux**

Des études ont montré que dans des cerveaux de patients souffrant de la maladie d'Alzheimer, beaucoup de marqueurs du stress oxydant étaient retrouvés et il a été montré qu'ils aggravaient les symptômes associés à la maladie (**Rao et al., 2002; Hardy et al., 2002; Mattson et al., 2002**). Dans la maladie de Parkinson, c'est la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire qui est responsable de la pathologie. L'auto-oxydation de la dopamine produit des anions superoxyde et du peroxyde d'hydrogène dans cette même zone cérébrale. Les neurones dopaminergiques soumis à de fortes concentrations en ROS peuvent dégénérer si les défenses anti oxydantes ne sont pas suffisantes (**Sorg et al., 2004**).

## **III.6 Le vieillissement**

### **III.6.1 Définition**

Le vieillissement est un processus qui continue à fasciner les biologistes de tous horizons, qu'ils s'intéressent à l'évolution, à la génétique, à la signalisation ou à la toxicité de l'environnement. De nombreuses théories, parfois contradictoires, sont proposées pour rendre compte des mécanismes du vieillissement, perçus par certains comme le résultat d'un programme inéluctable, par d'autres comme le fruit d'une suite d'agressions qui pourraient être évitées ou réparées

**(Barouki R. et al., 2005).**

### **III.6.2 Rôle du stress oxydatif dans le vieillissement**

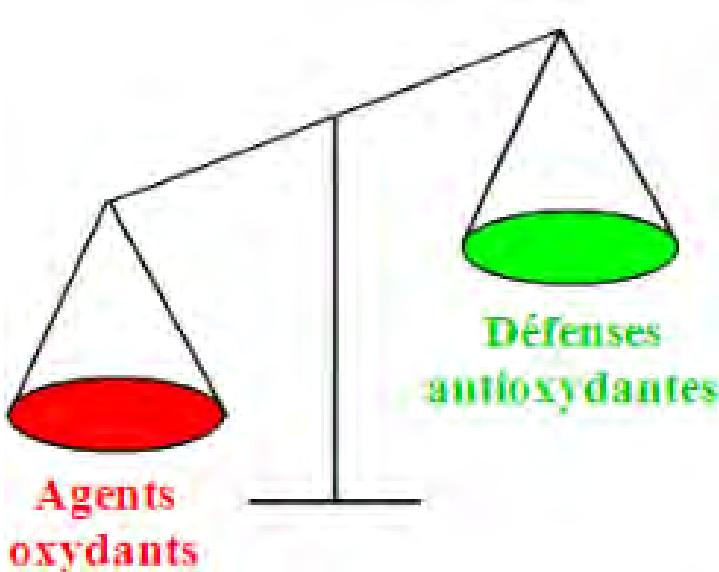
Deux théories expliquent le vieillissement, l'une génétique et l'autre métabolique. La première rend compte de la diminution des télomères aux cours de la réPLICATION cellulaire et la seconde de l'accumulation des déchets métaboliques produits par l'organisme. Les marqueurs du stress oxydant sont élevés chez les personnes âgées (**Finkel et al., 2000**). Le vieillissement diminue les défenses anti oxydantes et augmente la production par les mitochondries de radicaux (**Sohal et al., 2002 ; Auberval N. et al., 2010**).

## **I. Les Antioxydants**

### **IV.1. Historique**

Le terme antioxydant était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIXe siècle et au début du XXe siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire, par exemple, la corrosion des métaux. Les antioxydants, dans le cas présent, sont des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par

l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant. La production des entités oxydantes est constamment en équilibre avec les systèmes de défenses anti oxydantes (cf. figure 1) (**Auberval N. et al.,2010**).



**Figure 1 :** Déséquilibre entre les molécules pro-oxydantes et les systèmes de défenses anti oxydantes lors du stress oxydant

#### IV.2. Définition

Le terme d'antioxydants est utilisé pour caractériser un ensemble de substances ou composés, de nature diverse, dont la caractéristique commune est d'être capable de s'opposer ou de contrôler l'accumulation au niveau cellulaire de radicaux libres. Cette propriété leur permet d'agir directement ou indirectement en tant que moyen de défense contre les dérivés actifs de l'oxygène. Ils s'opposent aux mécanismes d'oxydation de certaines molécules (**Diplock A.T. et al.,1991**).

## **IV.3. Utilisation des antioxydants**

### **IV.3.1. Les Antioxydants naturels**

#### **IV.3.1.1.Les antioxydants andogènes**

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses anti oxydantes très efficaces afin de diminuer la concentration des entités oxydantes dans l'organisme . Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxygène, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell et al ., 1990**). La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).Il existe différents types de molécules qu'elles soient naturelles ou synthétiques et dont le mode d'action repose sur un système enzymatique (premières lignes de défense) ou non (molécules piégeuses d'électrons).

#### **IV.3.1.1.1. Les Antioxydants enzymatiques**

Les enzymes anti oxydantes sont les premières lignes de défenses contre les entités oxydantes. Leur rôle est de diminuer la quantité de ROS présentes dans la cellule. Parfois ces enzymes nécessitent des oligo-éléments (Cu, Zn, Mn, Se, Fe) comme cofacteurs pour pouvoir exercer leur activité enzymatique (**Auberval N. et al.,2010**).

##### **✚ Les superoxydesdismutases (SOD)**

La SOD est un enzyme antioxydant primaire essentiel qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire. Il est capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en

peroxydes d'hydrogène, ce dernier, étant beaucoup moins réactifs (**Moumen et al., 1997**). Il existe différents cofacteurs sur son site actif, qui sont classés par isoenzymes, dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution. Les isoenzymes forment un puishydrophobe au centre de la protéine, dans lequel se glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permet de distinguer les différentes SOD : la SOD à Cuivre-Zinc (CuZn-SOD), possèdent deux sous-unités identiques avec une structure moléculaire de 32 kDa, les atomes de Cu et Zn sont liés par un pont dans la position His61 (**Banci et al., 1998**). Les CuZn-SOD sont aussi classées selon leur rôle dans l'organisme en (cCuZn-SOD) protégeant le cytosol, (ecCuZn-SOD) située sur la face externe de la membrane des cellules endothéliales, l'espace interstitiel des tissus et les fluides extracellulaires, et encore (pCuZn-SOD) pour celle présente dans le plasma sanguin (**Kaynar et al., 2005**). La SOD à manganèse (Mn SOD) et au Fer (Fe SOD) sont homologues avec un hème tétramère de 96 kDa qui contient un atome de manganèse ou de fer par sous unité, son rôle biologique est la protection de la mitochondrie (**Fridovich et al., 1998**), et la SOD au nickel (Ni-SOD).(**Barondeau et al., 2004**).

### Les catalases

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Parmi les enzymes connus c'est un des plus efficaces. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, avec une masse moléculaire de 240 kDa. Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (**Matés et al., 1999**). La réaction se fait en deux étapes:

## Les peroxydases

- Glutathion peroxydase à sélénium

(GPx) Ces enzymes ont en commun une structure tétramérique, chaque tétramère possédant un atome de sélénium dans son site actif, très fortement fixé à la chaîne peptidique, puisque incorporé sous forme de sélénocystéine dans la séquence primaire. L'introduction du sélénium se faisant selon un mécanisme particulier dit péri-traductionel.

- La glutathion peroxydase cytosolique

Il s'agit d'un tétramère dont chaque sous unité porte une molécule de sélénocystéine sur son site actif. Le fonctionnement de l'enzyme nécessite un flux de glutathion recyclé par la coopération de plusieurs enzymes dont la glutathion réductase (GR) qui réduit le glutathion oxydé en consommant du NADPH, lui-même régénéré grâce à la glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PDH) alimentée par le shunt des pentose phosphates (**Matés et al., 1999**).

- La thiorédoxine (TRX)

Cet enzyme a une structure proche de celle de la glutathion réductase. Il consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement. Il joue un rôle protecteur contre une grande variété de stress oxydatifs grâce à ses propriétés de capture des radicaux libres. Des données biochimiques montrent que les thiorédoxines réduisent des protéines clefs pour le développement, la division cellulaire ou la réponse au stress oxydatif (**Reichheld et al., 2005**).

### IV.1.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques réagissent directement avec les agents oxydants et les désactivent.

- La vitamine E (alpha tocophérol) est fixée aux membranes et stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en captant un radical lipidique peroxyde (LOO<sup>-</sup>), qui pourra être pris en charge par une autre molécule antioxydante.
- la vitamine C : elle peut capter directement l'O<sub>2</sub><sup>-</sup> et HO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Cette vitamine pourrait aussi avoir des propriétés pro-oxydantes.

Les polyphénols : il existe de nombreux autres antioxydants. Parmi ces substances certaines sont regroupées dans le grand groupe des polyphénols composés principalement de trois familles : les tanins, les flavonoïdes, les anthocyanes. Bien que non essentielles ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant (**Markris et al., 2002**).

#### Le glutathion (GSH)

Le glutathion est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine:  $\gamma$ -L-Glutamylcystéinyl glycine . C'est le thiol intracellulaire le plus abondant. Il permet la conversion des ponts disulfures (R-S-S-R) des protéines oxydées en deux fonctions thiols (R-SH). De plus, il piège le peroxyde d'hydrogène et réagit avec l'oxygène singulet et le radical hydroxyle (**Larson et al., 1988**).

### IV.3.1.2. Les antioxydants exogènes

#### IV.3.1.2.1. Les Vitamines

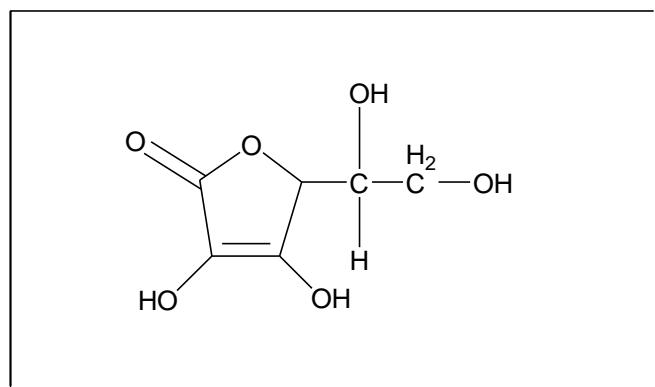
##### La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)

La vitamine E, liposoluble, est un antioxydant membranaire. La forme la plus active est l' $\alpha$ -tocophérol (**Kamal-Eldin et al., 1996**). Elle piège les radicaux libres organiques provenant de l'oxydation des lipides et contribue à diminuer la peroxydation lipidique. La vitamine E peut mettre fin à une réaction radicalaire

en se chargeant du radical. Devenue radicalaire, la vitamine E est relativement stable.

#### ✚ La vitamine C (acide L'ascorbique)

La vitamine C piège l'anion superoxyde, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (**Noctor et al., 1998**). Elle permet de régénérer la forme non radicalaire de la vitamine E. Lorsqu'elle est à son tour oxydée, elle est réduite par l'acide alpha lipoïque ou par les ascorbatesréductases ou excrétée dans les urines. Sa structure est présentée ci-dessous(**Floral et al., 2008**).



**Figure 2 :** Structure l'acide L'ascorbique (**Floral et al. 2008**).

De plus, cette molécule est connue pour avoir une incidence sur les facteurs de risques cardiovasculaires. De hautes concentrations plasmatiques sont associées à une réduction du risque de maladies coronaires et de sténose carotidienne (**Galeet et al., 2001**). Trout(1991) a reporté qu'une supplémentation faible en vitamine C diminue le taux de cholestérol total et augmente les HDL.

#### ✚ La vitamine A (famille des caroténoïdes)

Le précurseur de la vitamine A est le  $\beta$ -carotène .Les caroténoïdes piègent les molécules d'oxygène singulet (**Stahl et al.,2002**) formées par les radiations solaires.Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en doubles liaisons, ils

sont également de bons piégeurs de radicaux peroxydes. Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être détruite (**Stahl et al., 1997**).

#### IV.3.1.2.2. Les oligoéléments

##### Le sélénium

Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx. La dose journalière recommandée est de 50-70 µg/jour. Les aliments riches en sélénium sont, notamment, les noix de Brésil, les brocolis, l'ail (**Haleng J. et al., 2007**).

##### Le cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine  $\beta$ -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau (**Haleng J. et al., 2007**).

##### Le zinc

Le zinc joue un rôle de cofacteur pour de nombreux enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydrase carbonique. Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège

également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'EOA induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu/Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs; les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 20 mg (**Haleng J. et al., 2007**).

#### **IV.3.1.2.3. Les caroténoïdes**

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles, mais seul un petit nombre d'entre eux se retrouvent dans le sang et les tissus animaux. Les fruits et les légumes en sont les principales sources alimentaires. De façon formelle, tous les caroténoïdes dérivent d'une structure linéaire (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>) avec de nombreuses doubles liaisons, le lycopène, pigment rouge présent notamment dans la tomate et le pamplemousse. Le chef de file des caroténoïdes est cependant le  $\beta$ -carotène, également appelé provitamine A car, après hydrolyse hépatique, il donne naissance à deux molécules de vitamine A. Tous les caroténoïdes ne possèdent toutefois pas cette propriété particulière. Le  $\beta$ -carotène se retrouve dans l'abricot, le melon, la carotte, les légumes verts (épinards, laitue...) : l'apport journalier recommandé est de 1 à 5 mg (**Haleng J. et al., 2007**).

#### **VI.3.1.2.4. Les polyphénols**

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge, sous forme de flavonoïdes dans les agrumes, l'huile de lin et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les

algues brunes. Globalement, ce sont d'excellents piégeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Haleng J. et al., 2007**).

#### **IV.3.2. Les Antioxydants synthétiques**

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA), le tertiarybutyl hydroquinone (TBHQ), le 2, 4,5-trihydroxy butyrophénone (THBP), le di-terbutyl-4-hydroxymethylphénone (IONOX-100), le gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG), l'acide nordihydroguaiaretique (NDGA) et le 4-hexylresorcinol (4HR), sont utilisés dans les cosmétiques et huiles végétales (**Haleng J. et al.,2007**).

#### **IV.3.3. Autres antioxydants**

Des propriétés anti oxydantes ont été attribuées à des acides aminés, comme la méthionine, la taurine, la glutamine, la N-acetylcystéine (NAC) (**Lyn P.et al., 2006 ;Sayre et al., 2008**). Ils pourraient être des précurseurs directs ou indirects de la synthèse des GSH dont ils renforcent l'action et seraient capables de piéger et de neutraliser les ERO (**Clarkson et al., 2000 ; Lyn P. et al., 2006 ; Abilés et al., 2008 ; Sayre et al., 2008 ; Fisher W. et al.,2009**). La vitamine B6 ou Pyridoxine exercerait un rôle antioxydant indirect en favorisant la synthèse de cystéine à partir de la méthionine et ainsi renforcerait la production de GSH (**Lyn P.et al., 2006**). L'acide alfa-lipoïque participerait à la rénovation des GSH et des vitamines C, E (**Lyn P.et al., 2006 ; Finaud et al., 2006b**). Le coenzyme Q10 ou ubiquinone, pourrait piéger les radicaux superoxydes formés lors des phosphorylations oxydatives des mitochondries et régénérer les vitamines C et E oxydées (**Mataix et al., 1998 ;Wolinsky et al., 1998 ; Crane et**

**al.,2001).** Des protéines comme la ferritine, l'albumine, la bilirubine, la protéine du choc thermique (heatshockproteins, HSP) pourraient agir directement sur les ERO ou indirectement par captation de métaux redox actifs (**Finaud et al., 2006b ; Duarte et al., 2007 ; Azzi et al., 2007**). L'albumine est riche en cystéine qui contient de nombreux groupes thiol, ceci lui permettrait d'agir directement sur les ERO (**Lamprecht et al., 2004**). Le NO traverse facilement les membranes et les lipoprotéines et possède une grande réactivité avec les ERO. Il est pro-oxydant lorsqu'il se combine à l'ion superoxyde pour former du peroxynitrite, mais quand la production de superoxydes est très élevée, cette action contribue à diminuer les taux d'ERO et à induire une action anti-oxydante (**Shils et al., 2006**). De plus le NO pourrait réagir directement avec les radicaux peroxydes et contribuer à l'interruption de la chaîne lipidique (**Azzi et al., 2007**). Les phyto-nutriments sont des composés en provenance des plantes, qui remplissent de nombreux rôles physiologiques. Des milliers d'entre eux ont déjà été identifiés dans l'alimentation. Les classes les plus importantes sont les caroténoïdes, flavonoïdes, phénols, phytostérols et les glucosinolates. Leurs rôles protecteurs pour la santé sont de plus en plus évidents et nombre d'entre eux ont des propriétés antioxydantes intéressantes comme piégeurs / inhibiteurs de radicaux lipidiques, des anions superoxydes, du singulet d'oxygène, ... ou comme régulateurs d'antioxydant (**Lenn et al., 2002 ;Gibney et al., 2003 ; Borras et al., 2006 ; Dufour et al., 2007 ;Gobert et al., 2009**). Le pollen, les œstrogènes (**Clarkson et al., 2000 ;Pincemail et al., 2007 ; Azzi et al., 2007**), les pyridines nucléotides (**Vergani et al., 2004 ;Sayre et al., 2008**), le lactate (**Hellsten et al., 1997**) sont également susceptibles de posséder des propriétés antioxydantes. Le pouvoir antioxydant total est employé sous diverses formes pour mesurer l'efficacité antioxydante globale d'un milieu. Il est le reflet de l'action de plusieurs antioxydants, dont la composition varie en

fonction du marqueur utilisé (**Watson et al., 2005b, 2005c**). Parmi ces indicateurs on distingue les ORAC (oxygen radical absorbance capacity), TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), FRAP (ferric reducing ability of plasma), TAS (total antioxidant status), TAC (total antioxidant capacity), TRAP (total radical antioxidant potential), PSC (peroxyl radical scavenging capacity of plasma). Leur dosage par spectrophotométrie permet d'attribuer une valeur, souvent en équivalent trolox (ORAC, FRAP, TRAP), à la somme de la contribution des divers antioxydants qui les composent. Cependant, il existe des différences de sensibilité entre eux, avec des résultats discordants (**Finaud et al., 2004 ;Vasconcelos et al., 2007 ;Malaguti et al., 2008**).

**Chapitre II :**  
**Données de la littérature de *Cassia occidentalis***

## I. Classification

### I.1. Place systématique de l'espèce

**Règne** : plantae

**Sous Règne** : tracheobionta

**Division** : tracheophyta

**Classe** : magnoliopsida

**Sous classe** : Rosidae

**Ordre** : fabales

**Famille** : fabaceae

**Genre** : *Cassia*

**Espèce** : *occidentalis*

### I.2. Nomenclatures

**Non scientifique** : *Cassia occidentalis*

**Non vernaculaires** : fauxkinkéliba

**Wolof** : mbantamaré

**Peulh** : tasbati

**Bambara** : mbalambala

## **II. Etudes botaniques**

### **II.1. Habitation et répartitions géographique**

On les retrouve souvent en bordure des routes et des terrains vagues et comme une mauvaise herbe dans les zones cultivées (**Ibrahim K. M. et al., 1989**).

Le *Cassia occidentalis* est une plante sauvage qui pousse un peu partout et de façon surprenante, dans les lieux que l'homme a habités dans la campagne. Il est également facilement multipliable par l'épandage des graines. Elles sont plus répandues dans les payes comme : Kenya; également Ouganda, République - Unie de Tanzanie, il est devenu de ce fait, une espèce pantropicale il est originaire de l'Amérique du sud (**Aké L. A. et al., 1983**).

### **II.2. Descriptions de la plante**

Plante suffrutescente, atteignant de 0,50 à 1.50 m de haut, glabrescente. Feuilles paripennées, de 15 à 20 cm de long, odorantes; pétiole et rachis légèrement canaliculés au-dessus; grosse glande brune à la base du pétiole; folioles lancéolées, oblongues-lancéolées ou ovées, de 5 à 10 cm de long, et de 2 à 3 cm de large, glabrescentes à glabres, peu ciliées, acuminées, disymétriques à la base; pétiolule courte; nervures latérales de 8 à 10 paires. Inflorescences axillaires, courtes, 2' -4' flores. Fleurs jaunes, atteignant 1 cm de long; sépales elliptiques, inégaux; pétales obovaux, onguiculés; étamines 6, les 2 inférieures plus grandes, atteignant 12 mm de long, les 4 moyennes de 6 à 7 mm de long; entre les 2 étamines inférieures; 3 staminodes ovales; ovaire linéaire, 7 mm de long, pubérulent; style 4 mm de long, arqué. à stigmate latéral, pilleux. Gousses subcylindriques ou aplatis, droites ou légèrement falciformes. apiculées, glabrescentes ou glabres, de 10 à 12 cm de long, jusqu'à 6 mm de large. Graines nombreuses, aplatis, brunâtres, grisâtres en vieillissant disposées transversalement dans le gousse. (**Aké L.A. et al., 1983**)



**Figure 3 :** Plante entière du *Cassia occidentalis*

### **III. Usages**

#### **III.1. Racine**

En usage externe, la décoction est antiprurigineuse et l'alcoolature de racine utile en friction dans les douleurs rhumatismales.

#### **III.2.tige**

**En usage externe**, la décoction est un antalgique et fébrifuge.

### III.3. Feuille



**Figure 4 :** Feuille et fleur du Cassia occidentalis

En Afrique et aux Antilles il était considéré comme un bon fébrifuge et sudorifique: Infusion de feuilles, 60 g de feuilles dans un litre d'eau bouillante, 10 minutes d'infusion, une tasse matin et soir, décoction de feuilles, 60 g de feuilles dans un litre d'eau bouillante, 20 minutes de cuisson ; deux tasses le soir au coucher pour un effet laxatif; une tasse matin et soir pour un effet diurétique et anti-inflammatoire urinaire ([www.afriquebio.com](http://www.afriquebio.com)).

### IV. Chimie de la plante

Les feuilles renferment peu de dérivés anthracéniques mais des Flavonoïdes en abondance. Une toxalbumine est présente dans les graines fraîches; dans les racines, on trouve des dérivés antroniques du type chrysophanol, ou de l'anthraquinone dans les racines les plus âgées.

Les feuilles sont fébrifuges et provoquent une transpiration abondante; elles augmentent aussi la diurèse et sont légèrement laxatives. La racine est également diurétique et un peu plus laxative que les feuilles.

Les graines une fois torréfiées sont un succédané du café, les composants toxiques étant détruits par la torréfaction, mais il n'y a ni caféine ni substance à effet stimulant dans ce "café bâtard" **Principaux constituants** : Dérivés anthracéniques, flavonoïdes (**chapman et al., 1996**).

## V. Etude pharmacologique et toxicologie de la plante

### V.1. Etude pharmacologie

Le *Cassia occidentalis* peut être utiliser comme antiasthmatique, antipaludique, apéritif, dépuratif, diurétique, fébrifuge, ocytocique, tonique. On l'utilise aussi contre l'ascite, la blennorragie, les céphalées, la conjonctivite, l'ictère, les règles douloureuses, les rhumatismes, la stérilité, contre les vers parasites. Attention : les doses doivent être impérativement respectées (**Adam J.G. et al., 1974**)

### V.2. Etude toxicologie

L'usage interne est à surveiller. Il ne faut pas utiliser la plante de façon prolongée. La plante est abortive par voie interne. Son usage est à déconseiller aux femmes enceintes, aux jeunes enfants et aux personnes âgées. La plante a une toxicité non négligeable. Elle ne doit pas être consommée par voie interne par les femmes enceintes. Son usage externe ne pose aucun risque (**Adam J.G. et al., 1974**).

Deuxième partie :  
Etude expérimentale

## **Chapitre 1 : Méthodologie Générale**

## **I. Cadre d'étude et objectifs**

### **I.1. Cadre d'étude**

Notre étude a été réalisée une partie au laboratoire de physiologie pharmaceutique située au deuxième étage à droite du pavillon pharmacie de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Une seconde partie a été réalisée au laboratoire de chimie organique situé au premier étage à gauche de l'université Cheikh Anta Diop de Dakar.

### **I.2. Objectif d'étude**

Cette étude a pour objectif de mettre en évidence l'activité antioxydante *in vitro* d'un extrait éthanolique des racines du *Cassia occidentalis* qui est une plante très utilisée en médecine traditionnelle africaine.

## **II. Matériel et réactifs**

### **II.1. Matériel**

Le matériel est constitué par l'ensemble des éléments nécessaire pour mener à bien notre manipulation

#### **Appareils**

- Broyeur
- Balance de précision
- Erlenmeyer taré à zéro
- Becher
- Pipette graduée
- Coton hydrophile
- Spatule

- Papier aluminium
- Tube à essai
- Clou aimantée
- Agitateur électrique
- Ballon
- Spectrophotométrie UV visible
-  Drogue

Le matériel végétal est constitué par les racines du *Cassia occidentalis*. Elles ont été achetées au marché Fass. Elles ont été identifiées au laboratoire de pharmacognosie de la faculté de Médecine de pharmacie e d'odontologie de l’Université Cheikh Anta Diop de Dakar. La poudre a été obtenue après découpage en morceau des racines puis broyer deux fois à l'aide d'un broyeur.

## II.2. Réactifs

- Ethanol pur (Sharleau)
- Acide ascorbique (vitamine C) (Pancreac)
- Solution de DPPH ; 2 ,2 diphenyl-1-picryl-hydrazyl (Aldrich).

## III. Méthodes d'étude

### III.1. Extraction

L’objectif de cette étape est d’extraire une grande majorité des composés actifs de notre plante. L’extraction est généralement dictée par les informations bibliographiques concernant la chimie des constituants de la plante. Comme solvant, nous avons utilisé de l’éthanol pur. L’extraction s’effectue en 3 étapes :

- Macération ; cette méthode de préparation a été choisie car elle permet de limiter la dégradation des composés thermolabiles

- Filtration: elle est réalisée sous vide, à l'aide d'une fiole de Kitassato, et du papier filtre
- Evaporation elle est réalisée à l'aide de l'évaporateur rotatif et permet d'éliminer l'éthanol et d'obtenir un extrait sec.

### **III.2. Mode opératoire**

10 g de poudre des racines *du Cassia occidentalis* sont macérés dans 50 ml d'éthanol pur contenus dans un Erlenmeyer placé sous agitation pendant 24h.

Il est à noter que l'rlenmeyer est recouvert d'un papier aluminium, afin de protéger les molécules photosensibles. Après cette étape, le macérât est filtré avec du coton hydrophile placé dans un entonnoir relié à une pompe aspirante qui accélère la filtration. Après quelques minutes, nous avons une solution exclusivement liquide. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à l'aide de l'évaporateur rotatif dans les conditions suivantes : température du bain-marie 40°C, température de refroidissement 21°C et le nombre de rotation 4000 tr /mn. Ainsi l'évaporation aboutit à l'obtention d'un extrait brut sec des racines

*Cassia occidentalis*(RCO), à partir duquel le pouvoir antioxydant est testé.

#### **➤ Protocole expérimentale du test au DPPH**

Dans chaque tube à essai contenant 100 µl d'extrait des racines du *Cassia occidentalis* à différentes concentrations (26,6 mg/ml ; 2,66 mg/ml ; 0,266 mg/ml ; et 0,0266 mg/ml), on ajoute 3,9 ml de la solution de DPPH. L'acide ascorbique (vitamine C) utilisé comme antioxydant de référence est testé à des concentrations égales à celles utilisées pour tester l'extrait (26,6mg /ml ; 2,66mg /ml ; 0,266mg/ml ; 0,026mg /ml). L'incubation se fait à l'abri de la lumière. La lecture de la densité optique se fait au bout de 30 min au spectrophotomètre à 570 nm en utilisant la solution éthanolique de DPPH comme solution de contrôle (blanc).

## ➤ Expressions des résultats et analyse statistique

Trois mesures ont été effectuées pour chaque concentration testée (n=3).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) selon la formule :

$$\text{PI} = \{( \text{Abs. blanc} - \text{Abs. Ech} ) / \text{Abs. blanc} \} \times 100$$

PI= Pourcentage d'inhibition

Abs. Blanc= Absorbance (100 µl éthanolique+ 3,9 ml solution DPPH)

Abs. Ech= Absorbance Echantillon (Absorbance après ajout de l'extrait à une concentration donnée : 100 µl extrait + 3,9 ml solution DPPH).

L'analyse statistique a été effectuée avec le test de Fisher. La différence est considérée comme significative si  $p < 0,05$  par rapport au blanc.

Le rendement :

$$\text{R} = (\text{Poids de l'extrait après extraction} / \text{Poids de l'extrait avant extraction}) \times 100$$

$$\text{R} = (0,4/10) \times 100$$

$$\text{R} = 4\%$$

Donc le rendement est de 4%.

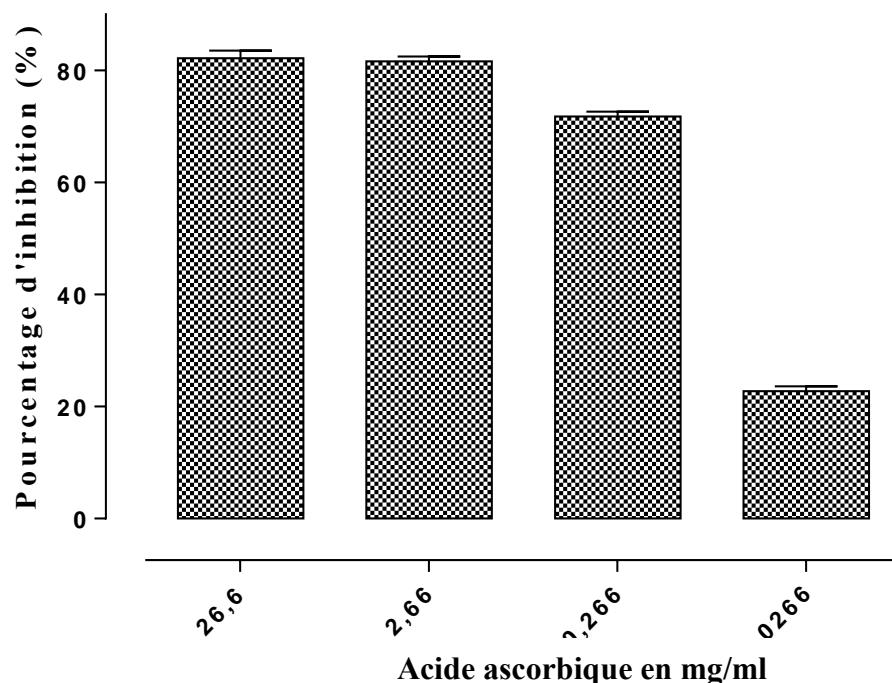
## Chapitre II : Résultats

## Activité antioxydante de l'acide ascorbique

La solution éthanolique d'acide ascorbique inhibe significativement le DPPH à toutes les concentrations testées et de manière dose dépendante comme on peut le constater sur la figure 5. En effet, à 0,0266 mg/ml on a un pourcentage d'inhibition de  $23,950 \pm 2,626\%$  ; à 0,266 mg/ml, on est à  $71,717 \pm 2,259\%$  ; à 2,66 mg/ml on est à  $83,311 \pm 3,46\%$ . A la plus forte concentration (26,6 mg/ml), on a la meilleure activité avec  $83,864 \pm 2,276\%$ .

**Tableau I :** Effet piégeur de l'acide ascorbique sur le radical DPPH

concentration	Abs Ech.	Abs. blanc	(blanc-Ech.)/blanc	%d'inhibition
0,0266 mg/ml	0,33	0,434	0,239	23,950
0,266 mg/ml	0,122	0,434	0,278	71,717
2,66 mg/ml	0,072	0,434	0,164	83,311
26,6 mg/ml	0,07	0,434	0,162	83,864



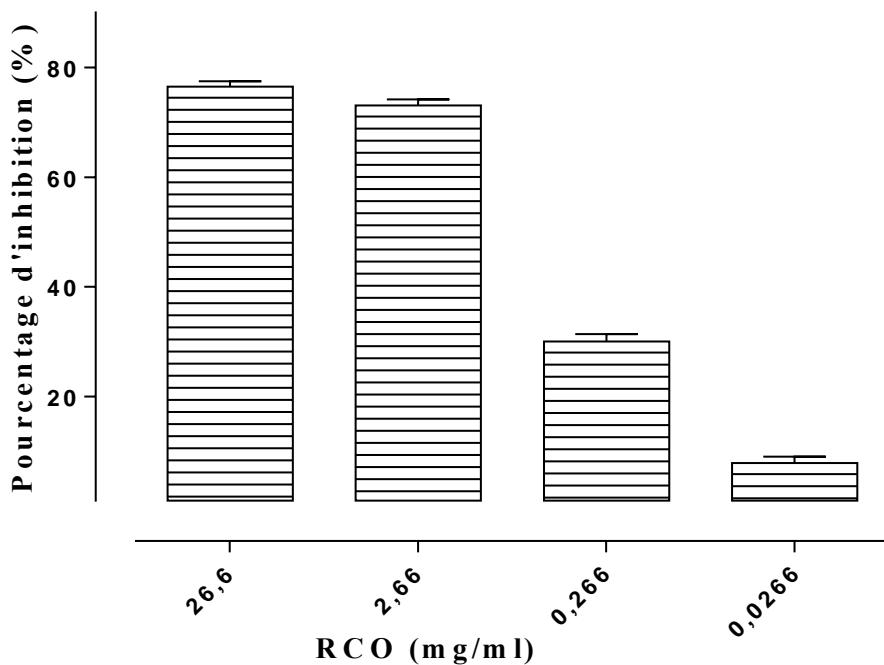
**Figure 5 :** Action de la solution éthanolique d'acide ascorbique sur le DPPH

## Activité antioxydante de l'extrait éthanolique des racines de *Cassia occidentalis*.

L'action de l'extrait éthanolique des racines du *Cassia occidentalis* illustrée par la figure 6 montre une inhibition significative de la solution de DPPH et ceci à toutes les concentrations. Aux différentes concentrations testées (0,0266 mg/ml ; 0,266 mg/ml ; 2,66mg/ml ; 26,6 mg/ml), on obtient respectivement des pourcentages d'inhibition de  $6,454 \pm 3,278\%$  ;  $27,586 \pm 1,991\%$  ;  $72,632 \pm 3,343\%$ ;  $74,896 \pm 1,948\%$ . Cette activité est dose dépendante. Plus la solution est concentrée plus l'activité est meilleure.

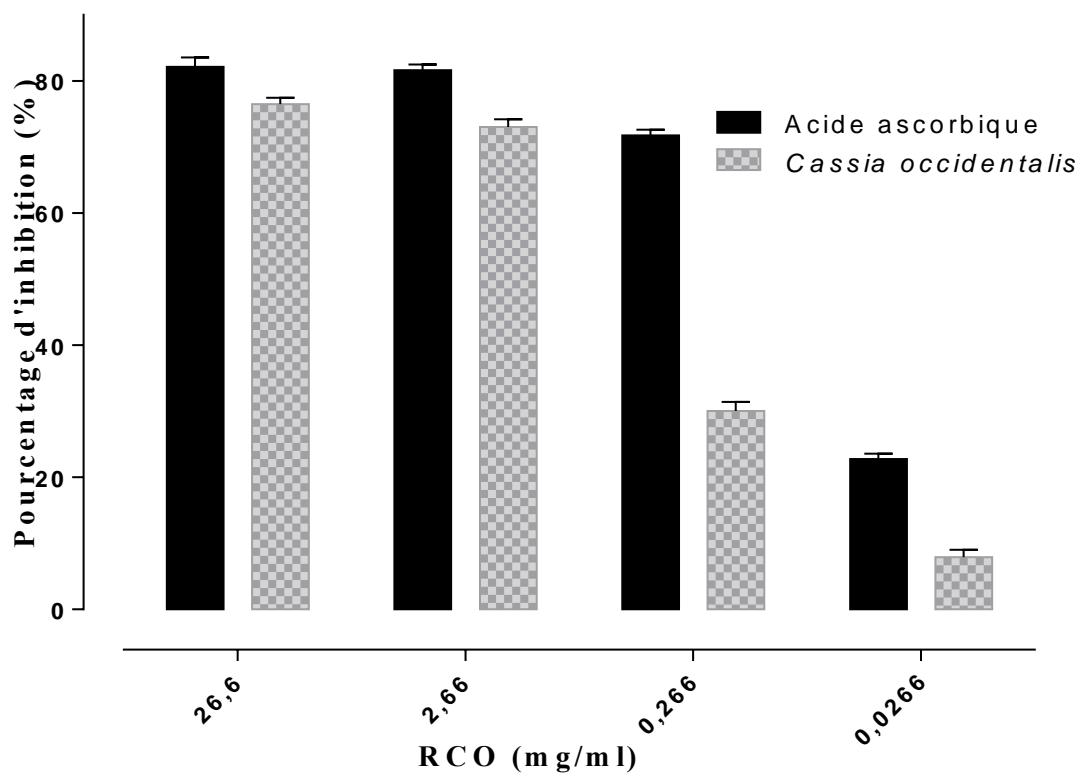
**Tableau II :** Effet piégeur de l'extrait éthanolique des racines de *Cassia occidentalis* sur le radicale DPPH.

Concentration	Abs Ech.	Abs blanc	(blanc-Ech.)/blanc	%d'inhibition
0,0266mg/ml	0,406	0,434	0,064	6,454
0,266mg/ml	0,314	0,434	0,276	27,586
2,66mg/ml	0,118	0,434	0,728	72,632
26,6mg/ml	0,094	0,434	0,783	74,896



**Figure 6 :** Action de l'extrait éthanolique des racines de *Cassia occidentalis* sur le DPPH.

Les résultats comparatifs des pourcentages d'inhibitions de l'acide ascorbique et des racines de *Cassia occidentalis* sur le radical DPPH illustrés par la figure 12 montrent qu'à toutes les concentrations testées, l'extrait éthanoïque des racines de *Cassia occidentalis* et celui de l'acide ascorbique (témoin positif) présentent une activité antioxydante significative par rapport au blanc (témoin négatif). Il est à noter qu'aux différentes concentrations (0,0266 mg/ml ; 0,266 mg/ml ; 2,66 mg/ml ; 26,6 mg/ml), l'acide ascorbique présente la meilleure activité.



**Figure 7 :** Résultats cumulatifs des effets de l'acide ascorbique et de l'extrait de racines de *Cassia occidentalis* sur le radical DPPH

## **Discussion**

Le terme antioxydant était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIXe siècle et au début du XXe siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire, par exemple, la corrosion des métaux. Les antioxydants, dans le cas présent, sont des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant. La production des entités oxydantes est constamment en équilibre avec les systèmes de défenses antioxydantes (**Auberval N. et al., 2010**).

Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) (**Rice-Evans C.A. et al., 1995**).

L'objectif de notre étude est d'évaluer les propriétés antioxydantes d'un extrait éthanolique des racines du Cassia occidentalis (RCO).

Nous avons procédé à l'extraction par macération en utilisant de l'éthanol pur comme solvant d'extraction. L'éthanol a été choisi pour sa capacité à extraire des composés polaires comme les polyphénols, la vitamine C.

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait, nous avons utilisé le test au DPPH (1,1 diphényl-2-picrylhydrazine) selon le protocole décrit par Scherer et al., en 2009 (**Scherer R. et al., 2009**). Le DPPH, un radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti radicalaires. L'intensité de la coloration mesurée au spectrophotomètre est inversement proportionnelle à l'activité anti radicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité.

Cette méthode permet en absence de tout artéfact significatif de dire dès lors que la tendance est établie, que la drogue testée renferme une ou des substances douées d'activité antioxydante. Cependant, elle ne permet en aucun cas d'affirmer en l'absence de tendance que la drogue testée ne renferme pas de substances ayant des propriétés antioxydantes. En effet, les substances contenues dans l'extrait bien qu'étant douées de propriétés antioxydantes peuvent avoir un mécanisme d'action différent de celui mis en jeu dans le piégeage du DPPH.

Les résultats obtenus montrent une activité antioxydante significative des racines du Cassia occidentalis par rapport au blanc (solution DPPH). A toutes les concentrations testées (0,0266mg/ml ; 0,266 mg/ml ; 2,66 mg/ml ; 26,6 mg/ml), nous avons respectivement des pourcentages d'inhibitions  $6,454 \pm 3,278\%$ ;  $27,586 \pm 1,991\%$ ;  $72,632 \pm 3,343\%$ ;  $74,896 \pm 1,948\%$ . Dès lors on peut dire que l'activité est dose dépendante sur le radical synthétique DPPH. Cependant l'acide ascorbique présente la meilleure activité avec des pourcentages d'inhibitions de  $23,950 \pm 2,6266\%$  ;  $71,717 \pm 2,259\%$ ,  $83,311 \pm 3,346\%$  et  $83,864 \pm 2,276\%$  respectivement à 0,0266 mg/ml, 0,266 mg/ml, 2,66 mg/ml, et 26,6 mg/ml.

L'activité antioxydante de notre extrait pourrait être liée à sa teneur en anthraquinone, l'acide chrysophanique, en tannins en flavonoïdes et apigénine.

La plante présente une grande variabilité de profil chimique selon la région où elle est récoltée. Les graines contiennent une anthraquinone, l'acide chrysophanique qui posséderait une activité antifongique en usage externe. contient d'autres anthraquinones (**Rhéine et Physcion**) et des tannins. Dans les feuilles et graines on trouve aussi une huile volatile. Les feuilles contiennent des dérivés anthracéniques en faibles quantité, l'acide  $\alpha$ -amino butyrique et de l'acide chrysophanique. Elles contiendraient également des flavonoïdes et

apigénine. La racine contient une plus grande quantité de dérivés anthracéniques. On trouve des alcaloïdes dans les écorces et fruits de la plante (**Fortin D. et al. 2000 ; Kerhano J. et al. 1974**).

Du point de vue méthodologique, le radical DPPH est instable à la lumière. C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH doivent impérativement se faire à l'abri de la lumière. De plus, il faut noter que le test au radical libre DPPH doit s'effectuer à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles.

## **Conclusion**

L'utilisation des plantes dans le traitement des maladies est une pratique qui date de longtemps. Les recherches concernant les plantes et les recettes des pharmacopées traditionnelles ont mis en évidence les richesses de celles-ci.

Elles ont également permis une meilleure connaissance des plantes, tant au point de vue de leur composition chimique que de leur activité pharmacologique. Dans les circonstances quotidiennes normales, les ERO (espèces réactives de l'oxygène) sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense. Cependant un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses anti oxydantes de l'organisme, en faveur des premières correspond à un stress oxydant. Ce dernier est impliqué dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme le cancer, les maladies neuro dégénératives (sclérose latérale amyotrophique), les maladies multifactorielles comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, et la maladie d'Alzheimer. Dans un souci de prévention, il convient donc de promouvoir l'utilisation de plantes riches en antioxydants afin de diminuer les dommages oxydatifs induits par les ERO au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides.

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels a connu une importance croissante. À ce sujet, plusieurs études menées au sein de notre laboratoire d'accueil ont permis de mettre en évidence les propriétés antioxydantes de plusieurs extraits de plantes de la pharmacopée sénégalaise. C'est dans ce sens que nous avons choisi des racines du *Cassia occidentalis* qui sont très utilisées en médecine traditionnelle au Sénégal.

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence les propriétés antioxydantes d'un extrait éthanolique des racines du *Cassia occidentalis*(RCO).

Pour ce faire, nous avons procédés à une extraction par macération en utilisant de l'éthanol comme solvant.

L'activité antioxydante de notre extrait est évaluée en utilisant le test au DPPH selon un protocole défini par **Scherer et al.** L'acide ascorbique connu comme étant un puissant antioxydant est utilisée comme antioxydant de référence (témoin positif).

A toutes les concentrations testées, l'extrait éthanolique des racines du *Cassia occidentalis* présente une activité antioxydante significative.

A la concentration de 0,026mg/ml l'extrait éthanolique des racines du *Cassia occidentalis* présente une activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition  $6,454\pm3,278\%$ . Cette activité antioxydante est dose dépendante et on obtient aux concentrations 0,266 mg/ml ; 2,66mg/ml et 26,6mg/ml respectivement des pourcentages d'inhibition de  $27,586\pm1,991\%$  ;  $72,632\pm3,343\%$  ;  $74,896\pm1,948\%$ .

La comparaison du pouvoir d'inhibition de l'extrait éthanoïque des racines du *Cassia occidentalis* à celui de l'acide ascorbique montre qu'à toutes les concentrations testées, l'acide ascorbique présente une meilleure activité.

Ces résultats préliminaires sur les propriétés antioxydantes des racines du *Cassia occidentalis* constituent un réel espoir pour la recherche de composés pouvant être bénéfiques dans la prévention mais également dans le traitement des maladies liées au stress oxydatif comme l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, le diabète et le cancer.

Cette étude pourrait être complétée par un bio guidage de notre extrait. cela va consister à fractionner l'extrait éthanoïque des racines du *Cassia occidentalis*, purifier les fractionnés présentant une meilleure activité antioxydante et isoler la ou les molécules responsables de l'activité antioxydante.

## **Références bibliographiques**

- 1. Abe J., Berk B.C., (1998).** Reactiv oxygen species as mediator of signal transduction in cardiovasculaire disease, trends *Cardiovascular Med*, vol 8, P59-64 23.
- 2. Adam J., G. et al., (1974) .** la pharmacopée sénégalaise et radionnelle, plantes medicinales et toxiques .edition vigotfrere 23 rue de l'école de médecine , 75006 Paris (France) ; CNR.ISBN :2-7114-0646-6
- 3. Aké L. A. et al.,(1983).** Quelques vertus médicinale du Cassia occidentalis en base Cote d'Ivoire.
- 4. Anísio F. S. et al., (2005).** Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : adiponectine et prostaglandines; vol 133 .page 35
- 5. Auberval N. et al., (2010).** Prévention de stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelles Doc en science de l'université Strasbourg ; 258/52-53
- 6. Barouki R. et al., (2005).** Stress oxydant et vieillissement Article reçu le 9 juin, accepté le 2 août, Rev aspect biologiques et pathologiques, Paris : Lavoisier, 261-80. 5.
- 7. Bonnefont-R. D., Raji B. , Walrand S. , Gardès A. M. , Jore D. , Legrand A. , Peynet J. , Vasson MP. , (2003).** An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52(5):586-9.
- 8. Cai H., Harrison D.G., (2000).** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.*, 87(10):840-4.
- 9. Chapman et hall. (1996).** has dieter neuwinger African ethnobotanyponson and drugs: chimisty pharmacology toxicologyweinhein p. 287-293

- 10. Chen Q., Vaquez E. J., Moghodds S., Hoppel C. L., Lesnfsky E. J., (1992).** Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *J.Biol.chem.* P267;166-172.
- 11. Chugh S.N. et al. (1999).** An evaluation of oxidative stress in diabetes mellitus during uncontrolled and controlled state and after vitamin E supplementation. *J. Assoc. Physicians India*, , 47: 380-383
- 12. Delattre J, Beaudeux J-L, Bonnefont-Rousselot D., (2005).** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. *Première édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 547 pages*
- 13. Diplock A.T. Am. J., (1991).** Clin. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Nutr*, , 5 3, 189S-193S
- 14. Favier A. et al., (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* 108-115
- 15. Fortin D. et al., (2000).** Plante médicinales de sahel Endaediton
- 16. Fridovich I. et al., (1995).** Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.* 64:97-112.
- 17. Gale C. et al., (2001).** Ashurst H, Powers H & Martin CN. Antioxidant vitamin status and carotid atherosclerosis in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74(3):402-8
- 18. Haleng J., Pincemail J., Defraigne, J.O. Charlier C. ChaPelleJ.P., (2007)** Espèces oxygénées activées, antioxydants et oligoéléments *Rev Med Liege* ; 62 : 10 : 628-638.
- 19. Hozawa A. Jacobs D. Steffes M. et al., (2007).** Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction: the Coronary Artery Risk Developpement in Young Adults (CARDIA)/ Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *ClinChem*, , 53, 1-9.

- 20. Ibrahim K. M. et al., (1989).** Un manuel illustré de légumineuses Kenya Kitale , Kenya, FAO - PNUD . 656 ppmedecinedafrique2i.e-monsite.com/pages
- 21. Kamal-Eldin A. et al., (1996).** AppelqvistLA.The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols.Lipids, 31(7):671-701.
- 22. Kerhano J. et al., (1974).** Pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques .1 vol, P 1012.
- 23. Larson R. A. et al., (1988).** The antioxidants of higher plants. Phytochemistry, , 27:969-978
- 24. Mansart A. et al., (2011).** Supplémentation en oméga 3 et antioxydant;et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo. ThSciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives Page 20 / 191
- 25. Mongens M. et al., (2013).** origine et conséquence du stress oxydant en école national vétérinaire d'Alfort;vol 103 page 98
- 26. Montagnier L. et al., (1998).** neurodegenerative diseases Marcel Dekker New York; Oxydativ stress in cancer; AID and
- 27. Montagnier L., Olivier R., Pasquier C., (1998).** Oxydativ stress in cancer; AID and neurodegenerative diseases Marcel Dekker New York; metformin towards oxidative stress. Metabolism, 52(5):586-9
- 28. Noctor G. et al., (1998).** Foyer CH.Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control.Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol., 49:249-279.
- 29. Pincemail J. Meurisse M. Limet R. Defraigne J.O., (1999).** Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. Medi-Sphere:29-33
- 30. Rafal S. et al., (2004).** l 'alimentation antioxydante, ;page 22-23
- 31. Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P.M., Pridham J.B., (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolicflavonoids.*Free Radical Research*, 22, 375-383.

- 32. Scherer R., Godoy H.T. et al., (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2s diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112, 654-658
- 33. Sohal R. S., MockettR.J.,OrrW.C., (2002).** Mèchanism of aging: an appraisa l c the oxidative stress hypothesis ;free rad.Biol.Med;33(5);p;575
- 34. Sorg O. et al., (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?C. R. Biol., , 327(7):649-62.
- 35. Stahl W. Sies H., (1997).** Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids.Diabetes, 46(Suppl 2):S14-8.
- 36. Stahl W. et al., (2002).** Carotenoids and protection against solar UV radiation .Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol., 15(5):291-6.
- 37. Welé A. et al., (2010).** Les substances naturelles anti tumorales (anticancéreuses) et perspectives, cours école de formation doctorale, laboratoire de chimie organique et thérapeutique, UCAD, ,doc.pdf

#### **WEBOGRAPHHE :**

- [www.dictionnaire.doctissimo.fr/definition-affection-ophtalmique-d-origine-allergique.htm](http://www.dictionnaire.doctissimo.fr/definition-affection-ophtalmique-d-origine-allergique.htm)
- [www.afriquebio.com/pages/plantes-medicinales-d-afrique/cassia-occidentalis.html](http://www.afriquebio.com/pages/plantes-medicinales-d-afrique/cassia-occidentalis.html)

# SERMENT DE GALIEN

---

*Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes Condisciples.*

*D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

*D'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.*

*De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

## **PERMIS D'IMPRIMER**

Vu :

Le président du jury

Vu :

Le Doyen.....

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, le Président de l'assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et par  
délégation

Le Doyen