



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université « Dr. Tahar Moulay » Saïda

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie

Et Valorisation biologique des Plantes



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME

DE MASTER II EN BIOLOGIE

Option : **Biochimie**

Présenté par :

M^r. Hachemi Hicham

M^r. Kateb Djelloul

Sur le thème intitulé

***Effet antioxydant des extraits aqueux et méthanolique
de Plantago lanceolata L***

(Revue bibliographique, Méthodologie & Résultats partiels)

Soutenue publiquement le : **25 Juillet 2020**

Devant le jury :

Président : **Mr TERRAS Mohamed (Professeur)** (Université de Saïda)

Examinatrice : **Mr. Ammam Abdelkader (Maitre de conférences A)** (Université de Saïda)


Encadreur : **Mr BERROUKCHE Abdelkrim (Professeur)** (Université de Saïda)

Année Universitaire : 2019-2020




Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.



*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur monsieur **BERROUKCHE Abdelkrim**, Professeur du biologie au département de biologie, université de Saïda, pour sa totale confiance, ses conseils, son soutien et sa disponibilité permanente d'avoir réalisé ce travail,*

*Ainsi pour ses douaas et ses encouragements qu'il nous a accordés tout au long de notre cursus. Nous adressons de chaleureux remerciements à Mr : **TERRAS Mohamed**, Maitre de conférence A, au département de Biologie à l'université de Saïda, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*



*Nous voudrions remercier Docteur : **AMMAM Abdelkader**, Maitre de conférences A à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département de Biologie, Université de Saïda, d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail.*



Résumé

*L'objectif de la présente étude était d'évaluer l'activité antioxydante des quatre types d'extraits de la partie aérienne de *Plantago Lanceolata L* par différents solvants : (Ethanol, Ether de pétrole, L'eau distillée et L'acétate d'éthyle).*

Nous allons matérialiser le teste antioxydant (DPPH) et puis utilisé soit la technique HPLC ou CPG.

*Mots clés : Activité antioxydante, *Plantago lanceolata L* , DPPH.*

المخلص

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لأربع أنواع من مستخلصات مقتطفات من الجزء الهوائي من النبتة *Plantago Lanceolata L* بأربع أنواع من المذيبات: (الإيثانول ، إيثيل بيترول ، الماء ، أسيتات الإيثيل).

ثم القيام باختبار مضاد الأكسدة (DPPH) ثم نستخدم تقنية *HPLC* أو *CPG*.

الكلمات المفاتيح : الإجهاد التأكسدي ، مضاد للأكسدة ، *Plantago lanceolata L*

Abstract

The objective of the present study was to evaluate the antioxidant activity of the four types of extracts from the aerial part of *Plantago Lanceolata* L by different solvents: (Ethanol, Petroleum ether, Distilled water and Acetate of ethyl).

We were going to materialize the antioxidant test (DPPH) and then used either the HPLC or CPG technique.

Keywords: Antioxidant activity, *Plantago lanceolata* L, DPPH.

Liste des Tableaux et des figures

Tableau 1. Espèces réactives de l'oxygène.

Figure 1. Photographie de *Plantago lanceolata*.

Figure 2. Espèces réactives de l'azote et de l'oxygène intervenant dans le phénomène de stress oxydant.

Figure 3. Sources endogènes d'espèces réactives oxygénées.

Figure 4. Implication de la xanthine oxydase dans la production de peroxynitrite.

Figure 5. Cibles biologiques et dommages oxydatifs induits par les ROS.

Figure 6. Principales circonstances pathologiques s'accompagnant le stress oxydant.

Figure 7. Mécanisme de détoxification enzymatique des espèces oxygénées réactives

Figure 8. Mécanisme probable de l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines à faible densité par la vitamine C et la vitamine E.

Figure 9. Effet scavenger des flavonoïdes sur les radicaux libres.

Figure 10. Sites probables de la fixation de Fe³⁺ aux cycles A et C des flavonoles.

Liste des abréviations

AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens

CAT: Catalase

ERA: Espèces réactives azotées

ERO: Espèces réactives oxygénées

GPx: Glutathion peroxydase

HNE: 4- hydroxy nonenal

IL: Interleukine

LDL: Light Density Lipoprotein

LO: Lipooxygénases

MDA: Malondialdéhyde

NADH: Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

SOD: Superoxyde dismutase.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des tableaux et des figures

Liste des abréviations

Introduction1

Chapitre I : *PLANTAGO LANCEOLATA* L

1. Classification botanique de *Plantago lanceolata*2

2. Aspect botanique de *Plantago lanceolata*2

3. Composition chimique3

4. Propriétés biologiques3

5. Usage traditionnel 4

Chapitre II : LE STRESS OXYDANT

1. Espèces réactives de l'oxygène6

1.1 Principales Espèces réactives de l'oxygène8

1.2. Principales sources des espèces réactives oxygénées10

2. Conséquences biologiques du stress oxydant12

3. Implications pathologiques du stress oxydant 14

4. Antioxydants15

4.1. Antioxydants endogènes15

4.2. Antioxydants exogènes 16

4.3. Autres antioxydants18

Chapitre III : Matériels et Méthodes

I. Matériel19

1. Matériel végétal19

4. Préparation de l'échantillon végétal destiné à l'analyse chimique19

II. Méthodes	20
1. Extraction.....	20
2. Calcul du rendement.....	20
Bibliographie.....	21

A decorative rectangular border with ornate floral and scrollwork patterns in a light brown color, framing the central text. The border has a double-line effect with a dotted pattern between the lines.

Introduction

Introduction

Le stress oxydant qui est généré par le déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et les antioxydants, au profit des premiers est aussi impliqué dans de nombreuses pathologies. La supplémentation par les antioxydants devient une nécessité. Mais l'utilisation des antioxydants de synthèse présente des effets indésirables sur la santé humaine.

La phytothérapie est utilisée depuis longtemps dans le secteur de la médecine traditionnelle. Le traitement par les plantes se trouve facilité par le fait que cette pratique est intimement liée aux coutumes et traditions des pays et des peuples. Les traitements traditionnels à base de plantes ont été toujours utilisés sans savoir à quoi étaient dus leurs effets bénéfiques, mais actuellement plusieurs recherches à travers le monde se sont orientées vers la valorisation des substances biologiquement actives afin d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes.

C'est dans cet objectif que s'inscrit notre travail et qui consiste à évaluer l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Plantago lanceolata* L. connu en Algérie sous le nom de Lissan-El-Haml. Cette plante est connue en médecine traditionnelle pour ces vertus astringentes, cicatrisante, anti-inflammatoires et antitussives. La tradition attribue à cette plante des propriétés antiseptiques, émoullientes (calmant la peau) et vulnéraires (qui guérit les blessures) qui justifient son usage sur les plaies, les contusions et les ulcères cutanés.

Notre étude expérimentale comporte :

- * Préparation des extraits méthanolique et aqueux de la partie aérienne de la plante.
- * Détermination de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins de ces extraits.
- * Activité antioxydante (test du DPPH, chélation du fer ferreux, pouvoir réducteur).



Chapitre I:

Plantago Lanceolata L

Plantago lanceolata L. est une plante vivace de la famille des *plantaginaceae*, communément appelé plantain lancéolé, bonne femme, herbe à cinq côtes, herbe à cinq coutures, oreille de lièvre, petit plantain (**Girre, 2001**), localement il est appelé lissan-el-haml. Le nom *Plantago* est issu du latin *planta* (plante à pieds) qui rappelle la forme des feuilles (**Ghedira et al., 2008**)

1. Classification botanique de *Plantago lanceolata* : (Ghedira et al., 2008)

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Superclasse : Tricolpées

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Superordre : Euastéridées I

Ordre : Lamiales

Famille : Plantaginaceae

Tribu : Plantaginae

Genre : *Plantago*

Espèces : *Plantago lanceolata* L.

2. Aspect botanique de *Plantago lanceolata* :

Plantago lanceolata L. est une plante herbacée vivace à fleurs se reproduisant par des graines (**figure 1**). Le rhizome est court et comporte de nombreuses racines, petites, fines et pivotantes qui confèrent à la plante une certaine tolérance à la sécheresse (**Moore et al, 2006**). La tige est simple, nue sans feuilles, florifère. Les feuilles sont vertes, opposées et disposées en rosettes à la base de la plante. Les fleurs sont de 10 à 20 cm de long, rassemblées en épis denses et cylindriques. Chaque fleur est à pétales libres, séparés les uns des autres jusqu'à la base et se détachant un par un. Son épi est très serré de petites fleurs sans couronne de bractées ; 4 pétales verts ou bruns, scarieux, 4 étamines pendant hors de l'épi, à long filet (**Ghedira et al., 2008**).



Figure 1. Photographie de *Plantago lanceolata*.

3. Composition chimique

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *P. lanceolata* contient un amalgame de métabolites secondaires dans les diverses parties de la plante. Selon Fons et ses collaborateurs (1998), *P. lanceolata* renferme plusieurs groupes de molécules actifs comme les mucilages, les iridoïdes, les tannins, les coumarines et les flavonoïdes. Plus récemment, il a été apporté la richesse du genre *Plantago* en polysaccharides, lipides, dérivés d'acides caféiques, iridoïdes glucosylés, terpènes, alcaloïdes et acides organiques (**Jamilah et al., 2012**).

4. Propriétés biologiques

Les métabolites secondaires du *P. lanceolata* confèrent à cette plante plusieurs propriétés biologiques et pharmacologiques. Il a été montré que l'extrait éthanolique de cette plante exerce une activité anti-spasmodique. La lutéoline, l'actéoside, plantamajoside et le peracetate de catalpol sont responsables de cet effet (**Fleer et verspohl, 2007**). Une étude portant sur un extrait alcoolique de *P. lanceolata* a prouvé son pouvoir anti-inflammatoire qui est dû à l'inhibition de la production de monoxyde d'azote (NO) par les macrophages (**Vigo et al.,**

2005). Une autre étude a attribué l'activité anti-inflammatoire de *Plantago major* et *P. lanceolata*, *in vitro*, à leur activité anti COX-1 et anti LOX (Beara, *et al.*, 2010). Les extraits de *plantago lanceolata* et *plantago major* sont des antiphlogistiques dans les systèmes d'inflammation induits par la carragénine et le PGE1 chez des rats (Shipochliev *et al.*, 1981).

Les polysaccharides isolés de *Plantago* augmentent la phagocytose de 15 à 50 % dans des modèles *in vitro* (Wichtl et Anton, 1999).

L'effet antitussif de *plantago lanceolata* a été démontré par (Boskabady *et al.* (2006), qui ont trouvé que l'extrait méthanolique est doté d'un effet antitussif comparable à celui de la codéine. Cette activité, serait due aux propriétés anti-inflammatoires de la plante. L'extrait méthanolique des feuilles de *plantago major* favorise la production de TNF alpha et de NO dans des macrophages péritonéaux de rats (Gomez, 2000). Ce même extrait contenant de la lutéoline-7-O-glucoside possède une activité antiproliférative des cellules cancéreuses humaines. La lutéoline a une bonne activité cytotoxique envers la topoisomérase I (Galvez *et al.*, 2003).

Hassawi et Kharma (2006) ont montré une activité antimicrobienne des extraits du *Plantago lanceolata* contre *Candida albicans*. (AL-Jumaily *et al.* (2012) ont identifié chez le *Plantago lanceolata* deux types d'acides tanniques doués d'activité antibactérienne contre *E. coli*. D'après ces auteurs, cette activité serait due à l'habilité des tannins d'inactiver l'adhésion microbienne, les enzymes et le transport des protéines membranaires.

Plantago a aussi un pouvoir cicatrisant dû à la présence d'allantoïnes et de tanins (Ticli, 1999).

L'extrait aqueux de *plantago major* a une activité contre le virus de l'herpès (Chiang *et al.*, 2002).

IV.5. Usage traditionnel

Plantago lanceolata est l'une des plantes médicinales les plus employées dans le monde (Kolak *et al.*, 2011). Elle est connue pour ces vertus astringentes, cicatrisante et propriétés ophtalmiques. La tradition attribue à cette plante des propriétés anti-inflammatoires et antitussives. La plante fraîche est également appliquée sur les contusions et les piqûres d'insectes, de même, le suc de la plante fraîche est utilisé lors du saignement de nez. Des propriétés antiseptiques, émolliente et vulnérinaires justifient son usage sur les plaies, les contusions et les ulcères cutanés (Ticli, 1999 ; Tutel *et al.*, 2005 ; Hassawi et Kharma, 2006 ;

Kolak *et al.*, 2011). En infusion, cette plante est utilisée en cas d'entérite, diarrhée, toux, troubles des voies respiratoires, rhume, amygdalite. Les feuilles de *plantago* sont utilisées, en usage externe, dans l'irritation des paupières. *Plantago* est parfois utilisé pour soigner l'hypertension artérielle, les ulcères et les tumeurs, comme il est utilisé comme agent analgésique et antirhumatismal (**Kolak *et al.*, 2011; AL-Jumaily *et al.*, 2012**).

A decorative border in a light brown or gold color, featuring intricate floral and vine patterns. It forms a partial frame around the central text, with a vertical line on the left and right sides and ornate flourishes at the top-left and bottom-right corners.

Chapitre II :
Le Stress Oxydant

Le stress oxydant est l'altération de l'homéostasie redox cellulaire induite soit par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou d'azote (RNS) soit par une déplétion des capacités de défenses antioxydantes par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschvink et al., 2008**).

A faibles concentrations, les ROS exercent des effets physiologiques et jouent des rôles importants dans l'organisme. En effet, les ROS sont les médiateurs de multiples fonctions de signalisation et de transcription essentielles pour le fonctionnement normal et la survie des cellules, ainsi que de la programmation de leur élimination. Dans des circonstances pathologiques, ou sous l'action de certains facteurs exogènes, une surproduction de ces espèces est possible. Dans ce cas, Les ROS peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides et glucides), générer de nouveaux produits oxydants et provoquer une cytotoxicité (**Sayre et al., 2005**). L'intensité de ces dommages est proportionnelle au taux de production des ROS, leur durée d'action ainsi que des outils de défense spécifique présents dans les tissus attaqués (**Bloomer et Fisher-Wellman., 2008**).

1. Espèces réactives de l'oxygène :

Les espèces réactives de l'oxygène ROS (**tableau 1**) sont des substances chimiques (atomes, molécules) incluant les radicaux libres possédant au moins un électron libre sur la couche externe (radical hydroxyl OH., superoxyde O₂., le radical peroxy ROO.) et les dérivés non radicalaires, dont la réactivité est très élevée comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'oxygène singulet 1O₂ et l'acide hypochloreux HOCl (**Cuzzocrea et al., 2001 ; Chu et al., 2010**).

A cause de leur hyperréactivité, ces radicaux libres ont une demi-vie très courte (quelques millisecondes à quelques nanosecondes. Cette réactivité dépendra des éléments en présence: si un radical rencontre un autre radical, le produit sera un non radical ($A^{\cdot} + B^{\cdot} \rightarrow AB$). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($A^{\cdot} + B \rightarrow A + B^{\cdot}$) et donnera naissance à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (**Finaud et al., 2006**).

Les espèces réactives azotées RNS ont été définies comme un sous-groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO) (figure 6) comme le radical monoxyde d'azote (NO.), l'anion peroxydinitrite (ONOO-) et le radical dioxyde d'azote (NO₂.) (**Simon et al., 2000**).

Nom	Symbole
Espèces radicalaires	
Oxygène (bi-radical)	O_2
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Peroxyde organique	$ROOH$
Acide hypochlorique	$HOCl$
Ozone	O_3
Aldéhydes	$HCOR$
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	$ONOO^-$

Tableau 1 : Espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002).

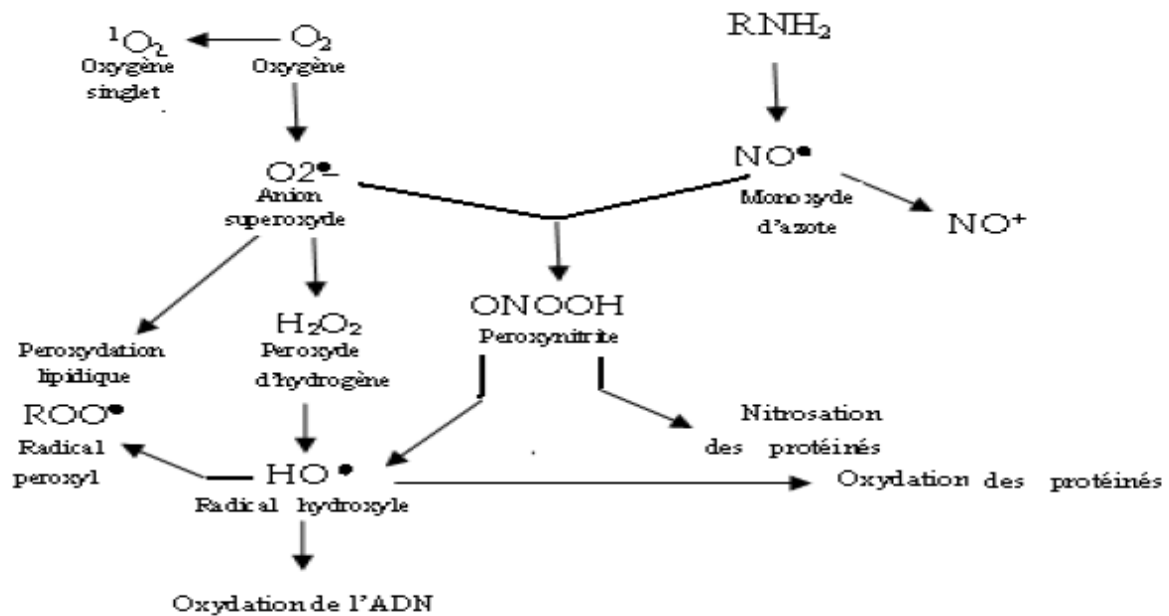


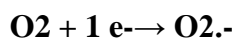
Figure 2. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant dans le phénomène du stress oxydant (Favier, 1997).

1.1 Principales Espèces réactives de l'oxygène :

L'oxygène est normalement transformé en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire (mitochondries). Ce processus n'est toutefois pas parfait car 2 à 5% de l'oxygène est consommé et transformé en $O_2^{\bullet-}$ par une réduction univalente et de ce fait il en résulte une production inévitable d'intermédiaires très réactifs (**Pincemail *et al.*, 2001 ; Finaud *et al.*, 2006**).

1.1.1. Radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) :

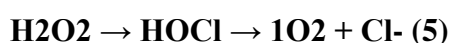
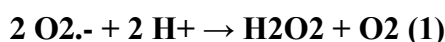
Le radical superoxyde est l'espèce réactive la plus fréquente dans l'organisme. Il est principalement formé au niveau de la chaîne de transport des électrons, au niveau des complexes I et III de la membrane interne des mitochondries, sous l'influence du coenzyme Q10 réduit, de la NADH-déshydrogénase en présence d'oxygène (**Sayre *et al.*, 2005**).



Il est également formé sous l'influence de métalloenzymes endommagées ou altérées par mutation génétique, et peut être produit par des NADPH oxydases au niveau des membranes des cellules du système immunitaire où il contribue à l'action bactéricide. La réactivité du radical superoxyde est limitée et son action sera plus le résultat des produits beaucoup plus agressifs qui en dérivent, en particulier le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) (**Lamprecht *et al.*, 2004**).

1.1.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :

Sous l'action de la superoxyde dismutase (SOD), le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est réduit en peroxyde d'hydrogène (réaction 1). Ce dernier bien que n'étant pas un radical libre, joue un rôle important dans le stress oxydant. Il est non ionisé et de faible charge ce qui facilite sa diffusion à travers les membranes cellulaires. Le H_2O_2 est le précurseur du OH^{\bullet} selon les réactions de Fenton/Haber-Weiss (réaction 2, 3, et 4). Comme il peut donner l'acide hypochloreux (réaction 5) en présence de myéloperoxydases.



Le H₂O₂ peut dans certaines conditions favoriser le système antioxydant en se transformant en H₂O et O₂ en présence de la catalase ou en H₂O en présence de la glutathion peroxydase (Biesalski *et al.*, 2001). A faible concentration, le H₂O₂ active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme celle du cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire, la régulation du calcium (Sayre *et al.*, 2005).

1.1.3. Radical hydroxyle (OH•) :

Le radical hydroxyle est extrêmement puissant, il réagit indifféremment avec toutes les macromolécules, auxquelles il a un accès (Van Helden *et al.*, 2009). Le radical hydroxyle est un des oxydants les plus réactifs du système biologique, toutefois, sa courte demi vie (10⁻⁹ secondes) en réduit considérablement sa potentialité (Sayre *et al.*, 2005; Goto *et al.*, 2008). Généralement le peroxyde d'hydrogène serait transformé en radical hydroxyle par une succession de réactions en chaîne initiée par la réaction de Fenton (réaction 3 et 4), suivie de la réaction de Haber-Weiss (Ahsan *et al.*, 2003). La continuité des réactions se fait grâce à la régénération des ions métalliques oxydés (Fe³⁺ et Cu²⁺). Cette capacité essentiellement d'O₂•⁻ de réduire le fer et le cuivre aux formes qui catalysent les réactions oxydatives sont la cause principale de son effet délétère. (Halliwell et Gutteridge, 1995).

1.1.4. Le radical monoxyde d'azote (oxyde nitrique) :

Le radical monoxyde d'azote (NO•) est une petite molécule générée dans les tissus biologiques par l'oxyde nitrique synthase lors de la métabolisation de l'arginine en citruline (Guzik *et al.*, 2003). L'importante production et distribution de l'oxyde nitrique, combinées à sa facile réaction avec les ROS, lui assurent un rôle central dans le stress oxydant. Le NO• libéré des cellules endothéliales réagit très rapidement avec l'oxygène pour former le radical dioxyde d'azote (NO₂•) qui peut à son tour réagir avec l'oxyde nitrique pour former le trioxyde d'azote (N₂O₃). Sa rapide réaction avec le radical superoxyde produit le peroxydinitrite (ONOO•), très réactif et capable d'oxyder les macromolécules particulièrement lors d'états pathologiques (Tsai *et al.*, 2001; Goto *et al.*, 2008). La concentration du NO• est sujette à de nombreuses influences qui peuvent augmenter ou diminuer sa production et influencer son rôle sur l'agrégation plaquettaire, la tension artérielle, l'inflammation, l'oxydation, la reperfusion des organes, l'athérosclérose et les maladies neurodégénératives (Poprzecki *et al.*, 2009).

1.2. Principales sources des espèces réactives oxygénées :

Les ROS sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. La production endogène (**figure 2**) est considérée significativement plus importante que celle d'origine exogène.

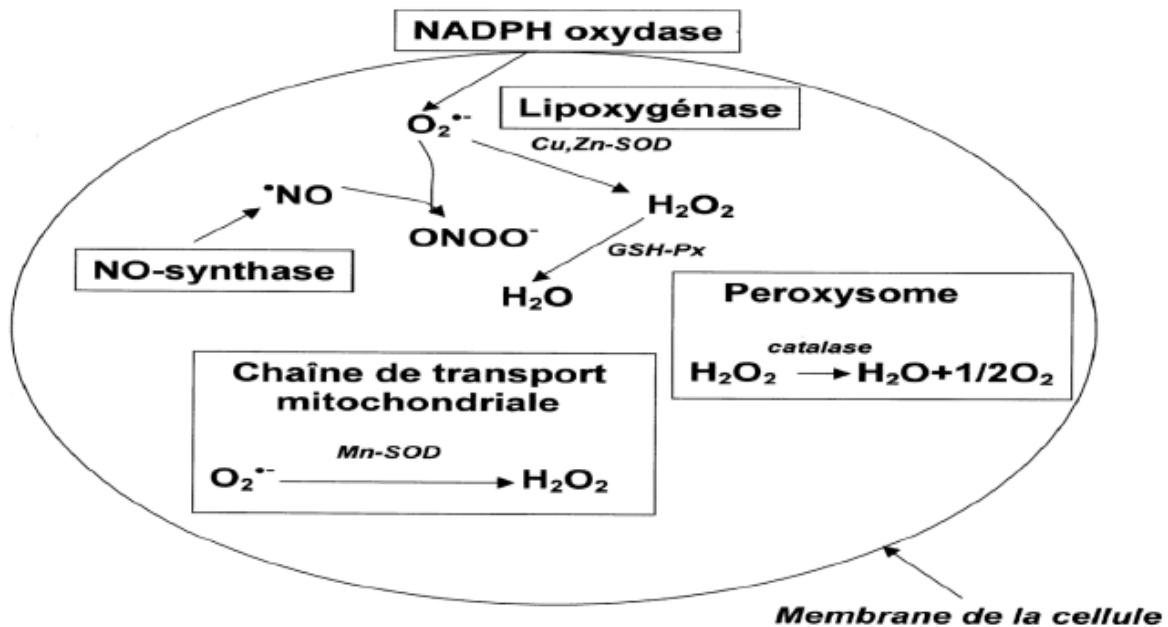


Figure 3. Sources endogènes des espèces réactives oxygénées (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2002).

1.2.1. Sources endogènes :

a. Xanthine Oxydase :

Dans les conditions physiologiques, la xanthine oxydase (XO) catalyse l'hydroxylation oxydative de l'hypoxanthine en xanthine puis la xanthine en acide urique en produisant l'anion superoxyde (Chan, 2003). La XO joue un rôle crucial dans la génération de l'O₂^{•-} et de H₂O₂ (Rahman *et al.*, 2006). L'O₂^{•-} produit au cours de l'ischémie-reperfusion est rapidement converti en ONOO^{•-} par son interaction avec le NO. (figure 3).

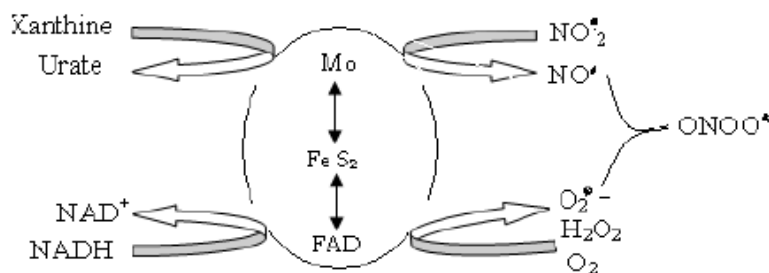


Figure 4. Implication de la xanthine oxydase dans la production de peroxynitrite (Harrison, 2002).

b. NADPH oxydase :

Au cours de l'inflammation, la NADPH oxydase phagocytaire peut produire de grandes quantités du radical superoxyde $O_2\cdot-$ et ses dérivés (**Nathan et Root, 1977**). L'activation simultanée de la NADPH oxydase et de la myéloperoxydase (MPO), conduit à la production de l' HO_2 et de l'acide hypochlorique, l'un des puissants oxydants phagocytaires à forte activité antimicrobienne (**Steinbeck et al., 1993**). La NADPH oxydase non phagocytaire (fibroblastes) produit des radicaux libres en faible quantité qui joueront le rôle de régulateurs dans les cascades de signalisation intracellulaire (**Bae et al., 1997**).

c. Lipooxygénases et Cyclooxygénases :

Les lipooxygénases et les cyclooxygénases représentent une autre importante source de ROS dans les parois vasculaires (**Madamanchi, 2005**). La 5-LO catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) pour donner des hydroperoxydes toxiques pour la cellule, comme elle intervient dans la formation du H_2O_2 par les lymphocytes T en réponse aux interleukines- 1β (**Droge, 2002**). La 12 et 15-lipooxygénase peuvent oxyder les acides gras estérifiés comme les esters de cholestérol et celles retrouvées dans les phospholipides (**Belkner et al., 1991**).

d. Mitochondrie

La chaîne respiratoire mitochondriale est responsable de la production de 90% des ROS dans la cellule (**Balaban et al., 2005**). La production d' $O_2\cdot-$ résulte de la fuite d'électrons lors de leur transfert par les complexes de la chaîne respiratoire (**Zhang et Gutterman, 2007**). Ces électrons proviennent des $NADH_2$ et $FADH_2$ (**Madamanchi et al., 2005**).

1.2.2. Sources exogènes :

Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau (RX ou γ) soit en activant des molécules photosensibles (UV) et produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet (**Favier, 2003**).

Certains métaux (chrome, cuivre, fer, vanadium) génèrent des radicaux hydroxyles très réactifs. Les polluants de l'air, comme le goudron, la fumée des cigarettes et les contaminants industriels (amiante, silice), constituent une importante source de ROS tels que le $NO\cdot$ et le NO_2 qui causent des dommages directs avec la peau ou après inhalation (**Koren, 1995**). Ces ROS participent à la genèse de radicaux libres car ils sont responsables de l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires. Le $NO\cdot$ et le NO_2 peuvent aussi réagir avec l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène pour former de puissant oxydant comme $ONOO\cdot$ et le radical $OH\cdot$ (**Pincemail et al., 1998 ; Bonnefont-Rousselot et al., 2001**).

D'autres toxiques agissent par transfert d'électrons, tels que le tétrachlorure de carbone (CCl_4) dont la toxicité s'exerce par l'intermédiaire du radical $CCl_3\cdot$ (**Kanter et al., 2003**).

Le métabolisme *in vivo* de certains xénobiotiques (toxines, pesticides et herbicides), de nombreux médicaments (antibiotiques, anticancéreux...) peut contribuer à la production des ROS (**Martinez -Cayuela, 1995**).

2. Conséquences biologiques du stress oxydant :

Les lipides, les protéines et les acides nucléiques représentent les principales cibles des ROS

(figure 4). L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation de LDL oxydés qui sont captés par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires. Alors que l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).

Les acides gras (AG) insaturés des phospholipides membranaires sont les cibles privilégiés des ROS. Leur peroxydation génère des produits primaires sous forme de polyènes conjugués qui pourront se combiner avec l'oxygène pour former des radicaux peroxydes (Spiteller, 2006). Ces radicaux peroxydes (LOO•) extraient un atome d'hydrogène d'un autre acide gras pour former des hydroperoxydes lipidiques (LOOH) et de nouveaux radicaux d'AG, qui vont propager la peroxydation. La malonedialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (HNE) sont des exemples d'aldéhydes résultants de la peroxydation lipidique et peuvent être utilisés comme marqueurs lors de la détection de peroxydation lipidique chez les patients (Pincemail et al., 1999). Les LOO• formés pourront grâce à leur grande réactivité extraire les hydrogènes d'autres molécules adjacentes comme les sucres et les protéines (Spiteller, 2006).

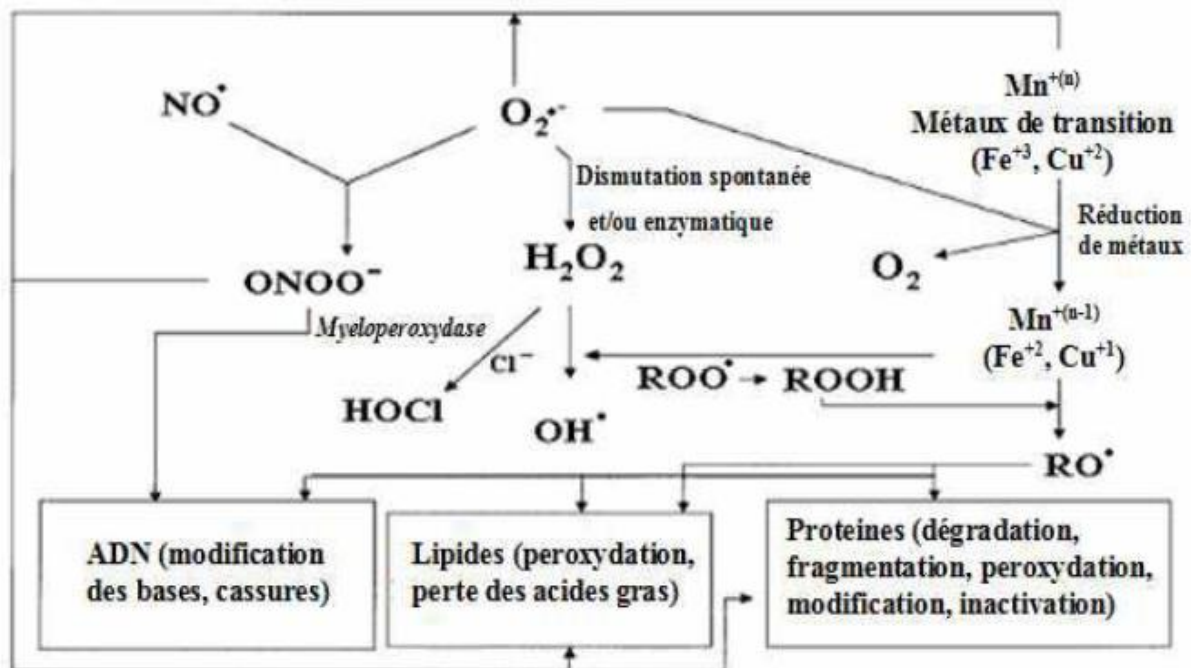


Figure 5. Cibles biologiques et dommages induits par les ROS (Kohen et Nyska, 2002).

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). Il a été estimé que les protéines pouvaient piéger 50 à 75% des ROS. Elles peuvent subir soit des réticulations par formation de ponts bi-tyrosine, soit des coupures en cas d'agression forte ou des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées (**Favier, 2003**). L'oxydation des acides aminés implique une attaque sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote pour former un radical d'acide aminé qui réagira avec l'oxygène pour former un aldéhyde avec expulsion d'un radical peroxyde d'hydrogène ou d'un peroxyde d'hydrogène (**Spiteller, 2006**).

Les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques et deviennent plus sensibles à l'action des protéases. Elles deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation des zones hydrophobes centrales et vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules (Favier, 2003). Le dommage oxydatif des protéines peut même générer de nouveaux antigènes qui provoquent des réponses immunitaires (**Aruoma, 1999; Favier, 2003**). De même, ces dommages oxydatifs peuvent contribuer au dommage secondaire comme l'inactivation des enzymes de réparation de l'ADN et la perte de fidélité des ADN polymérase (**Aruoma, 1999**).

Le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (**Richter et al., 1988**). Comme le génome mitochondrial code pour quelques sous-unités de protéines impliquées dans la phosphorylation oxydative, leur défaut d'expression pourrait exacerber la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire au profit de la production de ROS. Ainsi, plus la fuite d'électrons est importante, plus la formation de ROS provoquant de nombreuses mutations mitochondriales aggraverait ce phénomène (**Beckman et Ames, 1998**).

Tant dans les mitochondries que dans le noyau des cellules, des dommages oxydatifs sur les bases d'ARN ou d'ADN peuvent se produire par réactions de Fenton via l'action des radicaux OH•, sous l'effet d'aldéhydes de la peroxydation lipidique comme les HNE ou par des peroxydites (**Sayre et al., 2005 ; Lyn Patrick, 2006**). Ces altérations peuvent conduire à des scissions d'ADN et avoir une action mutagène (**Sayre et al., 2005; Bloomer et Fisher-Wellman., 2008**).

La peroxydation lipidique est également capable d'affecter la prolifération des cellules en formant des liaisons intra et intermoléculaires entre les acides aminés sulfurés des ARN et des ADN (**El-Mesery et al., 2009**). Les guanines sont préférentiellement attaquées et le produit de leur dégradation peut être détecté par le dosage de la 8-hydroxydeoxyguanosine dans le sang et dans l'urine (**Finaud et al., 2006**).

Les sucres sont attaqués par les ROS via l'abstraction d'hydrogène pour former un carbonyle et expulser un radical hydroperoxyde (•OOH). L'opération se prolonge jusqu'à la formation d'un composé dicarbonylé (Spiteller, 2006). Par auto-oxydation, des sucres comme le glucose forment des composés dicarbonylés, dont les plus connus sont les glyoxals et les glycolaldéhydes, qui pourront se lier à des protéines et altérer leurs propriétés chimiques (Wells-Knecht *et al.*, 1995). Ceci a été démontré chez des diabétiques et a été trouvé corrélé avec la sévérité de la maladie (Glomb et Monnier, 1995) et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (Favier, 2003). La glyco-oxydation des sucres et la glycation des protéines ont été mis en évidence dans les agglomérats de protéines caractéristiques de certaines maladies neurodégénératives (**Sayre et al., 2005**).

3. Implications pathologiques du stress oxydant :

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies (**figure 5**) comme facteur déclenchant ou associé à des complications (**Favier, 2003**). C'est donc la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré..., il est un des facteurs de genèse de maladies plurifactorielles telle que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 1997**).

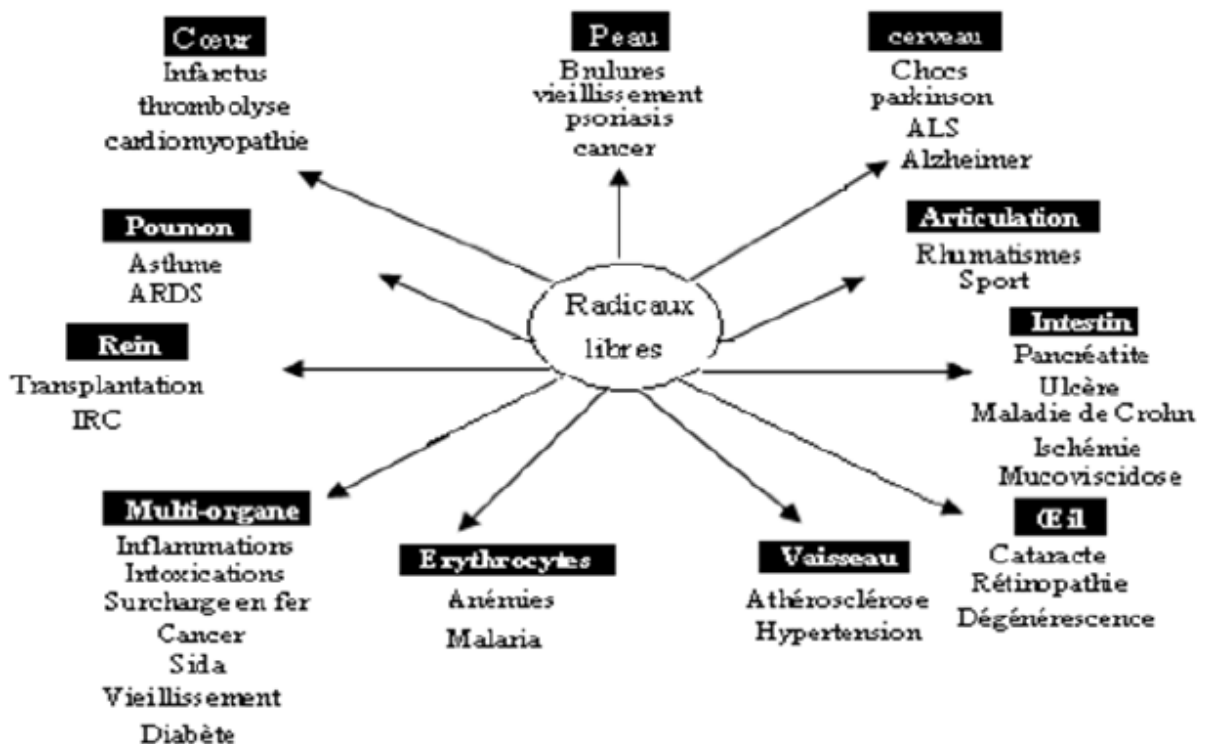


Figure 6. Principales circonstances pathologiques accompagnant le stress oxydant. **ARDS**: Syndrome de détresse respiratoires aigüe ; **Sida** : Syndrome d'immunodéficience acquise ; **ALS** : Sclérose latérale amyotrophique (**Favier, 1997**).

4. Antioxydants :

Les antioxydants sont des composés d'origine endogène ou exogène qui servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour les neutraliser et minimiser le dommage oxydatif (**Tang et Halliwell, 2010**).

4.1. Antioxydants endogènes :

4.1.1. Antioxydants enzymatiques :

La Super oxyde dismutase (SOD) décompose le superoxyde en O₂ et H₂O₂ moins toxiques (**figure 6**).

Le H₂O₂ sera à son tour transformé par la catalase en O₂ et H₂O, ou en H₂O par la glutathion peroxydase, en présence du glutathion réduit (GSH). Le glutathion réduit, sert de substrat à la GPX pour former du glutathion oxydé (GSSG). Avec l'aide d'une glutathion réductase et de NADPH, le GSH sera régénéré à partir du GSSG. En plus d'éliminer directement les ROS, les enzymes antioxydants participent à la régulation du stress oxydant (**Sayre et al., 2005**).

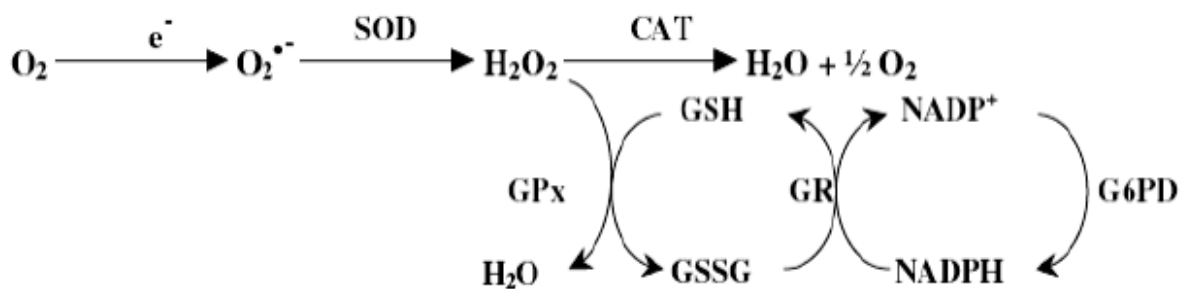


Figure 7. Mécanisme de détoxification enzymatique des ROS (Marfak, 2003).

II. 4.1.2. Antioxydants endogènes non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion, histidine dipeptide) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique). Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant de prévenir la formation du radical hydroxyle (**Martinez-Cayuella, 1995**).

a. Glutathion réduit :

Le glutathion réduit (GSH) est un antioxydant protéique abondant dans l'organisme où il joue un rôle de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine et l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées. Au niveau hépatique, il est détoxifiant car il peut se lier aux métaux toxiques comme le mercure et l'arsenic (**Clarkson et Thompson, 2000; Lyn Patrick, 2006**).

b. Acide urique :

L'acide urique est l'un des meilleurs antioxydants du plasma, il couvre 35-60% de la capacité antioxydante totale (Johnson *et al.*, 2009). L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente également dans les muscles en cas d'effort (Hellsten *et al.*, 2001), puis régénéré par la vitamine C (Vasconcelos *et al.*, 2007).

4.2. Antioxydants exogènes :

4.2.1. Vitamines :

La vitamine E est le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Traber et Atkinson, 2007). Elle agit directement sur une grande variété de ROS pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie par la vitamine C (figure 7), mais également par d'autres composés comme la vitamine A, le GSH et l'ubiquinol. La vitamine E peut aussi activer les SOD et les CAT (Margaritis *et al.*, 2003; Lyn Patrick, 2006).

La vitamine A (rétinoïdes) est présente dans les aliments d'origine animale (lait, foie, jaune d'oeuf), alors que les provitamines A (béta-carotène, lutéines, lycopènes,...) se rencontrent dans de nombreux fruits et légumes. Le béta-carotène est le principal précurseur de la vitamine A. La vitamine A agit sur les ROS en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical, ou sera régénéré en vitamine A (Clarkson et Thompson, 2000; Fisher-Wellman et Bloomer, 2009). En excès, la vitamine A pourrait agir comme pro-oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Van Helden *et al.*, 2009).

La vitamine C joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (Koolman *et al.*, 1999). Elle agit directement sur les ROS et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. A forte dose, la vitamine C peut exercer une action pro-oxydante via son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺), qui contribue aux réactions de Fenton/Haber-Weiss (Sayre *et al.*, 2005).

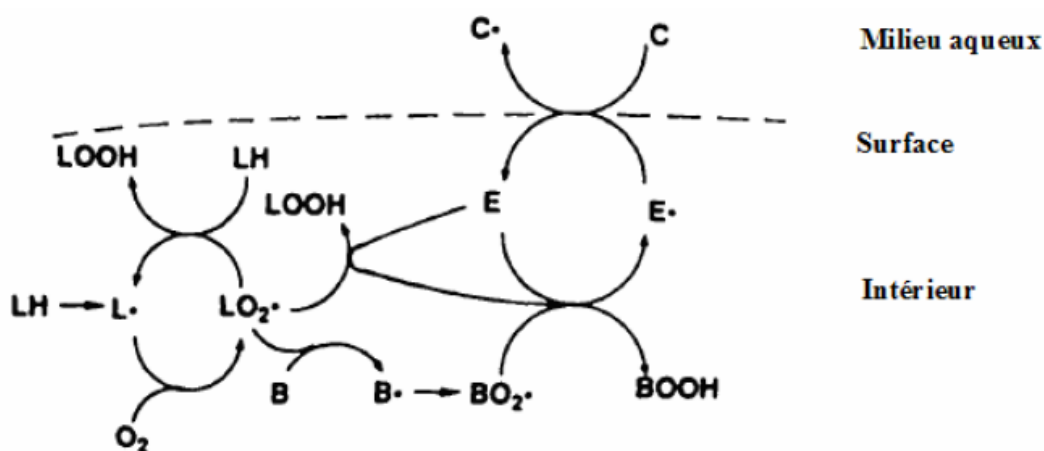


Figure 8. Mécanisme probable de l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines à faible densité par la

B-carotène (B), la vitamine C (C) et la vitamine E (E). Lipide (LH), peroxyde lipidique ($\text{LO}_2\bullet$), hydroperoxyde lipidique (LOOH) (Niki *et al.*, 1995).

4.2.2. Polyphénols :

Les polyphénols, des produits du métabolisme secondaire des végétaux regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (Tapiero *et al.*, 2002). Les composés phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe le plus important (Beta *et al.*, 2005).

Les acides phénoliques (acide chlorogénique, caféique, protocatéchique, vanillique, férulique, sinapique et gallique) contenus dans un certain nombre de plantes médicinales (Hale, 2003; Psoťová *et al.*, 2003) sont considérés comme des antioxydants.

Les flavonoïdes (plus de 5000 molécules isolées) sont les polyphénols les plus nombreux (Pietta, 2000), présents dans tout le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (Peluso, 2006). Ils agissent de différentes façons soit par effet scavenger directe (figure 8), soit par chélation de métaux de transition empêchant ainsi la réaction de Fenton (figure 9) soit par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production de ROS comme la xanthine oxydase (Halliwell, 1994).

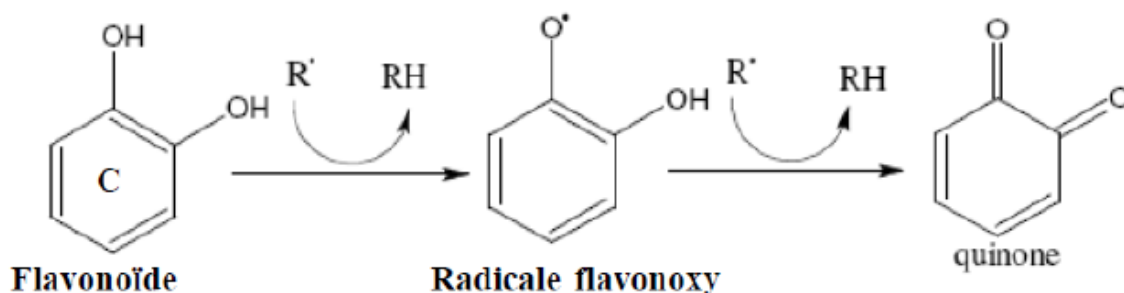


Figure 9. Effet scavenger des flavonoïdes sur les radicaux libres (Jovanovic *et al.*, 1994).

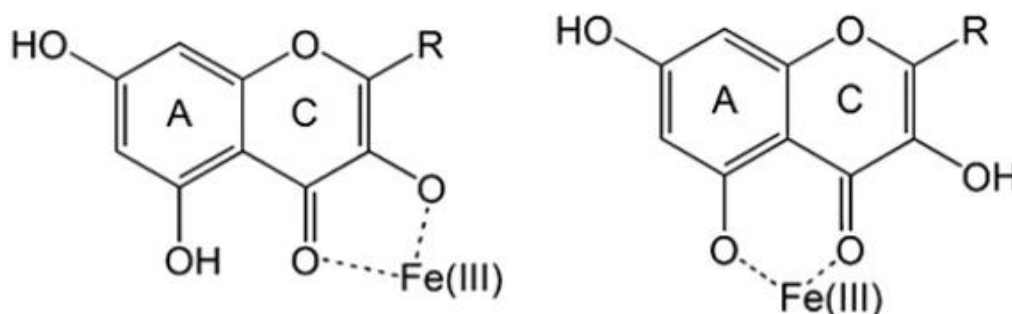


Figure 10. Sites probables de fixation de Fe^{3+} aux cycles A et C des flavonoles (Verdan *et al.*, 2011).

4.3. Autres antioxydants :

Beaucoup de phyto-nutriments ont été identifiés comme antioxydants. Les plus importants sont les caroténoïdes, flavonoïdes, phénols, phytostérols et les glucosinolates. Ils ont des propriétés antioxydantes intéressantes comme piègeurs/inhibiteurs de radicaux lipidiques, des anions superoxydes, de l'oxygène singulet ou comme régulateur du système antioxydant (**Dufour *et al.*, 2007 ; Gobert *et al.*, 2009**).

La vitamine B6 exercerait un rôle antioxydant indirect en favorisant la synthèse de cystéine à partir de la méthionine et ainsi renforcerait la production de GSH. Des propriétés antioxydantes ont été attribuées à des acides aminés (méthionine, taurine, glutamine, N-acetylcystéine). Ils pourraient être des précurseurs directs ou indirects de la synthèse des GSH dont ils renforcent l'action et seraient capables de piéger et de neutraliser les ROS (**Sayre *et al.*, 2005; Fisher-Wellman et Bloomer, 2009**).

Des protéines comme la ferritine, l'albumine, la bilirubine, la protéine du choc thermique pourraient agir directement sur les ROS ou indirectement par captation de métaux redox actifs (**Finaud *et al.*, 2006; Duarte et Jones, 2007**).



Chapitre III :
Matériels et Méthodes

I Matériels :**1. Matériel végétal**

La plante *Plantago lanceolata* a été récoltée entre Mars et avril 2020 de la région de Saida.

La partie aérienne a été nettoyée, séchée à température ambiante et à l'ombre puis stockée à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 10. *Plantago lanceolata*.

2. Préparation de l'échantillon végétal destiné à l'analyse chimique :

Une quantité de La plante *Plantago lanceolata* a été broyée et transformée en poudre fine grâce à l'usage d'un moulin électrique.

La poudre sera conservée à l'abri de la lumière dans un climat sec jusqu'à sa prochaine utilisation pour l'extraction des huiles végétales.

II. Méthodes

1. Extraction :

Les différents extraits de La plante *Plantago lanceolata* étudiées sont obtenu par macération. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant, La séparation se fait par filtration. Elle est utilisée couramment dans l'extraction des terpènes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des acides gras, des amines...etc. (Lumbu et al., 2005).

Nous avons préparé quatre types d'extraits par différents solvants :Ethanol, Ether de pétrole, L'eau distillée et L'acétate d'éthyle.

Dans chaque extrait, 150 g de l'écorce broyée sont mélangés avec 400 mL de solvant (Ethanol, Ether de pétrole, L'eau distillée et L'acétate d'éthyle). L'ensemble est soumis à une macération sous agitation magnétique pendant 48 heures à la température ambiante du laboratoire (15-17° C) et à l'abri de la lumière. Après 48h, une filtration est réalisée grâce à un papier de Wattman.

Les filtrats obtenu sont ensuite évaporées à l'aide d'un évaporateurrotatif afin d'obtenir des extraits bruts. Ensuite, sont mis à l'étuve pour obtenir des extraits sec, ces derniers sont conservées dans des boîtes bien fermées jusqu'au moment d'utilisation.

2. Calcul du rendement :

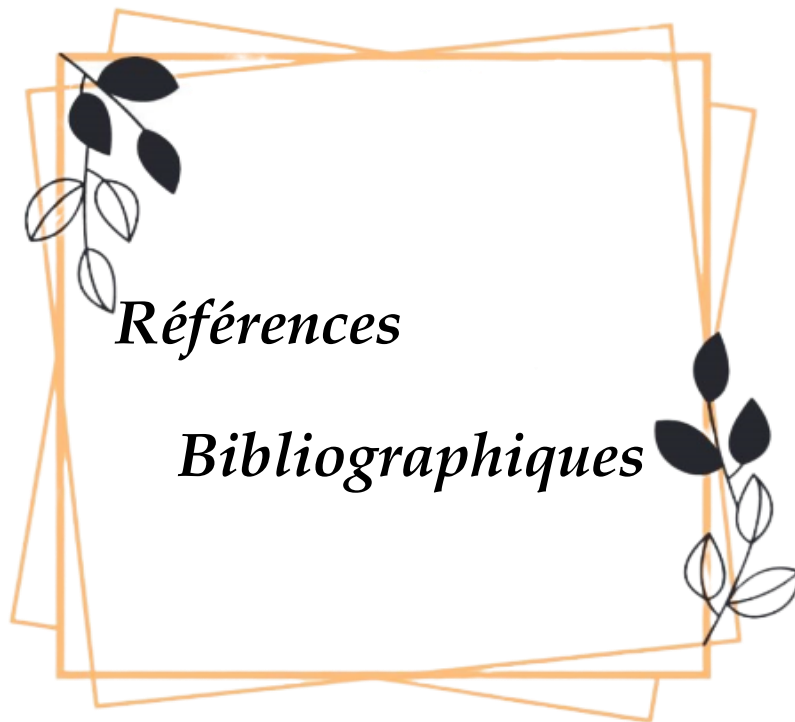
Le rendement de l'extrait brut est définit comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé vial'équation :

$$\text{Re} = (\text{Me}/\text{Mv}) \times 100$$

Re %: Rendement en %.

Me: Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998).



Références

Bibliographiques

A

Ahsan H, Ali A and Ali R (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clin Exp Immunol*, 131, 398-404.

Al-Jumaily E.F, Abdul-Ratha H.A and Raheema R.H (2012). Extraction And Purification Of Tannins From *Plantago Lanceolata L.* And Assessment Their Antibacterial Activity On Pathogenesis Of Enteropathogenic *E.Coli* In Vitro And In Vivo. *DAMA Inter*, 1 (1), 17-21.

B

Bae Y.S, Kang S.W, Seo M.S, Baines I.C, Tekle E, Chock P.B, Rhee S.G (1997). Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. *J.Biol. chem*, 272, 217-221.

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

Beara I.N, Orčić Dejan Z, Lesjak Marija M, Mimica-Dukić Neda M, Peković Biljana A, Popović Mira R (2010). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry study of anti-inflammatory activity of Plantain (*Plantago L.*) species. *J Pharm Biomed Anal*, 52, 701-706.

Belkner J, Wiesner R, Kuhn H, Lankin V.Z (1991). The oxygenation of cholesterol esters by the reticulocyte lipxygenase. *FEBS. Lett*, 279, 110-114.

Bloomer R.J and Fisher-Wellman K.H (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gend Med*, 5, (3) 218-28.

Bonnefont-Rousselot D, Peynet J, Beaudoux J.L, Thérond P, Legrand A and Delattre J (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nut Clin Metabol*, 16, 260-267.

Bonnefont-Rousselot D, Thérond P, Beaudoux J.L, Peynet J, Legrand A and Delattre J (2001). Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels. *Ann. Biol Clin*, 59, (4), 453-459.

Boskabady M.H, Rakhshandah H, Afiat M, Aelami Z, Amiri S (2006). Antitussive Effect of *Plantago lanceolata* in Guinea Pigs. *Iran J Med Sci*, 31(3), 143-146.

C

Chan K.L (2003). *Role of nitric oxide in ischemia and reperfusion njury. Curr Med Chem, 1, 1-13.*

Chiang L.C, Chiang W, Chang M.Y, Ng L.T and Lin C.C (2002). *Antiviral activity of Plantago major extracts and related compounds in vitro, Antiviral Res, 55, 53-62.*

Chu W.L, Lim Y.W, Radhakrishnan A.K and Lim P.E (2010). *Protective effect of aqueous extract from Spirulina platensis against cell death induced by free radicals. BMC Complement Altern Med, 10 (53), 2-8.*

Cuzzocrea S, Riley D.P, Caputi A.P, Salvemini D (2001). *Antioxidant Therapy: A New pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury. Pharmacol, 53 (1), 135-159.*

D

Droge W (2002). *Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. Physiol Rev, 82, (1) 47-95.*

F

Favier A (1997). *Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes poses par le choix d'un marqueur. Ann Biol Clin 55, 9-16.*

Favier A (2003). *Le stress oxydant, interet conceptuel et experimental dans la comprehension des mecanismes des maladies et potentiel therapeutique. Actual Chim, 11, (12) 108-115.*

Favier A (2003). *Le stress oxydant, interet conceptuel et experimental dans la comprehension des mecanismes des maladies et potentiel therapeutique. Actual Chim, 11, (12) 108-115.*

Finaud J, Lac G, Filaire E (2006). *Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. Sports Med, 36 (4), 327-358.*

Finaud J, Lac G, Filaire E (2006). *Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. Sports Med, 36 (4), 327-358.*

Fleer H and verspohl E.J (2007). *Antispasmodic activity of an extract from Plantago lanceolata L. and some isolated compounds, Phytomed, 14, 409-15.*

G

Galvez M, Martin-Cordero C, Lopez-Lazaro M, Cortes F and Ayuso M. J (2003). Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines, *J Ethnopharmacol*, 88, 125-30.

Ghedira K, Goetz P , Le Jeune R (2008). *Plantago major* L. et *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*). *Phytother*, 6, 367-371.

Girre L (2001). *Les plantes et les médicaments*, Editions Delachaux et Niestlé.

Gomez C (2000). Immunoenhancing properties of *Plantago major*, leaf extract. *Phytother Res*, 14, 617-22.

Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T, Kanazaw K (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radic Biolo Med*, 45, 1318-1325.

Guzik T.J, Korbut R and Adamek-Guzik T (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol*, 54 (4), 469-487.

H

Halliwell B, and Gutteridge J. M (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med*, 18, 125-126.

Harrison R (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now. *Free Radic Biol Med*, 33, 774-797.

Hassawi D and kharma A (2006). Antimicrobial Activity of Some Medecinal Plants Against *Candida Albicans*. *J Biol Sci*, 6 (1), 109-114.

J

Jamilah J, Sharifa A.A and , Sharifah N.R.S (2012). GC-MS Analysis of Various Extracts from Leaf of *Plantago major* Used as Traditional Medicine. *World Appl Sci J*, 17, 67-70.

K

Kanter M, Meral I, Dede S, Cemek M, Ozbec H, Uygan I, and Gunduz H (2003). *Effects of Nigella sativa L. and Urtica dioica L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄- treated rats. J Vet Med A, 50 (5), 264-268.*

Kirschvink N, De Moffarts B, Lekeux P (2008). *The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. The Veter J, 177, 178-191.*

Kohen R, Nyska A (2002). *Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. J Toxicol Pathol, 30, 620-650.*

Kolak U, BořGa M, Akalin U, AK E, Ulubele A (2011). *Constituents of Plantago major subsp. intermedia with antioxidant and anticholinesterase. capacities, TUBITAK, 35, 637-645.*

Koren H.S (1995). *Association between criteria air pollutants and asthma. Environ Health Perspect, 103, 235-242.*

L

Lamprecht M, Greilberger J, Oettl K (2004). *Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. J Nutr, 20, (7-8) 728-730.*

M

Madamanchi N.R, Vendrov A, Runge M.S (2005). *Oxidative Stress and Vascular Disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 25, 29.*

Madamanchi N.R, Vendrov A, Runge M.S (2005). *Oxidative Stress and Vascular Disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 25, 29.*

Martinez-Cayuella M (1995). *Oxygen free radicals and human disease. Biochimie, 77, 147-161.*

Moore G, Sanford P and Wiley (2006). *Perennial pastures for Western Australia, Department of Agriculture and Food Western Australia, Bulletin 4690, Perth.*

N

Nathan C.F, Root R.K (1977). *Hydrogen peroxide realize from mouse peritoneal macrophages: dependence on sequential activation and triggering.* *J exp Med*, 146, 1648-1662.

P

Pincemail J, Jacques L, Emmanuel C, Castiaux J.P, Defraigne J.O (2001). *Stress oxydant, antioxydants et exercice physique.* *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 6, N°5, 1-3.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne J.O (1998). *Fumee de cigarette: une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées.* *Medi Sphere*, 78, 37-39.

Poprzecki S, Zajac A, Chalimoniuk M, Waskiewicz Z, Langfort J (2009). *Modification of blood antioxidant status and lipid profile in response to highintensity endurance exercise after low doses of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in healthy volunteers.* *Int J Food Sci Nut*, 26, 1-13.

R

Rahman I, Adcock I.M (2006). *Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD.* *Eur Respir J*, 28, 219-242.

S

Sayre L.M, Moreira P.I, Smith M.A, Perry G (2005). *Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease.* *Ann Ist Super Sanità*, 41, (2) 143- 164.

Shipochliev T, Dimitrov A, Aleksandrova E (1981). *Anti-inflammatory action of a group of plant extracts.* *Vet Med Nauki*, 18, 87-94.

Simon H.U, Haj-Yehia A and Levi-Schaffer F (2000). *Role of reactive oxygen species (ROS) in the apoptosis induction.* *Apoptosis*, 5, 415-418.

Spiteller G (2006). *Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products.* *Free Radic Biol Med*, 41, (3) 362-387.

Références bibliographiques

Steinbeck M.J, Khan A.U, Karnovsky M.J (1993). *Extracellular production of singlet oxygen by stimulated macrophages quantified using 9, 10-diphenylanthracene and perylene in a polystyrene film. J. Biol. Chem, 268, 15649-15654.*

T

Ticli B (1999). *Les herbes médicinales les plus puissantes et les plus efficaces, Milan, Editions De Vecchi S.A.*

Tutel B.I, Kandemür Ü, Kuş S et Kence A (2005). *Classification of Turkish Plantago L. Species Using Numerical Taxonomy. Turk J Bot ,29,50-51.*

V

Van Helden Y.G.J, Keijer J, Knaapen A.M, Heil S.G, Briedé J.J, van Schooten F.J, Godschalk R.W.L (2009). *β-Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells. Free Radic Biol Med, 46, 299–304.*

Vigo E, Cepeda A, Gualillo O, Perez-Fernandez R (2005). *In-vitro anti-inflammatory activity of Pinus sylvestris and Plantago lanceolata extracts: effect on inducible NOS, COX-1, COX-2 and their products in J774A.1 murine macrophages. J Pharm Pharmacol, 57, 383-391.*

W

Wichtl M, Anton R (1999) *Plantes thérapeutiques. Ed. Tech & Doc, Paris, pp. 415-8*

Z

Zhang D.X, Gutterman D.D (2007). *Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 292, 2023-2031.*