

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Faculté de Pharmacie

ANNÉE 2016

THÈSE N°

**LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS**

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 29 mars 2016

par

**Thomas DESMIER**

né le 21 mars 1981, à Limoges

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Mme Annick Rousseau, *Professeur* ..... Président  
Mr Patrick Trouillas, *Maitre de conférences (Directeur de thèse)* ..... Juge  
Mr Florent Di Meo, *Docteur en Pharmacie* ..... Juge  
Mme Elodie Gauvin, *Docteur en Pharmacie* ..... Juge

2 rue du Docteur Marcland  
87025 Limoges cedex  
T. 05 55 43 58 00  
F. 05 55 43 58 01  
S. <http://www.unilim.fr>

## Faculté de Pharmacie



DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**

1<sup>er</sup> VICE-DOYEN : Madame Catherine **FAGNERE**, Maître de Conférences

### PROFESSEURS :

<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>DESMOULIERE</b> Alexis	PHYSIOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MAMBU</b> Lengo	PHARMACOGNOSIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOSTATISTIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACOTECHNIE

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

<b>MOESCH</b> Christian	HYGIENE HYDROLOGIE ENVIRONNEMENT
<b>PICARD</b> Nicolas	PHARMACOLOGIE
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
<b>SAINT-MARCOUX</b> Franck	TOXICOLOGIE

### MAITRES DE CONFERENCES :

<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>BEAUBRUN-GIRY</b> Karine	PHARMACOTECHNIE
<b>BILLET</b> Fabrice	PHYSIOLOGIE
<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>CLEDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>COURTIOUX</b> Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
<b>DELEBASSEE</b> Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>DEMIOT</b> Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
<b>GRIMAUD</b> Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTROLE DU MEDICAMENT
<b>JAMBUT</b> Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>LABROUSSE</b> Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
<b>LEGER</b> David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>MARRE-FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MERCIER</b> Aurélien	PARASITOLOGIE
<b>MILLOT</b> Marion	PHARMACOGNOSIE
<b>MOREAU</b> Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>PASCAUD</b> Patricia	PHARMACIE GALENIQUE – BIOMATERIAUX CERAMIQUES
<b>POUGET</b> Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE

**PROFESSEUR DE LYCEE PROFESSIONNEL :**

<b>ROUMIEUX</b> Gwenhaël	ANGLAIS
--------------------------	---------

**ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :**

<b>CHEMIN</b> Guillaume (01.09.2015 au 31.08.2016)	BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET CLINIQUE, CANCEROLOGIE
<b>FABRE</b> Gabin (01.10.2015 au 31.08.2016)	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE

**PROFESSEURS EMERITES :**

**BUXERAUD** Jacques

**DREYFUSS** Gilles

**ODART** Nicole

*A ma grand-mère et mon grand-père maternels,  
A mon cousin Nicolas que je considérerais comme mon frère*

## Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier Madame Annick Rousseau. Vous me faites un grand honneur d'avoir accepté d'être la présidente de mon jury. C'est un plaisir de vous revoir 2 ans et demi après la fin de ma 6ème année de Pharmacie. Une histoire se termine et je suis heureux que cela fasse en votre présence, près de 18 ans après avoir fait votre connaissance par l'intermédiaire de votre fils.

Mes remerciements vont également à Monsieur Patrick Trouillas, mon directeur de thèse, pour avoir accepté de me suivre dans ce travail qui aura mis plusieurs années à aboutir à cette soutenance. J'ai énormément apprécié travailler avec toi pendant mes études, ta passion est communicative et tu as toujours été là pour tes étudiants. Humainement parlant, il a toujours été plaisant de te côtoyer, tu m'as fait découvrir ton univers, que ce soit culturellement parlant (je pense notamment au musée Magritte de Bruxelles et à la visite de Bruges sous la neige) ou dans le domaine culinaire (la bière belge forcément ou le vol-au-vent).

Monsieur le docteur Florent Di Meo, merci d'avoir accepté d'intégrer mon jury. Nous avons vécu beaucoup de choses ensemble, je me souviens de ta chevelure quand nous sommes connus... bien t'en a pris de couper tout ça! Je sais que tu es quelqu'un de confiance, tu m'as montré de multiples fois que je pouvais compter sur toi. Les plus beaux exemples sont de m'avoir accompagné à Toulouse pour me soutenir lors de mes examens de M2 et là, sur cette thèse, de m'avoir accompagné dans cette longue rédaction. Tout n'a pas été tout rose, et ton séjour sous le soleil Suédois nous a éloignés, mais nous nous sommes retrouvés en terre Couzeixoise pour mon plus grand plaisir. J'en profite pour remercier Sophie pour sa gentillesse mais également d'avoir accepté que l'on puisse prendre un peu de son Ketchup (on n'ose pas encore toucher au pot de Nutella), et à Axel, le futur copain de jeux de Colin et de « bip », pour ses récents sourires qui font tellement de bien au cœur.

Merci au docteur Elodie Gauvin, ou CAEL pour les intimes, d'avoir bien voulu prendre place dans mon jury. C'est grâce à toi (et forcément ton mari) que j'ai pu commencer mon activité professionnelle et pendant près d'un an ½ nous avons travaillé ensemble entre 2 thés minceur. Tu as toujours été là pour me donner un coup de main et je m'estime chanceux d'avoir appris à te connaître. Pouvoir travailler en synergie avec quelqu'un comme ça été le cas avec toi est quelque chose de rare et d'extrêmement enrichissant.

Je tiens maintenant à remercier les personnes qui me supportent depuis plus de 35ans, mes parents... Maman, merci pour ta patience et ton amour. Tu as toujours tout fait pour arrondir les angles afin que les choses se passent le mieux possible pour tout le

monde. Je tiens de toi mon caractère émotif qui me fait pleurer devant Titanic, mais je n'aimerais pas perdre ce côté Claeys. Papa, merci pour tout. Tu es loin d'être la plus expressive (ça c'est le côté Desmier) mais je sais que tu m'aimes, que je peux te faire confiance et que tu ferais tout pour tes enfants. Je suis fier de vous, fier que vous soyez mes parents et fier des grands-parents que vous êtes.

Frédéric, mon frère... ça n'a pas été simple quand nous étions jeune vu la différence d'âge et nos caractères opposés. Je me souviens encore de nos prises de tête, de ton doigt dans mon œil mais également des parties de basket, de Zelda et de ta 104 style Z! Tu es pour moi un exemple, que ça soit pour tes études et ta carrière professionnelle. Je dois avouer avoir été un peu jaloux devant autant de réussite mais tu l'as amplement méritée. Je suis content d'avoir un frère comme toi, et je n'aurai pas aimé que tu sois autrement que comme tu es. Tu as de la chance d'avoir Julie dans ta vie et j'estime avoir de la chance de l'avoir comme belle-sœur. Tu es patiente, plutôt discrète, mais tu sais t'imposer quand c'est nécessaire. C'est pour ces qualités que nous t'avons choisie comme marraine pour Colin. Merci à mes deux adorables nièces, Margaux et Valentine... vous êtes des anges.

Je remercie tout le reste de ma famille, que ça soit le côté Desmier ou le côté Claeys, grands-parents, oncles, tantes, cousins, cousines... nous sommes une jolie petite famille. Sachez toutes et tous que vous avez une place importante dans mon cœur.

Merci à ma belle-famille pour votre soutien tout au long de ces années. Marie-Laurence, merci de m'avoir fait confiance, je sais que je peux compter sur vous et que vous seriez capable de tout pour nous. Je sais que je ne suis pas parfait mais je fais mon possible pour rendre votre fille heureuse comme elle le mérite. Mamie, je me rappelle très bien de nos discussions que ce soit sur la géopolitique, l'éducation ou le sport, et je vous remercie pour tous ces échanges. Mais je me rappelle que nous devons aller voir un match du CSP ensemble, je ne l'oublie pas!

Bibi et Mathilde, que de bons souvenirs passés tous les 5... à Center Parks, à Saint-Georges, nos parties de Carcassonne, ou de Catane... je crois, Bibi, que Colin a trouvé un copain de jeux à la hauteur, c'est pour cela que tu es son parrain. Tu as ce côté fufou que l'on adore, nos questionnements sur nos avenir professionnels nous ont grandement rapprochés et j'ai été très touché de la confiance que tu m'as portée en me proposant d'être témoin à ton mariage. Mathilde, ou maitresse Mathilde plutôt, ou Mme Autorité... merci d'avoir été là à nos côtés dans les très bons moments ainsi que dans ceux extrêmement stressants. J'aurais tellement aimé que vous puissiez rester sur Limoges, mais ça nous fera l'occasion de visiter Angers et pourquoi pas aller au zoo de la Flèche ensemble. Vous serez toujours les bienvenus à la maison.

Gabin, merci pour tous les conseils que tu as pu me donner, que ça soit dans le boulot ou sur la photographie. Nos parties en réseau ou les vols en drone resteront dans ma mémoire. Merci Gaëlle pour ta gentillesse, tes petits plats sont des stimulateurs de papilles!

Je te remercie Pierrot, je pense que tu es la personne qui doit le mieux comprendre mon soulagement en terminant enfin mes études avec cette thèse. Nous allons tous les deux vivre une nouvelle expérience en terre Creusoise, et j'espère avoir l'occasion de travailler avec toi. Anaïs, j'ai en mémoire nos années d'étude ensemble, nos questionnements sur nos avenir professionnels et les soirées à regarder des Disney!

Merci Amandine, tu as été là pour nous écouter lors de nos moments d'angoisse. Tu dois comprendre facilement le soulagement que j'éprouve en écrivant les derniers mots de ma thèse, toi qui vient de terminer ton doctorat.

Mes deux dernières années ont été marquées par mon expérience professionnelle au sein d'une équipe où tout le monde travaillait dans le même sens. Je remercie plus particulièrement Mathieu de m'avoir fait confiance, tu as été un chef à l'écoute et toujours de bon conseil. J'ai énormément appris à tes côtés, tu m'as laissé de plus en plus de libertés et je me suis éclaté dans le travail. Merci à tous les autres, l'ambiance était top et vous me manquez presque autant que les viennoiseries le matin. J'ai une pensée particulière pour Sina et nos recherches de maison, Jean-Claude pour ta bonne humeur permanente et nos débats tranchés, Christophe pour nos parties de basket et ta générosité, Clémence pour t'avoir retrouvée ici plus de 10 ans après t'avoir connu à la fac, et enfin Benjamin pour l'ambiance que tu es capable de mettre, tu es un imitateur/chanteur hors pair.

Enfin, oui il faut bien finir les remerciements et je tiens à te remercier, Claire, pour l'amour que tu m'apportes chaque jour depuis plus de 7 ans. Notre histoire n'a pas été simple à nos débuts et je pense que le trajet Limoges-Tulle n'a plus de secrets pour moi. Merci de m'avoir soutenu quand j'ai pris la décision de reprendre mes études, de ton aide et de ton écoute tout au long de ces années. Tu me donnes envie de me dépasser et d'aller au-delà de mes limites. Je suis fier de partager ma vie avec toi, j'espère l'être encore de longues années mais si possible dans une maison un peu plus grande! Merci de m'avoir donné un fils aussi extraordinaire. Colin, du haut de tes 3 ans ½ tu m'apportes tellement chaque jour qui passe, je te vois grandir, évoluer, progresser mais tout va si vite. J'ai l'impression qu'hier tu faisais encore dodo dans les bras de papa... tu es notre grand petit-bonhomme et je suis fier de t'avoir. J'espère qu'un jour tu ressentiras autant de fierté pour ton papa. Enfin, je remercie également « bip », c'est en partie grâce à toi que je passe ma thèse aujourd'hui... en effet, il fallait absolument que ça soit fait avant ton arrivée sinon je n'aurais jamais trouvé le temps de me poser 5 minutes pour écrire ce manuscrit. Nous avons



hâte que tu arrives (si possible évite la 1<sup>ère</sup> semaine d'avril) afin de pouvoir partager des moments de bonheur tous les 4.

## Droits d'auteurs



Cette création est mise à disposition selon le Contrat : « **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** » disponible en ligne

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

# Plan

## Introduction

1. Stress oxydant et pathologies
  - 1.1. Stress oxydant
    - 1.1.1. Espèces réactives
    - 1.1.2. Cibles
  - 1.2. Pathologies associées
    - 1.2.1. Théorie radicalaire du vieillissement
    - 1.2.2. L'inflammation
    - 1.2.3. Diabète de type 2
    - 1.2.4. L'athérosclérose
    - 1.2.5. Le processus de cancérisation
    - 1.2.6. Maladies neurodégénératives
2. Antioxydants
  - 2.1. Définition
  - 2.2. Systèmes antioxydants endogènes
    - 2.2.1. Enzymatiques
    - 2.2.2. Non enzymatiques
  - 2.3. Autres antioxydants
    - 2.3.1. Les vitamines
    - 2.3.2. Les oligo-éléments
    - 2.3.3. Les polyphénols
    - 2.3.4. Les terpénoïdes
3. Evaluation de l'activité antioxydante
  - 3.1. Test DPPH
  - 3.2. Test TEAC
  - 3.3. Test ORAC
  - 3.4. Test FRAP
  - 3.5. Test TRAP
  - 3.6. Cyclovoltammétrie
  - 3.7. Test à l'hémolyse des globules rouges
  - 3.8. La résonnance paramagnétique électronique (RPE)
  - 3.9. Méthodes de dosage des antioxydants
    - 3.9.1. Phénols totaux
    - 3.9.2. Vitamine C
    - 3.9.3. Flavonols
    - 3.9.4. Anthocyanes
    - 3.9.5. Sélénium total
  - 3.10. Evaluation théorique de l'activité antioxydante
4. Etudes et applications
  - 4.1. Etudes
    - 4.1.1. SU.VI.MAX
    - 4.1.2. SU.VI.MAX 2
    - 4.1.3. Meta-analyse
  - 4.2. Utilisation dans l'industrie agroalimentaire
    - 4.2.1. La vitamine C et ses dérivés
    - 4.2.2. Les dérivés de l'acide gallique
    - 4.2.3. La résine de gaïac
    - 4.2.4. L'acide érythorbique et ses dérivés
    - 4.2.5. Autres
  - 4.3. Utilisation en cosmétologie
    - 4.3.1. Les antioxydants naturels
    - 4.3.2. Les antioxydants de synthèse

- 4.3.3. Les actifs et plantes utilisées
- 4.4. Utilisation en médecine humaine
  - 4.4.1. La PUVAthérapie
  - 4.4.2. Les topiques
  - 4.4.3. Les veinotoniques
  - 4.4.4. Prévention dans le phénomène d'ischémie-reperfusion
  - 4.4.5. Prévention des maladies cardiovasculaires
  - 4.4.6. Les suppléments vitaminiques

Conclusion

Références bibliographiques

Table des figures

# Introduction

L'homme a dû faire face à son environnement et a appris à utiliser les ressources naturelles pour subvenir à ses besoins nutritionnels afin d'assurer sa survie et la pérennité de son espèce. Apprendre à reconnaître les plantes à caractère bénéfique pour l'organisme et se méfier de celles ayant un effet néfaste est une nécessité naturelle, très développée par l'homme mais également par d'autres espèces animales.

L'histoire de l'Homme est jalonnée d'exemples où les grandes civilisations avaient une grande connaissance de la Nature dans laquelle elles se développaient. Les connaissances acquises au fil des générations ont permis par exemple à la société chinoise d'avoir une médecine traditionnelle très aboutie exploitant les vertus médicinales des plantes, ou à la société égyptienne de l'antiquité d'acquérir un savoir-faire exceptionnel en terme de conservation des corps ainsi que dans l'amélioration de l'apparence.

La société moderne profite encore de ces connaissances ancestrales. Grâce à des études scientifiques, les substances contenues dans les plantes ont pu être étudiées, leur structure moléculaire analysée, leurs propriétés sur l'organisme humain identifiées.

Les avancées de la médecine ont permis de mieux comprendre la physiologie du corps humain et les réactions chimiques permettant son bon fonctionnement. Dès lors, bon nombre de pathologies ont vu leurs mécanismes de survenue identifiés. L'oxydation, si elle est nécessaire à la vie, peut aussi avoir un effet délétère : le stress oxydant peut causer de sévères dommages cellulaires. Pour se protéger de ce type d'agression, notre organisme produit ou fait appel à une source exogène d'antioxydants.

L'équilibre entre pro-oxydants et antioxydants est précaire. Pour maintenir cet équilibre, une alimentation variée est nécessaire. On trouve de nombreux antioxydants dans l'alimentation, que ce soit dans les fruits, les légumes ou les boissons. Une modification des habitudes alimentaires a été observée ces dernières décennies avec notamment le développement des « fast-food » et la consommation de produits surgelés qui perdent une partie de leurs vitamines. Ainsi l'apport exogène en antioxydants diminue et peut favoriser l'apparition de certaines pathologies induites par ces carences.

# 1. Stress oxydant et pathologies

## 1.1. Stress oxydant

De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants), avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule.

Dans les conditions physiologiques, l'oxygène produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS, pour Reactive Oxygen Species) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire, c'est notamment le cas au niveau des mitochondries d'une cellule. De nombreux ROS sont des radicaux libres, possédant des propriétés oxydantes qui les amènent à réagir avec leurs environnements chimiques, incluant une série de substrats biologiques d'importance (lipides, protéines, ADN, sucres,...). Au niveau moléculaire, ces ROS peuvent également jouer le rôle de messagers secondaires en activant différents facteurs ou indirectement des gènes impliqués dans le développement de diverses pathologies.

Initialement, la production endogène des ROS a pour but de défendre l'organisme contre des agents pathogènes (e.g., bactéries, virus). C'est le cas lors de la phagocytose d'une bactérie par un macrophage, le phagosome créé fusionne avec le lysozyme qui contient de nombreux ROS. La bactérie se trouve en contact direct avec ces espèces hautement réactives, détruisant alors l'agent pathogène.

Cependant, les ROS ne sont pas des espèces sélectives, elles ne sont pas capables de faire la différence entre l'agresseur et l'agressé. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a en parallèle développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production de ces ROS. Ces mécanismes font intervenir un système endogène (enzymatique ou non enzymatique), mais également des molécules provenant l'alimentation incluant des vitamines et des oligoéléments.

Il est important de noter que le stress oxydant peut être également la conséquence de l'effet de facteurs environnementaux. En effet, la vie moderne confronte notre organisme à des facteurs provoquant une surproduction de ROS tels que la pollution, l'absorption d'alcool ou de médicaments, l'exposition au soleil ou encore le tabagisme. Ceci conduit soit à un affaiblissement de nos défenses antioxydantes soit à la synthèse directe de ROS, pouvant engendrer des dégâts cellulaires. Un stress oxydant peut se développer lors d'une chirurgie cardio-vasculaire, d'une transplantation d'organes ou d'une détresse respiratoire mais aussi en cas d'exercice intense mal maîtrisé. En parallèle de ces agressions, la situation s'aggrave du fait d'une alimentation moins saine et moins équilibrée qu'auparavant.

De ce fait, l'apport en antioxydants naturels est de plus en plus faible malgré leur rôle dans le contrôle des effets nocifs de l'oxygène.

Ainsi, chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant. Celui-ci est fonction du mode de vie, des caractéristiques génétiques mais également de l'environnement. Une bonne hygiène de vie ainsi que de bonnes habitudes alimentaires jouent également un rôle primordial dans le maintien d'un potentiel antioxydant optimal.

Déterminer le statut de stress oxydant d'un individu devient actuellement un sujet prioritaire en termes de prévention de maladies. En effet, de nombreuses études indiquent qu'il existe une association entre l'altération des systèmes de défense antioxydants et le développement de plus de 200 physiopathologies différentes comme l'athérosclérose ou le cancer mais également le SIDA, les maladies inflammatoires, le diabète et le vieillissement(1).

### **1.1.1. Espèces réactives**

Les espèces réactives (pouvant être de nature radicalaire ou non) se divisent en deux catégories principales : d'une part les ROS et d'autre part les espèces réactives de l'azote (ou RNS pour Reactive Nitrogen Species).

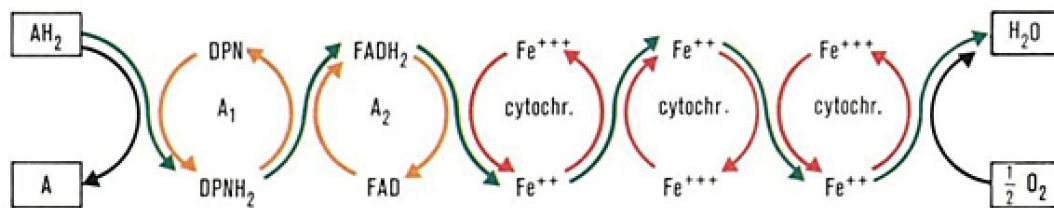
Les radicaux libres constituent une proportion importante des ROS. Un radical libre se définit comme une espèce chimique, (e.g., atome ou molécule) possédant un ou plusieurs électron(s) célibataire(s) sur sa couche externe de valence lui conférant une grande instabilité et donc une grande réactivité. La genèse de ces radicaux libres au sein de l'organisme est un processus physiologique en réponse à un facteur exogène tel que l'agression par des microorganismes, des métaux lourds, des rayonnements ionisants, des rayons ultra-violetts ou encore la fumée de cigarette.

#### **Espèces réactives de l'oxygène**

Les ROS sont majoritairement produits au sein de 2 sites cellulaires : d'une part la mitochondrie et d'autre part la membrane plasmique(2).

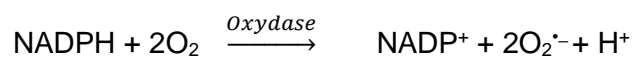
Les ROS peuvent être générés au niveau de la chaîne mitochondriale, plus précisément au niveau de la membrane mitochondriale interne. La mitochondrie est un organe essentiel dans le métabolisme de l'oxygène. Le métabolisme de la chaîne mitochondriale consiste en une succession de transferts d'électrons catalysée par des enzymes permettant la production d'énergie sous forme d'ATP à partir de l'oxygène O<sub>2</sub>. En cas de métabolisme incomplet ou de défaillance, certains ROS peuvent être produits et traverser la membrane mitochondriale. Du fait de l'activité importante de la chaîne respiratoire, la production mitochondriale de ROS est supérieure à celle provenant de la

NADPH oxydase. Dans des conditions normales, on estime que 80% des ROS sont produites par la chaîne mitochondriale.



**Figure 1.** Transfert électronique et d'hydrogène du composé AH<sub>2</sub> (qui s'oxyde en A) le long de la chaîne respiratoire aboutissant à la formation d'H<sub>2</sub>O à partir d'O<sub>2</sub>

Dans la membrane plasmique se trouve une enzyme, la NADPH oxydase. Elle permet de catalyser la réduction de l'oxygène en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons. Cette réduction aboutit à la production de l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>.

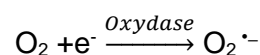


La NADPH oxydase a la particularité de présenter des domaines intra-, trans- et extra-membranaires, cette particularité va permettre la libération l'anion superoxyde à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule(3).

Enfin les NO synthases se présentent sous 3 isomères différents : la forme neuronale, la forme inductible et la forme endothéliale. Ces enzymes vont permettre la catalyse la synthèse de NO'(4).

- L'anion superoxyde : O<sub>2</sub><sup>•-</sup>

L'anion superoxyde est généré par différents systèmes enzymatiques notamment des oxydases (e.g., NADPH oxydase dans la membrane lipidique et cytochrome oxydase dans la chaîne respiratoire mitochondriale). Cette réaction se fait grâce au transfert d'un électron du cofacteur enzymatique à l'oxygène.

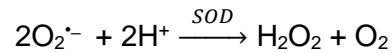


La durée de vie du radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup> ainsi créé est très courte du fait de sa forte réactivité. Il va ainsi interagir rapidement avec son environnement direct (molécules de solvant). L'anion superoxyde est un souvent désigné comme une des espèces permettant la production de nombreuses autres espèces réactives de l'oxygène.



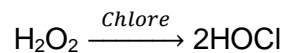
- Le peroxyde d'hydrogène : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

La double prototation de l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> peut se passer dans des conditions favorables en milieu acide. Cette réaction est catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) aboutissant à la formation de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

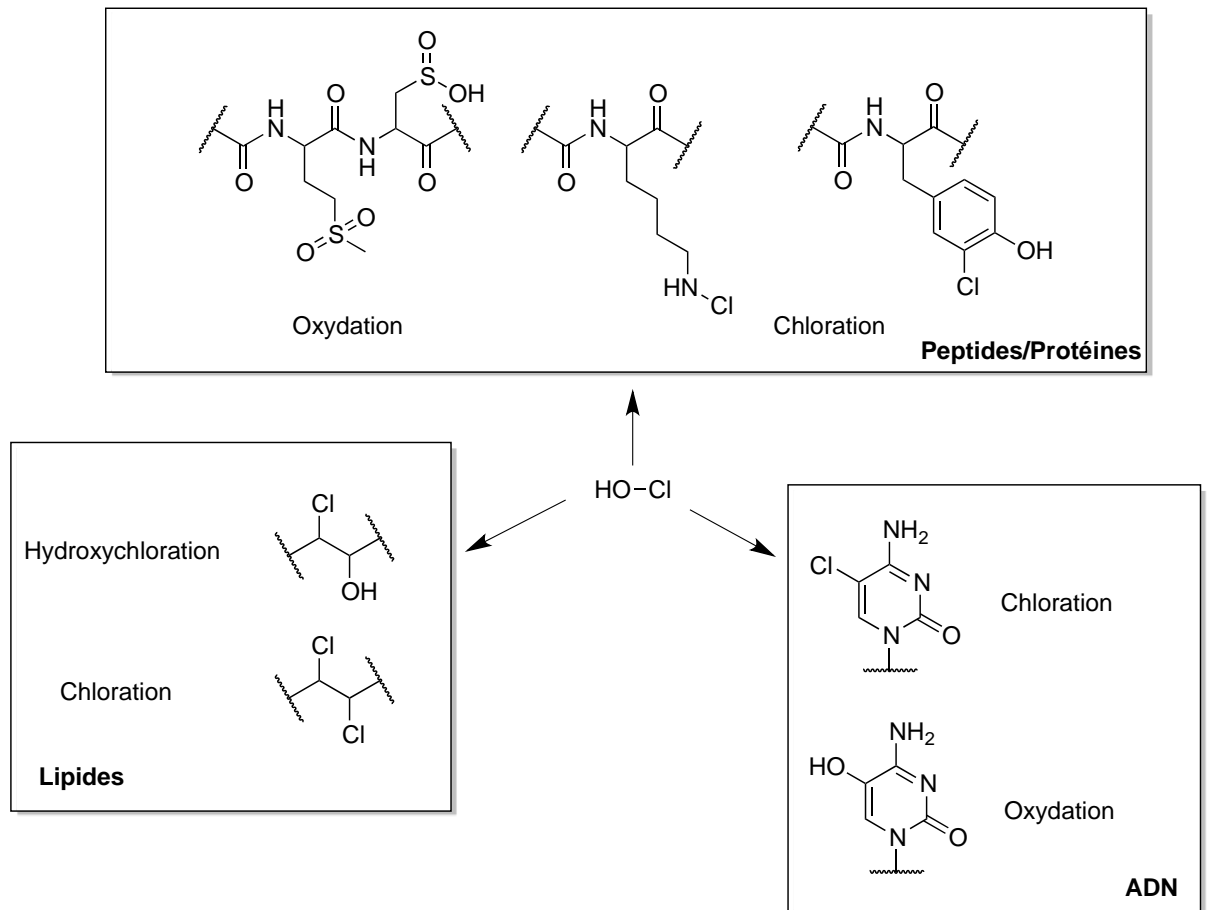


Le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'est pas un radical libre, et présente donc une plus grande stabilité par rapport aux les radicaux libres. Toutefois il est considéré comme une espèce réactive d'oxygène car il intervient comme intermédiaire de synthèse d'autres radicaux libres. Ses propriétés physico-chimiques lui permettent de traverser la membrane lipidique, il joue donc un rôle important comme vecteur et diffuseur du stress oxydant.

Le peroxyde d'hydrogène peut réagir dans les milieux intracellulaires avec des anions de chlore aboutissant ainsi à la formation d'acide hypochloreux.

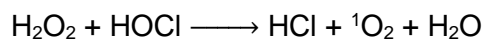


Cet acide peut réagir avec les groupements amines de certains composés biologiques (e.g., protéines, lipides, ADN), entraînant leur dénaturation.



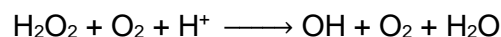
**Figure 2.** Exemple de réactivité de l'acide hypochloreux HOCl vis-à-vis de protéines, de lipides et d'ADN

L'acide hypochloreux peut également réagir avec le peroxyde d'hydrogène aboutissant à la formation de dioxygène singulet activé  $^1\text{O}_2$ .

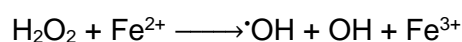


- Le radical hydroxyle :  $\cdot\text{OH}$

Le radical hydroxyle est très toxique, il provient de la réaction très lente entre  $\text{O}_2^{\cdot-}$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



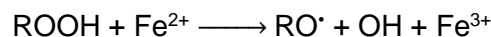
Le radical hydroxyle peut également provenir de la réduction du peroxyde d'hydrogène par un métal de transition comme par exemple l'ion ferreux. Cette réaction est appelée la réaction de Fenton.



Il s'agit, et de loin, du ROS le plus réactif et le plus toxique, sa durée de vie étant extrêmement courte de l'ordre de  $10^{-9}$ s. Le radical hydroxyle réagit de manière non spécifique avec son environnement (comme l'ADN ou les protéines), il intervient donc comme un initiateur de la peroxydation lipidique ayant comme résultat la dégradation de la membrane lipidique(5).

- Les radicaux alkyles  $R\cdot$ , alkoxyes  $RO\cdot$  et peroxyes  $ROO\cdot$

L'oxydation de la membrane cellulaire par le radical hydroxyle conduit à la formation de radicaux peroxyes  $ROO\cdot$ . La dégradation de ces derniers suivant la réaction de Fenton conduit à la formation de radicaux alkoxyes hautement réactifs.



### **Espèces réactives de l'azote**

Les espèces réactives de l'azote proviennent de la réaction des ROS avec le monoxyde d'azote  $NO\cdot$ . Ces réactions sont catalysées par la NO synthase dont il existe 3 types : neuronale, endothéliale ou inductible.

Dans des conditions physiologiques, l'oxyde d'azote est faiblement réactif. C'est l'action de l'anion superoxyde sur l'oxyde d'azote qui entraîne la formation de réactifs ayant une réactivité élevée.



### **Autres radicaux libres**

Il existe des radicaux libres « non biologiques » qui vont permettre d'évaluer l'activité antioxydante de composés. Parmi ces radicaux, on peut citer le radical DPPH (1,1- diphényl-2-picrylhydrazyle) ainsi que le radical cation ABTS<sup>•+</sup> (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)).

Le AAPH (le sel dichloré du 2,2'-azobis(2-amidinopropane)) n'est pas un radical libre mais cette molécule peut être utilisée comme générateur de radicaux libres notamment dans les études de la peroxydation lipidique.

Leur intérêt dans les méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes d'autres composés est discuté en Section 3. Evaluation de l'activité antioxydante.

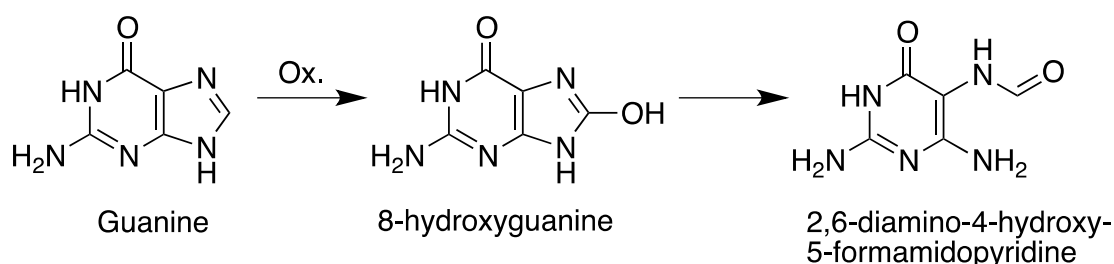
### 1.1.2. Cibles

Comme vu précédemment lors de l'inventaire des ROS et RNS, ces espèces réactives peuvent s'attaquer à de multiples cibles dans l'organisme comme l'ADN, les protéines et ou encore les lipides.

#### Acides nucléiques

Les ROS, et plus spécifiquement le radical hydroxyle, peuvent provoquer des dégâts au niveau des acides nucléiques. Ils peuvent provoquer des cassures, des mutations ou endommager le processus de réparation de l'ADN. De plus, les ROS peuvent induire des modifications au niveau de la transcription ou de la traduction de l'ADN et ainsi aboutir à la formation de protéines altérées. Ces modifications peuvent être à l'origine de phénomènes mutagènes ou d'un vieillissement accéléré(6).

Ainsi les radicaux libres ont notamment la capacité de pouvoir oxyder les bases nucléiques. La guanine est la base la plus touchée par ce phénomène et les dérivés oxydés les plus générés sont la 8-hydroxyguanine et la 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine(7). La plupart des bases oxydées seront éliminées par le mécanisme de répartition de l'ADN par excision de base, c'est-à-dire par élimination de la base, suivie d'un clivage du désoxyribose.



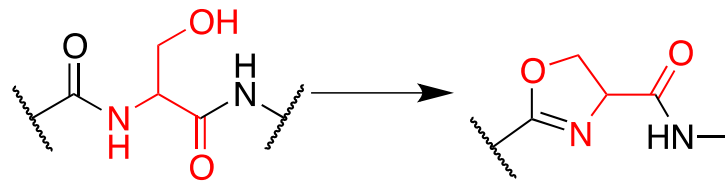
**Figure 3.** Principaux produits d'oxydation de la guanine par les radicaux libres

#### Protéines et acides aminés

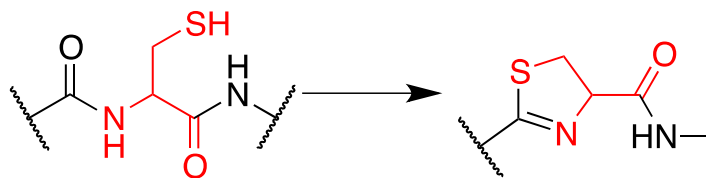
Les ROS peuvent oxyder les protéines et les acides aminés permettant la formation de produits carbonylés ou hydroxylés. Ces modifications vont entraîner une altération des protéines et ainsi modifier les systèmes enzymatiques associés en les activant ou en les inactivant. Les acides aminés soufrés ainsi que les basiques et les aromatiques sont les plus sensibles à ces oxydations qui peuvent s'effectuer selon 3 types.

- Par fragmentation des protéines et formation de produits carbonylés impliqués dans les maladies liées à un dysfonctionnement des neurotransmetteurs dans l'organisme. C'est le cas notamment dans l'épilepsie(8)

- Par réaction lors de la peroxydation lipidique ce qui provoque l'accumulation de lipoprotéines notamment à l'origine du développement des plaques d'athérome.
- Par réaction de glyco-oxydation pouvant se manifester par une augmentation de la glycémie en cas de diabète.



**Figure 4.** Oxydation de la sérine



**Figure 5.** Oxydation de la cystéine

### Lipides

La peroxydation lipidique est une réaction en chaîne des lipides par des ROS. Cette réaction en chaîne est l'une des plus grandes sources de radicaux libres au sein de l'organisme, principalement alkyl, alkoxy et peroxydes. Ce phénomène aboutit à l'altération irréversible de la membrane cellulaire entraînant la mort cellulaire(6).

Phase d' <b>initiation</b>	$L-H \longrightarrow L^{\bullet}$
Phase de <b>propagation</b>	$L^{\bullet} \xrightarrow{O_2} LOO^{\bullet}$ $LOO^{\bullet} + L-H \longrightarrow L^{\bullet} + LOOH$
Phase de <b>terminaison</b>	$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow LOOL$ $L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow L-L$ $2LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOL + O_2$ $LO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow LOL$

**Figure 6.** Cascade de réaction de la peroxydation lipidique

## 1.2. Pathologies associées

### 1.2.1. Théorie radicalaire du vieillissement

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale de l'ensemble des fonctions physiologiques et d'une sensibilité plus importante vis-à-vis de certaines maladies. La théorie radicalaire justifie cette altération par une accumulation de molécules oxydées. Cette oxydation a pour conséquence sur l'organisme l'apparition de mutations, de carbonylation des protéines (et ainsi leur dénaturation et leur agrégation) et l'oxydation des lipides. Cette théorie radicalaire du vieillissement a été développée pour la première fois en 1956 par Harman(9). La mise en évidence des radicaux n'a eu lieu que 13 ans plus tard par McCord et Fridovitch(10) par l'intermédiaire de la superoxyde dismutase ayant comme substrat le radical superoxyde.

Pour étayer cette théorie, de nombreux marqueurs biologiques du stress oxydant ont été observés au cours du vieillissement (8-oxo-guanine, dialdéhyde malonique, isoprostanes)(11)(12). Le transcriptome, ensemble des ARN issus de la transcription du génome, va permettre l'adaptation au long cours en réponse à un état cellulaire pro-oxydant. Au cours du vieillissement, le transcriptome va provoquer l'induction de plusieurs gènes codants pour des enzymes antioxydantes et la répression de gènes de la chaîne respiratoire. Les mécanismes de réparation cellulaire tels que les protéasomes, les protéines chaperons, diverses enzymes mais également les systèmes de réparation de l'ADN, sont moins performants avec l'âge ce qui contribue à la fixation et à l'accumulation d'anomalies(13)(14).

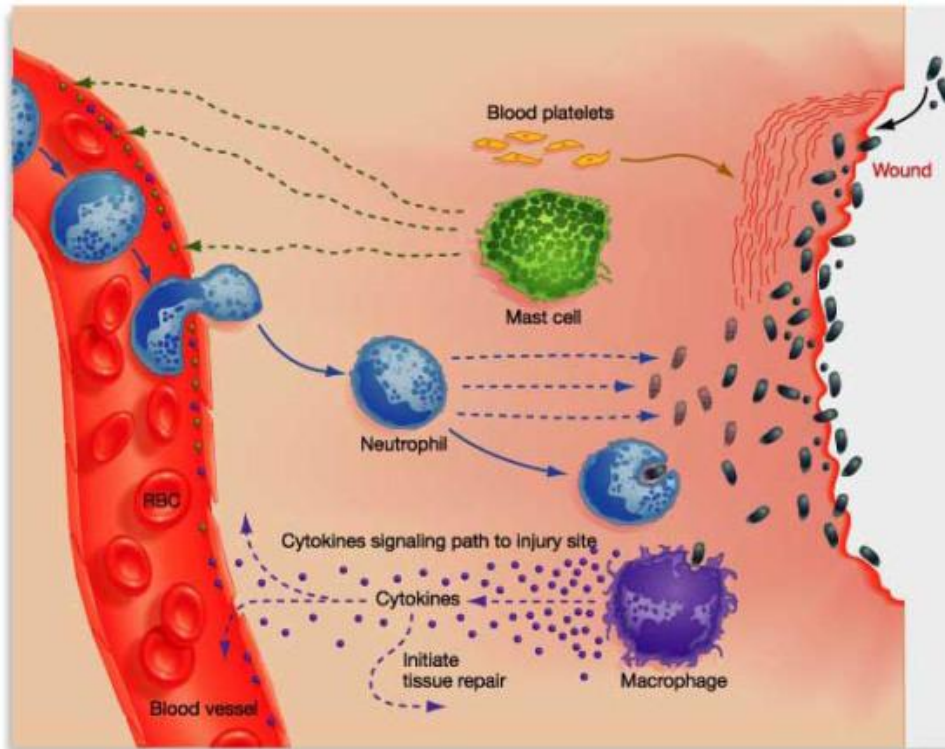
### 1.2.2. L'inflammation

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

Les différents facteurs induisant l'inflammation sont:

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

L'inflammation va avoir pour but de permettre l'élimination de l'agent agresseur et des débris cellulaires, ainsi que de la réparation des tissus(15).



**Figure 7.** Déroulement du processus inflammatoire

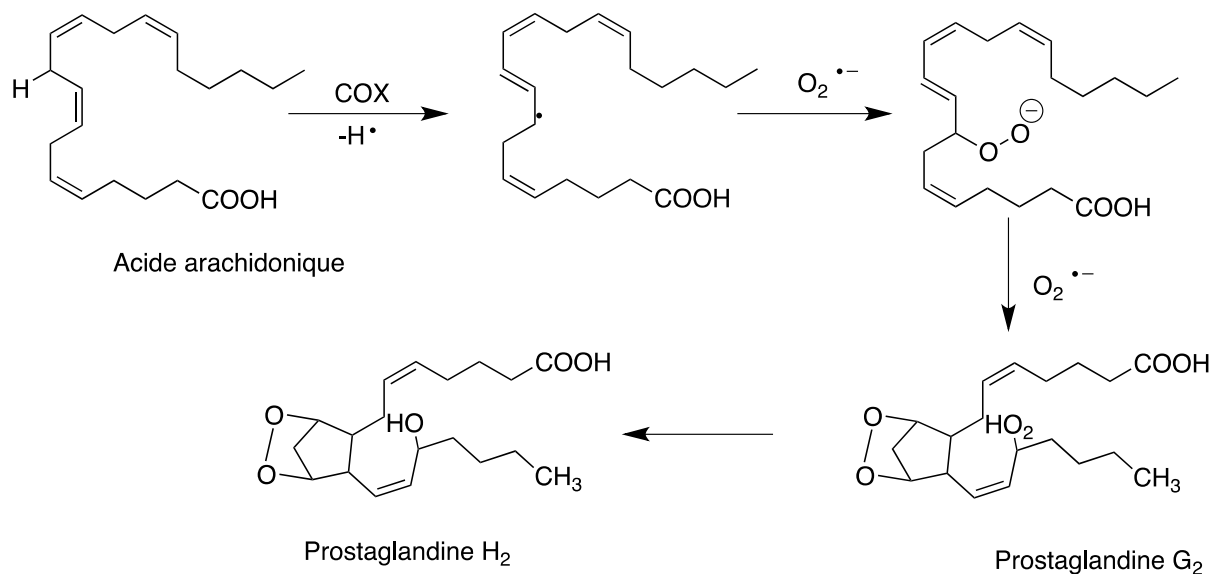
Ce phénomène se décompose en plusieurs étapes :

- 1 : entrée des agents pathogènes par la plaie cutanée.
- 2 : libération des protéines de la coagulation au niveau de la plaie par l'intermédiaire des plaquettes.
- 3 : Sécrétion par les mastocytes de facteurs médiateurs de la vasodilatation avec formation d'œdème.
- 4 : Libération par les neutrophiles de facteurs permettant la dégradation des agents pathogènes.
- 5 : Phagocytose des agents pathogènes par les neutrophiles et les macrophages.
- 6 : Sécrétion de cytokines par les macrophages. Ces dernières vont permettre (i) l'arrivée des cellules du système immunitaire et (ii) l'activation des cellules nécessaires à la réparation tissulaire.
- 7 : Poursuite du processus inflammatoire jusqu'à l'élimination des agents pathogènes et de la réparation des tissus lésés.

Par ailleurs, l'inflammation accélère la production de radicaux libres. Lorsque l'inflammation est limitée, les radicaux libres peuvent être contrôlés par les défenses

antioxydantes naturelles de l'organisme. Lorsqu'elle est trop intense ou chronique, les radicaux libres deviennent alors trop nombreux, submergent les défenses antioxydantes et entraînent des réactions en chaîne pouvant, entre autres, altérer des tissus sains.

Le système immunitaire, le complément, l'hémostase mais également les kinines interviennent en parallèle du stress oxydant(16). Un aspect important de l'inflammation est le rôle du métabolisme d'un des constituants des membranes cellulaires : l'acide arachidonique(17). Ce métabolisme implique l'oxydation de l'acide arachidonique par l'anion superoxyde permettant la synthèse de prostaglandine et de leucotriène (via des cyclooxygénases ou des lipoxygénases), eux-mêmes médiateurs de l'inflammation.



**Figure 8.** Métabolisme de l'acide arachidonique

L'interaction des radicaux libres avec les lipides membranaires, les protéines et l'ADN environnant aboutit à une réduction voire une inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale ainsi qu'une inactivation des canaux calciques.

### 1.2.3. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant est une maladie se caractérisant par un taux trop élevé de glucose dans le sang. Son origine est métabolique, elle provient de la modification progressive et insidieuse du métabolisme glucidique. Ainsi le glucose est moins bien absorbé au niveau des tissus adipeux et musculaires provoquant une augmentation du glucose sanguin. Son incidence augmente significativement avec l'âge, les signes cliniques s'observent généralement après 40 ans et la maladie est diagnostiquée à l'âge moyen de 65 ans. Il est important de noter que ce diabète doit être différencié de celui de type 1 qui résulte d'une absence d'insuline active.

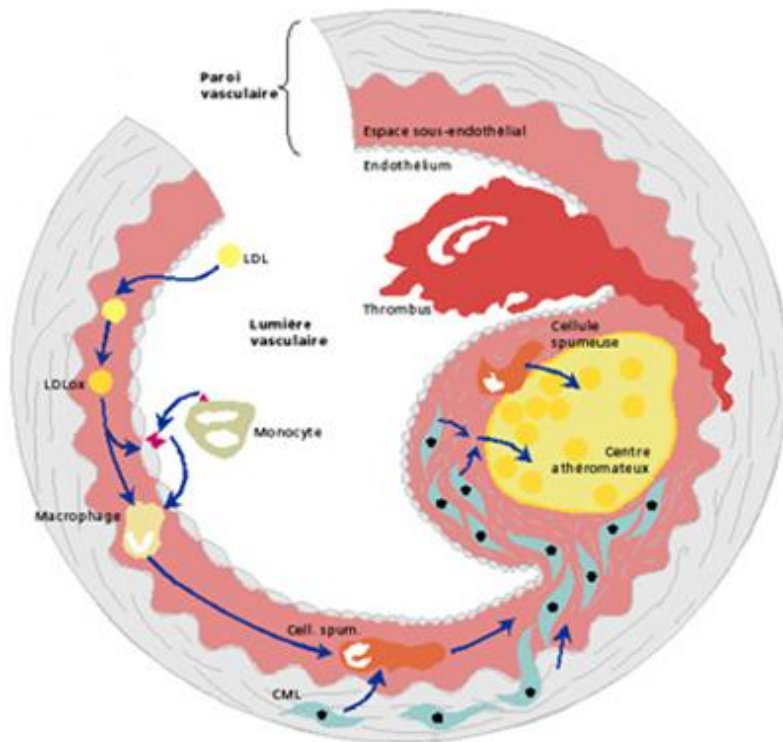


Il existe une composante génétique au diabète de type 2 mais elle ne peut en aucun cas expliquer à elle seule la survenue de la pathologie. Celle-ci est corrélée à l'âge et à l'interaction entre le génome et les conditions de vie. Son incidence augmente avec l'âge du fait des modifications des cellules et des organes, vues précédemment. De plus, la sédentarité, l'hypercholestérolémie et le surpoids sont des facteurs de risque de survenue de cette pathologie.

Le diabète engendre des hyperglycémies qui vont être perçues par l'organisme comme un stress oxydant(18). Dans cette maladie, contrairement aux autres développées dans ce chapitre, le stress oxydatif est superposable à l'hyperglycémie. Ainsi, plus la glycémie est élevée et prolongée, plus le stress oxydatif est intense et donc plus l'effet sera néfaste pour l'organisme. Cela va provoquer une augmentation de la dégradation du glucose qui, par accroissement du potentiel de membrane mitochondriale, va augmenter la synthèse de radicaux libres. Outre ce phénomène, il va se produire une inhibition de la glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase responsable de la diminution de formation du cofacteur réduit NADPH,H<sup>+</sup> essentiel à la régulation de l'homéostasie(19).

#### **1.2.4. L'athérosclérose**

Les ROS sont produites en permanence par les types constituant la paroi vasculaire. Ils sont, à l'état physiologique, des modulateurs des voies de transduction du signal et de l'expression des gènes participant à l'homéostasie vasculaire. L'homéostasie vasculaire se définit comme l'équilibre permettant de maintenir les différentes constantes (e.g., pH, température) du milieu intérieur de l'organisme nécessaires à son bon fonctionnement. Les cellules de la paroi vasculaire présentent un état redox physiologique qui peut être modifié dans de nombreuses circonstances physiopathologiques. Toute altération va avoir pour conséquence un stress oxydant qui sera nocif pour les cellules et pour leur fonctionnement vasculaire. Un exemple fréquent dans la civilisation occidentale est l'athérosclérose définie comme la formation d'une plaque d'athérome au sein de la paroi vasculaire. La présence de cette « protubérance » altère significativement l'écoulement sanguin pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la circulation ou la rupture de la plaque(20)(21).



**Figure 9.** Mécanisme de formation de la plaque d'athérome

Ce mécanisme de formation se décompose en plusieurs étapes :

- Passage des LDL de la lumière artérielle à l'intima.
- Oxydation de ces LDL.
- Recrutement des monocytes circulants : activation des cellules endothéliales et reconnaissance des monocytes par l'endothélium. Pénétration de ces monocytes au niveau de l'intima et transformation en macrophage.
- Association des macrophages et des cellules musculaires lisses (CML) aboutissant à la formation des cellules spumeuses.
- Multiplication des CML et migration de la média vers l'intima.
- Sécrétion de collagène, de fibres élastiques et de protéoglycannes par les CML.
- Accumulation de tissu conjonctif, de lipides, de CML et de cellules spumeuses.
- Formation du noyau lipidique.
- Ulcération de la paroi vasculaire.
- Adhésion et activation plaquettaire provoquant une thrombose.

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

### **1.2.5. Le processus de cancérisation**

Le stress oxydant joue un rôle particulier dans les différents processus de cancérisation. La réaction d'un ROS avec une base nucléique induit une modification de l'ADN. L'ADN humain est constamment soumis à l'action des radicaux libres à raison, en moyenne, de 20 altérations de l'ADN par jour. L'organisme a développé de nombreux systèmes, notamment enzymatiques, dédiés à la reconnaissance et la réparation de l'ADN (e.g., DNA polymerase). Cependant, ces systèmes sont parfois insuffisants, ce qui conduit à la création de protéines mutantes, à condition que la mutation ait lieu sur une partie traduite de l'ADN (i.e., exon). Selon la nature de la mutation, la protéine mutante pourra être inactive ou, à l'inverse verra son activité augmentée. Par exemple, une mutation désactivant une protéine de la chaîne apoptotique (e.g., p53, caspases) pourra être à l'origine de l'immortalisation de la cellule. Cette dernière pourra alors se diviser et constituer une lignée cellulaire immortelle.

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

### **1.2.6. Maladies neurodégénératives**

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

La maladie d'Alzheimer entraîne la perte des fonctions mentales et plus particulièrement de la mémoire jusqu'à la démence. Il s'agit d'une maladie incurable, sa survenue est progressive et irréversible. La protéine  $\beta$  amyloïde semble être un acteur important de la survenue de cette maladie, en effet on la retrouve dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. Elle possède un effet toxique sur les cellules neuronales(22). Bien que le lien de cause à effet entre stress oxydant et la maladie d'Alzheimer ne soit pas

encore bien élucidé, la présence de protéines  $\beta$  amyloïde est toujours associée à la présence de ROS. Il a été démontré que le stress oxydant favorise l'agrégation de bêta amyloïde qui lui-même va provoquer un nouveau stress oxydatif par dysfonctionnement au niveau du métabolisme neuronal et des états de certains métaux (e.g., fer et cuivre).

La maladie de Parkinson touche le système nerveux central en entraînant des troubles essentiellement moteurs. Elle va se développer de façon progressive et son évolution est irréversible. L'hypothèse développée pour cette pathologie est la mort cellulaire des neurones de la substance noire(23).

La maladie de Charcot se traduit par une dégénérescence progressive des motoneurones du cortex cérébral. Son évolution, généralement rapide, se traduit par une paralysie progressive de l'ensemble des muscles squelettiques ainsi que des muscles respiratoires. Il a été démontré que des mutations du gène codant pour la Cu,Zn-SOD ont été observées dans les formes familiales de la maladie(24).

## 2. Antioxydants

### 2.1. Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : (i) prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles décrites ci-dessus ou (ii) désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres.

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction.

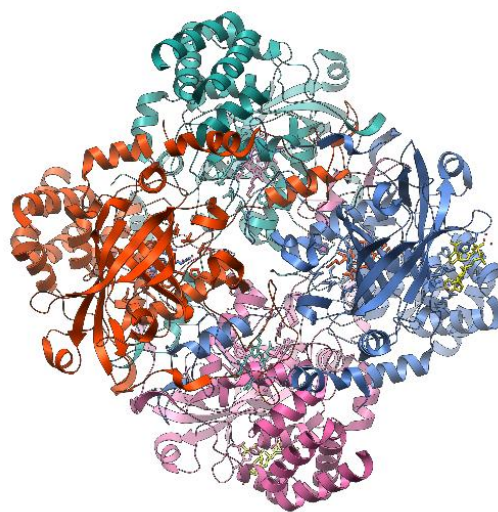
Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols.

### 2.2. Systèmes antioxydants endogènes

#### 2.2.1. Enzymatiques

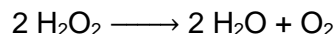
##### 2.2.1.1. La catalase

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales.

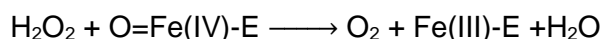
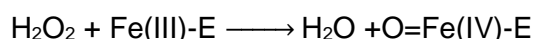


**Figure 10.** Structure tridimensionnelle de la catalase

Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.



Cette enzyme est constituée de quatre chaînes polypeptides, comportant chacune un atome de Fer sous forme ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Ces derniers constituent les sites actifs de cette enzyme. Le mécanisme de dismutation du peroxyde d'hydrogène est le suivant :

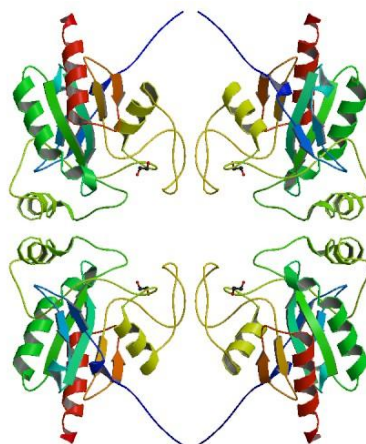


Sa vitesse de réaction est uniquement dépendante de la vitesse limite avec laquelle les molécules parviennent au site actif de l'enzyme ce qui en fait une des enzymes les plus efficaces connues(6).

### 2.2.1.2. La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (GSH-Px) est une enzyme à sélénium ayant la propriété de pouvoir catalyser la réduction des hydroxyperoxydes. Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries(25).

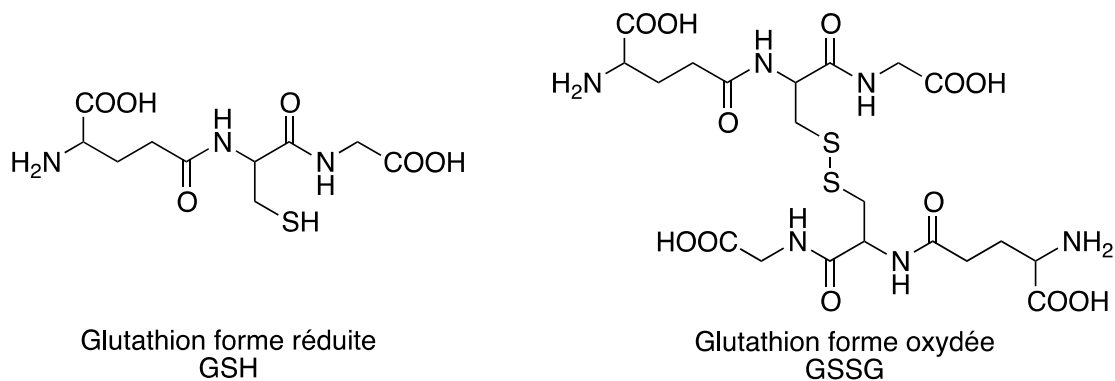
Elle est constituée de 4 sous-unités contenant chacune un atome de sélénium. Il existe 5 isoformes de cette enzyme variant suivant leur localisation dans l'organisme.



**Figure 11.** Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase

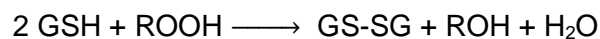
Cette enzyme constitue la voie majeure de dégradation des hydroperoxydes. Cette fonction antioxydante est d'autant plus importante qu'elle joue un rôle essentiel avec les superoxydes dismutases et la vitamine E(26). Elle va donc assurer l'équilibre intra et extracellulaire de la balance pro-/antioxydants.

Son activité principale est de permettre l'oxydation du glutathion par réaction de dimérisation avec la formation d'un pont disulfure. Cette réaction conduit à la génération de H<sub>2</sub> pouvant réduire les espèces environnantes.

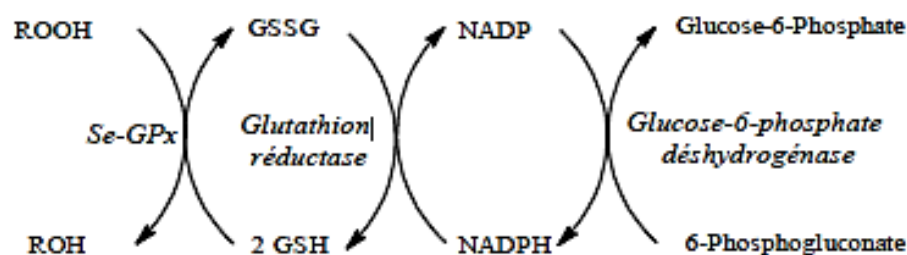


**Figure 12.** Réaction de dimérisation du glutathion

En présence de substrat de type ROOH, la réaction se traduit de la manière suivante avec la formation d'une molécule d'eau et d'une molécule d'alcool.



Le gros avantage de ce système est sa capacité à se régénérer. En effet, sous la dépendance du NADPH via le métabolisme des glucides, le glutathion réduit est capable d'être reformé et ainsi pouvoir être de nouveau disponible.



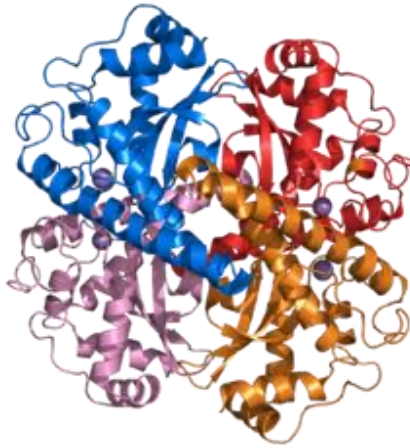
**Figure 13.** Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase

### 2.2.1.3. La superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) est une protéine métallique possédant une activité enzymatique lui permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup>(27).

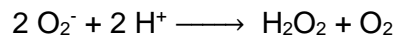
Il existe plusieurs SOD, elles diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans sa structure qui va (vont) permettre la liaison enzyme-ligand. Il est important de noter qu'il existe des SOD avec deux types de métaux qui pourront être du Cuivre, du Zinc, du Manganèse et/ou du Fer.





**Figure 14.** Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase

La réaction chimique catalysée par la SOD nécessite un milieu acide et va permettre d'agir simultanément avec 2 anions superoxydes aboutissant à la formation de dioxygène et de peroxyde d'hydrogène.



La dismutation du radical superoxyde est spontanée, mais l'action de la SOD permet de l'accélérer 10 000 fois(28).

Chez l'homme il existe trois différentes classes de SOD, catalysant toutes la même réaction : la SOD à cuivre et à zinc que l'on trouve dans le cytosol et au niveau des liquides extracellulaires, la SOD à fer et la SOD à manganèse, dans les mitochondries.

### 2.2.2. Non enzymatiques

Le glutathion est un tripeptide constitué d'acide glutamique, de cystéine et de glycine ( $\gamma$ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). Le groupement amine de la cystéine est lié à la fonction acide en  $\gamma$  de l'acide glutamique. La fonction thiol de la cystéine porte les principales propriétés de ce peptide.

On le retrouve dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries) soit sous forme réduite (GSH) soit sous forme oxydée (GS-SG). Le rapport de concentration entre ces deux formes est en faveur de la forme réduite, ce qui est nécessaire à l'action antioxydante. Pour être actif, le glutathion ne nécessite pas forcément l'action de la GSH réductase citée ci-dessus. Dans ce cas, la régénération à l'état initial ne sera pas possible.



## 2.3. Autres antioxydants

Notre comportement alimentaire joue un rôle important dans la faculté de l'organisme à lutter contre les effets néfastes du stress oxydant. Les études mettent en évidence les effets bénéfiques d'une alimentation riche en fruit et légumes.

### 2.3.1. Les vitamines

#### 2.3.1.1. La vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans les huiles végétales (e.g., l'huile de palme, d'olive et de tournesol). La vitamine E est en réalité formée de huit composés chimiques différents regroupés en deux sous-ensembles en fonction de la présence de groupements de substitution et de doubles liaisons. Nous trouvons donc le sous-ensemble des tocopherols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, ou  $\delta$ -tocopherol) et des tocotrienols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, ou  $\delta$ -tocotrienol).

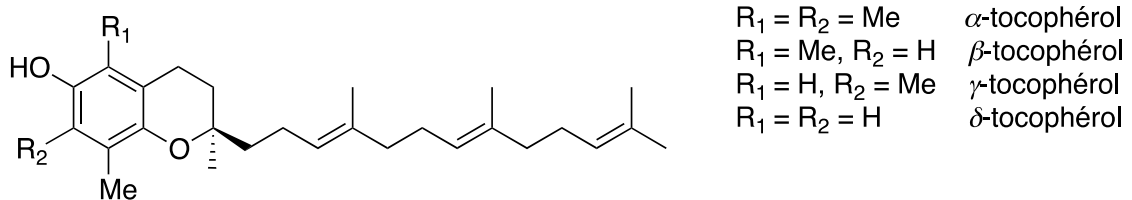


Figure 15. Structure chimiques des vitamines E

Elle va agir comme antioxydant contre les ROS (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La chaîne carbonée augmente en effet le caractère lipophile de la molécule et ainsi facilite la pénétration dans les bicouches lipidiques, et permet une action directe intracellulaire.

L' $\alpha$ -tocopherol est considéré comme un antioxydant de référence servant d'étalon pour les nouvelles molécules que l'on souhaite évaluer comme antioxydants.

#### 2.3.1.2. La vitamine C

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une molécule hydrophile que l'on retrouve dans de nombreux fruits comme les oranges, les citrons et les fraises. Son caractère hydrophile ne lui permet pas d'avoir une activité intracellulaire.

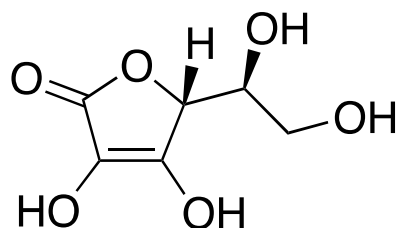
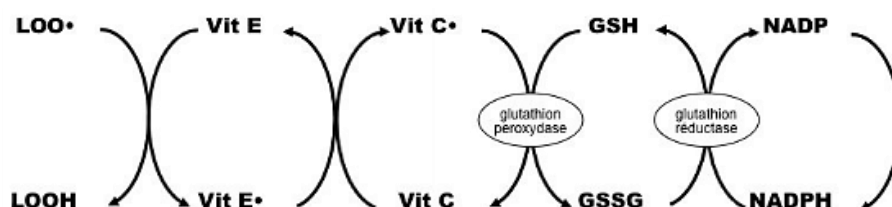


Figure 16. Structure chimique de la vitamine C

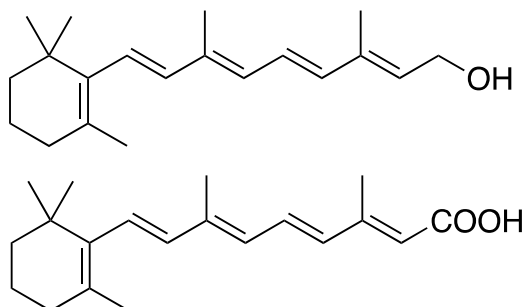
Toutefois la vitamine C est capable de piéger des radicaux libres mais son intérêt majeur en terme de pouvoir antioxydant réside en sa capacité à régénérer la vitamine E au sein de la membrane(29).



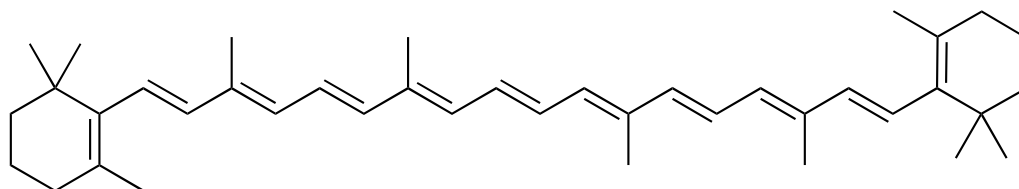
**Figure 17.** Schéma de régénération de la vitamine E à partir de la vitamine C

### 2.3.1.3. La vitamine A

La vitamine A est une vitamine liposoluble que l'on retrouve en grande quantité dans l'organisme surtout au niveau du foie, son lieu de stockage principal. On distingue deux groupes, à savoir les rétinoïdes (rétinol, trétinoïne...) et les provitamines A (principalement les  $\alpha$ - et  $\beta$ - carotènes).



**Figure 18.** Structure chimique de quelques rétinoïdes



**Figure 19.** Structure chimique des  $\beta$ - carotènes

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

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

Le  $\beta$ - carotène peut agir comme un inhibiteur de la peroxydation lipidique uniquement à une faible pression partielle en O<sub>2</sub>. Il peut être oxydé tout comme un acide gras et ainsi avoir un effet pro-oxydant(30).

### **2.3.2. Les oligo-éléments**

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

#### **2.3.2.1. Le sélénium**

Le sélénium est un oligo-élément constituant des sélénoprotéines dont fait partie le principal antioxydant intracellulaire, la glutathion peroxydase. On le retrouve notamment dans le porc, le bœuf et le poisson. Il joue également le rôle de détoxification des métaux lourds comme le cadmium.

#### **2.3.2.2. Le cuivre**

Le cuivre est un des cofacteurs essentiels de la SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé(31). On retrouve le cuivre surtout dans le foie, les huîtres et le chocolat noir.

Néanmoins, il joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ROS de par ses propriétés de métal de transition, tout comme le fer(32). Une concentration importante en cuivre pourra être le révélateur d'un stress oxydant. Au cours du processus de vieillissement, la concentration sérique en cuivre est amenée à augmenter(33). En d'autres termes, cet élément peut jouer à la fois le rôle de protecteur ou d'initiateur.

#### **2.3.2.3. Le zinc**

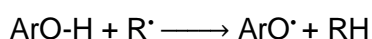
Le zinc est un cofacteur de la SOD. On retrouve le zinc dans les huîtres, le foie de veau et la viande de bœuf. Le zinc a également comme fonction de protéger le groupement thiol des protéines. De plus, il peut lutter contre la formation des ROS induite par le fer ou le cuivre. Ainsi l'analyse du rapport des taux sanguins Cuivre/ Zinc permet d'évaluer le stress oxydant d'un individu donné. Il semblerait que les personnes atteintes de maladies dégénératives aient un rapport Cuivre/Zinc plus élevé que la moyenne(34). De plus, une

carence en zinc est souvent liée à (i) un stress oxydant plus important et à (ii) l'apparition de pathologies chroniques(31).

### 2.3.3. Les polyphénols

Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires. Ils sont très largement représentés dans le règne végétal et donc dans notre alimentation. Nous les consommons sous forme de fruits ou de légumes par exemple. Leur structure comporte un ou plusieurs groupes phénoliques (e.g., un groupement OH greffé sur un noyau aromatique). Leur étude a été croissante ces dernières décennies en raison de leurs bienfaits sur la santé, notamment grâce à leur pouvoir antioxydant mais aussi dans la prévention ou le traitement de nombreuses pathologies comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives(35)(36). Ils sont également utilisés en agroalimentaire, en cosmétique ou dans l'industrie pharmaceutique comme additifs.

Le mécanisme de piégeage des radicaux libres par les polyphénols se fait par le transfert de l'atome d'hydrogène (H-atom transfer ou HAT). Le radical libre est réduit par transfert de l'atome d'hydrogène de l'antioxydant (ArO-H) vers le radical (R<sup>•</sup>).



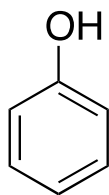
Le radical ArO<sup>•</sup> ainsi formé sera stabilisé (i) par délocalisation des électrons π, (ii) par un nouveau transfert d'atome d'hydrogène conduisant à la formation de quinone (iii) ou par réaction avec un autre radical libre(37)(38).

Les polyphénols jouent un rôle important, ils sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre(40). En effet les ROS sont produits abondamment par réduction d'O<sub>2</sub> par Fe<sup>2+</sup> ou Cu<sup>+</sup> aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyle (réaction de Fenton). Ainsi la formation de complexes chélateurs stables et inertes est un mécanisme antioxydant.

#### 2.3.3.1. En C6 : les phénols simples

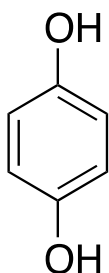
Le groupe des phénols simples se caractérise par une structure simple, à savoir un cycle aromatique portant au moins une fonction hydroxyle –OH. Les phénols simples les plus complexes peuvent comporter plusieurs fonctions –OH, libres ou non ainsi que quelques chaînes alkyles.

Le représentant le plus « simple » de ce groupe est le phénol. Longtemps utilisé comme antiseptique puissant, son utilisation a été arrêtée en raison de sa toxicité. Il était également utilisé pour conserver les aliments (viandes, poissons, charcuterie...) dans la technique du fumage.



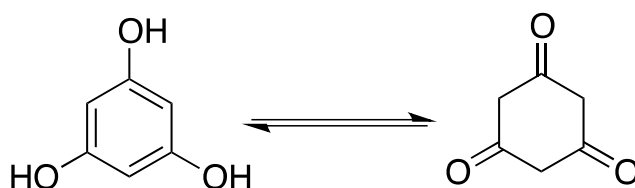
**Figure 20.** Structure chimique du phénol

L'hydroquinone ou benzène-1,4-diol est un fort agent réducteur. Il a été utilisé en application cutanée pour blanchir la peau par inhibition de la synthèse de mélanine.



**Figure 21.** Structure chimique de l'hydroquinone

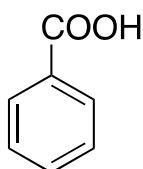
Le phloroglucinol ou 1,3,5-trihydroxybenzène est un composé aromatique portant trois fonctions -OH. Toutefois par tautomérie, il peut donner une cétone nommée 1,3,5-cyclohexanetrione. Cette molécule a des propriétés antispasmodiques, elle est commercialisée sous le nom Spasfon® pour traiter des douleurs du tube digestif, des voies biliaires, des coliques néphrétiques ainsi que des douleurs gynécologiques.



**Figure 22.** Structure chimique du phloroglucinol

### 2.3.3.2. En C6-C1 : les acides hydroxybenzoïques

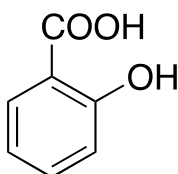
Ce groupe comporte les acides dérivés de l'acide benzoïque, ce dernier étant la molécule la plus simple de cet ensemble.



**Figure 23.** Structure chimique de l'acide benzoïque

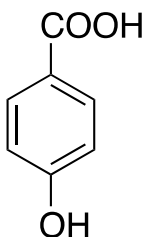
Ces acides hydroxybenzoïques sont des composés que l'on retrouve facilement soit à l'état libre ou l'état dit « lié ». En effet, ils sont les précurseurs par polymérisation de tanins qui seront développés plus tard dans la classification des polyphénols.

Dans ce groupe, nous allons trouver l'acide salicylique, ou acide 2-hydroxybenzoïque, que l'on retrouve naturellement dans le saule. Il est utilisé comme précurseur de synthèse de l'acide acétylsalicylique (l'aspirine ®). L'acide salicylique était également utilisé comme conservateur et comme antiseptique mais son utilisation dans ces domaines a été arrêtée en raison de son caractère toxique en cas de surdosage. Il est maintenant utilisé en dermatologie pour le traitement de l'acné et des verrues.



**Figure 24.** Structure chimique de l'acide salicylique

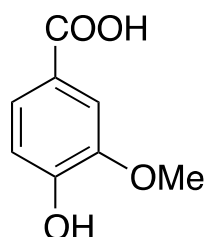
Nous pouvons également citer l'acide parahydroxybenzoïque, ou acide 4-hydroxybenzoïque, qui est utilisé comme précurseur des parabènes (conservateurs en cosmétologie).



**Figure 25.** Structure chimique de l'acide parahydroxybenzoïque

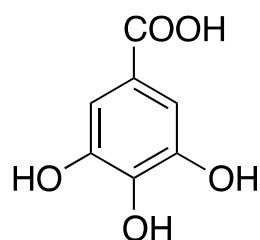
L'acide vanillique, ou acide 4-hydroxy-3-méthoxybenzoïque, est retrouvé à l'état naturel dans les fraises et le vin rouge. On le retrouve également dans la racine d'Angélique de Chine (*Angelica sinensis*), qui est une herbe utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise

en traitement de troubles gynécologiques et de la ménopause. L'acide vanillique possède des propriétés anti-microbiennes tout comme la vaniline, qui est sa forme oxydée.



**Figure 26.** Structure chimique de l'acide vanillique

L'acide gallique, ou acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque, est retrouvé notamment à l'état naturel dans les châtaignes et le clou de girofle. En fonction de sa concentration dans l'organisme, il peut être soit pro-oxydant (à faible concentration) soit antioxydant (à plus forte concentration)(41). Il est également le précurseur de certains tanins.

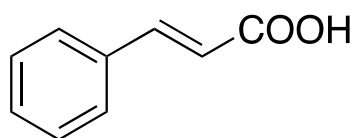


**Figure 27.** Structure chimique de l'acide gallique

### 2.3.3.3. En C6-C3

#### - Les acides hydroxycinnamiques

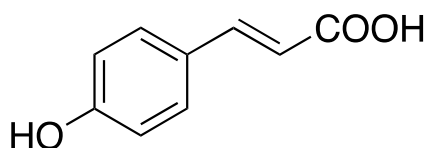
Ces composés sont dérivés directement de l'acide cinnamique qui n'est, lui-même, pas un acide phénolique. Ils sont très largement présents dans l'alimentation.



**Figure 28.** Structure chimique de l'acide cinnamique

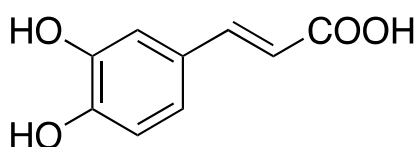
Dans ce groupe figure l'acide *paracoumarique*, ou acide *parahydroxycinnamique*, abondant dans la nature, que l'on va retrouver dans les cacahuètes, la tomate et la carotte. C'est un précurseur de nombreux composés, particulièrement de l'acide caféique après hydrolyse, ou de la coumarine par cyclisation. L'acide *paracoumarique* se distingue par ses

propriétés antioxydantes ainsi que sa capacité présumée à diminuer le risque de développement du cancer de l'estomac(42).



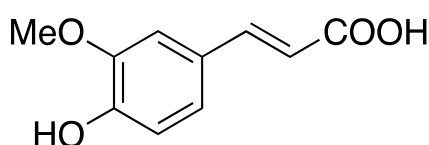
**Figure 29.** Structure chimique de l'acide *paracoumarique*

Nous trouvons également l'acide caféique ou acide (E) 3-(3,4-dihydroxyphényl)prop-2-énoïque que l'on retrouve dans les plantes (sauge, menthe, cannelle, thym...). Il s'agit d'un intermédiaire réactionnel de la synthèse de la lignine. Cet acide possède des propriétés antioxydantes intéressantes ainsi qu'une activité anti-inflammatoire.



**Figure 30.** Structure chimique de l'acide caféique

L'acide férulique ou acide 3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)prop-2-énoïque est retrouvé dans de nombreuses plantes et diverses graines (riz, blé ou avoine) mais également dans le café, les pommes ou encore les oranges. Il est reconnu comme ayant un bon pouvoir antioxydant vis-à-vis des ROS mais pourrait également avoir une activité anti-tumorale sur le cancer du sein(43) et du foie(44).

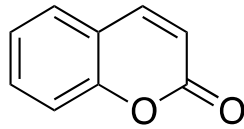


**Figure 31.** Structure chimique de l'acide férulique

#### - Les coumarines

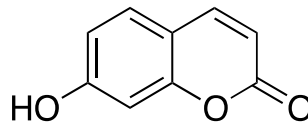
Cette famille regroupe les dérivés de la coumarine, ou 1-benzopyrane-2-one, qui ne possède pas de fonction hydroxyle -OH. Outre la structure de la coumarine, ces composés ont la particularité d'être hydroxylés en 7. Les substitutions les plus fréquentes se font en 7 et 8 avec essentiellement des hydroxylations ou des méthyloxylation. Parmi les coumarines, nous allons trouver plusieurs molécules possédant un intérêt médical exploité.





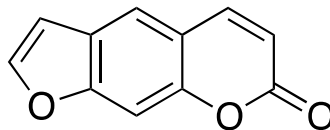
**Figure 32.** Structure chimique de la coumarine

Dans ce vaste groupe nous trouvons l'ombelliférone ou 7-hydroxychromèn-2-one. Comme son nom l'indique, on la retrouve dans bon nombre d'ombellifères (ou Apiaceae) comprenant la carotte ou la grande ciguë. Sa capacité à absorber les ultraviolets lui a permis d'être utilisée dans les crèmes solaires. En revanche elle présente une toxicité importante pouvant entraîner une nécrose hépatique(45).



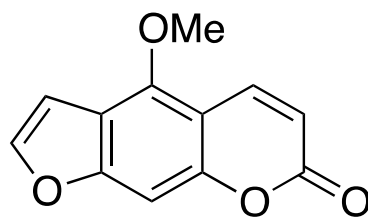
**Figure 33.** Structure chimique de l'ombelliférone

Le psoralène, ou 7H-furo[3,2-g]benzopyran-7-one, est un composé naturel de la famille des furanocoumarines. Cette famille présente le squelette de la coumarine associé à un cycle furane. On le trouve dans le figuier, le céleri ou encore dans les agrumes. Il est utilisé en association avec un rayonnement ultraviolet de type A (UVA) lors des traitements du psoriasis ou d'autres maladies de la peau par PUVAthérapie(46). Il est également utilisé dans le traitement de l'alopecie. Toutefois il est à utiliser avec précaution car c'est un agent photosensibilisant qui peut être vecteur de cancer de la peau(47).



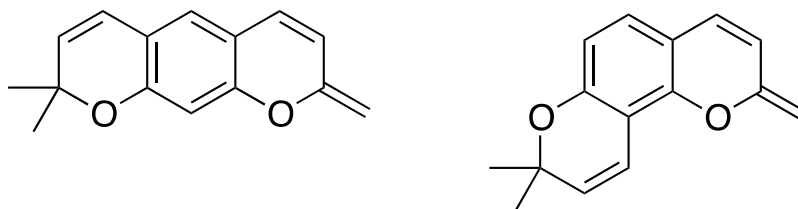
**Figure 34.** Structure chimique du psoralène

Le bergaptène, ou 5-méthoxy-2H-furo[3,2-g]chromén-2-one, fait également partie de la famille des furanocoumarines. Comme beaucoup de molécules de cette famille, il présente une photo-toxicité importante. Il a longtemps été utilisé dans les crèmes solaires pour sa capacité à accélérer le bronzage mais il est maintenant utilisé uniquement comme agent mutagène dans la recherche génétique.



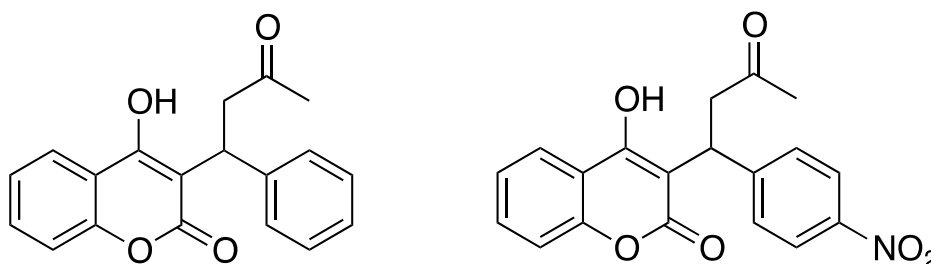
**Figure 35.** Structure chimique du bergaptène

Même s'ils n'ont pas d'applications industrielles, citons la présence des pyrocoumarines dans cette catégorie. Ces composés sont formés de la coumarine associée à un noyau pyrane. Notons la présence des composés les plus simples de ce groupe, la xanthylétine et la séséline.



**Figure 36.** Structure chimique de la xanthylétine et de la séséline

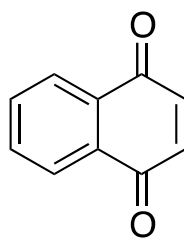
Outre ces composés naturels, des composés synthétiques ont été commercialisés pour leurs propriétés antivitaminiques K afin de lutter contre des pathologies de la coagulation. Il s'agit de la warfarine (ou Coumadine<sup>®</sup>) et de l'acénocoumarol (ou Sintrom<sup>®</sup>, Minisintrom<sup>®</sup>). Les antivitamines K sont des molécules à marge thérapeutique étroite nécessitant une surveillance importante du fait des risques hémorragiques qu'ils entraînent(48).



**Figure 37.** Structure chimique de la warfarine et de l'acénocoumarol

#### 2.3.3.4. En C6-C4 : Les naphthoquinones

Le groupe des naphthoquinones dérive, comme son nom l'indique, de la 1,4-naphthoquinone.

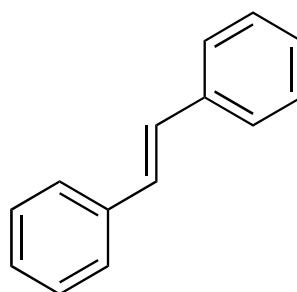


**Figure 38.** Structure chimique de la 1,4- naphthoquinone

La principale molécule utilisée dans ce groupe est la juglone, ou 5-Hydroxy-1,4-naphthalenedione, que l'on trouve essentiellement dans le noyer noir. Elle est toxique vis-à-vis des autres plantes en provoquant des retards de développement. Cette molécule aurait également des propriétés anticancéreuses(49).

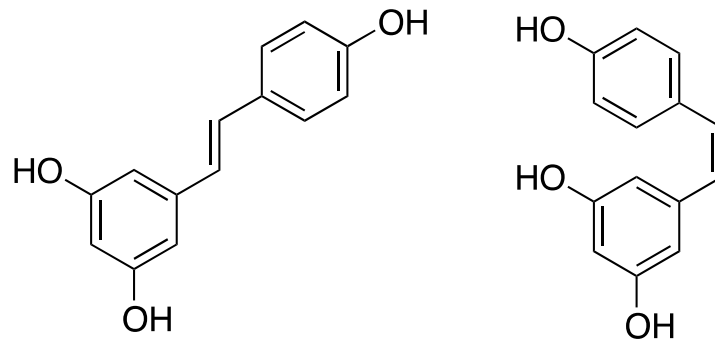
#### 2.3.3.5. En C6-C2-C6: Les stilbénoides

Sous le terme stilbénoides sont regroupés les dérivés hydroxylés du stilbène ou trans-1,2-diphényléthylène. Ils se caractérisent par deux noyaux benzéniques séparés par deux atomes de carbone, ils sont synthétisés par certaines plantes et par les bactéries.



**Figure 39.** Structure chimique du stilbène

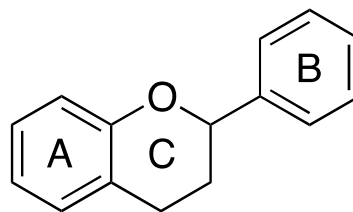
Le resvératrol, ou 5-[(E)-2-(4-hydroxyphényl)-éthényl] benzène-1,3-diol, est un polyphénol que l'on retrouve dans le raisin et les cacahuètes. Il se présente sous la forme de deux isomères, *cis*- et *trans*-. Le passage (réversible) de la forme *trans*- à la forme *cis*- peut se faire par une simple exposition à la lumière. Notons que la forme *trans*- possède une activité antioxydante très nettement supérieure à celle de la forme *cis*-(50). Le resvératrol est doué de nombreuses propriétés intéressantes : il est photoprotecteur en applications cutanées(51), anti-inflammatoire en inhibant l'agrégation plaquettaire(52) et possède une activité antitumorale(53).



**Figure 40.** Structure chimique du trans- et du cis-resveratrol

### 2.3.3.6. En C6-C3-C6 : Flavonoïdes et Isoflavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de plantes possédant une structure similaire avec deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone. Ils se présentent la plupart du temps sous forme d'hétérosides.

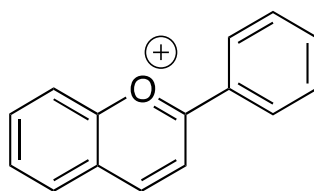


**Figure 41.** Structure chimique de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont très largement étudiés en raison de leurs multiples propriétés biologiques(54) exploitées dans l'industrie. Le premier effet attribué à ces molécules a été le caractère veinotonique(45) en renforçant la résistance des capillaires.

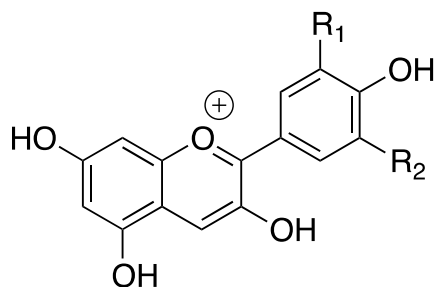
Des études in vitro ont démontré de multiples vertus des flavonoïdes, en tant qu'anti-inflammatoire, protecteur hépatique, antispasmodique, diurétique, antiseptique, ou antiviral(55). Il a été aussi démontré également qu'ils peuvent avoir un rôle d'inhibiteur enzymatique.

Les anthocyanes sont des molécules solubles responsables de la pigmentation naturelle de certains fruits, feuilles et pétales. Ce groupe est principalement représenté par la cyanidine, delphinidine, pélargonidine, péonidine, pétunidine et malvidine, toutes construites sur le même squelette flavylum.



**Figure 42.** Structure chimique de base des anthocyanes

Le cycle central des anthocyanes est de nature cationique à faible pH, c'est-à-dire qu'il présente un déficit électrique. Ce déficit est stabilisé par la nature aromatique de la structure, toutefois il est très réactif vis-à-vis des molécules nucléophiles ce qui provoque une certaine instabilité. On les retrouve très rarement sous cette forme, ils ont le pouvoir de se condenser en R3 avec des oses pour former les anthocyanosides. La nature de ces oses est généralement mono saccharidique (glucose et galactose), diholosique (rutinose) ou parfois triholodique(45).

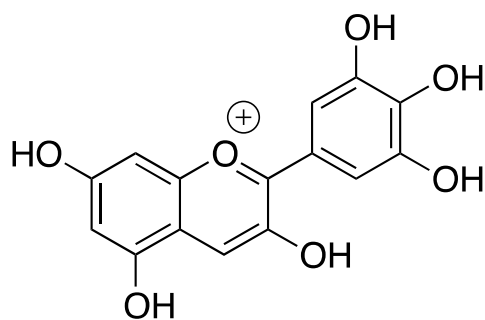


$R_1 = R_2 = H$	Pélagonidine
$R_1 = OH, R_2 = H$	Cyanidine
$R_1 = OMe, R_2 = H$	Péonidine
$R_1 = OMe, R_2 = OH$	Pétunidine
$R_1 = OMe, R_2 = OMe$	Malvidine

**Figure 43.** Structure chimique de base des anthocyanosides

On retrouve ces molécules très largement dans le règne végétal. Ces pigments jouent un grand rôle dans le pouvoir d'attraction des oiseaux et insectes qui vont permettre la zoogamie (ou pollinisation par les animaux).

La delphinidine est un anthocyanane particulièrement actif, ce qui semblerait indiquer que le pouvoir oxydant de cette famille de molécule est lié en grand partie au nombre de fonctions hydroxyle  $-OH$ . Ces molécules présentent des activités veinotoniques et vasculoprotectrices plus ou moins prononcées (en raison de leur activité sur le monoxyde d'azote). L'aronia et la myrtille, riches en anthocyanosides, possèdent une activité protectrice pour les artères coronaires. Elles sont également utilisées dans l'industrie agro-alimentaire comme colorant.

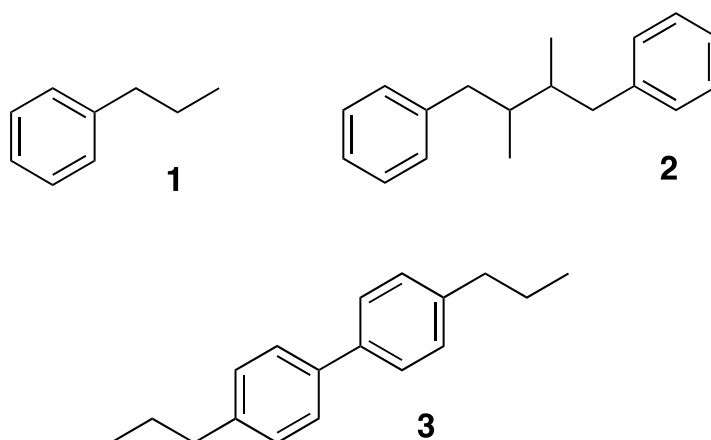


**Figure 44.** Structure chimique de la delphinidine

### 2.3.3.7. En (C6-C3)<sub>2</sub> : les lignanes

Les lignanes sont des composés chimiques formés de deux sous-unités que l'on va trouver dans les plantes et plus particulièrement dans les graines de lin et de sésame. Ils vont servir de précurseurs aux végétaux afin de produire un plus long polymère, les lignines. Les lignanes vont différer en fonction de la nature de la liaison entre les deux sous unités.

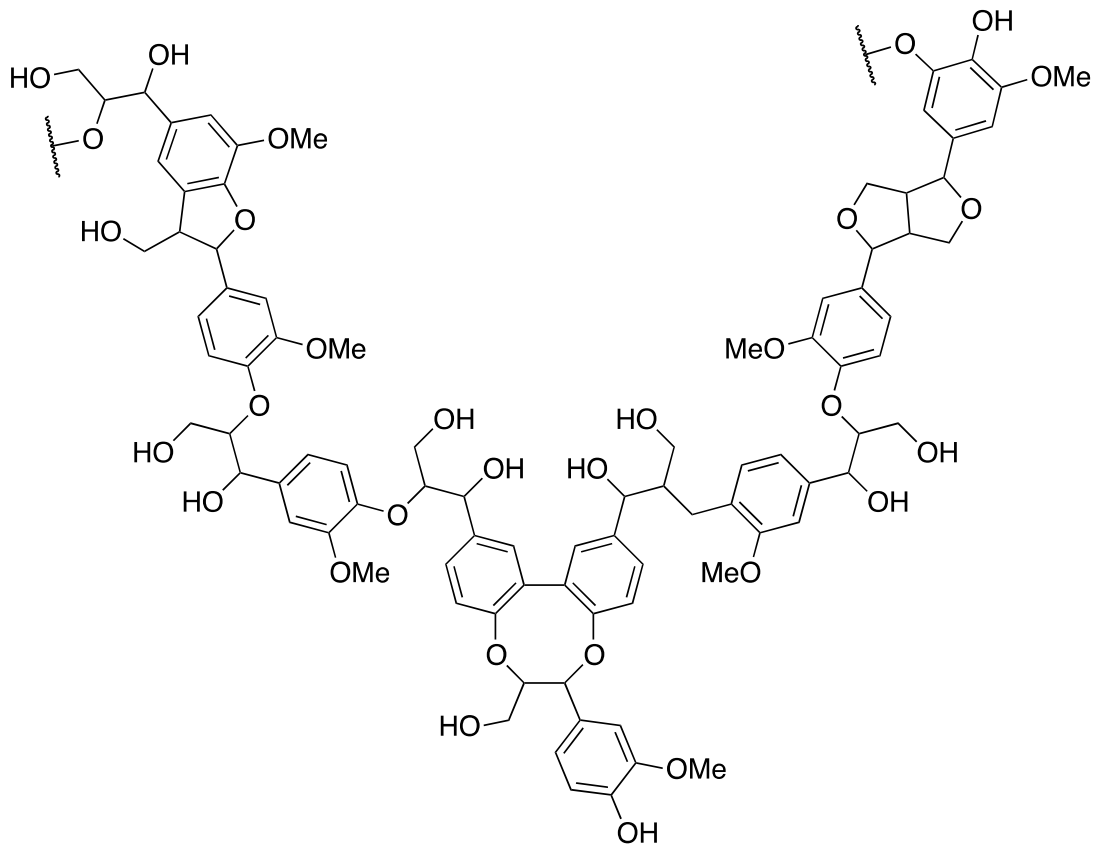
Elles possèdent des propriétés antioxydantes ainsi qu'anti-inflammatoires(56). Il semblerait qu'elles possèdent des propriétés anticancéreuses, plus spécifiquement contre le cancer du sein(57).



**Figure 45.** Structure chimique des lignanes, (1) squelette propylbenzene, (2) squelette dibenzylbutane et (3) neolignanes

### 2.3.3.8. En (C6-C3)<sub>n</sub> : les lignines

Les lignines sont une classe importante de polymères complexes constituant les matériaux structurels des tissus de soutien des plantes et de certaines algues. Elles sont plus particulièrement importantes dans la formation des parois cellulaires comme l'écorce. Elles n'ont pas d'intérêt dans le domaine de la santé humaine.



**Figure 46.** Structure chimique d'une lignine

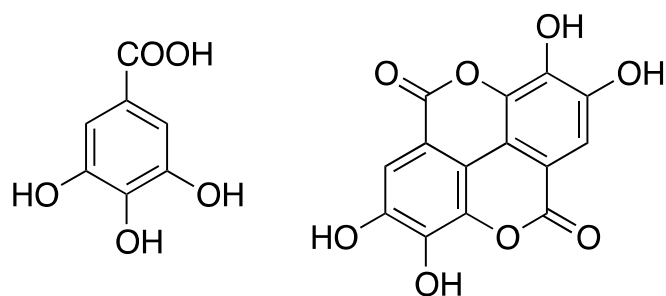
### 2.3.3.9. En (C6-C3-C6)<sub>n</sub> : les tanins

Les tanins se définissent comme des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ceci s'explique par la création de liaisons entre les molécules de tanin et les fibres de collagène de la peau. Ces molécules présentent de nombreuses fonctions hydroxyles et phénoliques qui vont leur permettre de se complexer avec de nombreuses macromolécules telles que les protéines(58). Ils ont également le pouvoir de pouvoir chélater les ions ferriques et cuivriques(59).

Ils sont très répandus notamment chez les *Polygonaceae*, *Rubiaceae*, *Myrtaceae*, et *Anacardiaceae*. On va les trouver dans les racines, les rhizomes, l'écorce mais également dans les bois, les feuilles, les fleurs et les graines.

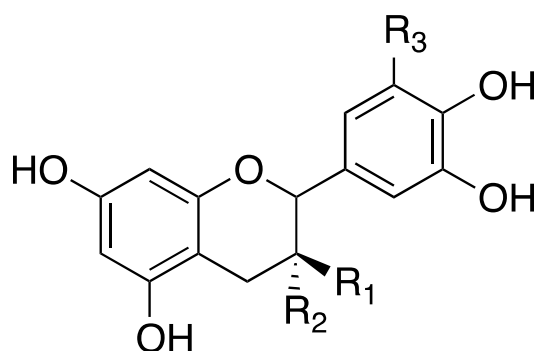
Les tanins vont être classés selon deux groupes de tanins.

- Les tanins hydrolysables : il s'agit d'oligo- ou de poly-esters de sucre, souvent le glucose avec des molécules d'acide-phénols. Ils seront alors classés selon la nature de l'acide-phénol en question : les tanins galliques seront dérivés de l'acide gallique alors que les tanins éllagiques seront dérivés de l'acide hexadroxyphénique.



**Figure 47.** Structure chimique des tanins galliques et des tanins éllagiques

- Les tanins condensés : ce sont des polymères flavaniques constitués d'unités flavan-3-ols. Ces molécules vont être liées entre elles par des liaisons C-C (type B) ou C-O (type A). Selon la définition, les homo-polymères sont des tanins condensés présentant uniquement des flavan-3-ols alors que les hétéro-polymères présenteront des monomères de classes différentes.



Flavan-3-ols	Classes des homo-polymères	R1	R2	R3	Nombre de fonctions OH
Catéchol (C)	Procyanidols	OH	H	H	5
Epicatéchol (EC)	Procyanidols	H	OH	H	5
Gallocatécol (GC)	Prodéphinidols	OH	H	OH	6
Epigallocatéchol (EGC)	Prodéphinidols	H	OH	OH	6
Fisétinidinol	Profisétidinols	H	H	H	4
Robinétidinol	Prorobinétidinols	H	H	OH	5

**Figure 48.** Structure chimique des tanins condensés

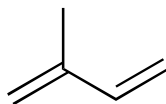
Les tanins vont présenter des propriétés biologiques variées. La principale est l'effet astringent, c'est-à-dire la capacité à précipiter les glycoprotéines. Notons des propriétés anti-diarrhéiques, veinotoniques, antiseptiques, antioxydantes ou encore cicatrisantes. Comme vu précédemment, ils vont pouvoir chélater les métaux mais également inhiber des systèmes



enzymatiques. De plus, les cathécols vont avoir une activité cardioprotectrice, anti-inflammatoire mais également anti-thrombotique.

#### 2.3.4. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, ou également appelés isoprénoïdes, est une famille de composés chimiques très vaste se caractérisant par un squelette dérivé du squelette de l'isoprène.



**Figure 49.** Structure chimique d'une unité isoprène

Au sein de cette famille, nous distinguons les molécules en fonction du nombre de carbones de son squelette, donc en fonction du nombre de molécules d'isoprène nécessaires à leur synthèse. Ainsi la classification est la suivante :

- C5 : les hémiterpènes
- C10 : les monoterpènes
- C15 : les sesquiterpènes
- C20 : les diterpènes
- C30 : les triterpènes
- C40 : les caroténoïdes
- Et les polyterpénoïdes pour les composés possédant un nombre plus important d'unité isoprène.

Bon nombre d'entre eux possèdent des activités intéressantes comme les stérols (comme stabilisateur de membranes), les polyprénols (transporteurs de glucides) et les caroténoïdes. Ces derniers jouent un rôle fondamental dans la photosynthèse et sont capable de piéger les radicaux libres. Notons que la vitamine E est un terpénoïde.

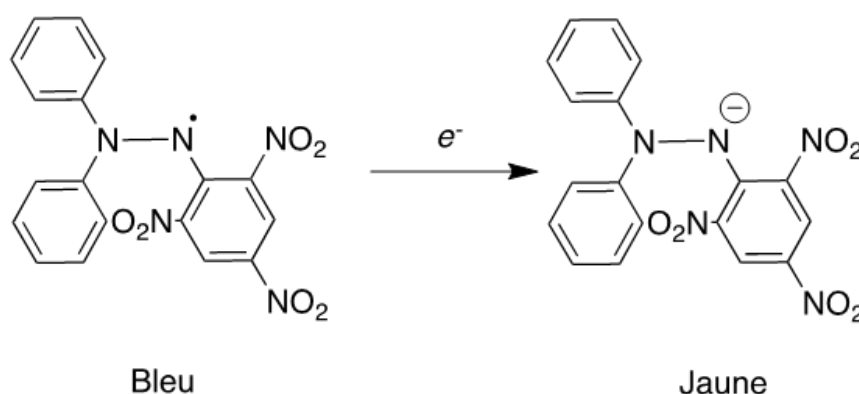
### 3. Evaluation de l'activité antioxydante

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

#### 3.1. Test DPPH

Le DPPH<sup>•</sup> (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante et de couleur bleue caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons  $\pi$  le long de la molécule. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques(60). Il possède dans sa structure un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. Sa particularité provient de la modification de ses propriétés d'absorption UV/Visible selon son état : la forme réduite (e.g., après ajout d'électron) absorbe à 515-518nm alors que sa forme oxydée ne présente pas de pic d'absorption.

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



**Figure 50.** Modification du DPPH<sup>•</sup> lors du transfert électronique

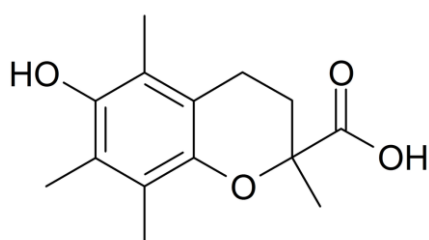
Cette propriété peut dorénavant être quantifiée par spectroscopie UV/Visible en se focalisant sur l'absorption à 515-518 nm. Ce test est encore fréquemment utilisé pour évaluer le potentiel antioxydant de polyphénols. Un avantage indéniable de ce test est qu'il permet également d'évaluer la cinétique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

Le mécanisme de piégeage du DPPH reste encore relativement controversé entre le transfert d'atome d'hydrogène concerné et le transfert électronique. Le piégeage des radicaux libres a été décrit ci-dessous comme pouvant suivre deux types de mécanismes. D'une part, le transfert d'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle présenterait une cinétique rapide comme dans le cas de certains acides et dérivés phénoliques. D'autre part, le transfert d'électron aurait une cinétique lente comme montré dans le cas de dérivés glycosylés et des anthocyanes(61). Cette discrimination de la cinétique en fonction du type de piégeage reste néanmoins à considérer avec prudence. En effet, il a été récemment montré que les cinétiques de transfert d'électron sont généralement plus rapide que celles d'un transfert d'atome(62).

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

### 3.2. Test TEAC

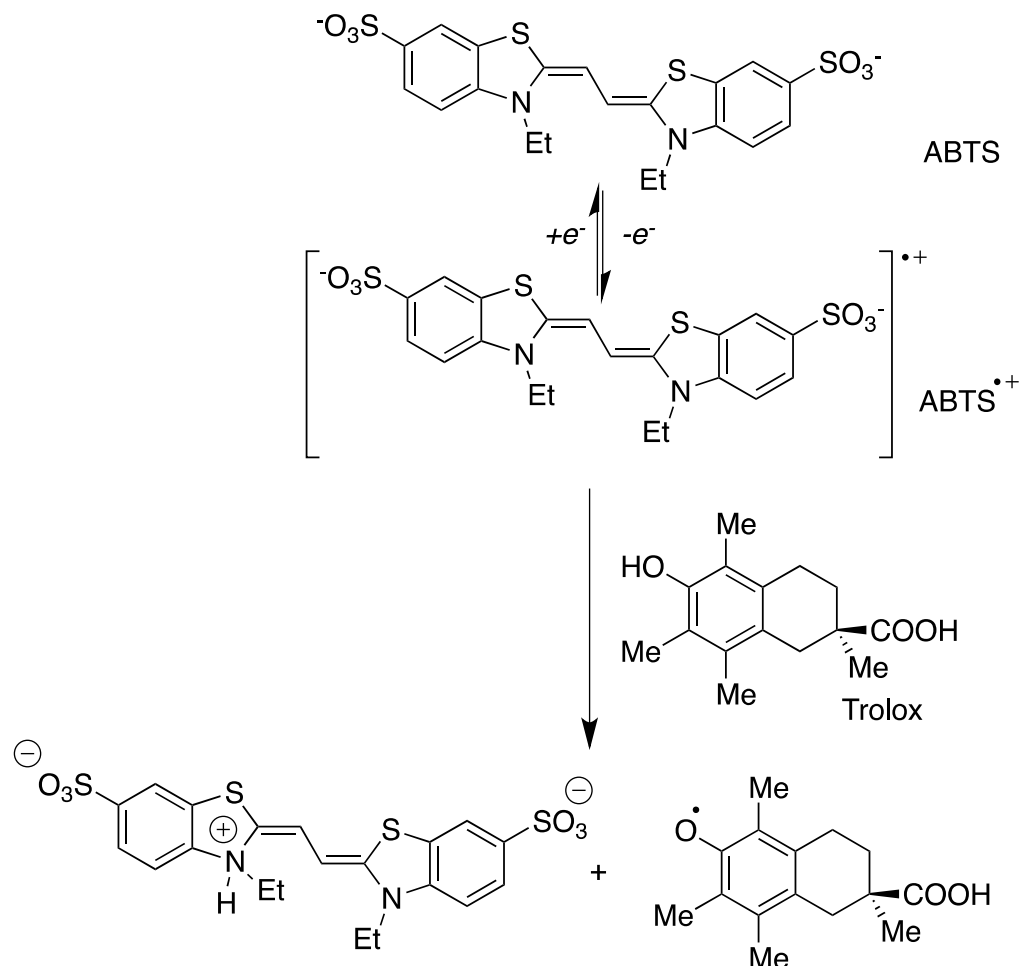
La méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) permet de mesurer la capacité d'un candidat à piéger le radical cation ABTS<sup>•+</sup> (obtenu à partir de sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La particularité de cette méthode est l'aspect compétitif puisque la mesure sera comparé la capacité d'une antioxydant de référence le Trolox(63). Il est important de noter que le Trolox est un analogue chimique de la vitamine E.



**Figure 51.** Structure chimique du Trolox

Le test TEAC est également une méthode colorimétrique où une décoloration de la solution bleu-verte contenant ABTS<sup>•+</sup> sera observée lors de la formation de ABTSH<sup>+</sup> (couleur bleue à verte). Cette décoloration pourra également être quantifiée par spectrophotométrie (Absorption UV/Visible) à 734 nm. La valeur TEAC obtenue par ce test correspond à la concentration de Trolox ayant la même activité que la concentration unitaire

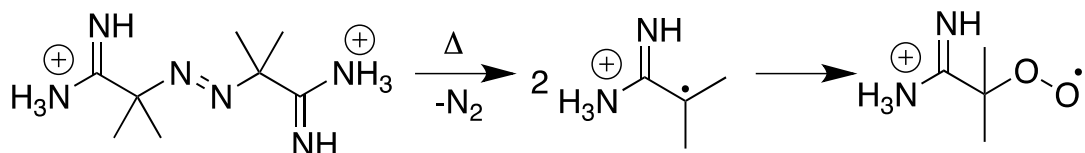
du composé à tester. C'est une méthode, tout comme le DPPH, conceptuellement facile à mettre en place puisque seuls les réactifs et un spectrophotomètre sont nécessaires. Elle est, de plus, rapide et se corrèle bien avec des tests biologiques. En revanche, l'inconvénient majeur de cette méthode relève de l'instabilité des radicaux  $ABTS^{\bullet+}$ . Ces derniers doivent être générés extemporanément à partir de sels d'ABTS et la mesure doit être faite assez rapidement. .



**Figure 52.** Modification de l'ABTS lors du transfert électronique

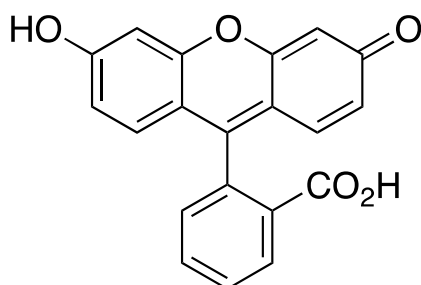
### 3.3. Test ORAC

Le test ORAC (ou Oxygen Radical Absorbance Capacity) est une méthode de mesure de la capacité antioxydante des échantillons biologiques *in vitro*(64). Cette méthode mesure la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après ajout d'un générateur de radicaux libres, le 2,2'-azobis(2-amidinopropane) (AAPH). La dégradation thermique de cette molécule en présence d'oxygène va provoquer la génération de radicaux libres de façon régulière qui vont pouvoir attaquer la membrane des globules rouges(65).



**Figure 53.** Modification de l'AAPH lors du transfert électronique(66)

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



**Figure 54.** Structure chimique de la fluorescéine

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

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

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

Cette méthode a également des inconvénients. Elle ne va mesurer l'activité antioxydante que sur des radicaux peroxydes. De plus, il n'y a pas de corrélation évidente entre les résultats obtenus avec cette méthode et la consommation d'aliments réputés

contenir des antioxydants. Une vaste gamme de molécules et d'extraits végétaux a été testée par cette méthode aboutissant au recueil d'un nombre très important de données. Toutefois il est difficile de corréliser les données *in vitro* avec des résultats physiologiques *in vivo*(67). Les aliments ayant eu les meilleurs résultats avec cette méthode sont le pruneau, les haricots et les myrtilles.

### 3.4. Test FRAP

Le test FRAP (ou Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer, e.g., de l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) à l'ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant(63). De par la nature de la réaction de réduction, l'antioxydant doit présenter une capacité de donneur d'électron. Le transfert d'atome d'hydrogène ne sera pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm.

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

### 3.5. Test TRAP

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

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

### 3.6. Cyclovoltammétrie

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

Le matériel nécessaire est constitué de 3 électrodes : une électrode de référence, une électrode de travail et une contre-électrode. Un électrolyte sera ajouté à la solution afin d'obtenir une conductivité suffisante. Dans cette méthode, le potentiel appliqué  $E^0$  est

augmenté de façon linéaire jusqu'à un maximum  $E^{\max}$ . Il sera ensuite diminué progressivement jusqu'à un minimum  $E^{\min}$ . Enfin, le potentiel sera ramené progressivement au potentiel initial  $E^0$ . De cette manière, plusieurs cycles seront mesurés. A partir de l'évolution de l'intensité en fonction du potentiel, les potentiels Redox d'un système peuvent être obtenus, mais également d'autres informations plus fondamentales telles les niveaux énergétiques des orbitales moléculaires de frontières, indicateurs importants du transfert électroniques (Voir Section 3.10. Evaluation théorique de l'activité antioxydante).

### **3.7. Test à l'hémolyse des globules rouges**

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

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

### **3.8. La résonance paramagnétique électronique (RPE)**

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

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

## **3.9. Méthodes de dosage des antioxydants**

### **3.9.1. Phénols totaux**

Ce dosage nécessite un réactif spécifique, le réactif de Folin-Ciocalteu(68) qui est un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Sous l'action des antioxydants, ces acides vont être transformés en oxydes de tungstène et de molybdène de coloration bleue.

L'absorption sera mesurée à 750nm contre une gamme étalon mesurée avec l'acide chlorogénique. Ceci permet de quantifier la présence de phénols totaux dans l'extrait, exprimée en mg d'équivalent acide chlorogénique.

### **3.9.2. Vitamine C**

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

### **3.9.3. Flavonols**

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

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

### **3.9.4. Anthocyanes**

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

### **3.9.5. Sélénium total**

Le sélénium est également dosé par HPLC suivant la méthode de Hawkes et Kutnink(69) qui se déroule en plusieurs étapes. La première consiste en une dégradation des matrices organiques dans un milieu oxydant permettant le relargage du sélénium dans le



milieu. La seconde permet la réduction du Se hexavalent en Se tétravalent à l'aide d'acide chlorhydrique. Enfin une réaction entre le Se et le 2,3-diaminonaphtalène permet la formation de piäzsélénol qui est un composé jaune fluorescent.

L'HPLC couplé à un détecteur de fluorescence va permettre de déterminer la concentration en sélénium en comparaison avec une gamme de solutions étalons.

### **3.10. Evaluation théorique de l'activité antioxydante**

Au cours des deux dernières décennies, la chimie théorique a pris un essor considérable notamment grâce à l'avènement de l'ère numérique. Dans cette discipline, les propriétés physico-chimiques d'un système sont calculées et prédites en suivant, grossièrement, l'un des deux modèles théoriques différents. La chimie quantique se focalise sur les problèmes électroniques en se rapprochant de la solution de l'équation de Schrödinger. La mécanique et dynamique moléculaire néglige le caractère discret des électrons en considérant les atomes comme de boules chargées liés par des ressorts. Cette simplification permet l'application des lois de la physique classique de Newton.

La contribution de la chimie théorique au sein de la physico-chimie antioxydante est double. D'une part, elle est la seule discipline permettant de fournir une image dynamique à l'échelle atomique de tous les événements impliqués dans l'activité antioxydante. Elle permet donc une compréhension fine de ces processus. D'autre part, l'élucidation de modèles théoriques robustes permet également la prédiction fiable de l'efficacité antioxydante de nouveaux composés. Par ailleurs, l'utilisation de la chimie théorique n'est pas soumise aux contraintes expérimentales (reproductibilité, conditions variables d'un manipulateur à un autre). De nombreux exemples d'études antioxydantes théoriques sont disponibles dans la littérature. Ici, nous dresserons quelques exemples significatifs en fonction du modèle (e.g., quantique ou classique).

La chimie quantique, en se focalisant sur l'électron, apporte la notion de réactivité. Le piégeage des radicaux libres est probablement la propriété antioxydante la plus étudiée. L'outil quantique permet notamment de calculer la capacité à donner un atome d'hydrogène ou un électron par les calculs de BDE (Bond Dissociation Enthalpy) ou de potentiel d'ionisation, respectivement(70)(71). Ces études permettent également l'établissement de relations structure-activité. De plus, récemment, des études quantiques se sont focalisées notamment sur l'aspect cinétique qui est primordial pour estimer l'activité piégeage des radicaux libres(62). L'étude cinétique permet notamment de discréditer le mécanisme de par transfert d'atome par rapport au transfert d'électron. La chimie théorique permet également de comprendre quel groupement d'une molécule est responsable de l'activité de piégeage.

Ces informations sont cruciales pour le « drug-design », e.g., l'aide à la création d'un antioxydant idéal.

Les composés étudiés peuvent présenter une capacité intrinsèque de piégeage de radicaux intéressants *in vitro*, sans être efficace *in vivo*. En effet, pour optimiser leur utilisation, il est nécessaire de s'assurer que les molécules peuvent atteindre le site d'intérêt. Pour cela, la mécanique et dynamique moléculaire a été largement utilisées pour comprendre si tel ou tel composé aura la possibilité de se loger dans la membrane, site de production massive de radicaux libres. Par ailleurs, une récente étude a démontré l'implication de flavonols comme régénérateur de vitamine E au sein de la membrane, tout comme la vitamine C(29). Enfin, la mécanique et dynamique moléculaire permettent également d'évaluer les capacités d'un composé à inhiber ou activer une protéine/enzyme cible (e.g., Xanthine Oxydase)(72).

## 4. Etudes et applications

De nos jours, les antioxydants sont très largement utilisés dans de nombreux domaines incluant la diététique, l'agroalimentaire, la cosmétologie, le domaine médical mais également l'industrie moderne. En effet, cette dernière requiert l'utilisation d'antioxydants puissants qui permettent au produit fabriqué de ne pas se dégrader par oxydation. De la même façon, les durées de vie des graisses, plastiques, pétroles ou encore caoutchoucs ont été considérablement augmentées. Dans cette section seront développées les études et applications touchant au domaine de la santé.

### 4.1. Etudes

#### 4.1.1. SU.VI.MAX

L'étude SU.VI.MAX (SUplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants) a été lancée en 1994 dans le but de récolter des informations sur la consommation et l'état de santé des français(73). L'étude a duré 8 ans et a regroupé plus de 13000 sujets de 35 à 60 ans. L'ensemble des participants était divisé en deux groupes, l'un prenant quotidiennement une capsule contenant des doses nutritionnelles de vitamines et minéraux antioxydants, l'autre un placebo. A l'instar des études cliniques, le processus était en double aveugle : ni le médecin ni le sujet ne savait si ce dernier prenait un placebo ou non.

Les capsules comprenaient :

- 6 mg de  $\beta$ -carotène synthétique
- 120 mg de vitamine C
- 30 mg de vitamine E synthétique
- 20 mg de zinc
- 100  $\mu$ g de sélénium

De façon surprenante, les résultats de cette étude n'ont pas montré d'effet significatif de la supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants. En effet, aucune différence notable n'a été décelée entre les deux groupes sur l'incidence des cancers, des maladies cardiovasculaires ischémiques ou de la mortalité.

En réalité, une distinction entre sexe a toutefois été notée. Il semblerait que l'incidence de cancer et la mortalité soient diminuées par la prise d'antioxydants chez l'homme et non chez la femme. Une des raisons supposées est que les femmes ont déjà une alimentation plus équilibrée et donc naturellement plus riche en antioxydants. L'ajout d'antioxydants n'aurait donc pas d'impact.

#### 4.1.2. SU.VI.MAX 2

Cette étude, faisant suite à la précédente, a pour but de mettre en relation le comportement alimentaire avec les pathologies liées au vieillissement (cancer, cataracte...) et la qualité globale du vieillissement(74).

Cette étude a regroupé près de 7200 sujets âgés de plus de 60 ans sur une période de 16 ans, temps nécessaire à la constitution d'une banque de données suffisante incluant le recueil des données alimentaires et l'enregistrement des évènements de santé.

#### 4.1.3. Meta-analyse

Une méta-analyse a été conduite en collaboration entre une équipe danoise et serbe avec pour but d'évaluer l'effet d'une supplémentation en antioxydants sur la mortalité(75)(76).

Cette méta-analyse conclut qu'une supplémentation en antioxydant n'est pas nécessaire à titre préventif. Il a même été démontré qu'une utilisation de  $\beta$ -carotène, de vitamine E et de vitamine A à forte dose aurait un effet néfaste sur l'organisme. Il est donc préconisé que tout complément alimentaire doit être considéré avec beaucoup de précaution et soin. Son évaluation par les organismes nationaux de santé devrait être effectuée avant toute commercialisation.

### 4.2. Utilisation dans l'industrie agroalimentaire

Les antioxydants sont largement utilisés dans le domaine agroalimentaire afin de prolonger la durée de vie des aliments. Toutefois leur utilisation est règlementée. La liste d'additifs susceptibles d'être utilisés est précise. Les différents composés sont classés en fonction leur structure chimique.

#### 4.2.1. La vitamine C et ses dérivés

La vitamine C (ou acide ascorbique) est une vitamine hydrosoluble sensible à la chaleur et à la lumière que l'on retrouve à l'état naturel.

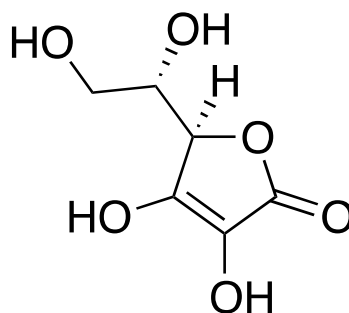
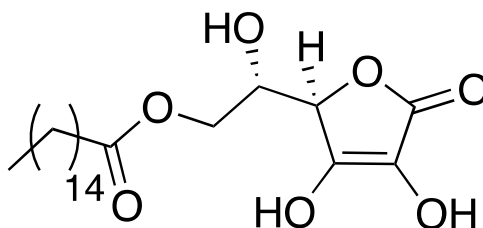


Figure 55. Structure chimique de la vitamine C

Elle est surtout utilisée en agroalimentaire pour les produits à conservation longue et non réfrigérée afin d'éviter la prolifération de bactéries à l'origine de la dégradation du produit. Elle est également utilisée pour son pouvoir réducteur dans le vin et la bière ainsi qu'à titre préventif d'oxydation pour certains fruits (e.g., mirabelle).

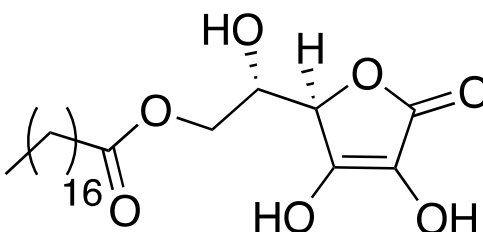
Un des dérivés de l'acide ascorbique est l'ascorbate de sodium. Il s'agit d'un produit synthétique qui est utilisé avant tout comme antioxydant mais également en tant que fixateur de couleur et supplément vitaminique. On le retrouve dans certains aliments pour bébé ainsi que dans les poissons surgelés. Autre dérivé de l'acide ascorbique, l'ascorbate de calcium est un sel de calcium dont la principale utilisation est l'application sur les pommes avant leur commercialisation afin d'empêcher leur oxydation et ainsi leur brunissement. De la même façon, l'ascorbate de potassium est utilisé pour prévenir l'oxydation des beurres, sirops et conserves.

Le palmitate d'ascorbyle est un ester d'acide ascorbique et d'acide palmitique permettant à la vitamine C d'être liposoluble. On le retrouve dans les laits déshydratés, les matières grasses ainsi que dans les aliments diététiques pour nourrissons et/ou enfants en bas âge.



**Figure 56.** Structure chimique du palmitate d'ascorbyle

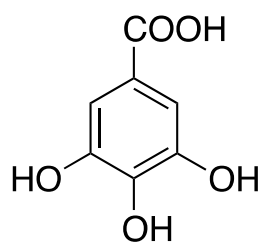
Le stéarate d'ascorbyle est un ester formé d'acide ascorbique et d'acide stéarique. Il est utilisé dans la conservation des margarines. Son utilisation est interdite en France mais autorisée aux Etats-Unis.



**Figure 57.** Structure chimique du stéarate d'ascorbyle

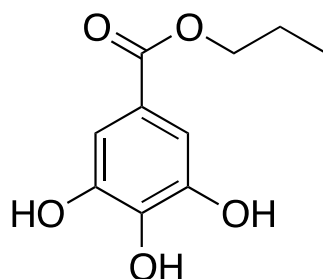
#### 4.2.2. Les dérivés de l'acide gallique

L'acide gallique ou acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque est un acide phénolique non utilisé dans son état basal. Cependant, ses sels et esters sont largement plus répandus.

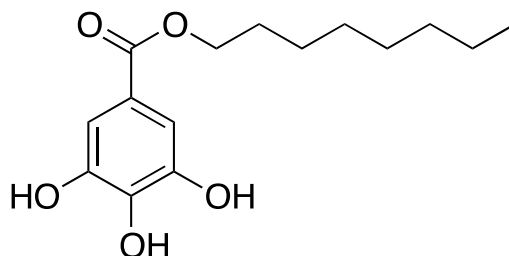


**Figure 58.** Structure chimique de l'acide gallique

Le gallate de propyle est un composé de synthèse formé à partir d'acide gallique et de propanol. Au niveau de l'intestin, il est métabolisé, redonnant l'acide gallique et le propanol. Son utilisation est autorisée mais à une concentration maximale de 100mg/kg. On le retrouve dans les laits en poudre pour distributeurs, les chewing-gums et les pommes de terre déshydratées. Il est à noter que son cousin, le gallate d'octyle est également utilisé dans les mêmes aliments.

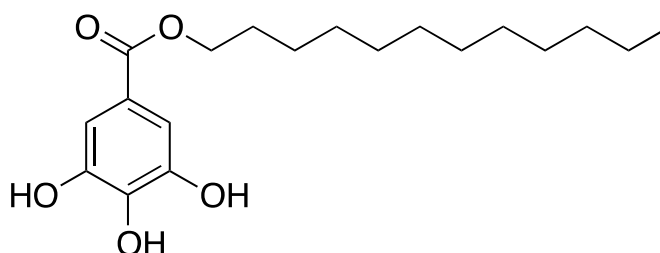


**Figure 59.** Structure chimique du gallate de propyle



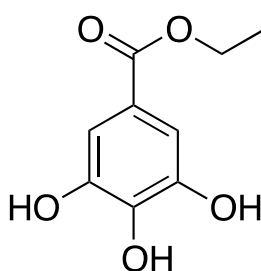
**Figure 60.** Structure chimique du gallate d'octyle

Par son caractère liposoluble plus important que les deux précédents, le gallate de dodécyle est utilisé afin d'empêcher le rancissement par oxydation des produits gras.



**Figure 61.** Structure chimique du gallate de dodécyle

Enfin, le gallate d'éthyle est un composé organique résultant de l'estérification de l'acide gallique par l'éthanol. Il est utilisé dans les soupes et la boulangerie fine.



**Figure 62.** Structure chimique du gallate d'éthyle

#### 4.2.3. La résine de gaïac

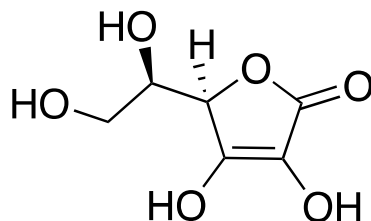
La résine de gaïac est extraite des arbres *Guaiaacum officinale* et *Guaiaacum santum* originaires des régions tropicales et subtropicales des Amériques. Elle fut utilisée par le passé comme traitement contre la syphilis, comme stimulant mais également pour lutter contre le manque d'appétit. Cette résine est utilisée en agroalimentaire dans les sauces, le saindoux et les huiles.

La gomme de gaïac est également utilisée mais n'est pas considérée comme un antioxydant, elle est décrite comme étant un conservateur.

#### 4.2.4. L'acide érythorbique et ses dérivés

L'acide érythorbique est un stéréoisomère de l'acide ascorbique. Ils ne diffèrent que par la configuration de l'atome de carbone asymétrique porteur du groupe hydroxyle, ce qui justifie son deuxième nom, l'acide isoascorbique. Contrairement à l'acide ascorbique, il n'existe pas à l'état naturel et doit donc être synthétisé. Par ailleurs, le changement de

configuration absolue du carbone retire toute action sur le scorbut. Il garde néanmoins son potentiel antioxydant et est surtout utilisé dans les aliments transformés (poisson, viande).



**Figure 63.** Structure chimique de l'acide érythorbique

L'érythorbate de sodium, de calcium et de potassium sont des sels de l'acide érythorbique. Ils sont utilisés comme antioxydants pour améliorer la conservation des viandes.

#### 4.2.5. Autres

Il existe d'autres antioxydants utilisés largement pour leur capacité à empêcher l'oxydation des graisses et huiles principalement d'origine animale. Il s'agit du BHA (hydroxyanisole butylé), du BHT (hydroxytoluène buthylé) et de la TBHQ (*tert*-butylhydroquinone). Ils sont également employés en cosmétologie et seront développés dans la section 4.3.2. Les antioxydants de synthèse. Leur utilisation semble destinée être disparaître en raison d'un risque cancérigène notamment.

### 4.3. Utilisation en cosmétologie

Un produit cosmétique se définit comme étant une substance ou un mélange destiné à être mis en contact avec une partie superficielle du corps humain (e.g., épiderme, ongles, lèvres). Son action a pour but de nettoyer, protéger, conserver, parfumer ou corriger l'aspect. Il s'agit de produits participant à l'hygiène et à l'embellissement, leur activité superficielle étant souvent localisée au niveau de l'épiderme. On les trouve sous différentes formes comme des crèmes, gels, émulsions.

Les produits modifiant l'apparence ont été utilisés très tôt dans notre Histoire. Par exemple, Néron et Poppée utilisaient de la céruse et de la craie pour éclaircir leur peau. De nos jours, entre l'industrialisation et les avancées scientifiques, la cosmétologie a pris une importance toute particulière dans notre société en raison du culte de l'apparence lié notamment au développement de la publicité.

Il faut entendre par produit cosmétique :

- les produits d'hygiène (e.g., démaquillant, dentifrice, déodorant)



- les produits de soin du visage (e.g., crème antiride, crème de jour, crème de nuit, crème hydratante, masque de beauté)
- les produits capillaires (e.g., après-shampooing, gel, teinture)
- les produits de maquillage (e.g., anti-cerne, autobronzant, fond de teint, mascara)
- les parfums
- les écrans solaires
- les produits pour le rasage et les produits dépilatoires
- les préparations pour bains et douches
- les produits de soin du corps : huile, lait, gommage, crème pour les mains.

Actuellement, les produits cosmétiques peuvent contenir jusqu'à 50 ingrédients, parmi les 8000 ingrédients cosmétiques référencés. Ils sont généralement constitués d'un ou plusieurs principes actifs, d'excipient(s) et d'additifs (e.g., adjuvants, conservateurs, colorants).

En cosmétologie, les additifs ont pour but d'améliorer la conservation, la couleur, la texture ou le parfum des produits fabriqués. Les antioxydants sont très largement utilisés en cosmétologie, que ce soit comme principes actifs ou comme additifs. Ils sont même gage d'efficacité pour le consommateur et sont souvent mis en avant dans les campagnes de marketing. La notion d'antioxydant peut parfois être floue en cosmétologie.

Les antioxydants conservateurs que l'on trouve dans les produits cosmétiques peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Quoi qu'il en soit, ils se doivent de répondre à plusieurs critères : ils doivent protéger le produit cosmétique des dégradations photo-induites ou de l'oxydation due à l'air, tout en n'en modifiant ni l'odeur, ni l'aspect ni la couleur.

Leur intérêt repose sur la capacité à interrompre activement la réaction de peroxydation. Ils vont être utilisés dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés mais également dans celles contenant des extraits végétaux riches en oxydases. De plus, les antioxydants vont permettre limiter le phénomène de rancissement dont peuvent être victimes les produits cosmétiques.

En tant qu'additifs, les antioxydants sont présents dans les produits cosmétiques à une concentration d'environ 0,02 à 0,05%(77).

### 4.3.1. Les antioxydants naturels

Parmi tous les antioxydants naturels, il existe deux molécules particulièrement utilisées, à savoir l' $\alpha$ -tocophérol et le palmitate d'ascorbyle.

- L'  $\alpha$ -tocophérol est une forme de la vitamine E. La peau peut absorber la vitamine E selon 2 voies : l'une passe au travers de la couche cornée, de l'épiderme et de la jonction dermo-épidermique; la seconde passe par le canal pilo-sébacé et l'intérieur des follicules pileux.

Elle possède plusieurs activités intéressantes dans le domaine de la cosmétologie.

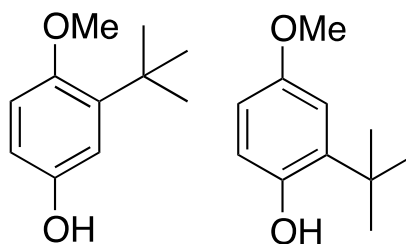
Son action sur le cuir chevelu permet une protection vis à vis des phénomènes d'irritation en limitant la peroxydation des lipides du sébum. Du plus, en raison de son stockage dans la paroi cellulaire, elle forme le premier barrage protecteur de la peau contre les rayons UV. Sa présence permet de réduire l'érythème cutané induit par une surexposition solaire.

Une application répétée sur la peau permet d'améliorer la fonction de barrière: la perte d'eau est moindre, l'aspect de la peau s'améliore en surface (gain en souplesse et en sensation de douceur). En parallèle, l'action antioxydante contre le vieillissement permet d'observer une diminution des rides.

- Comme vu précédemment, le palmitate d'ascorbyle est un ester liposoluble. Il est utilisé dans les rouges à lèvres, les crèmes pour les mains et dans les crèmes dépigmentaires.

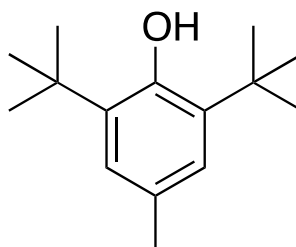
### 4.3.2. Les antioxydants de synthèse

- Le BHA ou hydroxyanisole butylé est un mélange de 2-tertiobutyl-4-hydroxyanisole (2-BHA) et de 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole (3-BHA). Outre son utilisation comme antioxydant ayant pour but d'éviter aux produits lipophiles de rancir, il est également employé comme agent masquant afin de réduire ou masquer l'odeur de base d'un produit. Il est largement utilisé dans les rouges à lèvres, dans les crèmes hydratantes ou pour les fonds de teint. Le BHA est actuellement suspecté de provoquer des réactions allergiques cutanées, d'être un potentiel cancérigène voire de rentrer en compétition avec certaines fonctions hormonales. Son utilisation a donc été interdite en Europe dans la composition des parfums mais autorisée dans d'autres produits.



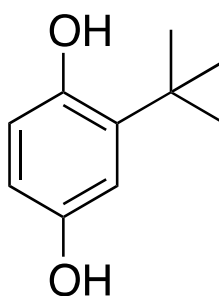
**Figure 64.** Structure chimique de la 2-BHA et de la 3-BHA

- Le BHT ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol présente les mêmes propriétés que le BHA avec les mêmes risques pour la santé. Malgré cela, ces deux molécules sont préférées à l' $\alpha$ -tocophérol notamment en raison d'un coût de production moindre.



**Figure 65.** Structure chimique de la BHT

- Enfin, le TBHQ ou butylhydroquinone tertiaire. Il est principalement utilisé avec le BHA.



**Figure 66.** Structure chimique de la TBHQ

#### 4.3.3. Les actifs et plantes utilisées

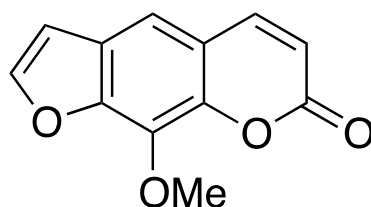
- Les tanins sont des polymères de polyphénols permettant la précipitation de protéines. Par leurs propriétés, ils permettent le raffermissement de la peau et le resserrement des pores. Certains d'entre eux ont aussi une action anti-inflammatoire en diminuant la perméabilité capillaire(78).

- Les caroténoïdes d'une part absorbent la lumière visible de façon importante et d'autre part réduisent la quantité de radicaux libres générés par le stress oxydant de la photosensibilisation. Ils ont donc une double action antioxydante(79). En revanche, ils ne font pas écran aux rayonnements ultraviolets et n'ont quasiment aucun effet sur l'érythème induit par ces rayonnements(80). De ce fait, ils n'ont aucune action protectrice sur les lésions photo-induites de l'ADN(81).
- Les feuilles d'Aloe Vera présentent une pulpe épaisse qui constitue un gel particulièrement recherché en cosmétique. Plus de 75 ingrédients sont présents dans la feuille d'Aloe Vera, notamment des anthraquinones, des vitamines (A, C, E, B...), des acides aminés, des enzymes. Cette mixture lui confère des propriétés hydratantes et protectrices largement vantées dans les produits cosmétologiques. D'un point de vue plus pharmaceutique, l'Aloe Vera est utilisé en tant qu'antiprurigineux et adoucissant pour les crevasses, gerçures, érythèmes solaires, et érythèmes fessiers.
- L'huile essentielle d'armoise contient entre autres des tanins, et possède donc une propriété tonifiante de la peau.
- Le concombre est composé majoritairement d'eau, mais contient des oligoéléments et quelques vitamines. Cette plante est souvent employée pour ses vertus adoucissantes et rafraichissantes.
- Le Fenugrec est une plante composée de très nombreux ingrédients utile à la cosmétique. Grâce au pouvoir émollient conféré par les mucilages présents dans les préparations à base de fenugrec, cette plante est employée pour la confection de masques régénérateurs de la peau et de crèmes nourrissantes. Dans certains pays, le fenugrec entre dans la composition des cataplasmes appliqués sur les plaies infectées, les abcès et les furoncles.
- Le lierre contient du carotène, du tocophérol et des flavonoïdes, il est utilisé comme adoucissant et amincissant.
- La fleur de l'ortie blanche contient des flavonoïdes et des tanins. Elle possède des propriétés qui permettent son utilisation au sein des lotions capillaires et dans les shampoings (contre la chute capillaire).
- Les préparations à base de tilleul sont utilisées comme antirides ou pour la décoloration des taches de rousseur, selon les doses présentes.

## 4.4. Utilisation en médecine humaine

### 4.4.1. La PUVAthérapie

La PUVAthérapie est un procédé thérapeutique utilisé depuis plusieurs années dans le traitement de nombreuses affections de la peau et des muqueuses (notamment le psoriasis). Ce traitement, nécessitant un examen cutané préalable, consiste en l'irradiation du corps par des rayons Ultra-Violets A (UVA) après la prise d'un médicament photosensibilisant la Méladinine ®. Le principe actif de cette spécialité est le méthoxsalène qui est un dérivé des furanocoumarines. Il s'agit d'une molécule possédant des propriétés antioxydantes mais dans son utilisation dans la PUVAthérapie, ce sont ses propriétés photosensibles qui sont exploitées. Après son ingestion *per os*, la molécule va diffuser dans l'organisme de façon non spécifique.



**Figure 67.** Structure chimique du méthoxsalène

Les zones présentant la dermatose vont être exposées aux rayonnements UVA qui activent le méthoxsalène. Ce dernier va se lier aux deux brins d'une même paire chromosomique en formant un pont covalent, entraînant la mort cellulaire par apoptose.

Ce traitement est contraignant à plusieurs niveaux. En effet pour qu'il soit efficace, il nécessite en moyenne deux à trois séances par semaine pour un total maximum de 30 séances avec une exposition croissante aux UVA. De plus, dans les 8h suivant la prise du médicament, il est obligatoire de porter des lunettes de soleil afin de protéger les yeux des UVA et UVB. Il est important durant toute la période de la cure de faire attention aux interactions avec la prise d'autres médicaments et aux possibles manifestations cutanées indésirables. Toutefois, il peut être observé une sécheresse cutanée qui pourra être soulagée par l'utilisation d'un pain surgras pour la toilette et d'une émulsion corporelle hydratante (de préférence le soir). Le traitement peut également provoquer un prurit, des douleurs cutanées, une hypertrichose. La PUVAthérapie est formellement contre-indiquée chez la femme enceinte.

Il est primordial, et il en va de la réussite du traitement, de respecter scrupuleusement les séances et ne pas interrompre prématurément le traitement.

#### 4.4.2. Les topiques

De nombreux médicaments possèdent des antioxydants comme principe actif permettant une action locale bénéfique à l'organisme. Voici une liste non exhaustive des spécialités pharmaceutiques utilisées de nos jours :

- A 313 ® (Rétinol) : Traitement d'appoint des dermites irritatives.
- Cicatryl ® (Chlorocrésol, Allantoïne, Gaïazulène, Alpha-tocophérol acétate) : Traitement symptomatique local des plaies et brûlures superficielles peu étendues.
- Curacne ® (Isotrétinoïne): Acnés sévères (telles que acné nodulaire, acné conglobata ou acné susceptible d'entraîner des cicatrices définitives) résistantes à des cures appropriées de traitement classique comportant des antibiotiques systémiques et un traitement topique.
- Cirkan ® (Désonide, Lidocaïne, Rétinol (DCI), Ruscosides, Alpha-tocophérol, Héparine sodique) : Traitement symptomatique des douleurs, prurits et sensations congestives au cours des poussées hémorroïdaires et autres affections anales.
- Difrarel ® (Vaccinium myrtillus, extrait anthocyanosidique,  $\beta$ -carotène) : Traitement d'appoint des troubles de la vision mésopique et scotopique (héméralopie), myopie.
- Effederm ® (Trétinoïne) : Acné de sévérité moyenne, particulièrement indiqué dans l'acné rétentionnelle. Troubles de la kératinisation résistants aux émoullients. Verrues planes.
- Leucodinine ® (Méquinol) : Traitement local des hyperpigmentations mélaniques acquises, notamment : mélasma, mélanose post inflammatoire et chimique (parfum).
- Transvercid ® (Acide salicylique): Traitement local des verrues vulgaires, notamment des verrues multiples et/ou de grande taille (dont verrues plantaires).
- HEC ® (Acide tannique, Hamamélis extrait fluide, Phénazone) : Traitement local d'appoint des brûlures superficielles de faible étendue.

#### 4.4.3. Les veinotoniques

Les veinotoniques sont des médicaments ayant la propriété d'augmenter le tonus de la paroi veineuse. Ils vont réduire la douleur et l'œdème en limitant la dilatation de la veine et le phénomène inflammatoire par leurs propriétés antioxydantes. L'efficacité des veinotoniques a été récemment soumise à controverse. En effet, les polyphénols présents dans ces spécialités ne sont pas absorbés sans biotransformation au niveau de la sphère digestive. Ils

sont au préalable métabolisés par les bactéries du transit. Les métabolites créés sont bien moins antioxydants. Ils sont récemment passés du statut de médicament remboursable à non-remboursable par la Sécurité Sociale française.

- Birciran ® (Fragon extrait sec, Acide ascorbique, Hespéridine méthylchalcone) : Traitement d'appoint des manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primodécubitus). Traitement d'appoint des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.
- Cemaflavone ® (Acide ascorbique, Citroflavonoïdes) : les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primo-décubitus)
- Daflon ® (Fraction flavonoïque purifiée micronisée) : Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primodécubitus).
- Ginkor Fort ® (Ginkgo biloba extrait standardisé en Troxérutine, Heptaminol chlorhydrate) : Traitement des symptômes en rapport avec une insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primodécubitus...).
- Veliten ® (Acide ascorbique,  $\alpha$ -tocophérol acétate, Rutoside) : Traitement des manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatience du primodécubitus). Traitement symptomatique des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire.

#### **4.4.4. Prévention dans le phénomène d'ischémie-reperfusion**

Ce phénomène touche les tissus irrigués par une artère, que ce soit via un mécanisme pathologique (e.g., obturation par un caillot) ou via un mécanisme provoqué (e.g., artère clampée pour une transplantation). Au cours de la reperfusion, de nombreuses lésions graves sont observées(82)(83).

Dans un premier temps, l'ischémie possède une phase cellulaire où les mitochondries semblent avoir un rôle majeur dans la survenue des troubles liés à ce phénomène. Il est important de noter que toute altération majeure du métabolisme mitochondrial entraîne inéluctablement la mort de la cellule(84). Le dysfonctionnement mitochondrial a de multiples conséquences :

- Un déficit de la chaîne respiratoire, provoquant une baisse notable de la production d'ATP.

- Une augmentation significative de la production de ROS par coupure de la chaîne mitochondriale et une augmentation de calcium intracellulaire. Pour rappel, le métabolisme mitochondriale constitue un enchainement de transfert électrons.
- L'ouverture du mPTP (ou mitochondrial permeability transition pore) avec libération du cytochrome C dans le cytosol et stimulation des processus de mort cellulaire par apoptose(85). La libération du cytochrome C est la traduction de la dégradation de la membrane interne mitochondriale par peroxydation lipidique.

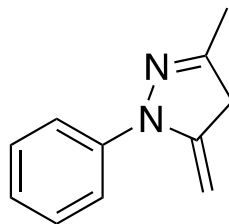
S'ensuit une phase locale où l'inflammation joue un rôle crucial et « embrase » le foyer oxydé lors de la reperfusion. En effet, l'activation du complément provoque le recrutement des neutrophiles et donc la libération massive de ROS et de peroxydases provoquant ainsi une augmentation importante du stress oxydant(85).

Des études montrent que l'utilisation d'antioxydants lors de la phase de reperfusion au cours de greffes rénales permet de réduire le stress oxydant provoqué par le phénomène d'ischémie-reperfusion.

Les cocktails proposés en préventif sont l'association vitamine C et vitamine E ( $\alpha$ -tocopherol)(86), ainsi que l'association L-arginine et  $\alpha$ -tocopherol(87).

L'  $\alpha$ -tocopherol seul est également proposé pour les transplantations pancréatiques(88), ou en association avec le coenzyme Q10 pour les transplantations cardiaques(89).

Au Japon, une molécule a été développée et commercialisée, l'edaravone, puissant antioxydant, afin d'aider à la récupération neurologique faisant suite à une ischémie cérébrale(90)(91).



**Figure 68.** Structure chimique de l'Edaravone

#### 4.4.5. Prévention des maladies cardiovasculaires

Contrairement à l'étude SU.VI.MAX, de nombreuses études semblent montrer l'intérêt de cocktails antioxydants en prévention des maladies cardiovasculaires.

En effet, une supplémentation quotidienne en vitamine C a permis de mettre en évidence son caractère protecteur vis-à-vis des maladies cardiovasculaire(92)(93) ainsi que



la survenue d'accident vasculaire cérébral(94). Plus récemment, l'apport en vitamine C a été relié à une baisse de la pression artérielle(95).

Concernant la vitamine E, il semblerait qu'un trop faible taux sanguin constant serait associé à un risque augmenté de décès par maladie cardiovasculaire ou d'infarctus du myocarde(96).

Plus spécifiquement, comme vu dans la section 1.2.4. L'athérosclérose, le phénomène d'athérosclérose s'initie par l'oxydation des LDL dans la paroi vasculaire. La formation de la plaque d'athérome est donc dépendante de la balance pro-/antioxydant. Une supplémentation en vitamine E couplée à du sélénium (constituant de la glutathion peroxydase) a donc un caractère protecteur vis-à-vis de la formation de ces plaques d'athérome en inhibant l'oxydation des LDL(97). Par la suite, l'association d'un  $\beta$ -carotène, l'astaxanthine, a démontré une diminution de l'infiltration des macrophages au niveau de la plaque. Il est important de noter que ce sont les cellules périphériques de la plaque d'athérome qui sont les premières soumises à l'action des macrophages. L'action diminuée des macrophages a donc moins de risque de fragiliser la périphérie de la plaque d'athérome et permet ainsi de limiter sa rupture(98). Très récemment, l'utilisation conjointe de macromolécules amphiphiles contenant l' $\alpha$ -tocopherol a démontré une efficacité importante dans ce domaine. Le mélange empêche l'accumulation des LDL oxydés ainsi que la transmission du signal inflammatoire(99).

- Omacor ® (Esters éthyliques d'acides oméga 3) : Traitement adjuvant en prévention secondaire de l'infarctus du myocarde, en association aux traitements de référence (incluant les statines, les antiagrégants plaquettaires, les bêtabloquants et les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine). Traitement des hypertriglycéridémies endogènes, en complément d'un régime dont la prescription seule s'est révélée insuffisante pour fournir une réponse adéquate (i) type IV en monothérapie et (ii) type IIb/III en association avec les statines, lorsque le contrôle des triglycérides est insuffisant.
- Coumadine ® (Warfarine sodique) : prévention des complications thromboemboliques en rapport avec certains troubles du rythme auriculaire (fibrillations auriculaires, flutter, tachycardie atriale), certaines valvulopathies mitrales, les prothèses valvulaires.
- Sintrom ® (Acénocoumarol) : Prévention des complications thrombo-emboliques des infarctus du myocarde compliqués : thrombus mural, dysfonction ventriculaire gauche sévère, dyskinésie emboligène

-

#### 4.4.6. Les suppléments vitaminiques

Les médicaments utilisés comme suppléments vitaminiques vont être prescrits en cas de déficit ou à titre préventif afin d'éviter tout risque de développement d'une carence.

- A 313 ® (Retinol) : Traitement curatif de la carence en vitamine A
- Elevit ® : Prévention ou correction des troubles en rapport avec un régime alimentaire carencé ou déséquilibré au cours de la grossesse et de l'allaitement.
- Toco ® ( $\alpha$ -tocophérol acétate) : Traitement des carences en vitamine E.
- Uvesterol ® (Ergocalciférol) : Indiqué chez le nouveau-né (en particulier le nouveau-né prématuré) et le nourrisson présentant un risque de déficit ou de malabsorption en vitamines liposolubles A, D et E, et vitamine C.

## Conclusion

Le stress oxydant est un paradoxe en soi. Initialement conçu pour défendre l'organisme, la balance pro-/antioxydant est un équilibre fragile. L'appréhension de ce phénomène est d'autant plus difficile par sa dimension ubiquitaire et non sélective : un pro-oxydant puissant attaque tout ce qui l'entoure sans distinction.

La supplémentation en antioxydants peut s'avérer donc nécessaire plus particulièrement pour les populations ayant une alimentation mal équilibrée. La « malbouffe » devient un phénomène de plus en plus préoccupant dans les pays occidentaux de nos jours. Les antioxydants se retrouvent naturellement dans bon nombre de fruits, légumes, boissons et graines, et les modifications des habitudes alimentaires font apparaître des carences de plus en plus fréquentes. Il est important de noter que les besoins naturels en vitamines et oligoéléments représentent de faibles quantités tant leurs concentrations efficaces dans l'organisme se situent dans une fourchette étroite. Ainsi, une sur-supplémentation en ces éléments n'améliore pas nécessairement l'état de santé des individus, voire même pourrait être délétère dans certains cas. Tout est, une nouvelle fois, une question d'équilibre.

Par ailleurs, les antioxydants sont, à raison, très largement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et cosmétologique à des fins de conservateurs. Le réservoir naturel de ces substances en fait un matériel quasi inépuisable, il s'agit pour la plupart de molécules naturelles ou hémisynthétiques. Cependant une certaine prudence est de mise quant à l'utilisation de ces substances. Il ressort de certaines études un pouvoir potentiellement délétère de ces produits s'ils sont utilisés de façon excessive ou inappropriée. Récemment, de nombreux scandales ont émergés car les antioxydants puissants utilisés ont présenté un éventuel pouvoir cancérigène ainsi que de possible troubles hormonaux. Un cadre de réglementation est donc nécessaire afin d'encadrer plus strictement leur utilisation.

Le développement de nouvelles molécules (ou cocktails) antioxydant(e)s dans le domaine de la santé est tributaire de l'avancée des connaissances sur le rôle du stress oxydant dans la physiopathologie de certaines maladies telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. Tous les domaines scientifiques sont concernés et doivent travailler conjointement, afin de prédire une efficacité maximum mais également anticiper les effets secondaires. La recherche en nouveaux antioxydants est donc plus que jamais un problème d'actualité.

## Références bibliographiques

1. Hybertson BM, Gao B, Bose SK, McCord JM. Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol Aspects Med.* août 2011;32(4-6):234-46.
2. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol.* 1993;23(1):21-48.
3. Souza HP, Laurindo FR, Ziegelstein RC, Berlowitz CO, Zweier JL. Vascular NAD(P)H oxidase is distinct from the phagocytic enzyme and modulates vascular reactivity control. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* févr 2001;280(2):H658-67.
4. Bergendi L, Benes L, Duracková Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci.* 1999;65(18-19):1865-74.
5. Gutteridge JMC, Halliwell PB. Invited Review Free Radicals in Disease Processes: A Compilation of Cause and Consequence. *Free Radic Res Commun.* 1 janv 1993;19(3):141-58.
6. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 10 mars 2006;160(1):1-40.
7. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res.* 1 sept 1992;275(3):331-42.
8. Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, Sokohl A. The pediatric neurotransmitter disorders. *J Child Neurol.* mai 2007;22(5):606-16.
9. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* juill 1956;11(3):298-300.
10. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem.* 25 nov 1969;244(22):6049-55.
11. *Oxygen: The Molecule that Made the World.* Oxford; New York: Oxford University Press; 2004. 384 p.
12. Delattre J. Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York: Tec & Doc Lavoisier; 2007.
13. Kirkwood TBL. Understanding the odd science of aging. *Cell.* 25 févr 2005;120(4):437-47.
14. Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic Biol Med.* 1 sept 2002;33(5):575-86.
15. Pasquier C. Stress oxydatif et inflammation. *Rev Fr Lab.* juin 1995;1995(276):87-92.
16. Holmes B, Page AR, Good RA. Studies of the Metabolic Activity of Leukocytes from Patients with a Genetic Abnormality of Phagocytic Function\*. *J Clin Invest.* sept 1967;46(9):1422-32.

17. Russo-Marie F. L'inflammation. John Libbey Eurotext; 1998. 580 p.
18. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* sept 2002;5(5):561-8.
19. Bonnefont-Rousselot D. The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. *Treat Endocrinol.* 2004;3(1):41-52.
20. Beaudeau J-L, Delattre J, Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Legrand A, Peynet J. Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-Anal Biol Spéc.* juin 2006;21(3):144-50.
21. Kaplan M, Aviram M, Hayek T. Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacol Ther.* nov 2012;136(2):175-85.
22. Christen Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr.* févr 2000;71(2):621S - 629S.
23. Hwang O. Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol.* mars 2013;22(1):11-7.
24. Serge Przedborski DD. Brain superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1996;39(2):158-65.
25. Richard MJ, Belleville F, Chalas J, Ceballos-Picot I, Vitoux D, Boyer MJ, et al. Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Ann Biol Clin (Paris).* 24 avr 1997;55(3):195-208.
26. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* déc 1988;85(24):9748-52.
27. Russo-Marie F. L'inflammation. John Libbey Eurotext; 1998. 580 p.
28. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: The first twenty years (1968–1988). *Free Radic Biol Med.* 1 janv 1988;5(5):363-9.
29. Fabre G, Bayach I, Berka K, Paloncýová M, Starok M, Rossi C, et al. Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chem Commun.* 21 avr 2015;51(36):7713-6.
30. Higdon J. Antioxidant Vitamins and Health: Cardiovascular Disease, Cancer, Cataracts, and Aging by Claude Fernand Bourgeois, 2003, 306 pages, hardcover, \$72. HNB Publishing, New York. *Am J Clin Nutr.* 1 juill 2004;80(1):239-239.
31. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 10 mai 2011;283(2-3):65-87.
32. Laliberté J, Labbé S. [The molecular bases for copper uptake and distribution: lessons from yeast]. *Médecine Sci MS.* mars 2008;24(3):277-83.
33. Del Corso L, Pastine F, Protti MA, Romanelli AM, Moruzzo D, Ruocco L, et al. Blood zinc, copper and magnesium in aging. A study in healthy home-living elderly. *Panminerva Med.* déc 2000;42(4):273-7.

34. Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F, Romano F, De Cesare D, Cuccurullo F, et al. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* oct 1998;25(6):676-81.
35. Chen D, Daniel KG, Kuhn DJ, Kazi A, Bhuiyan M, Li L, et al. Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. *Front Biosci J Virtual Libr.* 1 sept 2004;9:2618-31.
36. Orgogozo JM, Dartigues JF, Lafont S, Letenneur L, Commenges D, Salamon R, et al. Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Rev Neurol (Paris).* avr 1997;153(3):185-92.
37. Košinová P, Gažák R, Duroux J-L, Lazzaroni R, Křen V, Assfeld X, et al. Dimerisation process of silybin-type flavonolignans: insights from theory. *Chemphyschem Eur J Chem Phys Phys Chem.* 18 avr 2011;12(6):1135-42.
38. Velu SS, Buniyamin I, Ching LK, Feroz F, Noorbachta I, Gee LC, et al. Regio- and stereoselective biomimetic synthesis of oligostilbenoid dimers from resveratrol analogues: influence of the solvent, oxidant, and substitution. *Chem Weinh Bergstr Ger.* 2008;14(36):11376-84.
39. Litwinienko G, Ingold KU. Solvent effects on the rates and mechanisms of reaction of phenols with free radicals. *Acc Chem Res.* mars 2007;40(3):222-30.
40. Moran JF, Klucas RV, Grayer RJ, Abian J, Becana M. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radic Biol Med.* 1997;22(5):861-70.
41. Yen G-C, Duh P-D, Tsai H-L. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem.* nov 2002;79(3):307-13.
42. Ferguson LR, Zhu S, Harris PJ. Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cells. *Mol Nutr Food Res.* juin 2005;49(6):585-93.
43. Kampa M, Alexaki V-I, Notas G, Nifli A-P, Nistikaki A, Hatzoglou A, et al. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Res.* 2004;6(2):R63-74.
44. Lee YS. Role of NADPH oxidase-mediated generation of reactive oxygen species in the mechanism of apoptosis induced by phenolic acids in HepG2 human hepatoma cells. *Arch Pharm Res.* oct 2005;28(10):1183-9.
45. Jean B. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e ed.). Lavoisier; 2009. 1289 p.
46. Robert S, Stern KTN, Stern RS, Nichols KT, Väkevä LH, for the PUVA Follow-up Study. Malignant melanoma in patients treated for psoriasis with methoxsalen (psoralen) and ultraviolet A radiation (PUVA). *N Engl J Med* 336:1041-1045. *N Engl J Med.* 1997;336(15):1041-5.
47. Momtaz K, Fitzpatrick TB. The benefits and risks of long-term PUVA photochemotherapy. *Dermatol Clin.* avr 1998;16(2):227-34.

48. Dictionnaire Vidal 2016 (92° Éd.) [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 31 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.lavoisier.fr/livre/genie-pharmaceutique/dictionnaire-vidal-2016-92-ed/descriptif-9782850913617>
49. Chen L, Na-Shun B-Y-E, Zhang J, Yu J, Gu W-W. [Effect of juglone on the ultrastructure of human liver cancer BEL-7402 cells]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. juin 2009;29(6):1208-11.
50. Mérillon JM, Fauconneau B, Teguo PW, Barrier L, Vercauteren J, Huguet F. Antioxidant activity of the stilbene astringin, newly extracted from *Vitis vinifera* cell cultures. *Clin Chem*. juin 1997;43(6 Pt 1):1092-3.
51. Afaq F, Mukhtar H. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. *Exp Dermatol*. sept 2006;15(9):678-84.
52. Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 31 mars 1995;235(2):207-19.
53. Ferraz da Costa DC, Casanova FA, Quarti J, Malheiros MS, Sanches D, Dos Santos PS, et al. Transient transfection of a wild-type p53 gene triggers resveratrol-induced apoptosis in cancer cells. *PLoS One*. 2012;7(11):e48746.
54. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. oct 2001;74(4):418-25.
55. Xu G-H, Ryoo I-J, Kim Y-H, Choo S-J, Yoo I-D. Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of *Thuja orientalis*. *Arch Pharm Res*. févr 2009;32(2):275-82.
56. Korkina L, Kostyuk V, De Luca C, Pastore S. Plant phenylpropanoids as emerging anti-inflammatory agents. *Mini Rev Med Chem*. sept 2011;11(10):823-35.
57. Adlercreutz H. Lignans and human health. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2007;44(5-6):483-525.
58. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*. nov 1998;56(11):317-33.
59. Hagerman AE. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *J Chem Ecol*. févr 1988;14(2):453-61.
60. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol*. 1995;28(1):25-30.
61. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem*. 23 mars 2005;53(6):1841-56.
62. Di Meo F, Lemaire V, Cornil J, Lazzaroni R, Duroux J-L, Olivier Y, et al. Free Radical Scavenging by Natural Polyphenols: Atom versus Electron Transfer. *J Phys Chem A*. 14 mars 2013;117(10):2082-92.



63. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr.* sept 2003;133(9):2812-9.
64. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *J Agric Food Chem.* 1 oct 2001;49(10):4619-26.
65. International Journal for Vitamin and Nutrition Research [Internet]. [cité 4 févr 2016]. Disponible sur: <http://www.hogrefe.ch/index.php/international-journal-for-vitamin-and-nutrition-research.html/>
66. Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.* 16 mars 2015;5(35):27986-8006.
67. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med.* mars 1993;14(3):303-11.
68. Vinson JA, Mandarano M, Hirst M, Trevithick JR, Bose P. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Beers and the Effect of Two Types of Beer on an Animal Model of Atherosclerosis. *J Agric Food Chem.* 1 août 2003;51(18):5528-33.
69. Hawkes WC, Kutnink MA. High-Performance Liquid Chromatographic–Fluorescence Determination of Traces of Selenium in Biological Materials. *Anal Biochem.* 15 oct 1996;241(2):206-11.
70. Trouillas P, Marsal P, Siri D, Lazzaroni R, Duroux J-L. A DFT study of the reactivity of OH groups in quercetin and taxifolin antioxidants: The specificity of the 3-OH site. *Food Chem.* août 2006;97(4):679-88.
71. Košinová P, Di Meo F, Anouar EH, Duroux J-L, Trouillas P. H-atom acceptor capacity of free radicals used in antioxidant measurements. *Int J Quantum Chem.* 1 mai 2011;111(6):1131-42.
72. Antonczak S. Electronic description of four flavonoids revisited by DFT method. *J Mol Struct THEOCHEM.* 15 mai 2008;856(1–3):38-45.
73. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med.* 22 nov 2004;164(21):2335-42.
74. Kesse-Guyot E, Assmann KE, Andreeva VA, Ferry M, Hercberg S, Galan P. Consumption of Dairy Products and Cognitive Functioning: Findings from the SU.VI.MAX 2 Study. *J Nutr Health Aging.* 2016;20(2):128-37.
75. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 28 févr 2007;297(8):842-57.
76. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;3:CD007176.



77. Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie (3<sup>e</sup> Éd.) MARTINI Marie-Claude [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 2 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-la-vie/introduction-a-la-dermopharmacie-et-a-la-cosmetologie-3-ed/martini/descriptif-9782743012700>
78. Actifs et additifs en cosmétologie (3e éd.) MARTINI Marie-Claude, SEILLER Monique [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 2 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-la-vie/actifs-et-additifs-en-cosmetologie-3e-ed/martini/descriptif-9782743007119>
79. Parry C, Eaton J. Kohl: a lead-hazardous eye makeup from the Third World to the First World. *Environ Health Perspect.* août 1991;94:121-3.
80. Boyle J. Lehninger principles of biochemistry (4th ed.): Nelson, D., and Cox, M. *Biochem Mol Biol Educ.* 1 janv 2005;33(1):74-5.
81. Wolf C, Steiner A, Hönigsmann H. Do oral carotenoids protect human skin against ultraviolet erythema, psoralen phototoxicity, and ultraviolet-induced DNA damage? *J Invest Dermatol.* janv 1988;90(1):55-7.
82. Kloner RA. Does reperfusion injury exist in humans? *J Am Coll Cardiol.* févr 1993;21(2):537-45.
83. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* nov 1999;68(5):1905-12.
84. Di Lisa F, Bernardi P. Mitochondria and ischemia-reperfusion injury of the heart: fixing a hole. *Cardiovasc Res.* 1 mai 2006;70(2):191-9.
85. Petrosillo G, Ruggiero FM, Paradies G. Role of reactive oxygen species and cardiolipin in the release of cytochrome c from mitochondria. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* déc 2003;17(15):2202-8.
86. Loong CC, Chang YH, Wu TH, King KL, Yang WC, Wu CW, et al. Antioxidant supplementation may improve renal transplant function: a preliminary report. *Transplant Proc.* oct 2004;36(8):2438-9.
87. Shokeir AA, Barakat N, Hussein A-AM, Awadalla A, Abdel-Aziz A, Abo-Elenin H. Role of combination of L-arginine and  $\alpha$ -tocopherol in renal transplantation ischaemia/reperfusion injury: a randomized controlled experimental study in a rat model. *BJU Int.* août 2011;108(4):612-8.
88. Ikeda M, Matsura T, Sumimoto K, Fukuda Y, Yamada K, Kawasaki T, et al.  $\alpha$ -Tocopherol pretreatment protects the endocrine function of grafts against ischemic damage during heterotopic pancreatic transplantation. *Life Sci.* 1996;59(10):781-8.
89. Kucharská J, Gvozdjaková A, Mizera S, Margitfalvi P, Schreinerová Z, Schrameková E, et al. [Coenzyme Q10 and  $\alpha$ -tocopherol in patients after heart transplantation]. *Bratisl Lekárske Listy.* oct 1996;97(10):603-6.
90. Watanabe T, Tanaka M, Watanabe K, Takamatsu Y, Tobe A. [Research and development of the free radical scavenger edaravone as a neuroprotectant]. *Yakugaku Zasshi.* mars 2004;124(3):99-111.

91. Yoshida H, Yanai H, Namiki Y, Fukatsu-Sasaki K, Furutani N, Tada N. Neuroprotective effects of edaravone: a novel free radical scavenger in cerebrovascular injury. *CNS Drug Rev.* 2006;12(1):9-20.
92. Gale CR, Martyn CN, Winter PD, Cooper C. Vitamin C and risk of death from stroke and coronary heart disease in cohort of elderly people. *BMJ.* 17 juin 1995;310(6994):1563-6.
93. Enstrom JE, Kanim LE, Klein MA. Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population. *Epidemiol Camb Mass.* mai 1992;3(3):194-202.
94. Simon JA, Hudes ES, Browner WS. Serum ascorbic acid and cardiovascular disease prevalence in U.S. adults. *Epidemiol Camb Mass.* mai 1998;9(3):316-21.
95. Juraschek SP, Guallar E, Appel LJ, Miller ER. Effects of vitamin C supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* mai 2012;95(5):1079-88.
96. Gey KF, Moser UK, Jordan P, Stähelin HB, Eichholzer M, Lüdin E. Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr.* mai 1993;57(5 Suppl):787S - 797S.
97. Schwenke DC, Behr SR. Vitamin E combined with selenium inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits independently of effects on plasma cholesterol concentrations. *Circ Res.* 24 août 1998;83(4):366-77.
98. Li W, Hellsten A, Jacobsson LS, Blomqvist HM, Olsson AG, Yuan X-M. Alpha-tocopherol and astaxanthin decrease macrophage infiltration, apoptosis and vulnerability in atheroma of hyperlipidaemic rabbits. *J Mol Cell Cardiol.* nov 2004;37(5):969-78.
99. Lewis DR, Petersen LK, York AW, Ahuja S, Chae H, Joseph L, et al. Nanotherapeutics for Inhibition of Atherogenesis and Modulation of Inflammation in Atherosclerotic Plaques. *Cardiovasc Res.* 15 oct 2015;cvv237.

# Table des matières

Introduction .....	13
1. Stress oxydant et pathologies .....	14
1.1. Stress oxydant .....	14
1.1.1. Espèces réactives .....	15
1.1.2. Cibles .....	20
1.2. Pathologies associées .....	22
1.2.1. Théorie radicalaire du vieillissement .....	22
1.2.2. L'inflammation .....	22
1.2.3. Diabète de type 2 .....	24
1.2.4. L'athérosclérose .....	25
1.2.5. Le processus de cancérisation .....	27
1.2.6. Maladies neurodégénératives .....	27
2. Antioxydants .....	29
2.1. Définition .....	29
2.2. Systèmes antioxydants endogènes .....	29
2.2.1. Enzymatiques .....	29
2.2.2. Non enzymatiques .....	32
2.3. Autres antioxydants .....	33
2.3.1. Les vitamines .....	33
2.3.2. Les oligo-éléments .....	35
2.3.3. Les polyphénols .....	36
2.3.4. Les terpénoïdes .....	49
3. Evaluation de l'activité antioxydante .....	50
3.1. Test DPPH .....	50
3.2. Test TEAC .....	51
3.3. Test ORAC .....	52
3.4. Test FRAP .....	54
3.5. Test TRAP .....	54
3.6. Cyclovoltammétrie .....	54
3.7. Test à l'hémolyse des globules rouges .....	55
3.8. La résonance paramagnétique électronique (RPE) .....	55
3.9. Méthodes de dosage des antioxydants .....	56
3.9.1. Phénols totaux .....	56
3.9.2. Vitamine C .....	56
3.9.3. Flavonols .....	56
3.9.4. Anthocyanes .....	56
3.9.5. Sélénium total .....	56
3.10. Evaluation théorique de l'activité antioxydante .....	57
4. Etudes et applications .....	59
4.1. Etudes .....	59
4.1.1. SU.VI.MAX .....	59
4.1.2. SU.VI.MAX 2 .....	60
4.1.3. Meta-analyse .....	60
4.2. Utilisation dans l'industrie agroalimentaire .....	60
4.2.1. La vitamine C et ses dérivés .....	60
4.2.2. Les dérivés de l'acide gallique .....	62
4.2.3. La résine de gaïac .....	63
4.2.4. L'acide érythorbique et ses dérivés .....	63
4.2.5. Autres .....	64
4.3. Utilisation en cosmétologie .....	64
4.3.1. Les antioxydants naturels .....	66
4.3.2. Les antioxydants de synthèse .....	66
4.3.3. Les actifs et plantes utilisées .....	67

4.4. Utilisation en médecine humaine .....	69
4.4.1. La PUVAthérapie .....	69
4.4.2. Les topiques .....	70
4.4.3. Les veinotoniques .....	70
4.4.4. Prévention dans le phénomène d'ischémie-reperfusion .....	71
4.4.5. Prévention des maladies cardiovasculaires.....	72
4.4.6. Les suppléments vitaminiques .....	74
Conclusion .....	75
Références bibliographiques .....	76
Table des figures.....	85

## Table des figures

<b>Figure 1.</b> Transfert électronique et d'hydrogène du composé AH <sub>2</sub> (qui s'oxyde en A) le long de la chaîne respiratoire aboutissant à la formation d'H <sub>2</sub> O à partir d'O <sub>2</sub> .....	16
<b>Figure 2.</b> Exemple de réactivité de l'acide hypochloreux HOCl vis-à-vis de protéines, de lipides et d'ADN.....	18
<b>Figure 3.</b> Principaux produits d'oxydation de la guanine par les radicaux libres .....	20
<b>Figure 4.</b> Oxydation de la sérine .....	21
<b>Figure 5.</b> Oxydation de la cystéine.....	21
<b>Figure 6.</b> Cascade de réaction de la peroxydation lipidique .....	21
<b>Figure 7.</b> Déroulement du processus inflammatoire .....	23
<b>Figure 8.</b> Métabolisme de l'acide arachidonique .....	24
<b>Figure 9.</b> Mécanisme de formation de la plaque d'athérome.....	26
<b>Figure 10.</b> Structure tridimensionnelle de la catalase.....	29
<b>Figure 11.</b> Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase .....	30
<b>Figure 12.</b> Réaction de dimérisation du glutathion .....	31
<b>Figure 13.</b> Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase.....	31
<b>Figure 14.</b> Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase.....	32
<b>Figure 15.</b> Structure chimiques des vitamines E .....	33
<b>Figure 16.</b> Structure chimique de la vitamine C.....	33
<b>Figure 17.</b> Schéma de régénération de la vitamine E à partir de la vitamine C .....	34
<b>Figure 18.</b> Structure chimique de quelques rétinoïdes .....	34
<b>Figure 19.</b> Structure chimique des β- carotènes .....	34
<b>Figure 20.</b> Structure chimique du phénol .....	37
<b>Figure 21.</b> Structure chimique de l'hydroquinone .....	37
<b>Figure 22.</b> Structure chimique du phloroglucinol .....	37
<b>Figure 23.</b> Structure chimique de l'acide benzoïque .....	38
<b>Figure 24.</b> Structure chimique de l'acide salicylique.....	38
<b>Figure 25.</b> Structure chimique de l'acide parahydroxybenzoïque .....	38
<b>Figure 26.</b> Structure chimique de l'acide vanillique .....	39
<b>Figure 27.</b> Structure chimique de l'acide gallique.....	39
<b>Figure 28.</b> Structure chimique de l'acide cinnamique.....	39
<b>Figure 29.</b> Structure chimique de l'acide <i>paracoumarique</i> .....	40
<b>Figure 30.</b> Structure chimique de l'acide caféique.....	40
<b>Figure 31.</b> Structure chimique de l'acide férulique .....	40
<b>Figure 32.</b> Structure chimique de la coumarine.....	41
<b>Figure 33.</b> Structure chimique de l'ombelliférone .....	41
<b>Figure 34.</b> Structure chimique du psoralène .....	41
<b>Figure 35.</b> Structure chimique du bergaptène .....	42
<b>Figure 36.</b> Structure chimique de la xanthylétine et de la séséline .....	42
<b>Figure 37.</b> Structure chimique de la warfarine et de l'acénocoumarol .....	42
<b>Figure 38.</b> Structure chimique de la 1.4- naphthoquinone.....	43
<b>Figure 39.</b> Structure chimique du stilbène.....	43
<b>Figure 40.</b> Structure chimique du trans- et du cis-resveratrol .....	44
<b>Figure 41.</b> Structure chimique de base des flavonoïdes.....	44

<b>Figure 42.</b> Structure chimique de base des anthocyanes.....	45
<b>Figure 43.</b> Structure chimique de base des anthocyanosides .....	45
<b>Figure 44.</b> Structure chimique de la delphinidine .....	46
<b>Figure 45.</b> Structure chimique des lignanes, (1) squelette propylbenzene, (2) squelette dibenzylbutane et (3) neolignanes.....	46
<b>Figure 46.</b> Structure chimique d'une lignine .....	47
<b>Figure 47.</b> Structure chimique des tanins galliques et des tanins éllagiques .....	48
<b>Figure 48.</b> Structure chimique des tanins condensés.....	48
<b>Figure 49.</b> Structure chimique d'une unité isoprène .....	49
<b>Figure 50.</b> Modification du DPPH' lors du transfert électronique.....	50
<b>Figure 51.</b> Structure chimique du Trolox®.....	51
<b>Figure 52.</b> Modification de l'ABTS' lors du transfert électronique .....	52
<b>Figure 53.</b> Modification de l'AAPH' lors du transfert électronique(66) .....	53
<b>Figure 54.</b> Structure chimique de la fluorescéine .....	53
<b>Figure 55.</b> Structure chimique de la vitamine C.....	60
<b>Figure 56.</b> Structure chimique du palmitate d'ascorbyle .....	61
<b>Figure 57.</b> Structure chimique du stéarate d'ascorbyle .....	61
<b>Figure 58.</b> Structure chimique de l'acide gallique .....	62
<b>Figure 59.</b> Structure chimique du gallate de propyle .....	62
<b>Figure 60.</b> Structure chimique du gallate d'octyle.....	62
<b>Figure 61.</b> Structure chimique du gallate de dodécyle.....	63
<b>Figure 62.</b> Structure chimique du gallate d'éthyle .....	63
<b>Figure 63.</b> Structure chimique de l'acide érythorbique .....	64
<b>Figure 64.</b> Structure chimique de la 2-BHA et de la 3-BHA.....	67
<b>Figure 65.</b> Structure chimique de la BHT .....	67
<b>Figure 66.</b> Structure chimique de la TBHQ .....	67
<b>Figure 67.</b> Structure chimique du méthoxsalène .....	69
<b>Figure 68.</b> Structure chimique de l'Edaravone .....	72

# SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté 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, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

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

## **Les antioxydants de nos jours : définition et applications**

### Résumé :

Le stress oxydant se définit quand il y a un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants endogènes ayant pour conséquence des dommages intracellulaires. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies allant de l'infection à la maladie d'Alzheimer. L'évolution de la médecine avec la compréhension de l'apparition des pathologies a permis de mieux cibler des thérapeutiques et c'est ainsi que les antioxydants ont trouvé leur intérêt dans le traitement ou la prévention de plusieurs maladies. Une source majeure d'antioxydants est notamment la Nature. Elle est d'autant plus importante à l'Homme qu'elle lui en fournit une quantité significative via l'alimentation (e.g., fruits, légumes, graines ou boissons). Les domaines d'application des antioxydants sont multiples. Ils sont largement utilisés pour leur capacité à empêcher l'oxydation dans l'industrie, l'agroalimentaire mais également en cosmétologie où ils jouent un rôle marketing du fait de leur origine naturelle. Dans ce manuscrit, après une définition du stress oxydant et des pathologies associées, une liste non-exhaustive des systèmes antioxydants endogènes et exogènes est décrite. Par la suite, les méthodes communes d'analyse du pouvoir antioxydant sont présentées. Enfin la dernière partie est consacrée aux diverses applications des antioxydants et plus particulièrement en médecine humaine.

Mots-clés : antioxydant, stress oxydant, radicaux libres, pathologies

### Abstract :

An imbalance between the endogeneous pro-oxidative and antioxidant systems leads to the oxidative stress. Such process is directly correlated to intracellular damages that is observed in a broad range of deseases. Over the past decades, molecular mechanisms of such pathologies has been thoroughly investigated. This has allowed to design new antioxidant strategies to prevent or help in the treatment of aforementioned deseases. Nature is one of the most important sources of antioxidants. Therefore, food plays a crucial role in antioxidant processes. Antioxidant compounds can be used in a broad range of fields, e.g., food industry as well as in cosmetology. In this manuscript, section I deals with the oxidative stress and associated pathologies. Then, Section 2 provides a non-exhaustive list of endogeneous and exogeneous antioxidants. Section 3 present the state-of-the-art of antioxidant assay. Finally, Section 4 focused on several applications, including industry, cosmetology and medicine.

Keywords : antioxidant, oxidative stress, free radical, pathologies